

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7556848号
(P7556848)

(45)発行日 令和6年9月26日(2024.9.26)

(24)登録日 令和6年9月17日(2024.9.17)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105
請求項の数 16 (全482頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-514344(P2021-514344)	(73)特許権者	513084469
(86)(22)出願日	令和1年9月13日(2019.9.13)		モデルナティエックス インコーポレイ
(65)公表番号	特表2022-501336(P2022-501336		テッド
	A)		ModernaTX, Inc.
(43)公表日	令和4年1月6日(2022.1.6)		アメリカ合衆国02142マサチューセ
(86)国際出願番号	PCT/US2019/051072		ッツ州ケンブリッジ、ビニー・ストリー
(87)国際公開番号	WO2020/056304		ト325
(87)国際公開日	令和2年3月19日(2020.3.19)	(74)代理人	100145403
審査請求日	令和4年9月9日(2022.9.9)		弁理士 山尾 憲人
(31)優先権主張番号	62/881,322	(74)代理人	100122301
(32)優先日	令和1年7月31日(2019.7.31)		弁理士 富田 憲史
(33)優先権主張国・地域又は機関		(74)代理人	100170520
	米国(US)		弁理士 笹倉 真奈美
(31)優先権主張番号	62/770,024	(72)発明者	ジョシュア・フレデリック
(32)優先日	平成30年11月20日(2018.11.20)		アメリカ合衆国02129マサチューセ
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 mRNA治療薬を使用したがんを治療するための方法及び組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒト患者におけるがんを治療するための方法において使用するための組成物であって、前記組成物は、ヒトOX40Lをコードする第1のmRNAを含み、前記組成物は、第1の免疫増強因子をコードする少なくとも1種の第2のmRNA、及び第2の免疫増強因子をコードする第3のmRNAと組み合わせて使用され、前記第1及び第2の免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させ、

(A) 前記第1の免疫増強因子は、ヒトIL-15を含み、前記ヒトIL-15は、

(i) ヒトIL-15 Rαポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドであるか；または

(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードする第1のmRNA及びヒトIL-15 Rαポリペプチドをコードする第2のmRNAによってコードされている、トランス提示ヒトIL-15であり；

(B) 前記第2の免疫増強因子は、テザー型ヒトIL-12を含み、前記テザー型ヒトIL-12は、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドを含み、そして

前記第1のmRNA、前記少なくとも1種の第2のmRNA、及び／または前記第3のmRNAは、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている、組成物。

【請求項2】

ヒト患者におけるがんを治療するための方法において使用するための組成物であって、前記組成物は、免疫増強因子をコードする少なくとも1種の第2のmRNAを含み、前記組成物は、ヒトOX40Lをコードする第1のmRNA、及び免疫増強因子をコードする第3のmRNAと組み合わせて使用され、前記第1及び第2の免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させ、

(A) 前記第1の免疫増強因子は、ヒトIL-15を含み、前記ヒトIL-15は、

(i) ヒトIL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドであるか；または

(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードする第1のmRNA及びヒトIL-15 R α ポリペプチドをコードする第2のmRNAによってコードされている、
トランス提示ヒトIL-15であり；

(B) 前記第2の免疫増強因子は、テザー型ヒトIL-12を含み、前記テザー型ヒトIL-12は、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドを含み、そして
前記第1のmRNA、前記少なくとも1種の第2のmRNA、及び／または前記第3のmRNAは、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている、
組成物。

【請求項3】

ヒト患者におけるがんを治療するための方法において使用するための組成物であって、前記組成物は、

(i) ヒトOX40Lをコードする第1のmRNA、

(ii) 第1の免疫増強因子をコードする少なくとも1種の第2のmRNA、及び、

(iii) 第2の免疫増強因子をコードする第3のmRNA、

を含み、前記第1及び第2の免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させ、

(A) 前記第1の免疫増強因子は、ヒトIL-15を含み、前記ヒトIL-15は、

(i) ヒトIL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドであるか；または

(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードする第1のmRNA及びヒトIL-15 R α ポリペプチドをコードする第2のmRNAによってコードされている、
トランス提示ヒトIL-15であり；

(B) 前記第2の免疫増強因子は、テザー型ヒトIL-12を含み、前記テザー型ヒトIL-12は、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドを含み、そして
前記第1のmRNA、前記少なくとも1種の第2のmRNA、及び／または前記第3のmRNAは、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている、
組成物。

【請求項4】

(A) 前記がんは播種性がんであり、そして前記第1のmRNA及び前記少なくとも1種の第2のmRNAは全身投与され、任意選択的に、前記播種性がんは血液がんであるか、または前記播種性がんは骨髄性悪性腫瘍であり、さらに任意選択的に、前記骨髄性悪性腫瘍は、骨髄異形成症候群(MDS)、骨髄増殖性疾患(MPD)、及び急性骨髄性白血病(AML)からなる群から選択される、または

(B) 前記がんは固形腫瘍であり、そして前記第1のmRNA、前記少なくとも1種の第2のmRNA、及び第3のmRNAは腫瘍内投与され、任意選択的に、前記固形腫瘍は免疫抑制性腫瘍微小環境を含むか、または、前記固形腫瘍は免疫チェックポイント阻害剤療法に対して反応を示さない、

請求項1から3のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項5】

(A) 前記OX40Lポリペプチドは、配列番号：1に記載のアミノ酸配列または配列

10

20

30

40

50

番号：1に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、および／または

(B) 前記OX40Lポリペプチドは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列または配列番号：11に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、請求項1から4のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項6】

(A) 前記IL-12ポリペプチドは、任意選択的にペプチドリinkerを介して、IL-12 p35サブユニット(IL-12A)ポリペプチドに機能的に連結したIL-12 p40サブユニット(IL-12B)ポリペプチドを含み、任意選択的に、前記IL-12Bポリペプチドは前記IL-12Aポリペプチドの5'末端または前記ペプチドリinkerの5'末端に位置しているか、または、前記IL-12Aポリペプチドは前記IL-12Bポリペプチドの5'末端または前記ペプチドリinkerの5'末端に位置している、および／または

(B) (i) 前記IL-12ポリペプチド膜貫通ドメインはI型内在性膜タンパク質に由来する膜貫通ドメインを含むか、または(ii) 前記IL-12ポリペプチド膜貫通ドメインは、分化抗原群8(CD8)膜貫通ドメイン、血小板由来増殖因子受容体(PDGFR)膜貫通ドメイン、及び分化抗原群80(CD80)膜貫通ドメインからなる群から選択され、任意選択的に、前記PDGFRβ膜貫通ドメインは配列番号：42に記載のアミノ酸配列を含み、前記CD8膜貫通ドメインは配列番号：41に記載のアミノ酸配列を含み、そして前記CD80膜貫通ドメインは配列番号：43に記載のアミノ酸配列を含む、および／または

(C) 前記IL-12ポリペプチド膜ドメインは細胞内ドメインを含み、(i) 前記細胞内ドメインは前記膜貫通ドメインと同一のポリペプチドに由来しているか、または前記細胞内ドメインは前記膜貫通ドメインが由来するポリペプチドとは異なるポリペプチドに由来しているか、または(ii) 前記細胞内ドメインは、PDGFR細胞内ドメイン、トランケートPDGFR細胞内ドメイン、及びCD80細胞内ドメインからなる群から選択され、任意選択的に、前記細胞内ドメインは、(a) 配列番号：48に記載のアミノ酸配列を含むPDGFRβ細胞内ドメインを含むPDGFR細胞内ドメインであるか、(b) E570またはG739においてトランケートされたPDGFRβ細胞内ドメインを含むトランケートPDGFR細胞内ドメインであるか、または(c) 配列番号：47に記載のアミノ酸配列を含むCD80細胞内ドメイン、さらに任意選択的に、前記E570においてトランケートされたトランケートPDGFRβ細胞内ドメインは配列番号：49に記載のアミノ酸配列を含み、そして前記G739においてトランケートされたトランケートPDGFRβ膜貫通ドメインは配列番号：50に記載のアミノ酸配列を含むCD80細胞内ドメインである、および／または

(D) 前記IL-12ポリペプチド膜ドメインは、

(i) PDGFRβ膜貫通ドメイン及びPDGFRβ細胞内ドメイン、

(ii) PDGFRβ膜貫通ドメイン及びE570においてトランケートされたトランケートPDGFRβ細胞内ドメイン、

(iii) PDGFRβ膜貫通ドメイン及びG739においてトランケートされたトランケートPDGFRβ細胞内ドメイン、または、

(iv) CD80膜貫通ドメイン及びCD80細胞内ドメイン、を含む、および／または

(E) 前記IL-12ポリペプチド膜ドメインはペプチドリinkerにより前記IL-12Aポリペプチドに機能的に連結しているか、または、前記IL-12ポリペプチド膜ドメインはペプチドリinkerにより前記IL-12Bポリペプチドに機能的に連結している、および／または

(F) 前記IL-15Rαポリペプチドはsushiドメインを含み、任意選択的に、前記IL-15Rαポリペプチドは細胞内ドメイン及び膜貫通ドメインを更に含み、そし

10

20

30

40

50

て前記細胞内ドメイン及び前記膜貫通ドメインはIL-15R α ポリペプチドに由来しているかまたは非相同ポリペプチドに由来している、および／または

(G) 前記IL-15ポリペプチドは、配列番号：17に記載のアミノ酸配列または配列番号：17に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、そして前記IL-15R α ポリペプチドは、配列番号：13に記載のアミノ酸配列または配列番号：13に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、任意選択的に、前記IL-15ポリペプチドは、配列番号：122に記載のヌクレオチド配列または配列番号：122に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされており、そして前記IL-15R α ポリペプチドは、配列番号：22に記載のヌクレオチド配列または配列番号：22に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、および／または

10

(H) 前記固形腫瘍は免疫抑制性腫瘍微小環境を含むか、または、前記固形腫瘍は免疫チェックポイント阻害剤療法に対して反応を示さない、
請求項5に記載の組成物。

【請求項7】

(A)

(i) 前記第1のmRNA、前記少なくとも1種の第2のmRNA、及び第3のmRNAを含む第1の分割用量の医薬組成物、及び、

20

(ii) 少なくとも1回の第2の分割用量の前記医薬組成物、
を含み、

前記第1の分割用量及び前記第2の分割用量は、同一投与期間中の単回用量の同量のmRNAと比較して、前記患者における前記mRNAコードポリペプチドへの曝露を増加させることにより、前記患者における前記播種性がんを治療し、任意選択的に、前記第1の分割用量及び前記第2の分割用量は、(a) 単回用量の同量のmRNAと比較して前記治療の抗腫瘍効果を向上させるか、(b) 毒性を抑制して忍容性をより良好にしつつ抗腫瘍効果を向上させるか、または、(c) (a) 及び(b) の組み合わせをもたらす、および／または

(B) それぞれのmRNAは3'非翻訳領域(UTR)を含み、任意選択的に、前記3'UTRは少なくとも1つのマイクロRNA(miR)結合部位を含み、前記少なくとも1つのmiR結合部位はmiR-122結合部位であり、そして前記miR-122結合部位はmiR-122-3p結合部位またはmiR-122-5p結合部位であり、さらに任意選択的に、前記miR-122-5p結合部位は配列番号：83に記載のヌクレオチド配列を含み、そして前記miR-122-3p結合部位は配列番号：74に記載のヌクレオチド配列を含む、または

30

(C) それぞれのmRNAは、配列番号：77または配列番号：121に記載のヌクレオチド配列を含む3'UTRを含む、および／または

(D) それぞれのmRNAは5'非翻訳領域(UTR)を含み、任意選択的に、前記5'UTRは配列番号：12または配列番号：133に記載のヌクレオチド配列を含む、および／または

40

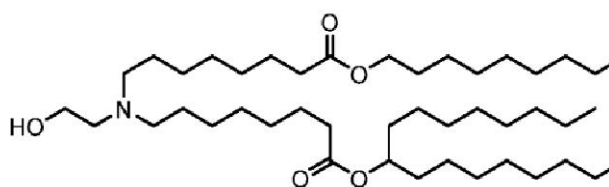
(E) それぞれのmRNAは少なくとも1つの化学修飾を含み、任意選択的に、前記化学修飾は、シュドウリジン、N1-メチルシュドウリジン、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、5-メチルシトシン、2-チオ-1-メチル-1-デアザシュドウリジン、2-チオ-1-メチル-シュドウリジン、2-チオ-5-アザウリジン、2-チオ-ジヒドロシュドウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-シュドウリジン、4-メトキシ-2-チオ-シュドウリジン、4-メトキシ-シュドウリジン、4-チオ-1-メチル-シュドウリジン、4-チオ-シュドウリジン、5-アザウリジン、ジヒドロシュドウリジン、5-メチルウリジン、5-メチルウリジン、5-メトキシウリジン、及び2'-O-メチルウリジンからなる群から選択される、または

50

(F) (i) それぞれのmRNA内のウリジンのうちの少なくとも95%はN1-メチルシュードウリジンであるか、(ii) それぞれのmRNA内のウリジンのうちの少なくとも99%はN1-メチルシュードウリジンであるか、または(iii) それぞれのmRNA内のウリジンのうちの100%はN1-メチルシュードウリジンである、および／または

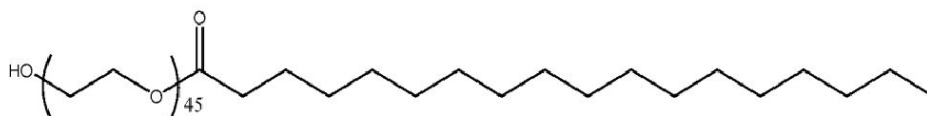
(G) 前記脂質ナノ粒子は、約20～60%のモル比率のイオン性脂質、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率の構造脂質、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含み、任意選択的に、前記イオン性脂質は、例えば、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(DLin-KC2-DMA)、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート(DLin-MC3-DMA)、及びジ((Z)-ノン-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート(L319)からなる群から選択され、さらに任意選択的に、前記イオン性脂質は化合物X

【化1】



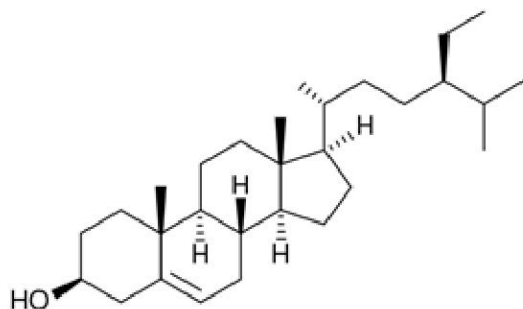
を含み、さらに任意選択的に、前記PEG修飾脂質はPEG-DMGまたは化合物P-428

【化2】



であり、さらに任意選択的に、前記脂質ナノ粒子はフィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含み、さらに任意選択的に、前記ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は18.5%のフィトステロールであり、そして構造脂質の総mol%は38.5%であるか、または前記ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は28.5%のフィトステロールであり、そして構造脂質の総mol%は38.5%であり、さらに任意選択的に、前記フィトステロールは、 β -シトステロール、スティグマステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるか、または前記フィトステロールは、(i) シトステロールまたはその塩もしくはエステル、または(ii) スティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含むか、または前記フィトステロールは β -シトステロール

【化3】



10

20

30

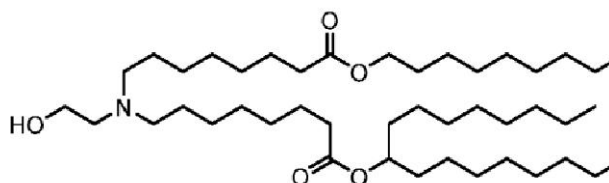
40

50

またはその塩もしくはエステルである、または

(H) 前記脂質ナノ粒子は、約 50 % のモル比率のイオン性脂質、約 10 % のモル比率のリン脂質、約 38.5 % のモル比率のステロール、及び約 1.5 % のモル比率の PEG 修飾脂質を含み、任意選択的に、前記イオン性脂質は、例えば、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン (DLin-KC2-DMA)、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート (DLin-MC3-DMA)、及びジ((Z)-ノン-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート (L319) からなる群から選択され、さらに任意選択的に、前記イオン性脂質は化合物 X

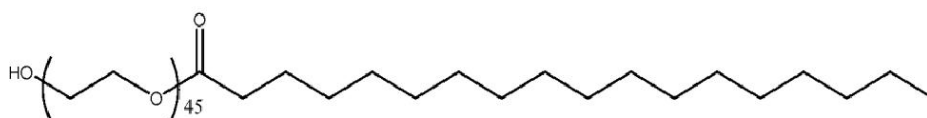
【化 4】



10

を含み、さらに任意選択的に、前記 PEG 修飾脂質は PEG-DMG または化合物 P-428

【化 5】

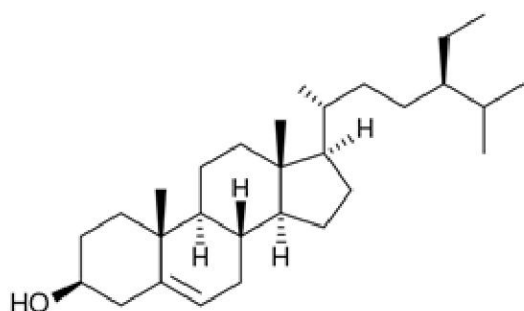


20

であり、さらに任意選択的に、前記脂質ナノ粒子はフィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含み、さらに任意選択的に、前記ステロールまたはその他の構造脂質の mol % は 18.5 % のフィトステロールであり、そして構造脂質の総 mol % は 38.5 % であるか、または前記ステロールまたはその他の構造脂質の mol % は 28.5 % のフィトステロールであり、そして構造脂質の総 mol % は 38.5 % であり、さらに任意選択的に、前記フィトステロールは、β-シトステロール、スティグマステロール、β-シトスタノール、カンベステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるか、または前記フィトステロールは、(i) シトステロールまたはその塩もしくはエステル、または (ii) スティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含むか、または前記フィトステロールは β-シトステロール

30

【化 6】



40

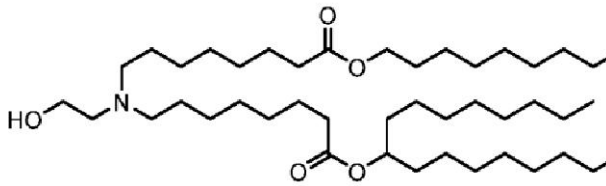
またはその塩もしくはエステルである、または

(I) 前記脂質ナノ粒子は 50 : 38.5 : 10 : 1.5 のモル比率のイオン性脂質 : コレステロール : DSPC : PEG 修飾脂質を含み、任意選択的に、前記イオン性脂質は、例えば、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラ

50

ン (DLin-KC2-DMA)、ジリノレイルーメチル-4-ジメチルアミノブチレート (DLin-MC3-DMA)、及びジ((Z)-ノン-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート (L319) からなる群から選択され、さらに任意選択的に、前記イオン性脂質は化合物 X

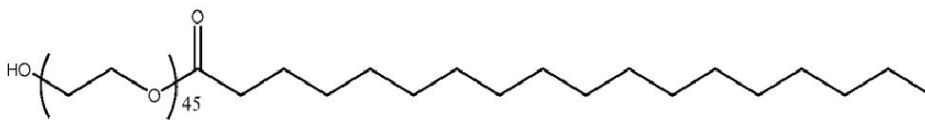
【化 7】



10

を含み、さらに任意選択的に、前記 PEG 修飾脂質は PEG-DMG または化合物 P-428

【化 8】

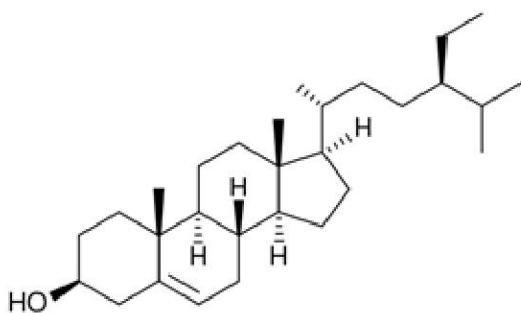


であり、さらに任意選択的に、前記脂質ナノ粒子はフィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含み、さらに任意選択的に、前記ステロールまたはその他の構造脂質の mol% は 18.5% のフィトステロールであり、そして構造脂質の総 mol% は 38.5% であるか、または前記ステロールまたはその他の構造脂質の mol% は 28.5% のフィトステロールであり、そして構造脂質の総 mol% は 38.5% であり、さらに任意選択的に、前記フィトステロールは、 β -シトステロール、スティグマステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるか、または前記フィトステロールは、(i) シトステロールまたはその塩もしくはエステル、または (ii) スティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含むか、または前記フィトステロールは β -シトステロール

【化 9】

20

30

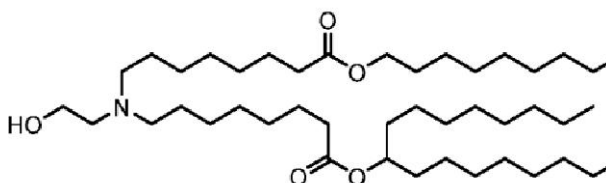


40

またはその塩もしくはエステルである、または

(J) 前記脂質ナノ粒子は、約 20~60% のモル比率の化合物 X

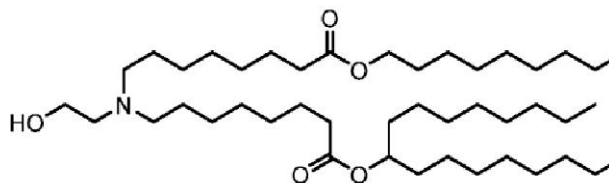
【化 10】



50

、 5 ～ 25 % のモル比率のリン脂質、 25 ～ 55 % のモル比率のコレステロール、 及び 0 . 5 ～ 15 % のモル比率の PEG 修飾脂質を含み、任意選択的に、前記脂質ナノ粒子は、約 50 % のモル比率の化合物 X

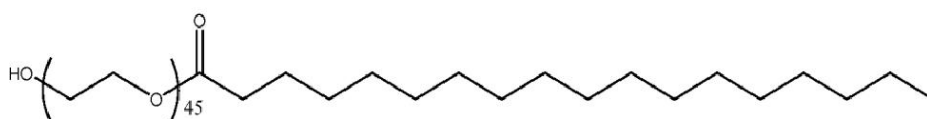
【化 1 1】



10

、 約 10 % のモル比率のリン脂質、 約 38 . 5 % のモル比率のコレステロール、 及び 約 1 . 5 % のモル比率の PEG 修飾脂質を含み、さらに任意選択的に、前記 PEG 修飾脂質は PEG-DMG または化合物 P-428

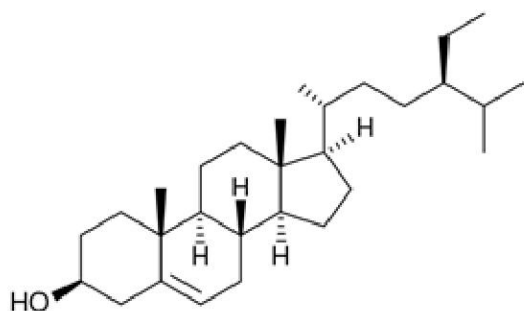
【化 1 2】



であり、さらに任意選択的に、前記脂質ナノ粒子はフィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含み、さらに任意選択的に、前記ステロールまたはその他の構造脂質の mol % は 18 . 5 % のフィトステロールであり、そして構造脂質の総 mol % は 38 . 5 % であるか、または前記ステロールまたはその他の構造脂質の mol % は 28 . 5 % のフィトステロールであり、そして構造脂質の総 mol % は 38 . 5 % であり、さらに任意選択的に、前記フィトステロールは、 β -シトステロール、スティグマステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるか、または前記フィトステロールは、(i) シトステロールまたはその塩もしくはエステル、または (ii) スティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含むか、または前記フィトステロールは β -シトステロール

20

【化 1 3】



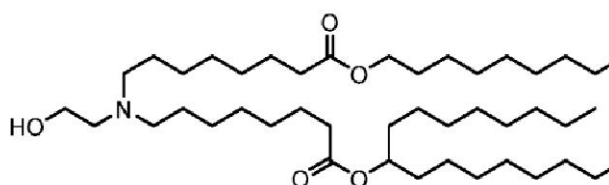
30

40

またはその塩もしくはエステルである、または

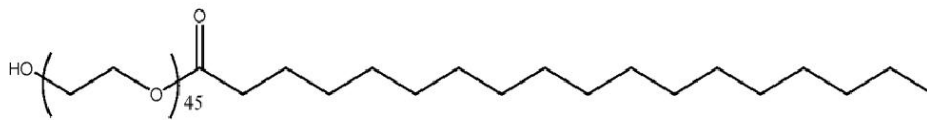
(K) 前記脂質ナノ粒子は、(i) 50 : 38 . 5 : 10 : 1 . 5 のモル比率の化合物 X

【化 1 4】

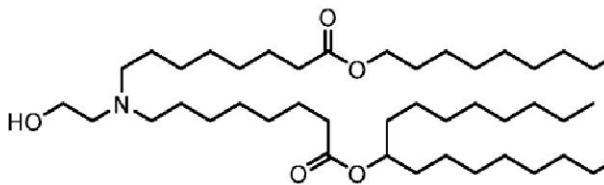


50

：コレステロール：リン脂質：化合物 P - 4 2 8
【化 1 5】

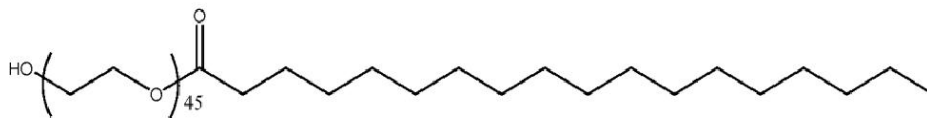


または化合物 X
【化 1 6】



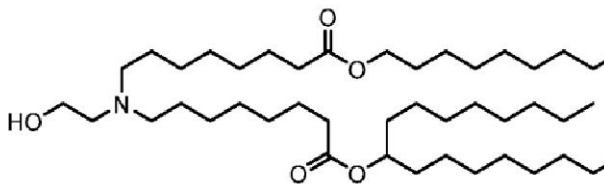
10

：コレステロール：DSPC：化合物 P - 4 2 8
【化 1 7】



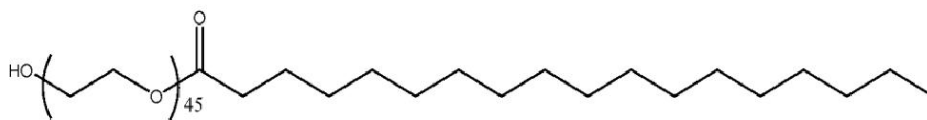
20

、または (i i) 4 0 : 3 8 . 5 : 2 0 : 1 . 5 のモル比率の化合物 X
【化 1 8】

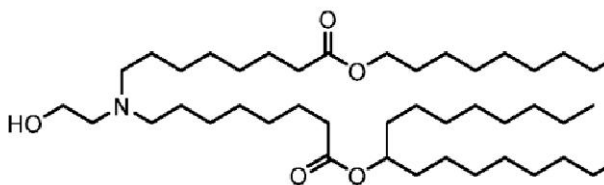


30

：コレステロール：リン脂質：化合物 P - 4 2 8
【化 1 9】



または化合物 X
【化 2 0】

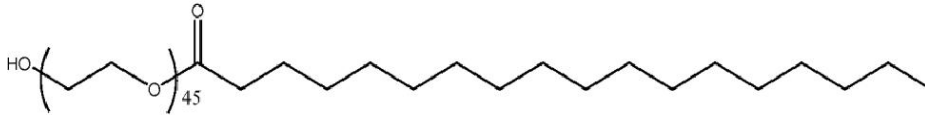


40

：コレステロール：DSPC：化合物 P - 4 2 8

50

【化 2 1】

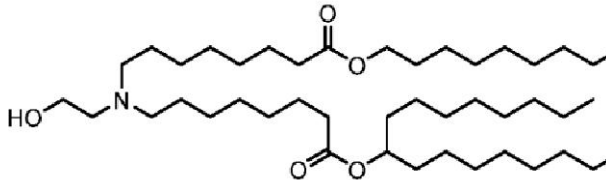


を含む、または

(L) 前記脂質ナノ粒子は、

(i) 約 50 mol % のイオン性脂質であって、前記イオン性脂質は化合物 X

【化 2 2】



である、前記イオン性脂質、

(ii) 約 10 mol % のリン脂質であって、前記リン脂質は DSPC である、前記リン脂質、

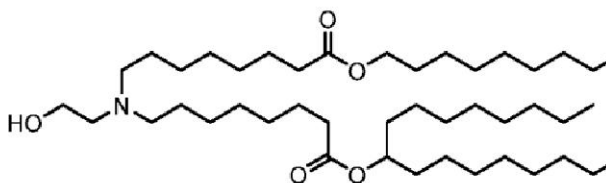
(iii) 約 38.5 mol % の構造脂質であって、前記構造脂質は β -シトステロール及びコレステロールから選択される、前記構造脂質、及び、

(iv) 約 1.5 mol % の PEG 脂質であって、前記 PEG 脂質は PEG-DMG である、前記 PEG 脂質、

を含む、または

(M) 前記脂質ナノ粒子は、50 : 10 : 10 : 28.5 : 1.5 のモル比率の化合物 X

【化 2 3】



: DSPC : コレステロール : β -シトステロール : PEG-DMG を含む、
請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 8】

チェックポイント阻害剤ポリペプチドを投与することを含み、前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドは PD-1、PD-L1、CTLA-4、またはこれらの組み合わせを阻害し、任意選択的に、前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗体または前記抗体をコードする mRNA であり、さらに任意選択的に、前記抗体は、CTLA-4 に特異的に結合する抗 CTLA-4 抗体またはその抗原結合フラグメント、PD-1 に特異的に結合する抗 PD-1 抗体またはその抗原結合フラグメント、PD-L1 に特異的に結合する抗 PD-L1 抗体またはその抗原結合フラグメント、及びこれらの組み合わせであり、さらに任意選択的に、前記抗 PD-L1 抗体はアテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブであり、前記抗 CTLA-4 抗体はトレメリマブまたはイピリマブであり、前記抗 PD-1 抗体はニボルマブまたはペンブロリズマブである、請求項 1 から 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 9】

(i) ヒト OX40L をコードする第 1 の mRNA、及び、

(ii) 第 1 の免疫増強因子をコードする少なくとも 1 種の第 2 の mRNA、及び、

(iii) 第 2 の免疫増強因子をコードする第 3 の mRNA、

を含む脂質ナノ粒子を含む、医薬組成物であって、

前記第1及び第2の免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させ、

(A) 前記第1の免疫増強因子は、ヒトIL-15を含み、前記ヒトIL-15は、

(i) ヒトIL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドであるか；または

(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードする第1のmRNA及びヒトIL-15 R α ポリペプチドをコードする第2のmRNAによってコードされている、
トランス提示ヒトIL-15であり；

(B) 前記第2の免疫増強因子は、テザー型ヒトIL-12を含み、前記テザー型ヒトIL-12は、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドを含む、

医薬組成物。

【請求項10】

(i) イオン性脂質、

(ii) ステロールまたはその他の構造脂質、

(iii) ヒトOX40をコードする第1のmRNA、

(iv) 第1の免疫増強因子をコードする少なくとも1種の第2のmRNA、

(v) 第2の免疫増強因子をコードする第3のmRNA、

(vi) 任意選択的に、非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、及び、

(vii) 任意選択的に、PEG脂質、

を含む脂質ナノ粒子を含む、医薬組成物であって、

(A) 前記第1の免疫増強因子は、ヒトIL-15を含み、前記ヒトIL-15は、

(i) ヒトIL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドであるか；または

(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードする第1のmRNA及びヒトIL-15 R α ポリペプチドをコードする第2のmRNAによってコードされている、
トランス提示ヒトIL-15であり；

(B) 前記第2の免疫増強因子は、テザー型ヒトIL-12を含み、前記テザー型ヒトIL-12は、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドを含む、

医薬組成物。

【請求項11】

(A) 前記OX40Lポリペプチドは、配列番号：1に記載のアミノ酸配列または配列番号：1に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、および／または

(B) 前記OX40Lポリペプチドは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列または配列番号：11に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、

請求項9または10に記載の医薬組成物。

【請求項12】

(A) 前記IL-12ポリペプチドは、任意選択的にペプチドリinkerを介して、IL-12 p35サブユニット(IL-12A)ポリペプチドに機能的に連結したIL-12 p40サブユニット(IL-12B)ポリペプチドを含み、任意選択的に、前記IL-12Bポリペプチドは前記IL-12Aポリペプチドの5'末端または前記ペプチドリinkerの5'末端に位置しているか、または、前記IL-12Aポリペプチドは前記IL-12Bポリペプチドの5'末端または前記ペプチドリinkerの5'末端に位置している、および／または

(B) (i) 前記IL-12ポリペプチド膜貫通ドメインはI型内在性膜タンパク質に由来する膜貫通ドメインを含むか、または(ii) 前記IL-12ポリペプチド膜貫通ド

10

20

30

40

50

メインは、分化抗原群 8 (CD 8) 膜貫通ドメイン、血小板由来増殖因子受容体 (PDGFR) 膜貫通ドメイン、及び分化抗原群 80 (CD 80) 膜貫通ドメインからなる群から選択され、任意選択的に、前記 PDGFR β 膜貫通ドメインは配列番号：42 に記載のアミノ酸配列を含み、前記 CD 8 膜貫通ドメインは配列番号：41 に記載のアミノ酸配列を含み、そして前記 CD 80 膜貫通ドメインは配列番号：43 に記載のアミノ酸配列を含む、および／または

(C) 前記 IL-12 ポリペプチド膜ドメインは細胞内ドメインを含み、(i) 前記細胞内ドメインは前記膜貫通ドメインと同一のポリペプチドに由来している、または前記細胞内ドメインは前記膜貫通ドメインが由来するポリペプチドとは異なるポリペプチドに由来しているか、または (ii) 前記細胞内ドメインは、PDGFR 細胞内ドメイン、トランケート PDGFR 細胞内ドメイン、及び CD 80 細胞内ドメインからなる群から選択され、任意選択的に、前記細胞内ドメインは、(a) 配列番号：48 に記載のアミノ酸配列を含む PDGFR β 細胞内ドメインを含む PDGFR 細胞内ドメインであるか、(b) E570 または G739 においてトランケートされた PDGFR β 細胞内ドメインを含むトランケート PDGFR 細胞内ドメインであるか、または (c) 配列番号：47 に記載のアミノ酸配列を含む CD 80 細胞内ドメインであり、さらに任意選択的に、前記 E570 においてトランケートされたトランケート PDGFR β 細胞内ドメインは配列番号：49 に記載のアミノ酸配列を含み、そして前記 G739 においてトランケートされたトランケート PDGFR β 膜貫通ドメインは配列番号：50 に記載のアミノ酸配列を含む、および／または

(D) 前記 IL-12 ポリペプチド膜ドメインは、

(i) PDGFR β 膜貫通ドメイン及び PDGFR β 細胞内ドメイン、

(ii) PDGFR β 膜貫通ドメイン及び E570 においてトランケートされたトランケート PDGFR β 細胞内ドメイン、

(iii) PDGFR β 膜貫通ドメイン及び G739 においてトランケートされたトランケート PDGFR β 細胞内ドメイン、または、

(iv) CD 80 膜貫通ドメイン及び CD 80 細胞内ドメイン、を含む、および／または

(E) 前記 IL-12 ポリペプチド膜ドメインはペプチドリンカーにより前記 IL-12 A ポリペプチドに機能的に連結しているか、または、前記 IL-12 ポリペプチド膜ドメインはペプチドリンカーにより前記 IL-12 B ポリペプチドに機能的に連結している、および／または

(F) 前記 IL-15 R α ポリペプチドは sushidメインを含み、任意選択的に、前記 IL-15 R α ポリペプチドは細胞内ドメイン及び膜貫通ドメインを更に含み、そして前記細胞内ドメイン及び前記膜貫通ドメインは IL-15 R α ポリペプチドに由来しているかまたは非相同ポリペプチドに由来している、および／または

(G) 前記 IL-15 ポリペプチドは、配列番号：17 に記載のアミノ酸配列または配列番号：17 に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列を含み、そして前記 IL-15 R α ポリペプチドは、配列番号：13 に記載のアミノ酸配列または配列番号：13 に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列を含み、任意選択的に、前記 IL-15 ポリペプチドは、配列番号：122 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：122 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされており、そして前記 IL-15 R α ポリペプチドは、配列番号：22 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：22 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、

請求項 11 に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

(i) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする第 1 の mRNA であって、前記 mRNA は配列番号：11 に記載のヌクレオチド配列を含む、前記第 1 の mRNA、

(i i) ヒトIL-12ポリペプチドをコードする第2のmRNAであって、前記mRNAは配列番号：60に記載のヌクレオチド配列を含む、前記第2のmRNA、

(i i i) ヒトIL-15ポリペプチドをコードする第3のmRNAであって、前記mRNAは配列番号：122に記載のヌクレオチド配列を含む、前記第3のmRNA、及び、

(i v) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードする第4のmRNAであって、前記mRNAは配列番号：22に記載のヌクレオチド配列を含む、前記第4のmRNA、を含む脂質ナノ粒子を含む、医薬組成物。

【請求項14】

(A) それぞれのmRNAは3'非翻訳領域(UTR)を含み、任意選択的に、前記3'UTRは少なくとも1つのマイクロRNA(miR)結合部位を含み、前記少なくとも1つのmiR結合部位はmiR-122結合部位であり、そして前記miR-122結合部位はmiR-122-3p結合部位またはmiR-122-5p結合部位であり、さらに任意選択的に、前記miR-122-5p結合部位は配列番号：83に記載のヌクレオチド配列を含み、そして前記miR-122-3p結合部位は配列番号：74に記載のヌクレオチド配列を含む、または

(B) それぞれのmRNAは、配列番号：77または配列番号：121に記載のヌクレオチド配列を含む3'UTRを含む、および／または

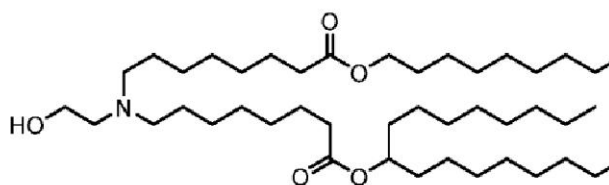
(C) それぞれのmRNAは5'非翻訳領域(UTR)を含み、任意選択的に、前記5'UTRは配列番号：12または配列番号：133に記載のヌクレオチド配列を含む、および／または

(D) それぞれのmRNAは少なくとも1つの化学修飾を含み、任意選択的に、前記化学修飾は、シュードウリジン、N1-メチルシュードウリジン、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、5-メチルシトシン、2-チオ-1-メチル-1-デアザシュードウリジン、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、2-チオ-5-アザウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-シュードウリジン、4-チオ-1-メチル-シュードウリジン、4-チオ-シュードウリジン、5-アザウリジン、ジヒドロシュードウリジン、5-メチルウリジン、5-メチルウリジン、5-メトキシウリジン、及び2'-O-メチルウリジンからなる群から選択される、または

(E) (i) それぞれのmRNA内のウリジンのうちの少なくとも95%はN1-メチルシュードウリジンであるか、(i i) それぞれのmRNA内のウリジンのうちの少なくとも99%はN1-メチルシュードウリジンであるか、または(i i i) それぞれのmRNA内のウリジンのうちの100%はN1-メチルシュードウリジンである、および／または

(F) 前記脂質ナノ粒子は、約20～60%のモル比率のイオン性脂質、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率の構造脂質、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含み、任意選択的に、前記イオン性脂質は、例えば、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(DLin-KC2-DMA)、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート(DLin-MC3-DMA)、及びジ((Z)-ノン-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート(L319)からなる群から選択され、さらに任意選択的に、前記イオン性脂質は化合物X

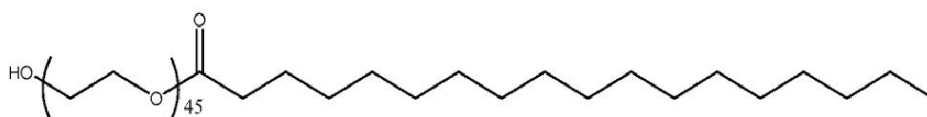
【化24】



を含み、さらに任意選択的に、前記PEG修飾脂質はPEG-DMGまたは化合物P-4

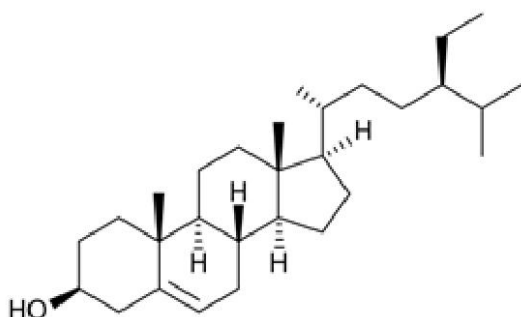
28

【化25】



であり、さらに任意選択的に、前記脂質ナノ粒子はフィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含み、さらに任意選択的に、前記ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は18.5%のフィトステロールであり、そして構造脂質の総mol%は38.5%であるか、または前記ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は28.5%のフィトステロールであり、そして構造脂質の総mol%は38.5%であり、さらに任意選択的に、前記フィトステロールは、 β -シトステロール、スティグマステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるか、または前記フィトステロールは、(i)シトステロールまたはその塩もしくはエステル、または(ii)スティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含むか、または前記フィトステロールは β -シトステロール

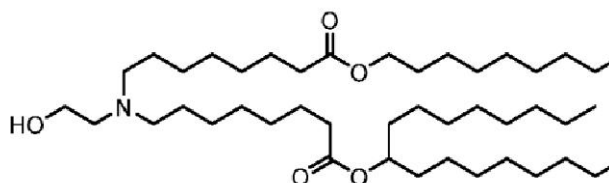
【化26】



またはその塩もしくはエステルである、または

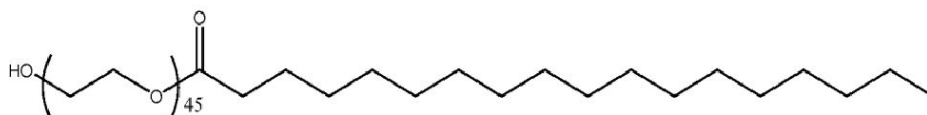
(G) 脂質ナノ粒子は、約50%のモル比率のイオン性脂質、約10%のモル比率のリン脂質、約38.5%のモル比率のステロール、及び約1.5%のモル比率のPEG修飾脂質を含み、任意選択的に、前記イオン性脂質は、例えば、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(DLin-KC2-DMA)、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート(DLin-MC3-DMA)、及びジ((Z)-ノン-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート(L319)からなる群から選択され、さらに任意選択的に、前記イオン性脂質は化合物X

【化27】



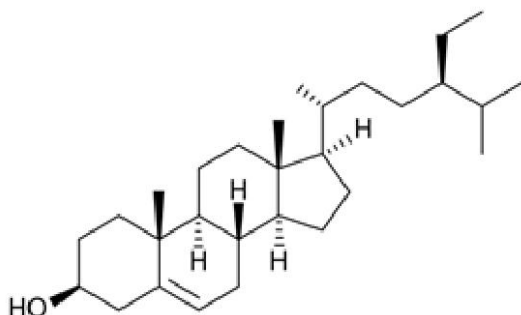
を含み、さらに任意選択的に、前記PEG修飾脂質はPEG-DMGまたは化合物P-428

【化 2 8】



であり、さらに任意選択的に、前記脂質ナノ粒子はフィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含み、さらに任意選択的に、前記ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は18.5%のフィトステロールであり、そして構造脂質の総mol%は38.5%であるか、または前記ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は28.5%のフィトステロールであり、そして構造脂質の総mol%は38.5%であり、さらに任意選択的に、前記フィトステロールは、 β -シトステロール、スティグマステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるか、または前記フィトステロールは、(i)シトステロールまたはその塩もしくはエステル、または(ii)スティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含むか、または前記フィトステロールは β -シトステロール

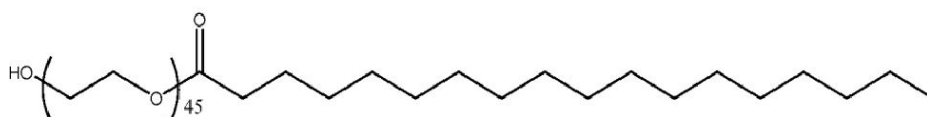
【化 2 9】



またはその塩もしくはエステルである、または

(H) 前記脂質ナノ粒子は50:38.5:10:1.5のモル比率のイオン性脂質:コレステロール:DSPC:PEG修飾脂質を含み、任意選択的に、前記PEG修飾脂質はPEG-DMGまたは化合物P-428

【化 3 0】



であり、さらに任意選択的に、前記脂質ナノ粒子はフィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含み、さらに任意選択的に、前記ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は18.5%のフィトステロールであり、そして構造脂質の総mol%は38.5%であるか、または前記ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は28.5%のフィトステロールであり、そして構造脂質の総mol%は38.5%であり、さらに任意選択的に、前記フィトステロールは、 β -シトステロール、スティグマステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるか、または前記フィトステロールは、(i)シトステロールまたはその塩もしくはエステル、または(ii)スティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含むか、または前記フィトステロールは β -シトステロール

10

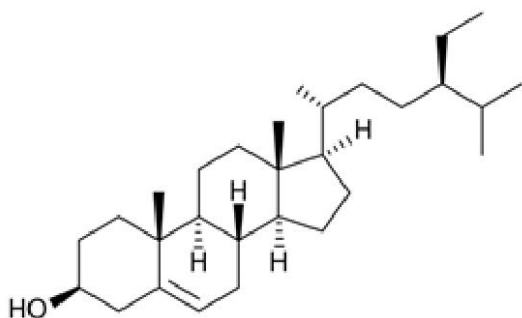
20

30

40

50

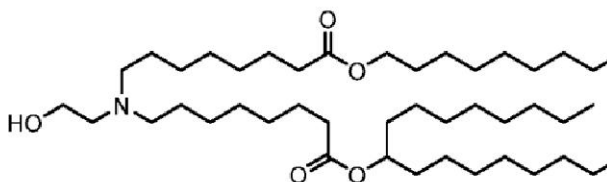
【化 3 1】



10

またはその塩もしくはエステルであり、さらに任意選択的に、前記イオン性脂質は、例えば、2, 2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1, 3]-ジオキソラン (D L i n-K C 2-DMA)、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート (D L i n-M C 3-DMA)、及びジ((Z)-ノン-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート (L 3 1 9) からなる群から選択され、さらに任意選択的に、前記イオン性脂質は化合物 X

【化 3 2】

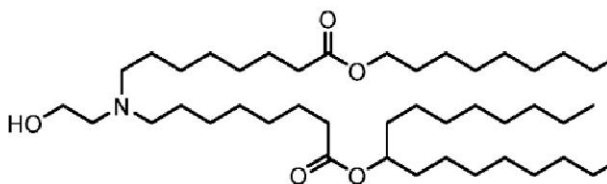


20

を含む、または

(I) 前記脂質ナノ粒子は、約 20 ~ 60 % のモル比率の化合物 X

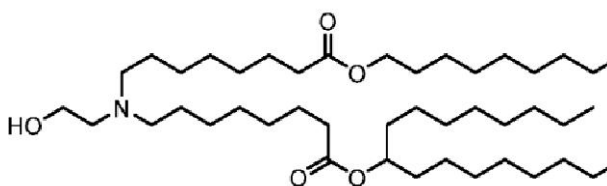
【化 3 3】



30

、5 ~ 25 % のモル比率のリン脂質、25 ~ 55 % のモル比率のコレステロール、及び 0 . 5 ~ 15 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含み、任意選択的に、前記脂質ナノ粒子は、約 50 % のモル比率の化合物 X

【化 3 4】

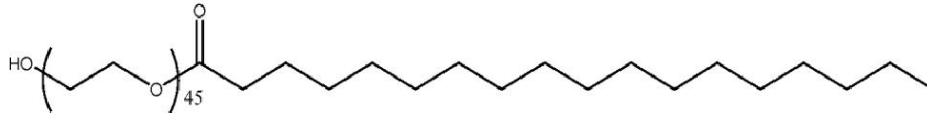


40

、約 10 % のモル比率のリン脂質、約 38 . 5 % のモル比率のコレステロール、及び約 1 . 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含み、さらに任意選択的に、前記 P E G 修飾脂質は P E G-D M G または化合物 P-428

50

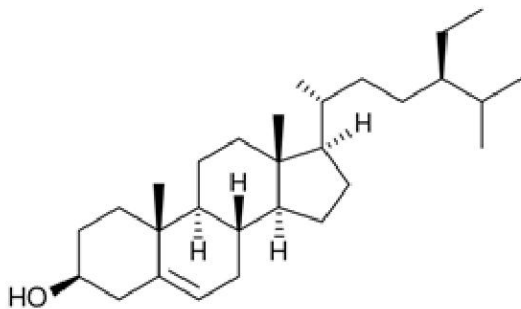
【化 3 5】



であり、

さらに任意選択的に、前記脂質ナノ粒子はフィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含み、さらに任意選択的に、前記ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は18.5%のフィトステロールであり、そして構造脂質の総mol%は38.5%であるか、または前記ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は28.5%のフィトステロールであり、そして構造脂質の総mol%は38.5%であり、さらに任意選択的に、前記フィトステロールは、 β -シトステロール、スティグマステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるか、または前記フィトステロールは、(i) シトステロールまたはその塩もしくはエステル、または(ii) スティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含むか、または前記フィトステロールは β -シトステロール

【化 3 6】



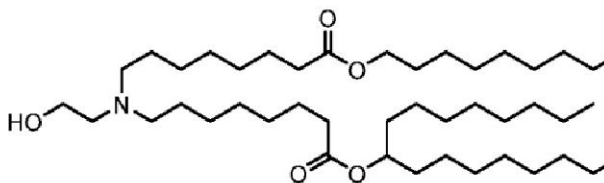
またはその塩もしくはエステルである、

請求項 9 から 13 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

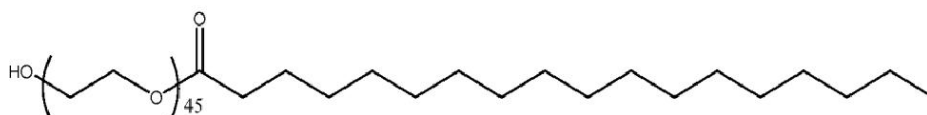
(A) 前記脂質ナノ粒子は、(i) 50 : 38.5 : 10 : 1.5 のモル比率の化合物 X

【化 3 7】



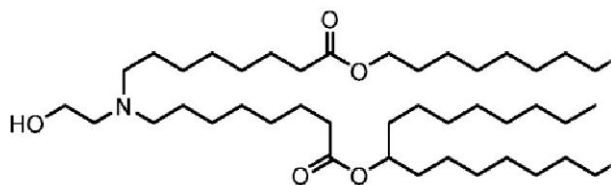
：コレステロール：リン脂質：化合物 P - 428

【化 3 8】



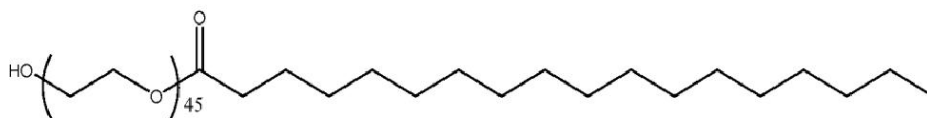
または化合物 X

【化 3 9】



：コレステロール：DSPC：化合物P-428

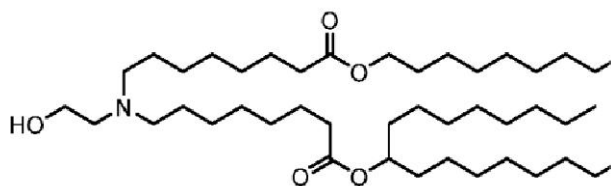
【化 4 0】



10

、または (i i) 40 : 38.5 : 20 : 1.5 のモル比率の化合物 X

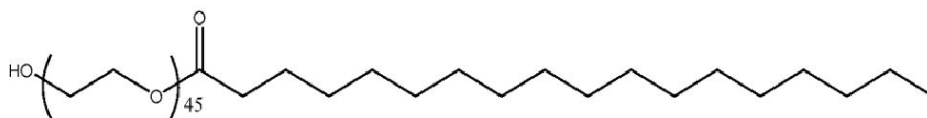
【化 4 1】



20

：コレステロール：リン脂質：化合物P-428

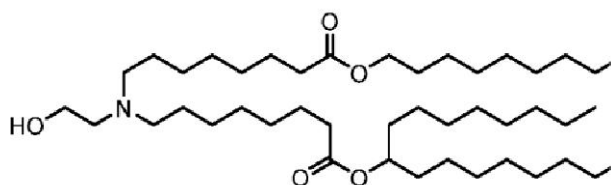
【化 4 2】



または化合物 X

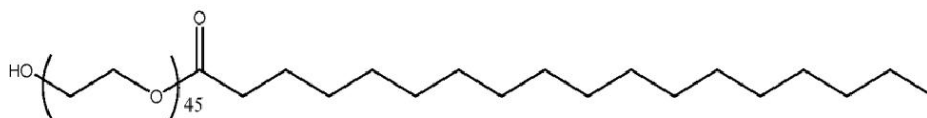
30

【化 4 3】



：コレステロール：DSPC：化合物P-428

【化 4 4】



40

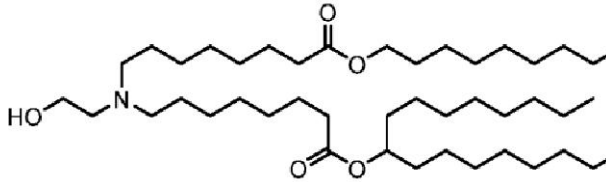
を含む、または

(B) 前記脂質ナノ粒子は、

(i) 約 50 mol % のイオン性脂質であって、前記イオン性脂質は化合物 X

50

【化 4 5】



である、前記イオン性脂質、

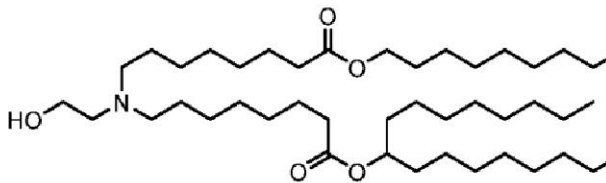
(i i) 約 10 mol % のリン脂質であって、前記リン脂質は DSPC である、前記リン脂質、

(i i i) 約 38.5 mol % の構造脂質であって、前記構造脂質は β -シトステロール及びコレステロールから選択される、前記構造脂質、及び、

(i v) 約 1.5 mol % の PEG 脂質であって、前記 PEG 脂質は PEG-DMG である、前記 PEG 脂質、
を含む、または

(C) 前記脂質ナノ粒子は、50 : 10 : 10 : 28.5 : 1.5 のモル比率の化合物 X

【化 4 6】



: DSPC : コレステロール : β -シトステロール : PEG-DMG を含む、
請求項 9 から 14 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

(A) 腫瘍内送達用に製剤化される、または

(B) 静脈内送達用に製剤化される、または

(C) 前記 mRNA は同一脂質ナノ粒子内に共配合されており、そして前記ヒト OX40 L をコードする mRNA、前記テザー型 ヒト IL-12 をコードする mRNA、及び前記ヒト IL-15 をコードする mRNA は、1 : 1 : 1 の重量（質量）比率で共配合されており、任意選択的に、前記ヒト IL-15 をコードする mRNA は、ヒト IL-15 及びヒト IL-15 R α をコードする 2 種の mRNA によってコードされており、そして前記 2 種の mRNA は 1 : 1 のモル比率で共配合されている、

請求項 9 から 15 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2018 年 9 月 14 日出願の米国仮出願連番第 62 / 731, 335 号、2018 年 11 月 20 日出願の米国仮出願連番第 62 / 770, 024 号、及び 2019 年 7 月 31 日出願の米国仮出願第 62 / 881, 322 号の利益を主張する。上で参照した出願の全ての内容はこの参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

がんは体内における無秩序な細胞分裂及び増殖を特徴とする疾患である。米国では、全女性のおおよそ 3 分の 1 及び全男性のおおよそ半数が自身の一生中にがんを経験する。がんは一般的に、2 つのカテゴリー、固形腫瘍及び播種性がんに分類することができる。それぞれのタイプは、有効な治療アプローチを開発するための異なる検討を必要とする。

【0003】

10

20

30

40

50

播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などは、かなりの集団のがんに相当し、米国内だけで毎年30,000件を超える新たな症例が診断されており、その5年生存率はわずかに約20%である。骨髄異形成症候群(MDS)の症例は約60,000~170,000件あり、急性骨髄性白血病(AML)へと進行する場合がある。播種性がん、例えば、AMLを含む骨髄性悪性腫瘍などのための治療選択肢は限られており、従来のアプローチ、例えば、化学療法剤及び／または免疫調節サイトカインまたは免疫調節抗体などはAMLに対してあまり有効ではない。例えば、インターロイキン-2治療薬単独では、AML患者の寛解維持療法において有効ではないことが判明している(Buyse, M. et al. (2000) Blood 117:26)。同様に、薬剤リノミドは自家骨髄移植後のAML患者においてプラセボを超える効果を示さないことが判明している(Simonsson, B. et al. (2011) Bone Marrow Transpl. 25:1121)。様々な治療選択肢があるにもかかわらず、再発性または難治性のAMLを有する患者の予後は概ね不良である。

【0004】

固形腫瘍の治療としては、外科手術、化学療法及び／または放射線療法が挙げられる。外科手術では、腫瘍の大部分または更に浸潤器官を切除する。化学療法は、がん細胞を破壊する薬剤の使用を含む。化学療法で治療可能ながんもあれば、そうではないがんもある。化学療法剤は、がん細胞だけでなくその他の急速に分裂している正常細胞、例えば、胃腸管、骨髄、毛嚢、及び生殖系における正常細胞などにも影響を及ぼす場合があり、それにより数種類の副作用がもたらされる場合がある。放射線療法は、がんを治療するX線の使用を含む。放射線療法で治療可能なものもあれば、そうではないものもある。現在用いられている標準治療、例えば、化学療法及び放射線療法などがもたらす多くの望ましくない結果に対し、遺伝子療法及び免疫療法のアプローチは、疾患を診断、治療、及び管理するためのよりのめを絞ったアプローチを提供する。それゆえ、固形腫瘍及び播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍、例えば、AMLなどを含むがんを治療するための優れた治療アプローチが求められている。

【発明の概要】

【0005】

本開示は、対象におけるがんを治療するための方法及び組成物に関する。本開示は少なくとも部分的に、T細胞活性化、NK細胞活性化、またはT細胞活性化とNK細胞活性化の両方を誘導する1種または複数種の細胞結合サイトカイン(例えば、IL-12及びIL-15)をコードするmRNA及び1種または複数種の細胞結合共刺激分子(例えば、OX40L)をコードするmRNAの組み合わせを投与することにより、固形腫瘍及び播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍(例えば、AML)などにおける抗腫瘍効果がもたらされるという発見に基づいている。2種の細胞結合サイトカイン(例えば、IL-12及びIL-15)をコードするmRNA及び共刺激分子(例えば、OX40L)をコードするmRNAの組み合わせを投与することにより抗腫瘍効果が向上することもまた発見された。mRNAの組み合わせは、T細胞活性化、NK細胞活性化、またはT細胞活性化とNK細胞活性化の両方を効果的に誘導するための様々なシグナルをもたらす。

【0006】

更に、本開示は、トランス提示IL-15をコードするmRNAを提供する。IL-15は、その高親和性受容体であるIL-15R α に結合した状態で存在する独特なサイトカインである。IL-15/IL-15R α 複合体は、細胞表面を往復し、 β/γ C受容体複合体を介して相対する細胞を刺激する。それゆえ、理論に束縛されるものではないが、IL-15及びIL-15R α をコードするmRNA(共に、例えば、IL-15R α に機能的に連結したIL-15のポリペプチド融合物をコードする単一のmRNAとして、または別々に、例えば、IL-15及びIL-15R α をそれぞれがコードする2種の独立したmRNAとして)は、トランス提示をもたらすことにより、 β/γ C受容体複合体を有する相対する細胞を刺激する。

【0007】

理論に束縛されるものではないが、1種または複数種の細胞結合サイトカイン及び共刺激分子をコードするmRNAの組み合わせは、それら細胞結合サイトカイン及び共刺激分子がより強力ながん細胞：免疫細胞接合部を形成して、それらが相互作用する細胞（例えば、T細胞及びNK細胞）の高い長期的または持続的な活性化をもたらす能力により、可溶性サイトカイン（複数可）または同一サイトカインの分泌形態と比較して、固形腫瘍及び、骨髄性悪性腫瘍を含む播種性がんに対する高い抗腫瘍効果をもたらす。T細胞の活性化には、3つのシグナル：MHCのペプチドとの相互作用がもたらすシグナル1、共刺激分子、例えば、OX40Lなどがもたらすシグナル2、及び、サイトカイン、例えば、IL-12及びIL-15などを含む免疫増強分子がもたらすシグナル3が必要となる。T細胞が促進する抗腫瘍免疫を確立するためには、3つ全てのシグナルが必要となる。しかしながら、腫瘍微小環境では、T細胞を活性化して抗腫瘍免疫応答を増強するために必要なシグナルがもたらされない場合が多い。細胞（例えば、白血病細胞または抗原提示細胞、例えば、樹状細胞など）によるmRNAの発現によって、共刺激分子、例えば、ヒトOX40LなどをコードするmRNAを、1種または複数種の細胞結合免疫増強分子をコードするmRNA、例えば、シグナル3をもたらす1種または複数種の細胞結合サイトカイン（例えば、ヒトIL-12、ヒトIL-15／IL-15R α ）をコードするmRNAと組み合わせて、腫瘍微小環境中のT細胞に供給することにより、T細胞を活性化させて抗腫瘍免疫応答を誘導する。更に、mRNAを発現する細胞へのサイトカイン及び共刺激分子の曝露を制限することにより、全身曝露、及び潜在的に望ましくない毒性が回避される。

【0008】

AMLについては、白血病細胞が共刺激分子CD80及びCD86の発現を抑制及び／または下方制御していることが知られている（Yahoe, S. and Chen, L., Eur J. Immunol. 2013, 43 (3): 576-579; 及び Hirano N, et al., Leukemia. 1996, 10: 1168-1176）。ヒトOX40LをコードするmRNAを投与することにより、例えば、共刺激シグナルが存在していないまたは存在していても下方制御されていることがある樹状細胞などに強力な共刺激シグナルをもたらして、既存の共刺激シグナルを増強または向上させて、T細胞とOX40LをコードするmRNAを発現する白血病細胞及び／または樹状細胞の間のより強力な接合部をもたらして、T細胞による抗腫瘍免疫応答を誘導することができる。本明細書に記載するとおり、共刺激分子をコードするmRNA（例えば、OX40LをコードするmRNA）の量を10分の1に低下させているにもかかわらず、共刺激分子を用いない治療と比較して強力な抗腫瘍効果がもたらされ、その結果、本明細書に記載の理論が証明された。

【0009】

重要なことに、1種または複数種の細胞結合サイトカイン（例えば、ヒトIL-12、ヒトIL-15／IL-15R α ）をコードするmRNA及び共刺激分子（例えば、ヒトOX40L）をコードするmRNAの組み合わせを全身投与することにより、造血組織を移植した播種性がんモデルにおいて、AML患者において認められるのと類似した様式で持続的な抗がんメモリー応答が誘導された。このモデルでは、抗がん免疫応答により疾患の再燃及び再発が予防された。この作用は、播種性がんモデルにおいて初めて実証された、mRNA治療薬の投与による抗がんメモリー応答であると考えられる。

【0010】

本明細書において更に実証されたのは、分割投与レジメンの予想外な効果である。複数回の用量、すなわち、3回以上の用量に分割され、同一の治療期間中に毎週の単回用量で投与された同一用量のmRNAが、播種性がんモデルにおいて、単回用量と比較して、持続的な抗がんメモリー応答の誘導を含む高い抗がん効果をもたらすことが発見された。理論に束縛されるものではないが、このような分割投与により、対象におけるmRNAコードポリペプチドへのより多いまたは高い曝露がもたらされ、その結果として、毒性を抑制して忍容性をより良好にしつつ抗腫瘍効果が向上し得る。

【0011】

本明細書に記載するとおり、体内分布試験により、mRNA封入脂質ナノ粒子が白血病細胞だけでなく樹状細胞を含む様々な免疫細胞に取り込まれていることが示された。これらの試験は、細胞結合サイトカインをコードする1種または複数種のmRNA及びヒトOX40Lなどの共刺激分子をコードするmRNAの組み合わせ療法が、かなりの骨髄集団を有するがん、例えば、AMLなどに加えて多発性骨髄腫及びB細胞性白血病を含む様々な播種性がんを治療するのに有用となり得ることを示唆している。

【0012】

本明細書に記載の組み合わせ療法はまた、様々な腫瘍微小環境を有する動物モデルの固形腫瘍における抗腫瘍免疫を確立するのに効果的であることが示された。理論に束縛されるものではないが、免疫チェックポイント抵抗性腫瘍モデル及び免疫抑制性腫瘍モデルにおいて認められた抗腫瘍効果が、細胞結合サイトカインをコードする1種または複数種のmRNA及びヒトOX40Lなどの共刺激分子をコードするmRNAの投与後におけるT細胞、NK細胞、NKT細胞、及び樹状細胞活性化の効果を証明しているものと考えられる。本明細書で開示するとおり、1種または複数種の細胞結合サイトカイン（例えば、ヒトIL-12、ヒトIL-15/IL-15R α ）をコードするmRNA及び共刺激分子（例えば、ヒトOX40L）をコードするmRNAの投与により、マウス及び非ヒト霊長類（NHP）における自然免疫及び適応免疫の細胞集団が活性化及び増加することに加え、NHPにおける免疫活性化サイトカイン（例えば、IFN- γ 及びCXCL）の発現が誘導される。本明細書で開示するとおり、mRNAの組み合わせを投与した際にDC細胞集団が活性化及び増殖したが、異常DC機能を有するAMLの動物モデルにおける抗腫瘍効果にとって機能性DCは必要ではなかった。CD8+T細胞、CD4+T細胞、またはIFN- γ を枯渇させた動物を用いた実験が疾患負荷量の増加及び生存率の低下をもたらしたことから、細胞結合サイトカインをコードする1種または複数種のmRNA及びヒトOX40Lなどの共刺激分子をコードするmRNAの投与が関与する抗腫瘍効果には、CD8+T細胞、CD4+T細胞に加えてIFN- γ が必要である。

【0013】

更に、組み合わせ療法薬の固形腫瘍への腫瘍内投与により、遠い未治療腫瘍に対して効果的な抗腫瘍免疫応答を示すアブスコパル効果が誘導されることが判明した。

【0014】

それゆえ、本明細書では、細胞結合サイトカインをコードする2種またはそれ以上のmRNA（複数可）及び特定の免疫細胞を活性化させることによりがんに対する免疫応答を増強させる共刺激分子をコードするmRNAの組み合わせを提供することによる、がん（例えば、固形腫瘍及び／または播種性がん）を治療するための組成物及び方法を提供する。骨髄性悪性腫瘍、例えば、AMLなどを含むがんは、様々なメカニズムにより免疫応答を回避することが知られている。本開示の組成物及び方法は、がん、例えば、固形腫瘍及び／または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍、例えば、AMLなどに対する自然免疫を活性化させる、適応免疫を活性化させる、及び／またはメモリー応答を活性化させるのに有用である。一部の態様では、mRNAは修飾mRNAである。

【0015】

それゆえ、一部の態様では、本開示は、

(i) ヒトOX40Lをコードする第1のmRNA、及び、

(ii) 免疫増強因子をコードする少なくとも1種の第2のmRNA（免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである）、

を患者に投与することを含む、ヒト患者におけるがんを治療するための方法を提供する。

【0016】

一部の態様では、本開示は、

(i) ヒトOX40Lをコードする第1のmRNA、及び、

(ii) 免疫増強因子をコードする少なくとも1種の第2のmRNA（免疫増強因子は

10

20

30

40

50

T細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである)、

を患者に投与することを含む、ヒト患者におけるがんを治療するための方法を提供し、

第1のmRNA及び少なくとも1種の第2のmRNAは、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。

【0017】

上記または関連する態様のいずれかでは、少なくとも1種の第2のmRNAは、

(i) トランス提示ヒトIL-15をコードするmRNA、

(ii) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、または、

(iii) トランス提示ヒトIL-15をコードするmRNA、及び膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

である。

【0018】

一部の態様では、本開示は、

(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、

(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(iii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、及び、

(iv) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

からなる群から選択される少なくとも2種のmRNAを投与することを含む、がんの治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法を提供する。

【0019】

上記または関連する態様のいずれかでは、がんは播種性がんであり、第1のmRNA及び少なくとも1種の第2のmRNAは全身投与される。一部の態様では、播種性がんは血液がんである。一部の態様では、播種性がんは骨髄性悪性腫瘍である。一部の態様では、骨髄性悪性腫瘍は、骨髄異形成症候群(MDS)、骨髄増殖性疾患(MPD)、及び急性骨髄性白血病(AML)からなる群から選択される。その他の態様では、がんは固形腫瘍であり、第1のmRNA及び少なくとも1種の第2のmRNAは腫瘍内投与される。

【0020】

その他の態様では、本開示は、

(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、

(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(iii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、及び、

(iv) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

からなる群から選択される少なくとも2種のmRNAを投与する(例えば、腫瘍内で)ことを含む、固形腫瘍の治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法を提供する。

【0021】

一部の態様では、本開示は、

(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、

(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(iii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、及び、

10

20

30

40

50

(iv) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、
からなる群から選択される少なくとも 2 種の mRNA を投与する（例えば、静脈内注射により、例えば、全身的に）ことを含む、播種性がんの治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法を提供する。

【0022】

一部の態様では、本開示は、

(i) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA、

(ii) ヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、

(iii) ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA 及びヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び、

(iv) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、
からなる群から選択される少なくとも 2 種の mRNA を投与する（例えば、静脈内注射により、例えば、全身的に）ことを含む、骨髄性悪性腫瘍の治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法を提供する。

【0023】

上記または関連する態様のいずれかでは、少なくとも 2 種の mRNA は、

(i) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、

(ii) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA、ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA、

(iii) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、

(iv) ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、ヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、

(v) ヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、

(vi) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA、ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、ヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、及び、

(vii) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA、ヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、

からなる群から選択される。

【0024】

一部の態様では、本開示は、

(i) ヒト OX40 L をコードする第 1 の mRNA、及び、

(ii) 免疫増強因子をコードする少なくとも 1 種の第 2 の mRNA（免疫増強因子は T 細胞、NK 細胞、または T 細胞と NK 細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである）、

を患者に全身投与することを含む、ヒト患者における播種性がんを治療するための方法を提供し、

第 1 の mRNA 及び第 2 の mRNA は、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の態様では、方法は、第 2 の免疫増強因子をコードする第 3 の mRNA を投

10

20

30

40

50

与することを含み、免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである。一部の態様では、第2のmRNAは、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードし、第3のmRNAはトランス提示ヒトIL-15をコードする。

【0025】

その他の態様では、本開示は、脂質ナノ粒子(LNP)及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を患者に全身投与することを含む、ヒト患者における播種性がんを治療するための方法を提供し、LNPは、

(i) ヒトOX40Lをコードする第1のmRNA、及び、

(ii) 免疫増強因子をコードする少なくとも1種の第2のmRNA (免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである)、

を含む。一部の態様では、方法は、第2の免疫増強因子をコードする第3のmRNAを投与することを含み、免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである。一部の態様では、第2のmRNAは、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードし、第3のmRNAはトランス提示ヒトIL-15をコードする。

【0026】

更なる態様では、本開示は、

(i) ヒトOX40Lをコードする第1のmRNA及び免疫増強因子をコードする少なくとも1種の第2のmRNAを含む第1の分割用量の医薬組成物 (免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである)、及び、

(ii) 少なくとも1回の第2の分割用量の医薬組成物、を含む投与レジメンを患者に実施することを含む、ヒト患者における播種性がんを治療するための方法を提供し、

第1の分割用量及び第2の分割用量は、同一投与期間中の単回用量の同量のmRNAと比較して、患者におけるmRNAコードポリペプチドへの曝露を増加させることにより、患者における播種性がんを治療する。一部の態様では、第1の分割用量及び第2の分割用量は、単回用量の同量のmRNAと比較して治療の抗腫瘍効果を向上させる。一部の態様では、第1の分割用量及び第2の分割用量は、毒性を抑制して忍容性をより良好にしつつ抗腫瘍効果を向上させる。一部の態様では、方法は、第2の免疫増強因子をコードする第3のmRNAを投与することを含み、免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである。一部の態様では、第2のmRNAは、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードし、第3のmRNAはトランス提示ヒトIL-15をコードする。

【0027】

上記または関連する態様のいずれかでは、細胞結合サイトカインは、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドである。その他の態様では、細胞結合サイトカインはトランス提示ヒトIL-15である。一部の態様では、トランス提示ヒトIL-15は、ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドである。その他の態様では、トランス提示ヒトIL-15は、ヒトIL-15ポリペプチドをコードする第1のmRNA及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードする第2のmRNAによってコードされている。

【0028】

上記または関連する態様のいずれかでは、mRNAは同一脂質ナノ粒子(LNP)内に配合される。上記または関連する態様のいずれかでは、それぞれのmRNAは同一LNP内に配合される。その他の態様では、それぞれのmRNAは別々のLNP内に配合される。

【0029】

一部の態様では、本開示のmRNAは、同一のまたは異なるLNP (複数可) 内に配合

10

20

30

40

50

されており、LNPは、約20～60%のモル比率のイオン性アミノ脂質、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率の構造脂質、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含む。更にその他の態様では、LNPは、約50%のモル比率のイオン性脂質、約10%のモル比率のリン脂質、約38.5%のモル比率のステロール、及び約1.5%のモル比率のPEG修飾脂質を含む。更なる態様では、LNPは、50：38.5：10：1.5のモル比率のイオン性脂質：コレステロール：DSPC：PEG修飾脂質を含む。

【0030】

一部の態様では、本開示のmRNAは同一のまたは異なるLNP（複数可）内に配合されており、LNPは、約30mol%～約60mol%のイオン性脂質、約0mol%～約30mol%の非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、約18.5mol%～約48.5mol%のステロールまたはその他の構造脂質、及び約0mol%～約10mol%のPEG脂質を含む。その他の態様では、LNPは、約50mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、約38.5mol%のステロールまたはその他の構造脂質、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。

【0031】

上記または関連する態様のいずれかでは、イオン性脂質は、例えば、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキサラン(DLin-KC2-DM A)、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート(DLin-MC3-DM A)、及びジ((Z)-ノン-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート(L319)からなる群から選択される。一部の態様では、イオン性脂質は化合物Xを含む。

【0032】

上記または関連する態様のいずれかでは、LNPは、約20～60%のモル比率の化合物X、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率のコレステロール、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含む。一部の態様では、LNPは、約50%のモル比率の化合物X、約10%のモル比率のリン脂質、約38.5%のモル比率のコレステロール、及び約1.5%のモル比率のPEG修飾脂質を含む。

【0033】

上記または関連する態様のいずれかでは、PEG修飾脂質はPEG-DMGまたは化合物P-428である。一部の態様では、LNPは、50：38.5：10：1.5のモル比率の化合物X：コレステロール：リン脂質：化合物P-428または化合物X：コレステロール：DSPC：化合物P-428を含む。その他の態様では、LNPは、40：38.5：20：1.5のモル比率の化合物X：コレステロール：リン脂質：化合物P-428または化合物X：コレステロール：DSPC：化合物P-428を含む。

【0034】

上記または関連する態様のいずれかでは、LNPは、フィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含む。一部の態様では、フィトステロールは、 β -シトステロール、スティグマステロール、 β -シトスタノール、カンベステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。一部の態様では、フィトステロールは、(i)シトステロールまたはその塩もしくはエステル、または(ii)スティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含む。一部の態様では、フィトステロールは、 β -シトステロール

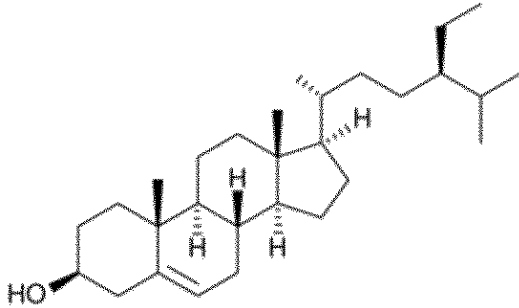
10

20

30

40

50



またはその塩もしくはエステルである。

【0035】

その他の態様では、フィトステロールまたはその塩もしくはエステルは、 β -シトステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、化合物S-140、化合物S-151、化合物S-156、化合物S-157、化合物S-159、化合物S-160、化合物S-164、化合物S-165、化合物S-170、化合物S-173、化合物S-175、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0036】

一部の態様では、ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は18.5%のフィトステロールであり、構造脂質の総mol%は38.5%である。その他の態様では、ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は28.5%のフィトステロールであり、構造脂質の総mol%は38.5%である。

【0037】

一部の態様では、本開示のmRNAは、同一のまたは異なるLNP（複数可）内に配合されており、LNPは、50:10:10:28.5:1.5のモル比率の化合物X:DSPC:コレステロール: β -シトステロール:PEG-DMGを含む。一部の態様では、本開示のmRNAは、同一のまたは異なるLNP（複数可）内に配合されており、LNPは、50:10:20:18.5:1.5のモル比率の化合物X:DSPC:コレステロール: β -シトステロール:PEG-DMGを含む。上記または関連する態様のいずれかでは、がんは播種性がんである。一部の態様では、播種性がんは血液がんである。一部の態様では、播種性がんは骨髄性悪性腫瘍である。

【0038】

上記または関連する態様のいずれかでは、骨髄性悪性腫瘍は、骨髄異形成症候群(MDS)、骨髄増殖性疾患(MPD)、及び急性骨髄性白血病(AML)からなる群から選択される。一部の態様では、骨髄性悪性腫瘍はAMLである。

【0039】

上記または関連する態様のいずれかでは、がんは固形腫瘍である。一部の態様では、固形腫瘍はチェックポイント阻害剤療法に対して反応を示さない。一部の態様では、固形腫瘍は免疫抑制性腫瘍微小環境を含む。

【0040】

上記または関連する態様のいずれかでは、少なくとも2種のmRNAは腫瘍内投与される。一部の態様では、少なくとも2種のmRNAは静脈内投与される。一部の態様では、mRNAは同一LNP内に封入されており、腫瘍内注射に好適な液剤中に配合される。一部の態様では、mRNAは同一LNP内に封入されており、静脈内注射に好適な液剤中に配合される。その他の態様では、それぞれのmRNAは1種または複数種の別々のLNP内に封入されており、腫瘍内注射に好適な液剤中に配合される。その他の態様では、それぞれのmRNAは1種または複数種の別々のLNP内に封入されており、静脈内注射に好適な液剤中に配合される。

【0041】

上記または関連する態様のいずれかでは、がん（例えば、固形腫瘍または播種性がん、

例えば、骨髄性悪性腫瘍など）を治療するための方法は、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを投与することを更に含む。一部の態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドはPD-1、PD-L1、CTLA-4、またはこれらの組み合わせを阻害する。一部の態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗体または抗体をコードするmRNAである。一部の態様では、抗体は、CTLA-4に特異的に結合する抗CTLA-4抗体またはその抗原結合フラグメント、PD-1に特異的に結合する抗PD-1抗体またはその抗原結合フラグメント、PD-L1に特異的に結合する抗PD-L1抗体またはその抗原結合フラグメント、及びこれらの組み合わせである。一部の態様では、抗PD-L1抗体はアテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブである。一部の態様では、抗CTLA-4抗体はトレメリムマブまたはイビリムマブである。一部の態様では、抗PD-1抗体はニボルマブまたはペンブロリズマブである。

10

【0042】

その他の態様では、本開示は、

(i) ヒトOX40Lをコードする第1のmRNA、及び、

(ii) 免疫増強因子をコードする少なくとも1種の第2のmRNA（免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである）、

を含むLNPを提供する。

【0043】

その他の態様では、本開示は、

(i) イオン性脂質、

(ii) ステロールまたはその他の構造脂質、

(iii) ヒトOX40をコードする第1のmRNA、

(iv) 免疫増強因子をコードする少なくとも1種の第2のmRNA（免疫増強因子はT細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである）、

(v) 任意選択的に、非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、及び、

(vi) 任意選択的に、PEG脂質、

を含むLNPを提供する。

20

【0044】

一部の態様では、本開示は、少なくとも2種の封入メッセンジャーRNA（mRNA）を含むLNPを提供し、少なくとも2種のmRNAは、

(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、

(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(iii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、及び、

(iv) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

からなる群から選択される。

30

40

【0045】

一部の実施形態では、本開示は脂質ナノ粒子を提供し、mRNAは同一脂質ナノ粒子内に共配合されており、ヒトOX40LをコードするmRNA、テザー型ヒトIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、1:1:1の重量（質量）比率で共配合されている。

【0046】

一部の実施形態では、本開示のmRNAは同一脂質ナノ粒子内に共配合されており、ヒトOX40LをコードするmRNA、テザー型ヒトIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、1:1:1の重量（質量）比率で共配合されており、細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、ヒトIL-15及び

50

ヒトIL-15R α をコードする2種のmRNAによってコードされており、2種のmRNAは1:1のモル比率で共配合されている。

【0047】

一部の態様では、少なくとも2種のmRNAは、

(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

(ii) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、

(iii) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(iv) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

(v) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

(vi) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、及び、

(vii) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

からなる群から選択される。

【0048】

一部の態様では、本開示は、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、を含む脂質ナノ粒子を提供する。

【0049】

一部の態様では、本開示は、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAを封入した第1の脂質ナノ粒子、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAを封入した第2の脂質ナノ粒子、ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNAを封入した第3の脂質ナノ粒子、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAを封入した第4の脂質ナノ粒子、を含む組成物を提供する。

【0050】

一部の態様では、本開示は、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAを封入した第1の脂質ナノ粒子、IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAを封入した第2の脂質ナノ粒子、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAを封入した第3の脂質ナノ粒子、を含む組成物を提供する。

【0051】

上記または関連する態様のいずれかでは、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号: 1に記載のアミノ酸配列または配列番号: 1に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の態様では、OX40Lポリペプチドは、配列番号: 11に記載のヌクレオチド配列または配列番号: 11に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている。

【0052】

上記または関連する態様のいずれかでは、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAは、IL-12 p35サブユニット（IL-12A）ポリペプチドに機能的に連結したIL-12 p40サブユニット（IL-12B）ポリペプチドを含む。一部の態様では、IL-12Bポリペプチドは、ペプチドリンカーにより、IL-12Aポリペプチドに機能的に連結している。一部の態様では、IL-12ポリペプチドは、配列番号：39または配列番号：40に記載のアミノ酸配列または配列番号：39または配列番号：40に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の態様では、IL-12ポリペプチドは、配列番号：46に記載のヌクレオチド配列または配列番号：46に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている。一部の態様では、IL-12BポリペプチドはIL-12Aポリペプチドの5'末端またはペプチドリンカーの5'末端に位置している、または、IL-12AポリペプチドはIL-12Bポリペプチドの5'末端またはペプチドリンカーの5'末端に位置している。

10

【0053】

一部の態様では、膜ドメインは、ペプチドリンカーにより、IL-12Aポリペプチドに機能的に連結している。その他の態様では、膜ドメインは、ペプチドリンカーにより、IL-12Bポリペプチドに機能的に連結している。一部の態様では、膜貫通ドメインはI型内在性膜タンパク質に由来する膜貫通ドメインを含む。一部の態様では、膜貫通ドメインは、分化抗原群8（CD8）膜貫通ドメイン、血小板由来増殖因子受容体（PDGFR）膜貫通ドメイン、及び分化抗原群80（CD80）膜貫通ドメインからなる群から選択される。

20

【0054】

一部の態様では、PDGFRβ膜貫通ドメインは配列番号：42に記載のアミノ酸配列を含む。一部の態様では、CD8膜貫通ドメインは配列番号：41に記載のアミノ酸配列を含む。一部の態様では、CD80膜貫通ドメインは配列番号：43に記載のアミノ酸配列を含む。

【0055】

その他の態様では、膜ドメインは細胞内ドメインを含む。一部の態様では、細胞内ドメインは、膜貫通ドメインと同一のポリペプチドに由来している。その他の態様では、細胞内ドメインは、膜貫通ドメインが由来するポリペプチドとは異なるポリペプチドに由来している。一部の態様では、細胞内ドメインは、PDGFR細胞内ドメイン、トランケートPDGFR細胞内ドメイン、及びCD80細胞内ドメインからなる群から選択される。

30

【0056】

一部の態様では、細胞内ドメインは、配列番号：48に記載のアミノ酸配列を含むPDGFRβ細胞内ドメインを含むPDGFR細胞内ドメインである。一部の態様では、細胞内ドメインは、E570またはG739においてトランケートされたPDGFRβ細胞内ドメインを含むトランケートPDGFR細胞内ドメインである。一部の態様では、E570においてトランケートされたトランケートPDGFRβ細胞内ドメインは、配列番号：49に記載のアミノ酸配列を含む。一部の態様では、G739においてトランケートされたトランケートPDGFRβ膜貫通は、配列番号：50に記載のアミノ酸配列を含む。その他の態様では、細胞内ドメインは、配列番号：47に記載のアミノ酸配列を含むCD80細胞内ドメインである。

40

【0057】

一部の態様では、膜ドメインに機能的に連結したIL-12ポリペプチドは、
（i）PDGFRβ膜貫通ドメイン及びPDGFRβ細胞内ドメイン、
（ii）PDGFRβ膜貫通ドメイン及びE570においてトランケートされたトランケートPDGFRβ細胞内ドメイン、
（iii）PDGFRβ膜貫通ドメイン及びG739においてトランケートされたトラ

50

ンケートPDGFR β 細胞内ドメイン、または、

(iv) CD80膜貫通ドメイン及びCD80細胞内ドメイン、を含む膜ドメインを含む。

【0058】

上記または関連する態様のいずれかでは、ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNAはsushidメインを含む。一部の態様では、IL-15R α ポリペプチドは、sushidメイン、細胞内ドメイン、及び膜貫通ドメインを含む。一部の態様では、細胞内ドメイン及び膜貫通ドメインはIL-15R α に由来している。その他の態様では、細胞内ドメイン及び膜貫通ドメインは非相同ポリペプチドに由来している。

【0059】

一部の態様では、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：17に記載のアミノ酸配列または配列番号：17に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の態様では、IL-15ポリペプチドは、配列番号：122に記載のヌクレオチド配列または配列番号：122に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている。

【0060】

一部の態様では、IL-15R α ポリペプチドは、配列番号：13に記載のアミノ酸配列または配列番号：13に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の態様では、IL-15R α ポリペプチドは、配列番号：22に記載のヌクレオチド配列または配列番号：22に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている。

【0061】

一部の態様では、IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したIL-15ポリペプチドは、配列番号：23、27、及び123のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列または配列番号：23、27、及び123のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の態様では、IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したIL-15ポリペプチドは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126のうちのいずれか1つに記載のヌクレオチド配列または配列番号：24～26、28～30、及び124～126のうちのいずれか1つに記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている。

【0062】

その他の態様では、本開示は、

(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（ヒトOX40Lポリペプチドは配列番号：1に記載のアミノ酸配列を含む）、

(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトIL-15ポリペプチドは配列番号：17に記載のアミノ酸配列を含む）、

(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトIL-15R α ポリペプチドは配列番号：13に記載のアミノ酸配列を含む）、及び、

(iv) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトIL-12ポリペプチドは配列番号：61に記載のアミノ酸配列を含む）、

を含むLNPを提供し、

LNPは、約20～60%のモル比率のイオン性アミノ脂質、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率の構造脂質、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含む。一部の実施形態では、ヒトOX40LをコードするmRNA、テザー型ヒトIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、1：1：1の重量（質量）比率でLNP内に共配合されている。一部の実施形態で

10

20

30

40

50

は、ヒトOX40LをコードするmRNA、テザー型ヒトIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、1:1:1の重量（質量）比率で共配合されており、細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、ヒトIL-15及びヒトIL-15R α をコードする2種のmRNAによってコードされており、2種のmRNAは1:1のモル比率で共配合されている。

【0063】

一部の態様では、本開示は、

(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列または配列番号：11に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含む）、

(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：122に記載のヌクレオチド配列または配列番号：122に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含む）、

(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：22に記載のヌクレオチド配列または配列番号：22に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含む）、及び、

(iv) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：60に記載のヌクレオチド配列または配列番号：60に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含む）、

を含むLNPを提供し、

LNPは、約20～60%のモル比率のイオン性アミノ脂質、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率の構造脂質、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含む。一部の実施形態では、ヒトOX40LをコードするmRNA、テザー型ヒトIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、1:1:1の重量（質量）比率でLNP内に共配合されている。一部の実施形態では、ヒトOX40LをコードするmRNA、テザー型ヒトIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、1:1:1の重量（質量）比率で共配合されており、細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、ヒトIL-15及びヒトIL-15R α をコードする2種のmRNAによってコードされており、2種のmRNAは1:1のモル比率で共配合されている。

【0064】

一実施形態では、LNPは、0.1～1:0.1～1:0.1～1の範囲の重量（質量）比率のOX40L:IL-15+IL-15R α :IL-12を含む。一実施形態では、LNPは、1:1:1の重量（質量）比率のOX40LをコードするmRNA:IL-15+IL-15R α をコードするmRNA:IL-12をコードするmRNAを含む。一部の態様では、LNPは、1:1:1の重量（質量）比率のOX40LをコードするmRNA:IL-15/IL-15R α をコードするmRNA:IL-12をコードするmRNAを含む。一部の態様では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAの量は、LNP内における残りのmRNAの量の10分の1である。

【0065】

上記または関連する態様のいずれかでは、LNPは腫瘍内送達用に製剤化される。その他の態様では、LNPは静脈内送達用に製剤化される。

【0066】

一部の態様では、LNPは、約20～60%のモル比率のイオン性アミノ脂質、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率の構造脂質、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含む。一部の態様では、脂質ナノ粒子は、約50%のモル比率のイオン性脂質、約10%のモル比率のリン脂質、約38.5%のモル比率のステロール、及び約1.5%のモル比率のPEG修飾脂質を含む。一部の態様では、脂質ナノ粒子は、50:38.5:10:1.5のモル比率のイオン性脂質:コレステロール:DSP

C：PEG修飾脂質を含む。一部の態様では、イオン性脂質は、例えば、2，2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1，3]-ジオキソラン（DLin-KC2-DMA）、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート（DLin-MC3-DMA）、及びジ（（Z）-ノン-2-エン-1-イル）9-（（4-（ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）ヘプタデカンジオエート（L319）からなる群から選択される。一部の態様では、イオン性脂質は化合物Xを含む。

【0067】

一部の態様では、LNPは、約20～60%のモル比率の化合物X、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率のコレステロール、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含む。一部の態様では、脂質ナノ粒子は、約50%のモル比率の化合物X、約10%のモル比率のリン脂質、約38.5%のモル比率のコレステロール、及び約1.5%のモル比率のPEG修飾脂質を含む。

10

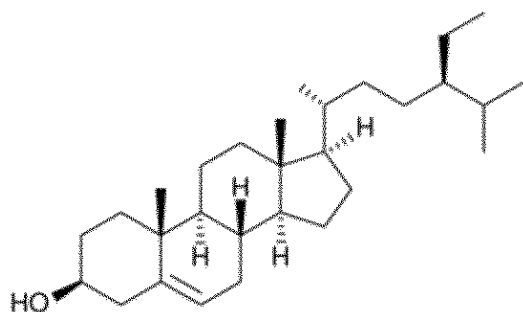
【0068】

一部の態様では、脂質ナノ粒子内のPEG修飾脂質はPEG-DMGまたは化合物P-428である。一部の態様では、脂質ナノ粒子は、50：38.5：10：1.5のモル比率の化合物X：コレステロール：リン脂質：化合物P-428または化合物X：コレステロール：DSPC：化合物P-428を含む。一部の態様では、脂質ナノ粒子は、40：38.5：20：1.5のモル比率の化合物X：コレステロール：リン脂質：化合物P-428または化合物X：コレステロール：DSPC：化合物P-428を含む。

20

【0069】

一部の態様では、LNPは、フィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含む。一部の態様では、フィトステロールは、 β -シトステロール、スティグマステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。一部の態様では、フィトステロールは、（i）シトステロールまたはその塩もしくはエステル、または（ii）スティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含む。一部の態様では、フィトステロールは、 β -シトステロール



30

またはその塩もしくはエステルである。

【0070】

その他の態様では、フィトステロールまたはその塩もしくはエステルは、 β -シトステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、化合物S-140、化合物S-151、化合物S-156、化合物S-157、化合物S-159、化合物S-160、化合物S-164、化合物S-165、化合物S-170、化合物S-173、化合物S-175、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。

40

【0071】

一部の態様では、ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は18.5%のフィトステロールであり、構造脂質の総mol%は38.5%である。その他の態様では、ステロールまたはその他の構造脂質のmol%は28.5%のフィトステロールであり、構造脂質の総mol%は38.5%である。

【0072】

50

一部の態様では、LNPは、50：10：10：28.5：1.5のモル比率の化合物X：DSPC：コレステロール： β -シトステロール：PEG-DMGを含む。一部の態様では、本開示のmRNAは、同一のまたは異なるLNP（複数可）内に配合されており、LNPは、50：10：20：18.5：1.5のモル比率の化合物X：DSPC：コレステロール： β -シトステロール：PEG-DMGを含む。

【0073】

上記の態様のいずれかでは、それぞれのmRNAは3'非翻訳領域（UTR）を含む。一部の態様では、3'UTRは少なくとも1つのマイクロRNA（miR）結合部位を含む。一部の態様では、少なくとも1つのmiR結合部位はmiR-122結合部位である。一部の態様では、miR-122結合部位はmiR-122-3p結合部位またはmiR-122-5p結合部位である。一部の態様では、miR-122-5p結合部位は配列番号：83に記載のヌクレオチド配列を含む。一部の態様では、miR-122-3p結合部位は配列番号：74に記載のヌクレオチド配列を含む。上記の態様のいずれかでは、それぞれのmRNAは、配列番号：77または配列番号：121に記載のヌクレオチド配列を含む3'UTRを含む。

【0074】

上記の態様のいずれかでは、それぞれのmRNAは5'非翻訳領域（UTR）を含む。一部の態様では、5'UTRは配列番号：12または配列番号：133に記載のヌクレオチド配列を含む。

【0075】

上記の態様のいずれかでは、それぞれのmRNAは少なくとも1つの化学修飾を含む。一部の態様では、化学修飾は、シュードウリジン、N1-メチルシュードウリジン、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、5-メチルシトシン、2-チオ-1-メチル-1-デアザシュードウリジン、2-チオ-1-メチルシュードウリジン、2-チオ-5-アザウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオシュードウリジン、4-メトキシ-2-チオシュードウリジン、4-メトキシシュードウリジン、4-チオ-1-メチルシュードウリジン、4-チオシュードウリジン、5-アザウリジン、ジヒドロシュードウリジン、5-メチルウリジン、5-メチルウリジン、5-メトキシウリジン、及び2'-O-メチルウリジンからなる群から選択される。

【0076】

上記の態様のいずれかでは、それぞれのmRNA内のウリジンのうちの少なくとも95%はN1-メチルシュードウリジンである。一部の態様では、それぞれのmRNA内のウリジンのうちの少なくとも99%はN1-メチルシュードウリジンである。一部の態様では、それぞれのmRNA内のウリジンのうちの100%はN1-メチルシュードウリジンである。

【0077】

一部の態様では、本開示は、がんの治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法を提供し、方法は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子を対象に投与することを含む。一部の態様では、本開示は、播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などの治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法を提供し、方法は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子を対象に投与することを含む。一部の態様では、本開示は、固形腫瘍の治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法を提供し、方法は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子を対象に投与することを含む。一部の態様では、方法は、チェックポイント阻害剤ポリペプチドまたはチェックポイント阻害剤ポリペプチドをコードするmRNAを投与することを更に含む。一部の態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドはPD-1、PD-L1、CTLA-4、またはこれらの組み合わせを阻害する。一部の態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗体または抗体をコードするmRNAである。一部の態様では、抗体は、CTLA-4に特異的に結合する抗CTLA-4抗体またはその抗原結合フラグメント、PD-1に特異的に結合する抗PD-1抗体またはその抗原結合フ

10

20

30

40

50

ラグメント、PD-L1に特異的に結合する抗PD-L1抗体またはその抗原結合フラグメント、及びこれらの組み合わせである。一部の態様では、抗PD-L1抗体はアテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブである。一部の態様では、抗CTLA-4抗体はトレメリムマブまたはイピリムマブである。一部の態様では、抗PD-1抗体はニボルマブまたはペンブロリズマブである。

【0078】

その他の態様では、本開示は、個体におけるがんを治療するまたはがんの進行を遅らせるのに使用する、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を提供し、治療は脂質ナノ粒子の投与を含む。その他の態様では、本開示は、個体における播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などを治療するまたは播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などの進行を遅らせるのに使用する、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を提供し、治療は脂質ナノ粒子の投与を含む。更にその他の態様では、本開示は、個体における固形腫瘍を治療するまたは固形腫瘍の進行を遅らせるのに使用する、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を提供し、治療は脂質ナノ粒子の投与を含む。

10

【0079】

一部の態様では、本開示は、個体におけるがんを治療するまたはがんの進行を遅らせるのに使用する、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を提供し、治療は、免疫チェックポイント阻害性ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた脂質ナノ粒子の投与を含む。一部の態様では、本開示は、個体における播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などを治療するまたは播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などの進行を遅らせるのに使用する、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を提供し、治療は、免疫チェックポイント阻害性ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた脂質ナノ粒子の投与を含む。一部の態様では、本開示は、個体における固形腫瘍を治療するまたは固形腫瘍の進行を遅らせるのに使用する、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を提供し、治療は、免疫チェックポイント阻害性ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた脂質ナノ粒子の投与を含む。

20

【0080】

更なる態様では、本開示は、個体におけるがんを治療するまたはがんの進行を遅らせるための薬剤の製造における、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体の使用を提供し、薬剤は脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含み、治療は薬剤の投与を含む。更なる態様では、本開示は、個体における播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などを治療するまたは播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などの進行を遅らせるための薬剤の製造における、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体の使用を提供し、薬剤は脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含み、治療は薬剤の投与を含む。更なる態様では、本開示は、個体における固形腫瘍を治療するまたは固形腫瘍の進行を遅らせるための薬剤の製造における、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体の使用を提供し、薬剤は脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含み、治療は薬剤の投与を含む。

30

40

【0081】

一部の態様では、本開示は、個体におけるがんを治療するまたはがんの進行を遅らせるための薬剤の製造における、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体の使用を提供し、薬剤は脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含み、治療は、免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドまたは免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドをコードするmRNA及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた薬剤の投与を含む。一部の態様では、本開示は、個体における播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などを治療するまたは播種性がん、例えば、骨髄

50

性悪性腫瘍などの進行を遅らせるための薬剤の製造における、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体の使用を提供し、薬剤は脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含み、治療は、免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドまたは免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドをコードするmRNA及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた薬剤の投与を含む。一部の態様では、本開示は、個体における固形腫瘍を治療するまたは固形腫瘍の進行を遅らせるための薬剤の製造における、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体の使用を提供し、薬剤は脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含み、治療は、免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドまたは免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドをコードするmRNA及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた薬剤の投与を含む。

10

【0082】

その他の態様では、本開示は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む容器、及び個体におけるがんを治療するまたはがんの進行を遅らせるための脂質ナノ粒子の投与のための取扱説明書を含む添付文書、を含むキットを提供する。一部の態様では、添付文書は、個体におけるがんを治療するまたはがんの進行を遅らせるための、免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドまたは免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドをコードするmRNA及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、脂質ナノ粒子の投与のための取扱説明書を更に含む。

【0083】

20

その他の態様では、本開示は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む容器、及び個体における播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などを治療するまたは播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などの進行を遅らせるための脂質ナノ粒子の投与のための取扱説明書を含む添付文書、を含むキットを提供する。一部の態様では、添付文書は、個体における播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などを治療するまたは播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などの進行を遅らせるための、免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、脂質ナノ粒子の投与のための取扱説明書を更に含む。

【0084】

その他の態様では、本開示は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む容器、及び個体における固形腫瘍を治療するまたは固形腫瘍の進行を遅らせるための脂質ナノ粒子の投与のための取扱説明書を含む添付文書、を含むキットを提供する。一部の態様では、添付文書は、個体における固形腫瘍を治療するまたは固形腫瘍の進行を遅らせるための、免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、脂質ナノ粒子の投与のための取扱説明書を更に含む。

30

【0085】

一部の態様では、本開示は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む容器、及び、個体におけるがんを治療するまたはがんの進行を遅らせるための、薬剤単独または免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた薬剤の投与のための取扱説明書を含む添付文書、を含むキットを提供する。一部の態様では、本開示は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む容器、及び、個体における播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などを治療するまたは播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍などの進行を遅らせるための、薬剤単独または免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた薬剤の投与のための取扱説明書を含む添付文書、を含むキットを提供する。一部の態様では、本開示は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む容器、及び、個体における固形腫瘍を治療するまたは固形腫瘍の進行を遅らせるための、薬剤単独または免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容され

40

50

る担体を含む組成物と組み合わせた薬剤の投与のための取扱説明書を含む添付文書、を含むキットを提供する。

【0086】

その他の態様では、本開示は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子またはmRNAの組み合わせを対象に投与することを含む、対象における免疫応答を向上させるための方法を提供する。

【0087】

その他の態様では、本開示は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子またはmRNAの組み合わせを対象に投与することを含む、対象における免疫細胞活性化を向上させるための方法を提供する。一部の態様では、免疫細胞活性化は、T細胞活性化、NK細胞活性化、またはT細胞活性化とNK細胞活性化の両方を含む。

10

【0088】

その他の態様では、本開示は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子またはmRNAの組み合わせを対象に投与することを含む、対象におけるNK細胞活性化を向上させるための方法を提供する。

【0089】

上記の方法のいずれかでは、対象は骨髄性悪性腫瘍を有する。一部の態様では、骨髄性悪性腫瘍はAMLである。上記の方法のいずれかでは、対象は固形腫瘍を有する。

【0090】

上記の態様のいずれかでは、方法は、本明細書に記載のチェックポイント阻害剤ポリペプチドまたはチェックポイント阻害剤ポリペプチドをコードするmRNAを投与することを更に含む。

20

【0091】

上記の態様のいずれかでは、本明細書に記載のmRNA、医薬組成物、またはLNPは、(a) NK細胞、NKT細胞、CD8+T細胞、CD4+T細胞、及び／または樹状細胞(DC)の集団を増加させること、(b) NK細胞、NKT細胞、CD8+T細胞、CD4+T細胞、及び／またはDCの増殖を増強させること、(c) NK細胞、NKT細胞、CD8+T細胞、CD4+T細胞、及び／または樹状細胞の活性化を向上させること、(d) DCの成熟を促進させること、(e) 治療対象における疾患負荷量を低下させること、(f) 治療対象の生存率を高めること、(g) IFN γ またはIP10の発現を増加させること、及び(h) (a)～(g)の任意の組み合わせ、からなる群から選択される1つまたは複数の活性を有する。

30

【0092】

上記の態様のいずれかでは、本明細書に記載のmRNA、医薬組成物、またはLNPが影響を及ぼすDC集団は、CD8+cDC1集団、CD103+cDC1集団、cDC2集団、またはiDC集団である。

【図面の簡単な説明】

【0093】

【図1】ヒト血清の不在下または存在下における、異なるPEG修飾脂質(PEG DMGまたは化合物428)を含有する脂質ナノ粒子(LNP)のAML細胞株(Kasumi-1)へのin vitroトランスフェクション効果を示すグラフを提供する。

40

【図2】ヒト血清の存在下における、異なるPEG修飾脂質(PEG DMGまたは化合物428)を含有するLNPの原発性AML試料へのin vitroトランスフェクション効果を示すグラフを提供する。

【図3】Aは、P388D1 AML細胞を移植して、LNP内に配合されたマウスOX40L(mOX40L)をコードするmRNAで治療したマウスにおける腫瘍容積を示すグラフである。LNPは腫瘍内投与した。Bは、P388D1 AML細胞を移植して、LNP内に配合されたmOX40LをコードするmRNA及びヒトIL-15(hIL-15)をコードするmRNAで治療したマウスにおける腫瘍容積を示すグラフである。LNPは腫瘍内投与した。Cは、P388D1 AML細胞を移植して、LNP内に配合さ

50

れたmOX40LをコードするmRNA、hIL-15をコードするmRNA、及びマウスIL-12 (mIL-12) をコードするmRNAで治療したマウスにおける腫瘍容積を示すグラフである。LNPは腫瘍内投与した。

【図4】Aは、ヒトIL-15/IL-15R α 構築物の概略図を提供する。IL-15ポリペプチド(左)及び、sushiドメイン及び膜貫通ドメインを含むIL-15R α ポリペプチド(右)を示し、IL-15は、IL-15R α sushiドメインに高親和性で結合することにより、IL-15をIL-15R α 発現細胞に限定する。Bは、ヒトIL-15/IL-15R α 構築物の概略図を提供する。テザー型IL-15構築物を示し、IL-15ポリペプチドは、全長IL-15R α に連結することにより、IL-15を細胞膜にテザーする。Cは、ヒトIL-15/IL-15R α 構築物の概略図を提供する。分泌型IL-15構築物を示し、IL-15ポリペプチドは、IL-15R α のsushiドメインに連結する。Dは、ヒトIL-15/IL-15R α 構築物の概略図を提供する。テザー型IL-15構築物を示し、IL-15ポリペプチドは、非相同ポリペプチド(例えば、CD80)の膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインに連結したIL-15R α のsushiドメインに連結する。

10

【図5A】図4A～図4Cに記載のヒトIL-15/IL-15R α 構築物間のタンパク質発現及びT細胞増殖を比較するグラフを提供する。示すIL-15/IL-15R α 構築物をコードするmRNAをリポフェクタミン2000を用いてHeLa細胞にトランスフェクションした際の、上清中または溶解物中におけるIL-15のタンパク質発現を示す。

20

【図5B】図4A～図4Cに記載のヒトIL-15/IL-15R α 構築物間のタンパク質発現及びT細胞増殖を比較するグラフを提供する。示すIL-15/IL-15R α 構築物をコードするmRNAをリポフェクタミン2000を用いてトランスフェクションしたHeLa細胞と共培養した際の、T細胞の増殖を示す。

【図5C】図4A～図4Cに記載のヒトIL-15/IL-15R α 構築物間のタンパク質発現及びT細胞増殖を比較するグラフを提供する。示すIL-15/IL-15R α 構築物をコードする異なるmRNA型をHeLa細胞にトランスフェクションした際の、上清中または溶解物中におけるIL-15のタンパク質発現を示す。

【図5D】図4A～図4Cに記載のヒトIL-15/IL-15R α 構築物間のタンパク質発現及びT細胞増殖を比較するグラフを提供する。上清中に分断したタンパク質のパーセント(上清発現/溶解物発現+上清発現)を示す。

30

【図6】Aは、C1498 AML細胞を移植して、NST-mOX40L (NST) をコードするmRNAを封入したLNPで腫瘍内治療したマウスにおける腫瘍容積を示すグラフである。Bは、C1498 AML細胞を移植して、mOX40LをコードするmRNAを封入したLNPで腫瘍内治療したマウスにおける腫瘍容積を示すグラフである。Cは、C1498 AML細胞を移植して、hIL-15/IL-15R α をコードするmRNAを封入したLNPで腫瘍内治療したマウスにおける腫瘍容積を示すグラフである。Dは、C1498 AML細胞を移植して、膜テザー型mIL-12 (mIL-12TM) をコードするmRNAを封入したLNPで腫瘍内治療したマウスにおける腫瘍容積を示すグラフである。Eは、C1498 AML細胞を移植して、mOX40L+hIL-15/IL-15R α をコードするmRNAを封入したLNPで腫瘍内治療したマウスにおける腫瘍容積を示すグラフである。Fは、C1498 AML細胞を移植して、mOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMをコードするmRNAを封入したLNPで腫瘍内治療したマウスにおける腫瘍容積を示すグラフである。

40

【図7】Aは、様々な単一薬剤(mOX40L mRNAまたはhIL-15/IL-15R α mRNAまたはmIL-12TM mRNA) をコードするmRNAを封入したLNPで腫瘍内治療したAML腫瘍を有するマウスの生存率を示すグラフである。Bは、様々なmOX40L+hIL-15/IL-15R α 二重mRNAをコードするmRNAを封入したLNPで腫瘍内治療したAML腫瘍を有するマウスの生存率を示すグラフである。Cは、様々なmOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TM三重m

50

RNAをコードするmRNAを封入したLNPで腫瘍内治療したAML腫瘍を有するマウスの生存率を示すグラフである。

【図8】Aは、AMLの播種性モデルを有し、化合物X及び化合物428を含む別々のLNP内に配合された、マウスOX40L（すなわち、mOX40L）をコードするmRNA、細胞結合ヒトIL-15（すなわち、hIL-15+hIL-15R α ）をコードするmRNA、及びテザー型マウスIL-12（PDGFR膜貫通ドメインに連結したmIL-12、すなわち、mIL-12TM）をコードするmRNAの組み合わせ（2mg/kgの総mRNA）で静脈内治療されたマウスにおける疾患負荷量を示す。生物発光イメージング（BLI）を示す。Bは、AMLの播種性モデルを有し、化合物X及び化合物428を含む別々のLNP内に配合された、マウスOX40L（すなわち、mOX40L）をコードするmRNA、細胞結合ヒトIL-15（すなわち、hIL-15+hIL-15R α ）をコードするmRNA、及びテザー型マウスIL-12（PDGFR膜貫通ドメインに連結したmIL-12、すなわち、mIL-12TM）をコードするmRNAの組み合わせ（2mg/kgの総mRNA）で静脈内治療されたマウスにおける疾患負荷量を示す。フローサイトメトリーで測定した血液中のGFP+細胞の数を示す。

10

【図9】AML細胞の移植の21日後に、化合物X及び化合物428を含む別々のLNP内に配合された、mOX40LをコードするmRNA、細胞結合hIL-15をコードするmRNA、及びテザー型mIL-12をコードするmRNAの組み合わせで静脈内治療したマウスの血液中における白血病負荷量の低下を示すグラフを提供する。フローサイトメトリーを用いて、血液中のGFP+細胞の数（左）に加えてCD45+細胞のGFP+の%（右）を測定した。

20

【図10】様々な投与レジメン（すなわち、1回（QD $\times$ 1）の2mg/kg、3週間にわたる週に1回（Q7D $\times$ 3）の2mg/kg、3週間にわたる週に1回（Q7D $\times$ 3）の0.67mg/kg、3週間にわたる週に3回（TIW $\times$ 3）の0.22mg/kg）の、図9のマウス、及び、化合物X及び化合物428を含む別々のLNP内に配合された、mOX40LをコードするmRNA、細胞結合hIL-15をコードするmRNA、及びテザー型mIL-12をコードするmRNAの組み合わせで治療したマウスを示す Kaplan-Meier 生存率グラフを提供する。

【図11】様々な投与レジメンのmOX40LをコードするmRNA、細胞結合hIL-15をコードするmRNA、及びテザー型mIL-12をコードするmRNAの組み合わせ療法に対して完全に応答し、AML細胞で再誘発された図9のマウスにおける、生物発光イメージング（BLI）で測定した防御免疫を示すグラフを提供する。

30

【図12】図11に記載のAML細胞で再誘発したマウスの Kaplan-Meier 生存率グラフを提供する。

【図13】フローサイトメトリーで測定した、図11に記載のAML細胞で再誘発したマウスの血液中におけるGFP+細胞の数を示すグラフを提供する。

【図14】3回目の0.22mg/kgのTIW用量の、化合物X及び化合物428を含むLNP（LNP1）または化合物X/DSPC/コレステロール/ β -シトステロール/PEG-DMGを含むLNP（LNP2）内に配合されたmOX40LをコードするmRNAの静脈内投与の24時間後に、AML細胞を有するマウスの末梢血、脾臓、または骨髓から単離した示す細胞型におけるmOX40L+細胞のパーセンテージを示すグラフを提供する。

40

【図15】第1の静脈内用量の6、24、48、及び54時間後における、別々のLNP内に配合された、mOX40LをコードするmRNA、細胞結合hIL-15をコードするmRNA、及びテザー型mIL-12をコードするmRNAの組み合わせを週に3回（TIW）の0.22mg/kgまたは2mg/kgの単回用量のいずれかの用量で投与されたマウスの、マウスIFN γ （左）、内在性マウスIL-15/15R（中央）、及びマウスIP-10（右）の血清サイトカインレベルを示すグラフを提供する。

【図16】第1及び第2の静脈内TIW用量の6及び24時間後における、LNP1またはLNP2内に配合された、mOX40L、細胞結合hIL-15、テザー型mIL-1

50

2、mOX40L+細胞結合hIL-15、mOX40L+テザー型mIL-12、細胞結合hIL-15+テザー型mIL-12、またはmOX40L+細胞結合hIL-15+テザー型mIL-12のいずれかをコードするmRNAを投与されたマウスの、マウスIFN γ （左）及び内在性マウスIL-15/IL-15R（右）の血清サイトカインレベルを示すグラフを提供する。

【図17】Aは、AMLの播種性モデルを有し、mOX40L+細胞結合hIL-15をコードするmRNAで静脈内治療されたマウスにおける体重変化のパーセンテージを示すグラフを提供する。化合物X及び化合物428を含む別々のLNP内にmRNAを配合してから、3週間にわたり週に3回0.22mg/kgの用量で投与した。Bは、AMLの播種性モデルを有し、mOX40L+テザー型mIL-12をコードするmRNAで静脈内治療されたマウスにおける体重変化のパーセンテージを示すグラフを提供する。化合物X及び化合物428を含む別々のLNP内にmRNAを配合してから、3週間にわたり週に3回0.22mg/kgの用量で投与した。Cは、AMLの播種性モデルを有し、細胞結合hIL-15+テザー型mIL-12をコードするmRNAで静脈内治療されたマウスにおける体重変化のパーセンテージを示すグラフを提供する。化合物X及び化合物428を含む別々のLNP内にmRNAを配合してから、3週間にわたり週に3回0.22mg/kgの用量で投与した。Dは、AMLの播種性モデルを有し、mOX40L+細胞結合hIL-15+テザー型mIL-12をコードするmRNAで静脈内治療されたマウスにおける体重変化のパーセンテージを示すグラフを提供する。化合物X及び化合物428を含む別々のLNP内にmRNAを配合してから、3週間にわたり週に3回0.22mg/kgの用量で投与した。

【図18】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの単回腫瘍内用量を投与されたMC38-R腫瘍を有するマウスの腫瘍容積を示すグラフを提供する。Bは、免疫チェックポイント阻害剤、すなわち、抗mCTLA-4抗体と組み合わせて、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの単回腫瘍内用量を投与されたMC38-R腫瘍を有するマウスの腫瘍容積を示すグラフを提供する。

【図19】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてNK細胞を示すフローサイトメトリプロットを提供する。末梢血（PB）におけるNK細胞のパーセンテージを提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてNK細胞を示すフローサイトメトリプロットを提供する。脾臓（SP）におけるNK細胞のパーセンテージを提供する。Cは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてNK細胞を示すフローサイトメトリプロットを提供する。骨髄（BM）におけるNK細胞のパーセンテージを提供する。Dは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてNK細胞を示すフローサイトメトリ

10

20

30

40

50

プロットを提供する。鼠径リンパ節（LN）におけるNK細胞のパーセンテージを提供する。

【図20】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するNK細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。（PB）における、CD69を発現するNK細胞のパーセンテージを提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するNK細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓（SP）における、CD69を発現するNK細胞のパーセンテージを提供する。Cは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するNK細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。骨髄（BM）における、CD69を発現するNK細胞のパーセンテージを提供する。Dは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するNK細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節（LN）における、CD69を発現するNK細胞のパーセンテージを提供する。

【図21】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてNK T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。末梢血（PB）におけるNK T細胞のパーセンテージを提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてNK T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓（SP）におけるNK T細胞のパーセンテージを提供する。Cは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてNK T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。骨髄（BM）におけるNK T細胞のパーセンテージを提供する。Dは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてNK T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節（LN）におけるNK T細胞のパーセ

10

20

30

40

50

ンテージを提供する。

【図22】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するNKT細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。（PB）における、CD69を発現するNKT細胞のパーセンテージを提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するNKT細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓（SP）における、CD69を発現するNKT細胞のパーセンテージを提供する。Cは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するNKT細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。骨髄（BM）における、CD69を発現するNKT細胞のパーセンテージを提供する。Dは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するNKT細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節（LN）における、CD69を発現するNKT細胞のパーセンテージを提供する。

【図23】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてCD8+T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。末梢血（PB）におけるCD8+T細胞のパーセンテージを提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてCD8+T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓（SP）におけるCD8+T細胞のパーセンテージを提供する。Cは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてCD8+T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。骨髄（BM）におけるCD8+T細胞のパーセンテージを提供する。Dは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてCD8+T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節（LN）におけるCD8+T細胞のパーセンテージを提供する。

【図24】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するCD8+T細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。（PB）における、CD69を発現するCD8+T細胞のパーセンテージを提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するCD8+T細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓（SP）における、CD69を発現するCD8+T細胞のパーセンテージを提供する。Cは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するCD8+T細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。骨髄（BM）における、CD69を発現するCD8+T細胞のパーセンテージを提供する。Dは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するCD8+T細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節（LN）における、CD69を発現するCD8+T細胞のパーセンテージを提供する。

【図25】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてCD4+T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。末梢血（PB）におけるCD4+T細胞のパーセンテージを提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてCD4+T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓（SP）におけるCD4+T細胞のパーセンテージを提供する。Cは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてCD4+T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。骨髄（BM）におけるCD4+T細胞のパーセンテージを提供する。Dは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとしてCD4+T細胞を示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節（LN）におけるCD4+T細胞のパーセンテージを提供する。

【図26】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するCD4+T細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。（PB）における、CD69を発現するCD4+T細胞のパーセンテージを提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するCD4+T細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓（SP）における、CD69を発現するCD4+T細胞のパーセンテージを提供する。Cは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するCD4+T細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。骨髄（BM）における、CD69を発現するCD4+T細胞のパーセンテージを提供する。Dは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、活性化マーカーCD69を発現するCD4+T細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節（LN）における、CD69を発現するCD4+T細胞のパーセンテージを提供する。

【図27】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとして脾臓DC細胞集団を示すフローサイトメトリープロットを提供する。CD8+cDC1細胞数を提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとして脾臓DC細胞集団を示すフローサイトメトリープロットを提供する。CD103+cDC1細胞数を提供する。Cは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとして脾臓DC細胞集団を示すフローサイトメトリープロットを提供する。cDC2細胞数を提供する。Dは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または対照mRNA（NST）を投与されたマウスにおける、1回目の用量の24時間後（24時間）、3回目の用量の24時間後（6日目）、及び6回目の用量の24時間後（13日目）における、生CD45+細胞のパーセンテージとして脾臓DC細胞集団を示すフローサイトメトリープロットを提供する。iDC細胞数を提供する。

【図28】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードす

る mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、生 C D 4 5 + 細胞のパーセンテージとして鼠径リンパ節 D C 細胞集団を示すフローサイトメトリープロットを提供する。C D 8 + c D C 1 細胞数を提供する。B は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、生 C D 4 5 + 細胞のパーセンテージとして鼠径リンパ節 D C 細胞集団を示すフローサイトメトリープロットを提供する。C D 1 0 3 + c D C 1 細胞数を提供する。C は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、生 C D 4 5 + 細胞のパーセンテージとして鼠径リンパ節 D C 細胞集団を示すフローサイトメトリープロットを提供する。c D C 2 細胞数を提供する。D は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、生 C D 4 5 + 細胞のパーセンテージとして鼠径リンパ節 D C 細胞集団を示すフローサイトメトリープロットを提供する。i D C 細胞数を提供する。

【図 2 9】A は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、脾臓及び鼠径リンパ節の C D 8 + c D C 1 細胞集団及び C D 1 0 3 + c D C 1 細胞集団上における成熟マーカー C D 8 6 の発現を示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓 C D 8 + c D C 1 細胞の C D 8 6 M F I を提供する。B は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、脾臓及び鼠径リンパ節の C D 8 + c D C 1 細胞集団及び C D 1 0 3 + c D C 1 細胞集団上における成熟マーカー C D 8 6 の発現を示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓 C D 1 0 3 + c D C 1 細胞の C D 8 6 M F I を提供する。C は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、脾臓及び鼠径リンパ節の C D 8 + c D C 1 細胞集団及び C D 1 0 3 + c D C 1 細胞集団上における成熟マーカー C D 8 6 の発現を示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節 C D 8 + c D C 1 細胞の C D 8 6 M F I を提供する。D は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、脾臓及び鼠径リンパ節の C D 8 + c D C 1 細胞集団及び C D 1 0 3 + c D C 1 細胞集団上における成熟マーカー C D 8 6 の発現を示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節 C D 1 0 3 + c D C 1 細胞の C D 8 6 M F I を提供する。

【図 3 0】A は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードす

る mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、脾臓及び鼠径リンパ節の c D C 2 細胞集団及び i D C 細胞集団上における成熟マーカー C D 8 6 の発現を示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓 c D C 2 細胞の C D 8 6 M F I を提供する。B は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、脾臓及び鼠径リンパ節の c D C 2 細胞集団及び i D C 細胞集団上における成熟マーカー C D 8 6 の発現を示すフローサイトメトリープロットを提供する。脾臓 i D C 細胞の C D 8 6 M F I を提供する。C は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、脾臓及び鼠径リンパ節の c D C 2 細胞集団及び i D C 細胞集団上における成熟マーカー C D 8 6 の発現を示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節 c D C 2 細胞の C D 8 6 M F I を提供する。D は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA、または対照 mRNA (N S T) を投与されたマウスにおける、1 回目の用量の 2 4 時間後 (2 4 時間)、3 回目の用量の 2 4 時間後 (6 日目)、及び 6 回目の用量の 2 4 時間後 (1 3 日目) における、脾臓及び鼠径リンパ節の c D C 2 細胞集団及び i D C 細胞集団上における成熟マーカー C D 8 6 の発現を示すフローサイトメトリープロットを提供する。鼠径リンパ節 i D C 細胞の C D 8 6 M F I を提供する。

【図 3 1】AML を有する C 5 7 B L / 6 マウスまたは B a t f 3 K O マウスの生存率を示すグラフを提供する。腫瘍保有 C 5 7 B L / 6 は、未治療とする、対照 mRNA (N S T) を投与する、または、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA を投与した。腫瘍保有 B a t f 3 K O マウスには、0 . 2 2 m g / k g の対照 mRNA (N S T)、または m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA を 2 週間にわたり週に 3 回 (T I W × 3) 投与した。

【図 3 2】対照 mRNA または m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA を投与してから、未治療としたマウス、アイソタイプ m A b で治療したマウス、または抗 C D 4 + m A b で治療したマウスの生存率を示すグラフを提供する。

【図 3 3】対照 mRNA または m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA を投与してから、未治療としたマウス、アイソタイプ m A b で治療したマウス、または抗 I F N γ m A b で治療したマウスの生存率を示すグラフを提供する。

【図 3 4】A は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA または対照 mRNA を腫瘍保有マウスに投与してから、更に、未治療とした後、アイソタイプ m A b で治療した後、または抗 I F N γ m A b で治療した後における、単球上の M H C I I 発現を単球のパーセントとして示すフローサイトメトリープロットを提供する。B は、m O X 4 0 L をコードする mRNA、テザー型 m I L - 1 2 をコードする mRNA、及び細胞結合 h I L - 1 5 をコードする mRNA または対照 mRNA を腫瘍保有マウスに投与してから、更に、未治療とした後、アイソタイプ m A b で治療した後、または抗 I F N γ m A b で治療した後における、単球上の M H C I I 発現を M F I として示すフローサイトメトリープロットを提供する。

【図35】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAまたは対照mRNAを腫瘍保有マウスに投与してから、更に、未治療とした後、アイソタイプmAbで治療した後、または抗IFN γ mAbで治療した後における、骨髓細胞上のPD-L1発現を骨髓細胞のパーセントとして示すフローサイトメトリープロットを提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAまたは対照mRNAを腫瘍保有マウスに投与してから、更に、未治療とした後、アイソタイプmAbで治療した後、または抗IFN γ mAbで治療した後における、骨髓細胞上のPD-L1発現をMFIとして示すフローサイトメトリープロットを提供する。

10

【図36】Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAまたは対照mRNAを腫瘍保有マウスに投与してから、更に、未治療とした後、アイソタイプmAbで治療した後、または抗IFN γ mAbで治療した後における、顆粒球上のPD-L1発現を顆粒球のパーセントとして示すフローサイトメトリープロットを提供する。Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAまたは対照mRNAを腫瘍保有マウスに投与してから、更に、未治療とした後、アイソタイプmAbで治療した後、または抗IFN γ mAbで治療した後における、顆粒球上のPD-L1発現をMFIとして示すフローサイトメトリープロットを提供する。

20

【図37】Aは、hOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAまたは対照mRNAを腫瘍保有マウスに投与してから、更に、未治療とした後、アイソタイプmAbで治療した後、または抗IFN γ mAbで治療した後における、単球上のPD-L1発現を単球のパーセントとして示すフローサイトメトリープロットを提供する。Bは、hOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAまたは対照mRNAを腫瘍保有マウスに投与してから、更に、未治療とした後、アイソタイプmAbで治療した後、または抗IFN γ mAbで治療した後における、単球上のPD-L1発現をMFIとして示すフローサイトメトリープロットを提供する。

30

【図38】Aは、LNP内に配合されたhOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの投与後の、カニクイザルにおけるIFN γ の発現を示すグラフを提供する。Bは、LNP内に配合されたhOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの投与後の、カニクイザルにおけるIFN γ の発現を示すグラフを提供する。Cは、LNP内に配合されたhOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの投与後の、カニクイザルにおけるIFN γ の発現を示すグラフを提供する。Dは、LNP内に配合されたhOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの投与後の、カニクイザルにおけるIP-10 (CXCL10)の発現を示すグラフを提供する。Eは、LNP内に配合されたhOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの投与後の、カニクイザルにおけるIP-10 (CXCL10)の発現を示すグラフを提供する。Fは、LNP内に配合されたhOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの投与後の、カニクイザルにおけるIP-10 (CXCL10)の発現を示すグラフを提供する。

40

【図39】Aは、hOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを投与されたまたはトリス／スクロース対照注射を打たれたカニクイザルの脾臓試料及び骨髓試料におけるNK細胞

50

数（生CD45＋細胞のパーセンテージとして）を示すフローサイトメトリープロットを提供する。Bは、hOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを投与されたまたはトリス／スクロース対照注射を打たれたカニクイザルの脾臓試料及び骨髄試料におけるNK細胞数（生CD45＋細胞のパーセンテージとして）を示すフローサイトメトリープロットを提供する。Cは、hOX40LをコードするmRNA、テザー型hIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを投与されたまたはトリス／スクロース対照注射を打たれたカニクイザルの脾臓試料及び骨髄試料におけるCD8＋T細胞数（生CD45＋細胞のパーセンテージとして）を示すフローサイトメトリープロットを提供する。

10

【図40】Aは、hOX40L、テザー型hIL-12、及び細胞結合hIL-15を投与されたまたはトリス／スクロース対照注射を打たれたカニクイザルの脾臓試料及び骨髄試料における、活性化マーカーCD69を有するCD8＋T細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。Bは、hOX40L、テザー型hIL-12、及び細胞結合hIL-15を投与されたまたはトリス／スクロース対照注射を打たれたカニクイザルの脾臓試料及び骨髄試料における、活性化マーカーCD69を有するNK細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。Cは、hOX40L、テザー型hIL-12、及び細胞結合hIL-15を投与されたまたはトリス／スクロース対照注射を打たれたカニクイザルの脾臓試料及び骨髄試料における、活性化マーカーCD69を有するCD4＋T細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。Dは、hOX40L、テザー型hIL-12、及び細胞結合hIL-15を投与されたまたはトリス／スクロース対照注射を打たれたカニクイザルの脾臓試料及び骨髄試料における、活性化マーカーCD69を有するNK細胞のパーセンテージを示すフローサイトメトリープロットを提供する。

20

【発明を実施するための形態】

【0094】

がんを治療するための特にエキサイティングなアプローチは、免疫療法として知られている、免疫応答を刺激する物質を用いた疾患の予防または治療を含む。当該技術分野においてはがん免疫学とも呼ばれる免疫療法は、腫瘍ではなく宿主免疫系を標的とする療法を導入することによってがん治療を根本から変え始めている。これらの療法は独特な薬理的応答プロファイルを有しており、その結果、多くの異なるタイプのがんを治療し得る療法となっている。その中でも肺、腎臓、膀胱、及び皮膚のがんでは、生存率または腫瘍応答の点でがん免疫学を用いた治療からかなりの効果を得ており、おそらくは黒色腫において最も優れた効果が示されている。

30

【0095】

播種性がんは重大な健康問題であり、従来の療法では効果的に治療されていない。詳細には、転移性がん及び、通常は固形腫瘍を形成しない血液のがん、例えば、骨髄性悪性腫瘍（例えば、AML）などを含む播種性がんは、様々なメカニズムにより免疫応答を回避することが知られており、その結果、効果的な免疫応答の発現が妨げられている。例えば、AMLは、NK阻害剤タンパク質を上方制御する、NK活性化リガンドを抑制する、及び／またはNK細胞のアネルギーを誘導することによって、NK細胞の溶解を回避することが知られている。加えて、AMLにおいては体細胞変異の発生率が低く、狭い新生抗原スペクトルにつながることから、結果として、AML特異的T細胞応答が低下して抗腫瘍免疫が低下する（例えば、Grove and Vassilou (2014) Dis. Models Mech. 7:94を参照のこと）。

40

【0096】

固形腫瘍を従来の療法（例えば、外科手術）を用いて治療できるとはいえ、数多くのがんはこのような療法に対して反応を示さないまたは再発する。更に、腫瘍微小環境は複雑であり、治療処置のアウトカムに影響を及ぼすことが多い。

【0097】

50

それゆえ、がんを治療するのに有用な方法及び組成物、及びとりわけ、がんに対する免疫応答を増強する（例えば、NK細胞及び／またはT細胞により）方法及び組成物は、大いに注目されている。

【0098】

本明細書では、特定の免疫細胞集団の刺激を必要とする対象においてそれを実施するための1種または複数種のポリヌクレオチド（例えば、mRNA、例えば、修飾mRNA）を含む、がん（例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など）を治療するのに使用する組成物を提供する。

【0099】

一部の実施形態では、本開示は、少なくとも2種のmRNA（例えば、修飾mRNA）を含む、がん（例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など）を治療するのに使用する組成物を提供し、少なくとも2種のmRNAは、ヒトOX40Lポリペプチド、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチド、ヒトIL-15ポリペプチド、ヒトIL-15R α ポリペプチド、及びこれらの組み合わせをコードしている。一部の実施形態では、組成物は、

(a) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

(b) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、

(c) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(d) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、

(e) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(f) OX40LポリペプチドをコードするmRNA、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、または、

(g) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、を含む。

【0100】

一部の実施形態では、ヒトOX40LをコードするmRNA、テザー型ヒトIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、1:1:1の重量（質量）比率でLNP内に共配合されている。一部の実施形態では、ヒトOX40LをコードするmRNA、テザー型ヒトIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、1:1:1の重量（質量）比率で共配合されており、細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAは、ヒトIL-15及びヒトIL-15R α をコードする2種のmRNAによってコードされており、2種のmRNAは1:1のモル比率で共配合されている。

【0101】

一部の実施形態では、本開示のmRNAは、OX40Lの細胞質ドメインを含むヒトOX40LポリペプチドであるヒトOX40Lポリペプチドをコードしている。一部の実施形態では、mRNAは、OX40Lの膜貫通ドメインを含むヒトOX40Lポリペプチドをコードしている。一部の実施形態では、mRNAは、OX40Lの細胞外ドメイン及び

10

20

30

40

50

OX40Lの膜貫通を含むヒトOX40Lポリペプチドをコードしている。一部の実施形態では、mRNAは、OX40Lの細胞外ドメイン及びOX40Lの細胞質ドメインを含むヒトOX40Lポリペプチドをコードしている。一部の実施形態では、mRNAは、OX40Lの細胞外ドメイン、OX40Lの膜貫通、及びOX40Lの細胞質ドメインを含むヒトOX40Lポリペプチドをコードしている。

【0102】

一部の実施形態では、mRNAは、膜テザー形態のヒトIL-12ポリペプチドであるヒトIL-12ポリペプチドをコードしている。例えば、一部の実施形態では、本開示のmRNAは膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードしており、膜ドメインは膜貫通ドメインを含む。一部の実施形態では、膜ドメインは膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインは同一のポリペプチドに由来している。一部の実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインは異なるポリペプチドに由来している。

【0103】

一部の実施形態では、本開示のmRNAは、可溶性ヒトIL-15ポリペプチドであるヒトIL-15ポリペプチドをコードしている。一部の実施形態では、本開示のmRNAはヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードしており、その結果、細胞内におけるmRNAの発現時に膜テザー形態（例えば、複合体）のIL-15/IL-15R α を形成する。一部の実施形態では、本開示は、ヒトIL-15ポリペプチドをコードする第1のmRNA及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードする第2のmRNAを提供し、その結果、別々のmRNAによってコードされた膜テザー形態（例えば、複合体）のIL-15/IL-15R α を提供する。一部の実施形態では、本開示のmRNAは、IL-15に対する高い親和性を有する、sushiドメインを含むヒトIL-15R α ポリペプチドをコードしている。一部の実施形態では、本開示のmRNAは、sushiドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含むヒトIL-15R α をコードしている。一部の実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインはヒトIL-15R α の膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインである。一部の実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインはIL-15R α に対して非相同である。

【0104】

OX40LポリペプチドをコードするmRNA

ヒトOX40Lは、Tanaka et al. によって、ヒトT細胞白血病ウイルスI型（HTLV-I）に感染させたヒトリンパ球の表面上において初めて同定された（Tanaka et al., International Journal of Cancer (1985), 36 (5) : 549-55）。OX40LはOX40（CD134）のリガンドである。OX40Lはまた、CD252（分化抗原群252）、腫瘍壊死因子（リガンド）スーパーファミリーメンバー4、tax転写活性化糖タンパク質1、TXGP1、またはgp34と呼ばれている。ヒトOX40Lは、183アミノ酸長であり、3つのドメイン：アミノ酸1～23の細胞質ドメイン、アミノ酸24～50の膜貫通ドメイン、及びアミノ酸51～183の細胞外ドメインを含有している。

【0105】

一部の実施形態では、本開示の組成物または方法は、哺乳動物OX40LポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、哺乳動物OX40LポリペプチドはマウスOX40Lポリペプチドである。一部の実施形態では、哺乳動物OX40LポリペプチドはヒトOX40Lポリペプチドである。一部の実施形態では、OX40Lポリペプチドは配列番号：1～3に記載のアミノ酸配列を含む。

【0106】

一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：1～3に記載のアミノ酸配列または配列番号：4～11に記載のヌクレオチド配列がコードするアミノ酸配列に対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なく

10

20

30

40

50

とも98%、少なくとも99%、または100%同一なアミノ酸配列を含むヒトOX40Lポリペプチドをコードしており、ヒトOX40LポリペプチドはOX40受容体に結合することができる。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：1に対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一なアミノ酸配列を含むヒトOX40Lポリペプチドをコードしており、OX40受容体に結合することができる。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：1から本質的になるヒトOX40Lポリペプチドをコードしており、OX40受容体に結合することができる。

10

【0107】

特定の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、任意選択的に1つまたは複数の保存的置換を有する、配列番号：1～3に記載のアミノ酸配列を含むヒトOX40Lポリペプチドをコードしており、保存的置換は、OX40Lポリペプチドのその受容体への結合活性に有意に影響を及ぼさない、すなわち、置換後にOX40LポリペプチドはOX40受容体に結合する。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：1～3に記載のアミノ酸配列のうちのいずれか1つに対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むヒトOX40Lポリペプチドをコードしている。

20

【0108】

その他の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：4～11に記載の核酸配列のうちのいずれか1つに対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一なヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：9～11のうちのいずれか1つから選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：9～11のうちのいずれか1つから選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：9に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：9に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：10に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：10に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。

30

40

【0109】

50

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法及び組成物に有用なmRNAは、OX40Lの細胞外ドメインをコードするオープンリーディングフレームを含む。その他の実施形態では、mRNAは、OX40Lの細胞質ドメインをコードするオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、mRNAは、OX40Lの膜貫通ドメインをコードするオープンリーディングフレームを含む。特定の実施形態では、mRNAは、OX40Lの細胞外ドメイン及びOX40Lの膜貫通ドメインをコードするオープンリーディングフレームを含む。その他の実施形態では、mRNAは、OX40Lの細胞外ドメイン及びOX40Lの細胞質ドメインをコードするオープンリーディングフレームを含む。更にその他の実施形態では、mRNAは、OX40Lの細胞外ドメイン、OX40Lの膜貫通、及びOX40Lの細胞質ドメインをコードするオープンリーディングフレームを含む。

10

【0110】

天然のシグナル配列及び配列番号：1～11に暗に開示されているプロペプチド配列（前駆体形態中に存在しその対応する成熟形態中に存在しない配列）ならびに非天然のシグナルペプチドに加えて、その他のシグナル配列を使用してもよいということを当業者は理解するであろう。それゆえ、OX40Lポリペプチドまたは配列番号：1～11に記載のmRNAへの言及は、当該技術分野において周知の代替シグナルペプチド（またはコード配列）が上記OX40Lポリペプチド（またはmRNA）に結合したバリエーションを包含する。本出願にわたる配列番号：1～11に開示されている配列への言及は、一様に使用可能であり、本出願提出時点における当該技術分野において周知のオルソログ及び機能的バリエーション（例えば、多型バリエーション）ならびにそれらの配列のアイソフォームを包含するということもまた理解されたい。

20

【0111】

細胞結合サイトカインをコードするmRNA

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法及び組成物は、細胞結合サイトカインをコードするmRNAを利用している。サイトカインは、細胞間の相互作用及びコミュニケーションに特定の影響を及ぼす、細胞が放出する小さな分泌型タンパク質である。可溶性サイトカインの望ましくない／オフターゲット効果及び潜在的な全身毒性を最小限とするために、本開示は、細胞結合サイトカインをコードする少なくとも1種のmRNAを利用している。細胞結合サイトカインは、天然または設計によるのいずれかで細胞表面に結合した細胞結合サイトカインである。例えば、一部の実施形態では、可溶性／分泌型サイトカインは膜貫通ドメインを含むように改変されており、その結果、可溶性／分泌型サイトカインは細胞表面に結合する。一部の実施形態では、サイトカインを細胞表面へと「アンカーすること」または「テザーすること」により、可溶性サイトカインの投与で一般的に認められる全身効果が抑制される。

30

【0112】

一部の実施形態では、細胞結合サイトカインは、T細胞、NK細胞、またはT細胞とNK細胞の両方を活性化させる。T細胞の活性化及びNK細胞の活性化を測定するための方法は当業者に周知である。例えば、NK細胞の活性化及びT細胞の活性化は、例えば、フローサイトメトリーを用いて、NK細胞またはT細胞上の活性化マーカー（例えば、CD25及びCD69）の表面発現を解析することによって測定することができる。

40

【0113】

一部の実施形態では、細胞結合サイトカインとして好適なサイトカインは、IL-12ファミリーメンバーである。一部の実施形態では、IL-12ファミリーメンバーは、IL-12、IL-23、IL-12p40サブユニット、IL-23p19サブユニット、IL-27、IL-35、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるポリペプチドである。

【0114】

一部の実施形態では、細胞結合サイトカインとして好適なサイトカインは本明細書に記載のIL-15である。

【0115】

50

テザー型 I L - 1 2 ポリペプチドをコードする m R N A

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法及び組成物は、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする m R N A を利用している。

【0116】

インターロイキン-12 (I L - 1 2) は、自然免疫及び適応免疫において重要な役割を果たす炎症性サイトカインである (G a t e l y , M K e t a l . , A n n u R e v I m m u n o l . 1 6 : 4 9 5 - 5 2 1 (1 9 9 8)) 。 I L - 1 2 は主に、2つのジスルフィド結合した p 3 5 (I L - 1 2 A) 及び p 4 0 (I L - 1 2 B) サブユニットで構成される 7 0 k D a のヘテロ二量体タンパク質として機能する。NK細胞と細胞傷害性 T 細胞の両方を活性化させるその能力により、I L - 1 2 タンパク質は、1994 年から有望な抗がん治療薬として研究されている。N a s t a l a , C . L . e t a l . , J I m m u n o l 1 5 3 : 1 6 9 7 - 1 7 0 6 (1 9 9 4) を参照されたい。

10

【0117】

I L - 1 2 に対する治療薬としての高い期待にもかかわらず、初期の臨床試験においては良好な結果がもたらされなかった (L a s e k W . e t a l . , C a n c e r I m m u n o l I m m u n o t h e r 6 3 : 4 1 9 - 4 3 5 , 4 2 4 (2 0 1 4)) 。 I L - 1 2 の反復投与により、ほとんどの患者において、適応応答及び血中 I L - 1 2 誘導インターフェロン γ (I F N γ) レベルの漸減がもたらされた (同上)。更に、I L - 1 2 誘導抗がん活性の大部分に I F N γ の二次分泌が関与しているものと認識された一方で、その他のサイトカイン (例えば、T N F - α) またはケモカイン (I P - 1 0 または M I G) と同調した I L - 1 2 による I F N γ の付随誘導が重度の毒性を引き起こした (同上) 。

20

【0118】

I L - 1 2 は通常、可溶性であるが、毒性を抑制するために、膜アンカー型の I L - 1 2 が作製されている。P C T 出願第 P C T / U S 2 0 1 8 / 0 3 3 4 3 6 号はテザー型 I L - 1 2 をコードする m R N A について記載しており、その全体は参照により本明細書に組み込まれる。

【0119】

それゆえ、一部の実施形態では、ヒト I L - 1 2 ポリペプチドをコードする m R N A は、テザー型ヒト I L - 1 2 ポリペプチドをコードしており、ヒト I L - 1 2 は膜ドメインに機能的に連結している。

30

【0120】

一部の実施形態では、I L - 1 2 ポリペプチドはマウス I L - 1 2 ポリペプチドである。一部の実施形態では、I L - 1 2 ポリペプチドはヒト I L - 1 2 ポリペプチドである。一部の実施形態では、I L - 1 2 ポリペプチドは配列番号：33、35、39、または40に記載のアミノ酸配列を含む。

【0121】

一部の実施形態では、I L - 1 2 ポリペプチドは、直接またはリンカーにより融合した I L - 1 2 B ポリペプチド及び I L - 1 2 A ポリペプチドを含む単一のポリペプチド鎖を含む。その他の実施形態では、I L - 1 2 ポリペプチドは、2種のポリペプチド、I L - 1 2 B を含む第1のポリペプチド及び I L - 1 2 A を含む第2のポリペプチドを含む。一部の実施形態では、本開示は I L - 1 2 A ポリペプチド及び I L - 1 2 B ポリペプチドを提供し、I L - 1 2 A ポリペプチド及び I L - 1 2 B ポリペプチドは、同一の鎖上にあるまたは異なる鎖上にある。

40

【0122】

本開示で使用する場合、用語「I L - 1 2 ポリペプチド」とは、例えば、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した、I L - 1 2 の I L - 1 2 p 4 0 サブユニット (すなわち、I L - 1 2 B) 、 I L - 1 2 の I L - 1 2 p 3 5 サブユニット (すなわち、I L - 1 2 A) 、または I L - 1 2 p 4 0 サブユニットポリペプチド及び I L - 1 2 p 3 5 サブユニットポリペプチドを含む融合タンパク質のことを意味する。一部の態様では、融

50

合タンパク質は、

(i) 全長IL-12Bポリペプチド（例えば、野生型IL-12Bと同一または本質的に同一の長さを有する）、

(ii) 全長IL-12Bポリペプチドの機能性フラグメント（例えば、IL-12B野生型よりも短いがIL-12B機能活性をなおも保持しているランケット（例えば、カルボキシ末端領域、アミノ末端領域、または内部領域の欠失）配列）、

(iii) そのバリエーション（例えば、1つまたは複数のアミノ酸が置換された全長またはランケットIL-12Bタンパク質、例えば、野生型IL-12Bポリペプチドを基準として、ポリペプチドのIL-12B活性の全てまたは大部分を保持するバリエーション（例えば、V33I、V298F、または当該技術分野において周知の任意のその他の天然バリエーションもしくは合成バリエーションなど））、または、

(iv) (i) 全長IL-12B野生型、その機能性フラグメントまたはバリエーション、及び(ii) 非相同タンパク質、を含む融合タンパク質、から選択されるIL-12Bポリペプチド、及び／または、

(i) 全長IL-12Aポリペプチド（例えば、野生型IL-12Aと同一または本質的に同一の長さを有する）、

(ii) 全長IL-12Aポリペプチドの機能性フラグメント（例えば、IL-12A野生型よりも短いがIL-12A機能活性をなおも保持しているランケット（例えば、カルボキシ末端領域、アミノ末端領域、または内部領域の欠失）配列）、

(iii) そのバリエーション（例えば、1つまたは複数のアミノ酸が置換された全長またはランケットIL-12Aタンパク質、例えば、野生型IL-12Aポリペプチドを基準として、ポリペプチドのIL-12A活性の全てまたは大部分を保持するバリエーション（例えば、当該技術分野において周知の天然バリエーションまたは合成バリエーションなど））、または、

(iv) (i) 全長IL-12A野生型、その機能性フラグメントまたはバリエーション、及び(ii) 非相同タンパク質、を含む融合タンパク質、から選択されるIL-12Aポリペプチド、を含む。

【0123】

一部の実施形態では、ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：33、35、39、または40に記載のアミノ酸配列または配列番号：34、36、または46に記載のヌクレオチド配列がコードするアミノ酸配列に対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一なアミノ酸配列を含むヒトIL-12ポリペプチドをコードしており、ヒトIL-12ポリペプチドはIL-12受容体に結合することができる。

【0124】

特定の実施形態では、本開示のmRNAがコードするIL-12ポリペプチドは、1つまたは複数の保存的置換を有する、配列番号：33、35、39、または40に記載のアミノ酸配列を含み、保存的置換は、IL-12ポリペプチドのその受容体への結合活性に有意に影響を及ぼさない、すなわち、置換後にIL-12ポリペプチドはIL-12受容体に結合する。

【0125】

その他の実施形態では、ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：34、36、または46に記載の核酸配列に対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一なヌクレオチド配列を含む。

【0126】

天然のシグナル配列及び配列番号：33～40及び46に暗に開示されているプロペプチド配列（前駆体形態中に存在しその対応する成熟形態中に存在しない配列）ならびに非天然のシグナルペプチドに加えて、その他のシグナル配列を使用してもよいということを当業者は理解するであろう。それゆえ、IL-12ポリペプチドまたは配列番号：33～40及び46に記載のmRNAへの言及は、当該技術分野において周知の代替シグナルペプチド（またはコード配列）が上記IL-12ポリペプチド（またはmRNA）に結合したバリエーションを包含する。本出願にわたる配列番号：33～40及び46に開示されている配列への言及は、一様に使用可能であり、本出願提出時点における当該技術分野において周知のオルソログ及び機能的バリエーション（例えば、多型バリエーション）ならびにそれらの配列のアイソフォームを包含するということがまた理解されたい。

10

【0127】

一部の実施形態では、本開示のmRNAがコードするテザー型IL-12ポリペプチドは、IL-12ポリペプチドを細胞膜にテザーする（すなわち、アンカーする）膜ドメイン（例えば、膜貫通ドメイン）を含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12ポリペプチドは膜貫通ドメインを含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12ポリペプチドは、膜貫通ドメイン、及び任意選択的に細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12ポリペプチドは膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。

【0128】

一部の実施形態では、膜ドメインは内在性膜タンパク質に由来している。

【0129】

内在性膜タンパク質としては、例えば、疎水性の α ヘリックス構造または β バレル（すなわち、 β シート）構造を有するドメインを含む、タンパク質を細胞表面にテザーする1回貫通型または複数回貫通型の膜貫通ドメインを含有する内在性ポリトピック型タンパク質を挙げることができる。I型内在性膜タンパク質のアミノ末端（すなわち、N末端）が細胞外空間に位置する一方で、II型内在性膜タンパク質のカルボキシ末端（すなわち、C末端）は細胞外空間に位置している。

20

【0130】

一部の実施形態では、本開示のテザー型IL-12ポリペプチドは、内在性ポリトピック型タンパク質に由来する膜貫通ドメインを含む。一部の実施形態では、本開示のテザー型IL-12ポリペプチドは、I型内在性膜タンパク質に由来する膜貫通ドメインを含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12ポリペプチドは、II型内在性膜タンパク質に由来する膜貫通ドメインを含む。

30

【0131】

一部の実施形態では、膜貫通ドメインは、細胞内ドメイン（すなわち、細胞の細胞内空間に局在するドメイン、例えば、細胞の細胞質に局在するドメイン）を含む。一部の実施形態では、細胞内ドメインは膜貫通ドメインから切り離されている。一部の実施形態では、膜貫通ドメインは、細胞内ドメインを含まない膜ドメインを含む。

【0132】

内在性膜タンパク質としてはまた、例えば、細胞膜全体には及んでいないがタンパク質を細胞表面にテザーしている膜ドメインを含有する内在性モノトピック型タンパク質を挙げることができる。一部の実施形態では、本開示のテザー型IL-12ポリペプチドは、内在性モノトピック型タンパク質に由来する膜ドメインを含む。

40

【0133】

一部の実施形態では、膜ドメインは、分化抗原群（CD）タンパク質、CD8、CD80、CD4、受容体、血小板由来増殖因子受容体（PDGFR）、インターロイキン-6受容体（IL-6R）、トランスフェリン受容体、腫瘍壊死因子（TNF）受容体、エリスロポエチン（EPO）受容体、T細胞受容体（TCR）、TCR β 鎖、Fc受容体、Fc γ RII、Fc ϵ RI、インターフェロン受容体、I型インターフェロン受容体、増殖因子、幹細胞因子（SCF）、TNF- α 、B7-1、アジア糖タンパク質、c-e r b B-2、ICAM-1、免疫グロブリン、IgG、IgM、ウイルス糖タンパク質、

50

狂犬病ウイルス糖タンパク質、呼吸器合胞体ウイルス糖タンパク質G（RSVG）、水疱性口内炎ウイルス糖タンパク質（VSVG）、ウイルスヘマグルチニン（HA）、インフルエンザHA、ワクシニアウイルスHA、またはこれらの任意の組み合わせに由来している。

【0134】

一部の実施形態では、膜ドメインは、CD8膜貫通ドメイン、PDGFR膜貫通ドメイン、CD80膜貫通ドメイン、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

【0135】

例示的な膜貫通ドメインのアミノ酸配列は配列番号：41～43に記載されている。

【0136】

一部の実施形態では、膜ドメインは、T細胞表面糖タンパク質CD8 α 鎖（CD8AまたはTリンパ球分化抗原T8/Leu-2としても周知）の膜貫通ドメイン、例えば、UniProtKB-P01732の膜貫通を含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、CD8膜貫通ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：41に記載のCD8膜貫通ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、CD8膜貫通ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：69に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、CD8膜貫通ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：69に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。

【0137】

一部の実施形態では、膜ドメインは、血小板由来増殖因子受容体 β （EC：2.7.10.1）（PDGFR β 、PDGFR β 、 β 血小板由来増殖因子受容体、 β 型血小板由来増殖因子受容体、CD140抗原様ファミリーメンバーB、血小板由来増殖因子受容体1、PDGFR-1、またはCD140bとしても周知）の膜貫通ドメイン、例えば、UniProtKB-P09619の膜貫通ドメインを含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、PDGFR β 膜貫通ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：42に記載のPDGFR β 膜貫通ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、PDGFR β 膜貫通ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：62に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、PDGFR β 膜貫通ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：62に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。

【0138】

一部の実施形態では、膜ドメインは、Tリンパ球活性化抗原CD80（活性化B7-1抗原、BB1、CTLA-4カウンター受容体B7.1、またはB7としても周知）の膜貫通ドメイン、例えば、UniProtKB-P33681の膜貫通ドメインを含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、CD80膜貫通ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：43に記載のCD80膜貫通ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、CD80膜貫通ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：70に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、CD80膜貫通ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：70に記載のヌクレオチ

10

20

30

40

50

ド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。

【0139】

一部の実施形態では、テザー型IL-12ポリペプチド内の膜ドメインは、配列番号：41、配列番号：42、配列番号：43、またはこれらの任意の組み合わせに対して少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約99%、または約100%同一なアミノ酸配列を含む。

【0140】

一部の実施形態では、膜ドメインは膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、細胞内ドメインは、細胞内において伝播シグナルとして機能することが知られている任意のオリゴペプチドまたはポリペプチドである。一部の実施形態では、膜ドメインは、テザー型IL-12ポリペプチドを安定させるための細胞内ドメインを含む。

【0141】

本開示の方法及び組成物に有用な細胞内ドメインとしては、少なくとも、上記の、膜貫通ドメインが由来するポリペプチドのいずれかに由来する細胞内ドメインが挙げられる。例えば、好適な細胞内ドメインとしては、CD80、PDGFR、またはこれらの任意の組み合わせに由来する細胞内ドメインが挙げられるがこれらに限定されない。

【0142】

一部の実施形態では、膜ドメインは、血小板由来増殖因子受容体β（EC：2.7.10.1）（PDGFRβ、PDGFRβ、β血小板由来増殖因子受容体、β型血小板由来増殖因子受容体、CD140抗原様ファミリーメンバーB、血小板由来増殖因子受容体1、PDGFR-1、またはCD140bとしても周知）の細胞内ドメイン、例えば、UniProtKB-P09619の細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、PDGFRβ細胞内ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：48に記載のPDGFRβ細胞内ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。

【0143】

一部の実施形態では、膜ドメインはPDGFRβのトランケート細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、PDGFRβのトランケート細胞内ドメインは、野生型PDGFRβ細胞内ドメインと比較して、テザー型IL-12ポリペプチドを安定させる。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、トランケートPDGFRβ細胞内ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：49に記載のトランケートPDGFRβ細胞内ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：50に記載のトランケートPDGFRβ細胞内ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、トランケートPDGFRβ細胞内ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：63に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、トランケートPDGFRβ細胞内ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：63に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、トランケートPDGFRβ細胞内ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：64に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、トランケートPDGFRβ細胞内ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：64に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少な

10

20

30

40

50

くとも95%、または少なくとも99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。

【0144】

その他の実施形態では、膜ドメインは、Tリンパ球活性化抗原CD80（活性化B7-1抗原、BB1、CTLA-4カウンター受容体B7.1、またはB7としても周知）の細胞内ドメイン、例えば、UniProtKB-P33681の細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、CD80細胞内ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、テザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：47に記載のCD80細胞内ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、CD80細胞内ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：71に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、CD80細胞内ドメインを含むテザー型IL-12をコードするmRNAは、配列番号：71に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。

10

【0145】

一部の実施形態では、本明細書に記載のテザー型IL-12ポリペプチドは、同一のポリペプチドに由来する（すなわち、相同の）、膜貫通ドメインを含む膜ドメイン及び細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のテザー型IL-12ポリペプチドは、CD80膜貫通ドメインを含む膜ドメイン及びCD80細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のテザー型IL-12ポリペプチドは、PDGFRβ膜貫通ドメインを含む膜ドメイン及びPDGFRβ細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のテザー型IL-12ポリペプチドは、異なるポリペプチドに由来する（すなわち、非相同の）、膜貫通ドメインを含む膜ドメイン及び細胞内ドメイン（例えば、CD80膜貫通ドメイン及びPDGFRβ細胞内ドメイン、CD8膜貫通ドメイン及びCD80細胞内ドメイン、CD8膜貫通ドメイン及びPDGFRβ膜貫通ドメイン、またはPDGFRβ膜貫通ドメイン及びCD80細胞内ドメイン）を含む。

20

【0146】

一部の実施形態では、テザー型IL-12ポリペプチド内の膜ドメイン（例えば、膜貫通ドメイン、及び任意選択的な細胞内ドメイン）は、任意のIL-12アミノ酸配列（すなわち、IL-12A、IL-12B、またはIL-12AとIL-12Bの両方（テザー型IL-12ポリペプチド内にその両方が含まれる場合）の任意のアミノ酸配列）のC末端側に位置している。語句「のC末端側に位置する」は、ポリペプチドのC末端に対する、ポリペプチド内のその他の配列を基準としたポリペプチド内における位置を示す。任意のIL-12アミノ酸配列「のC末端側」にある膜ドメイン（例えば、膜貫通ドメイン、及び任意選択的な細胞内ドメイン）とは、膜ドメインが、任意のIL-12アミノ酸配列と比較して、テザー型IL-12ポリペプチドのC末端に近いところに位置していることを意味する。

30

【0147】

一部の実施形態では、テザー型IL-12ポリペプチド内の膜ドメイン（例えば、膜貫通ドメイン、及び任意選択的な細胞内ドメイン）は、IL-12ポリペプチドのN末端側に位置している。任意のIL-12アミノ酸配列「のN末端側」にある膜ドメインとは、膜ドメインが、任意のIL-12アミノ酸配列と比較して、テザー型IL-12ポリペプチドのN末端に近いところに位置していることを意味する。

40

【0148】

一部の実施形態では、テザー型IL-12ポリペプチド内の膜ドメイン（例えば、膜貫通ドメイン、及び任意選択的な細胞内ドメイン）は、リンカーによってIL-12ポリペプチドに連結されており、そのリンカーは、本明細書において、「膜ドメインリンカー」または「膜貫通ドメインリンカー」（膜ドメインが膜貫通ドメイン及び任意選択的に細胞

50

内ドメインである場合）と呼ばれる。リンカーの非限定例については本明細書の他の箇所に開示されている。一部の実施形態では、テザー型IL-12ポリペプチド内の膜ドメインは、IL-12ポリペプチドに直接融合している。

【0149】

一部の実施形態では、mRNAがコードするヒトCD8膜貫通ドメインを含むテザー型ヒトIL-12ポリペプチドは、配列番号：53に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ヒトCD8膜貫通ドメインを含むテザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：52に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、ヒトCD8膜貫通ドメインを含むテザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：52に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。

10

【0150】

一部の実施形態では、mRNAがコードするヒトCD8膜貫通ドメインを含むテザー型ヒトIL-12ポリペプチドは、配列番号：55に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ヒトCD8膜貫通ドメインを含むテザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：54に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、ヒトCD8膜貫通ドメインを含むテザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：54に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。

20

【0151】

一部の実施形態では、mRNAがコードするヒトCD80膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含むテザー型ヒトIL-12ポリペプチドは、配列番号：61に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ヒトCD80膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含むテザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：56～60のうちのいずれか1つに記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。一部の実施形態では、ヒトCD8膜貫通ドメインを含むテザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：56～60のうちのいずれか1つから選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む。

30

【0152】

細胞結合IL-15／IL-15R α をコードするmRNA

IL-15は、4 α ヘリックスバンドルファミリーのサイトカインのメンバーであり、効果的な免疫応答の発現において重要な役割を果たしている（Waldmann, T. A., Cancer Immunol. Res. 3: 219-227 (2015)）。IL-15は、NK細胞の適切な発現及びメモリーCD8+T細胞の長期的な維持に不可欠である。IL-15遺伝子は、48アミノ酸のシグナルペプチドを有する162アミノ酸前駆体タンパク質（成熟タンパク質は114アミノ酸長である）をコードしている（Bamford, R. N., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 2897-2902 (1996)）。例えば、ホモサピエンスIL-15転写バリエーション3 mRNA配列についてはGenBank受入番号NM_000585、及び対応するIL-15アイソフォーム1プロタンパク質前駆体についてはGenBank受入番号NP_000576もまた参照されたい。

40

【0153】

IL-15は、インターロイキン-2（IL2）に対するある一定の構造類似性を共有している。IL-2と同様に、IL-15は、IL-2受容体の β 鎖（CD122）及び

50

共通 γ 鎖 (CD132) を介してシグナルを伝達する。しかし、IL-2 とは異なり、IL-15 は、CD122 及び CD132 に単独で効果的に結合することができない。IL-15 は先ず IL-15 α 受容体サブユニット (IL-15 $R\alpha$) に結合する必要がある。IL-15 $R\alpha$ 遺伝子は、30 アミノ酸のシグナルペプチドを有する 267 アミノ酸前駆体タンパク質 (成熟タンパク質は 237 アミノ酸長である) をコードしている。例えば、ホモサピエンス IL-15 $R\alpha$ 転写バリエーション 1 mRNA については GenBank 受入番号 NM_002189、及びホモサピエンス IL-15 $R\alpha$ アイソフォーム 1 前駆体アミノ酸配列については GenBank 受入番号 NP_002180 を参照されたい。

【0154】

ヒト IL-15 $R\alpha$ は主に、細胞、例えば、活性化樹状細胞及び活性化単球などの表面上の IL-15 に結合する膜貫通タンパク質である (Waldmann, T. A., Cancer Immunol. Res. 3: 219-227 (2015))。次に、IL-15/IL-15 $R\alpha$ の膜結合複合体は、CD122 サブユニット及び CD132 サブユニットに IL-15 をトランスで提示する。それゆえ、IL-15 $R\alpha$ は、IL-15 活性の不可欠な構成要素であり、その結果、IL-15 は通常、細胞結合サイトカインである。

【0155】

それゆえ、一部の実施形態では、本開示は、ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA 及びヒト IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドをコードする mRNA を提供する。一部の実施形態では、本開示は、ヒト IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA を提供する。

【0156】

一部の実施形態では、IL-15 ポリペプチド及び/または IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドは、野生型 IL-15 及び/または IL-15 $R\alpha$ 配列を基準とした置換、及び挿入及び/または付加、欠失、及び/または共有結合修飾を含有するバリエーション、ペプチド、またはポリペプチドである。本明細書で言及する場合、用語「IL-15 ポリペプチド」とは成熟 IL-15 ポリペプチド (すなわち、シグナルペプチド及びプロペプチドを含まない) のことを意味する。一実施形態では、IL-15 ポリペプチドはシグナルペプチド及び/またはプロペプチドを含む。

【0157】

用語「IL-15 $R\alpha$ ポリペプチド」は、本明細書で使用する場合、全長ヒト IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドのうちの少なくとも sushidメイン及びヒンジ領域を含む。一部の実施形態では、全長ヒト IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドの sushidメインは、配列番号: 129 に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドは、全長ヒト IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドの細胞外ドメインを含む。一部の実施形態では、全長ヒト IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドの細胞外ドメインは、配列番号: 130 に記載のアミノ酸配列を含む。その他の実施形態では、IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドは、全長ヒト IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドの膜貫通領域及び/または細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、全長ヒト IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドの膜貫通領域及び/または細胞内ドメインは、配列番号: 131 に記載のアミノ酸配列を含む。その他の実施形態では、IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドは、非相同ポリペプチドの膜貫通領域及び/または細胞内ドメインを含む。例えば、本明細書に記載の膜貫通ドメイン及び/または細胞内ドメインのいずれかを、IL-15 $R\alpha$ ポリペプチドの非相同膜貫通ドメイン及び/または細胞内ドメインとして利用してもよい。

【0158】

一部の実施形態では、例えば、局在化のために、配列タグまたはアミノ酸を、本発明のポリヌクレオチドがコードする配列に付加してもよい (例えば、N 末端または C 末端に)。一部の実施形態では、本発明のポリペプチドのカルボキシ末端領域、アミノ末端領域、または内部領域に位置するアミノ酸残基を任意選択的に欠失させてもよい。

【0159】

一部の態様では、本開示は、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAを提供する。その他の態様では、本開示は、ヒトIL-15 R α ポリペプチドをコードするmRNAを提供する。一部の実施形態では、本開示のmRNAは、ヒトIL-15ポリペプチド及び少なくともsushiドメインを含むヒトIL-15 R α ポリペプチドを含む融合タンパク質をコードしており、ヒトIL-15ポリペプチド及びヒトIL-15 R α ポリペプチドは機能的に連結している。その他の実施形態では、mRNAは、2種のポリペプチド鎖、ヒトIL-15ポリペプチドを含む第1の鎖、及びヒトIL-15 R α ポリペプチドを含む第2の鎖をコードしている。

【0160】

一部の実施形態では、IL-15ポリペプチドは、

(i) シグナルペプチドを含むまたは含まない成熟ヒトIL-15ポリペプチド（例えば、野生型ヒトIL-15と同一または本質的に同一の長さを有する）、

(ii) ヒトIL-15ポリペプチドの機能性フラグメント（例えば、IL-15野生型よりも短いがIL-15活性をなおも保持しているトランケート（例えば、カルボキシ末端領域、アミノ末端領域、または内部領域の欠失）配列）、

(iii) そのバリエーション（例えば、1つまたは複数のアミノ酸が置換された全長、成熟、またはトランケートIL-15タンパク質、例えば、野生型IL-15ポリペプチドを基準として、ポリペプチドのIL-15活性の全てまたは大部分を保持するバリエーション）、及び、

(iv) (a) シグナルペプチドを含むまたは含まない、成熟ヒトIL-15野生型、その機能性フラグメントまたはバリエーション、及び(b) 非相同タンパク質、を含む融合タンパク質、から選択される。

【0161】

一部の実施形態では、IL-15 R α ポリペプチドは、

(i) 全長ヒトIL-15 R α ポリペプチド（例えば、野生型ヒトIL-15 R α と同一または本質的に同一の長さを有する）、

(ii) 全長ヒトIL-15 R α ポリペプチドの機能性フラグメント（例えば、IL-15 R α 野生型よりも短いがIL-15 R α 活性をなおも保持しているトランケート（例えば、カルボキシ末端領域、アミノ末端領域、または内部領域の欠失）配列）、

(iii) そのバリエーション（例えば、1つまたは複数のアミノ酸が置換された全長またはトランケートIL-15 R α タンパク質、例えば、野生型IL-15 R α ポリペプチドを基準として、ポリペプチドのIL-15 R α 活性の全てまたは大部分を保持するバリエーション（例えば、当該技術分野において周知の天然バリエーションまたは合成バリエーションなど））、及び、

(iv) (a) 全長ヒトIL-15 R α 野生型、その機能性フラグメントまたはバリエーション、及び(b) 非相同タンパク質、を含む融合タンパク質、から選択される。

【0162】

特定の実施形態では、mRNAは、哺乳動物IL-15及び／またはIL-15 R α ポリペプチド、例えば、非ヒト（例えば、霊長類）IL-15及び／またはIL-15 R α ポリペプチド、その機能性フラグメントまたはバリエーションなどをコードしている。

【0163】

一部の実施形態では、ヒトIL-15ポリペプチドは、配列番号：15及び17に記載のアミノ酸配列または配列番号：16、19、20、及び122に記載のヌクレオチド配列がコードするアミノ酸配列に対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一なアミノ酸配列を含み、ヒトIL-15ポリペプチドはヒトIL-15受容体に結合することができる。

【0164】

特定の実施形態では、本開示のmRNAがコードするヒトIL-15ポリペプチドは、1つまたは複数の保存的置換を有する、配列番号：15及び17に記載のアミノ酸配列を含み、保存的置換は、IL-15ポリペプチドのその受容体への結合活性に有意に影響を及ぼさない、すなわち、置換後にIL-15ポリペプチドはIL-15受容体に結合する。
【0165】

その他の実施形態では、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：16、19、20、及び122に記載の核酸配列に対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一なヌクレオチド配列を含む。

10

【0166】

一部の実施形態では、ヒトIL-15R α ポリペプチドは、配列番号：13に記載のアミノ酸配列または配列番号：14、21、及び22に記載のヌクレオチド配列がコードするアミノ酸配列に対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一なアミノ酸配列を含み、ヒトIL-15R α ポリペプチドはヒトIL-15ポリペプチドに結合することができる。

【0167】

特定の実施形態では、本開示のmRNAがコードするヒトIL-15R α ポリペプチドは、1つまたは複数の保存的置換を有する、配列番号：14、21、及び22に記載のアミノ酸配列を含み、保存的置換は、IL-15R α ポリペプチドのそのリガンドへの結合活性に有意に影響を及ぼさない、すなわち、置換後にIL-15R α ポリペプチドはIL-15に結合する。

20

【0168】

その他の実施形態では、ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：14、21、及び22に記載の核酸配列に対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一なヌクレオチド配列を含む。

【0169】

30

一部の実施形態では、mRNAは、配列番号：13に記載のアミノ酸配列または配列番号：14、21、及び22に記載のヌクレオチド配列がコードするアミノ酸配列に対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一なアミノ酸配列を含むヒトIL-15/IL-15R α 融合ポリペプチドをコードしている。

【0170】

特定の実施形態では、本開示のmRNAがコードするIL-15/IL-15R α 融合ポリペプチドは、1つまたは複数の保存的置換を有する、配列番号：23、27、及び123に記載のアミノ酸配列を含み、保存的置換は、IL-15ポリペプチドのその受容体への結合活性に有意に影響を及ぼさない。

40

【0171】

その他の実施形態では、IL-15/IL-15R α 融合ポリペプチドをコードするmRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126に記載の核酸配列に対して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一なヌクレオチド配列を含む。

【0172】

サイトカイン及び共刺激分子の組成物

一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の少なくとも2種のmRNAを含む組

50

成物（例えば、脂質ナノ粒子）を提供する。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の2種のmRNAを含む組成物（例えば、脂質ナノ粒子）を提供する。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の3種のmRNAを含む組成物（例えば、脂質ナノ粒子）を提供する。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の4種のmRNAを含む組成物（例えば、脂質ナノ粒子）を提供する。

【0173】

一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA及び(ii) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（ヒトOX40Lポリペプチドは配列番号：1に記載のアミノ酸配列を含む）、及び(ii) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトテザー型IL-12ポリペプチドは配列番号：53、55、61、及び66からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（ヒトOX40Lポリペプチドは配列番号：1に記載のアミノ酸配列を含む）、及び(ii) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトIL-12ポリペプチドは配列番号：61に記載のアミノ酸配列を含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：4、6、及び9～11からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び(ii) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：52、54、56～60、及び67からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：4、6、及び9～11からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び(ii) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：52、54、56～60、及び67からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び(ii) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：60に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び(ii) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：60に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA及びテザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAの組み合わせを提供し、2種のmRNAは、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、2種のmRNAは、同一の脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、2種のmRNAは、2種の異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。

【0174】

一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及び(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（ヒトOX40Lポリペプチドは配列番号：1に記載のアミノ酸配列を含む）、(ii) ヒトIL-15ポリペプチド

ドをコードするmRNA（ヒトIL-15ポリペプチドは、配列番号：15及び17からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む）、及び（iii）ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトIL-15R α ポリペプチドは、配列番号：13に記載のアミノ酸配列を含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、（i）ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（ヒトOX40Lポリペプチドは配列番号：1に記載のアミノ酸配列を含む）、（ii）ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトIL-15ポリペプチドは、配列番号：17に記載のアミノ酸を含む）、及び（iii）ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトIL-15R α ポリペプチドは、配列番号：13に記載のアミノ酸配列を含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、（i）ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：4、6、及び9～11からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、（ii）ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：16、19、20、及び122からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び（iii）ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：14、21、及び22からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、（i）ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：4、6、及び9～11からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、（ii）ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：16、19、20、及び122からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び（iii）ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：14、21、及び22からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、（i）ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、（ii）ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：122に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び（iii）ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：22に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、（i）ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、（ii）ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：122に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び（iii）ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：22に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNAの組み合わせを提供し、3種のmRNAは、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、3種のmRNAは、同一の脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、3種のmRNAは、3種の異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。

【0175】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、及び(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（ヒトOX40Lポリペプチドは配列番号：1に記載のアミノ酸配列を含む）、及び(ii) 配列番号：18、23、27、及び123からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：4、6、及び9～11からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：4、6、及び9～11からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）、及び(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む）を含む。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の、ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAの組み合わせを提供し、2種のmRNAは、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、2種のmRNAは、同一の脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、2種のmRNAは、2種の異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。

【0176】

一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及び(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトIL-12ポリペプチドは、配列番号：53、55、61、及び66からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む）、(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトIL-15ポリペプチドは、配列番号：15及び17からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む）、及び(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA（ヒトIL-15R α ポリペプチドは、配列番号：13に記載のアミノ酸配列を含む

を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (ヒトIL-12ポリペプチドは配列番号：61に記載のアミノ酸配列を含む)、(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (ヒトIL-15ポリペプチドは、配列番号：17に記載のアミノ酸を含む)、及び(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA (ヒトIL-15R α ポリペプチドは、配列番号：13に記載のアミノ酸配列を含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：52、54、56～60、及び67からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：16、19、20、及び122からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：14、21、及び22からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：52、54、56～60、及び67からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：16、19、20、及び122からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：14、21、及び22からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：60に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：122に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：22に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：60に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：122に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：22に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の、テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNAの組み合わせを提供し、3種のmRNAは、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、3種のmRNAは、同一の脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、3種のmRNAは、3種の異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。

【0177】

一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、及び(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトI

10

20

30

40

50

L-15ポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (ヒトIL-12ポリペプチドは、配列番号：53、55、61、及び66からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む)、及び(ii) 配列番号：18、23、27、及び123からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (ヒトテザー型IL-12ポリペプチドは配列番号：61に記載のアミノ酸配列を含む)、及び(ii) 配列番号：18、23、27、及び123からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：52、54、56～60、及び67からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：52、54、56～60、及び67からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：60に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：60に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(ii) ヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の、テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAの組み合わせを提供し、2種のmRNAは、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、2種のmRNAは、同一の脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、2種のmRNAは、2種の異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。

【0178】

一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、(ii) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、(iii) ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及び(iv) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA (ヒトOX40Lポリペプチドは配列番号：

10

20

30

40

50

1に記載のアミノ酸配列を含む)、(ii)テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA(ヒトIL-12ポリペプチドは、配列番号:53、55、61、及び66からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む)、(iii)ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA(ヒトIL-15ポリペプチドは、配列番号:15及び17からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む)、及び(iv)ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA(ヒトIL-15R α ポリペプチドは、配列番号:13に記載のアミノ酸配列を含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i)ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA(ヒトOX40Lポリペプチドは配列番号:1に記載のアミノ酸配列を含む)、(ii)テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA(ヒトIL-12ポリペプチドは配列番号:61に記載のアミノ酸配列を含む)、(iii)ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA(ヒトIL-15ポリペプチドは、配列番号:17に記載のアミノ酸を含む)、及び(iv)ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA(ヒトIL-15R α ポリペプチドは、配列番号:13に記載のアミノ酸配列を含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i)ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:4、6、及び9~11からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii)テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:52、54、56~60、及び67からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(iii)ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:16、19、20、及び122からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(iv)ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:14、21、及び22からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i)ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:4、6、及び9~11からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii)テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:52、54、56~60、及び67からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(iii)ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:16、19、20、及び122からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(iv)ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:14、21、及び22からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i)ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:11に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii)テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:60に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(iii)ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:122に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(iv)ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:22に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i)ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA(mRNAは、配列番号:11に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii)テザー型ヒト

10

20

30

40

50

ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA (mRNA は、配列番号：60 に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも 80%、85%、90%、95%、または 99% の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(iii) ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA (mRNA は、配列番号：122 に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも 80%、85%、90%、95%、または 99% の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び (iv) ヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA (mRNA は、配列番号：24~26、28~30、及び 124~126 からなる群から選択される配列番号：22 に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも 80%、85%、90%、95%、または 99% の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の、ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA、テザー型ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA の組み合わせを提供し、4 種の mRNA は、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、4 種の mRNA は、同一の脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、4 種の mRNA は、3 種の異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。

【0179】

一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA、(ii) テザー型ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、及び (iii) ヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA (ヒト OX40 L ポリペプチドは配列番号：1 に記載のアミノ酸配列を含む)、(ii) テザー型ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA (ヒト IL-12 ポリペプチドは、配列番号：53、55、61、及び 66 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む)、及び (iii) 配列番号：18、23、27、及び 123 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA (ヒト OX40 L ポリペプチドは配列番号：1 に記載のアミノ酸配列を含む)、(ii) テザー型ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA (ヒト IL-12 ポリペプチドは配列番号：61 に記載のアミノ酸配列を含む)、及び (iii) 配列番号：18、23、27、及び 123 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA (mRNA は、配列番号：4、6、及び 9~11 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii) テザー型ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA (mRNA は、配列番号：52、54、56~60、及び 67 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び (iii) ヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA (mRNA は、配列番号：24~26、28~30、及び 124~126 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒト OX40 L ポリペプチドをコードする mRNA (mRNA は、配列番号：4、6、及び 9~11 からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも 80%、85%、90%、95%、または 99% の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii) テザー型ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA (mRNA は、配列番号：52、54、56~60、及び 67 からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも 80%、85%、90%、95%、または 99% の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び (

10

20

30

40

50

i i i) ヒトIL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40 LポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：60に記載のヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(iii) ヒトIL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、組成物は、(i) ヒトOX40 LポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、(ii) テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：60に記載のヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)、及び(iii) ヒトIL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA (mRNAは、配列番号：24～26、28～30、及び124～126からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むオープンリーディングフレームを含む)を含む。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の、ヒトOX40 LポリペプチドをコードするmRNA、テザー型ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNAの組み合わせを提供し、3種のmRNAは、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、3種のmRNAは、同一の脂質ナノ粒子内に封入されている。一部の実施形態では、3種のmRNAは、2種の異なる脂質ナノ粒子内に封入されている。

【0180】

mRNA構築物構成要素

mRNAは、天然または非天然のmRNAであってもよい。mRNAは、以下で説明する1種または複数種の修飾核酸塩基、ヌクレオシド、またはヌクレオチドを含んでいてもよく、その場合、「修飾mRNA」または「mmRNA」と呼ばれることもある。本明細書に記載するとおり、「ヌクレオシド」は、有機塩基（例えば、プリンまたはピリミジン）またはその誘導体（本明細書ではまた、「核酸塩基」と呼ぶ）と組み合わせた、糖分子（例えば、ペントースまたはリボース）またはその誘導体を含有する化合物と定義される。本明細書に記載するとおり、「ヌクレオチド」は、リン酸基を含むヌクレオシドと定義される。

【0181】

mRNAは、5'非翻訳領域(5'-UTR)、3'非翻訳領域(3'-UTR)、及び／またはコード領域（例えば、オープンリーディングフレーム）を含んでいてもよい。構築物に用いる例示的な5'UTRを配列番号：75に示す。構築物に用いる別の例示的な5'UTRを配列番号：76に示す。構築物に用いる別の例示的な5'UTRを配列番号：133に示す。構築物に用いる別の例示的な5'UTRを配列番号：12に示す。構築物に用いる例示的な3'UTRを配列番号：77に示す。構築物に用いるmiR-122結合部位及びmiR-142.3p結合部位を含む例示的な3'UTRを配列番号：78に示す。mRNAは、数十（例えば、10、20、30、40、50、60、70、80、90、または100）、数百（例えば、200、300、400、500、600、700、800、

または900)または数千(例えば、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10,000)の塩基対を含む、任意の好適な数の塩基対を含んでいてもよい。任意の数(例えば、全て、一部、またはなし)の核酸塩基、ヌクレオシド、またはヌクレオチドは、置換された、修飾された、または別様に非天然の、標準的な種の類似体であってもよい。特定の実施形態では、特定の核酸塩基型の全てを修飾してもよい。

【0182】

一部の実施形態では、本明細書に記載のmRNAは、5'キャップ構造、鎖停止ヌクレオチド、任意選択的にコザック配列(コザックコンセンサス配列としても周知)、ステムループ、ポリA配列、及び／またはポリアデニル化シグナルを含んでいてもよい。

10

【0183】

5'キャップ構造またはキャップ種は、リンカーによって連結した2つのヌクレオシド部分を含む化合物であり、天然キャップ、非天然キャップもしくはキャップアナログ、またはアンチリバースキャップアナログ(ARCA)から選択してもよい。キャップ種は、1つまたは複数の修飾ヌクレオシド及び／またはリンカー部分を含んでいてもよい。例えば、天然mRNAキャップは、5'位のトリホスフェート連結部によって連結した、グアニンヌクレオチド及び7位がメチル化したグアニン(G)ヌクレオチド、例えば、 $m^7G(5')ppp(5')G$ (一般的には m^7GpppG と表記する)を含んでいてもよい。キャップ種はまた、アンチリバースキャップアナログであってもよい。考えられるキャップ種の非限定的なリストとしては、 m^7GpppG 、 m^7Gpppm^7G 、 $m^73'dGpppG$ 、 $m_2^7,0^3'GpppG$ 、 $m_2^7,0^3'GppppG$ 、 $m_2^7,0^2'GppppG$ 、 m^7Gpppm^7G 、 $m^73'dGpppG$ 、 $m_2^7,0^3'GpppG$ 、 $m_2^7,0^3'GppppG$ 、及び $m_2^7,0^2'GppppG$ が挙げられる。

20

【0184】

mRNAは、代わりにまたは追加で、鎖停止ヌクレオシドを含んでいてもよい。例えば、鎖停止ヌクレオシドとしては、その糖基の2'位及び／または3'位が脱酸素化した鎖停止ヌクレオシドを挙げてもよい。このような種としては、3'-デオキシアデノシン(コルジセピン)、3'-デオキシウリジン、3'-デオキシシトシン、3'-デオキシグアノシン、3'-デオキシチミン、ならびに2',3'-ジデオキシヌクレオシド、例えば、2',3'-ジデオキシアデノシン、2',3'-ジデオキシウリジン、2',3'-ジデオキシシトシン、2',3'-ジデオキシグアノシン、及び2',3'-ジデオキシチミンなどを挙げてもよい。一部の実施形態では、例えば、国際特許公開第WO2013/103659号に記載されているように、例えば、3'末端における、鎖停止ヌクレオチドのmRNAへの導入により、mRNAの安定化がもたらされ得る。

30

【0185】

mRNAは、代わりにまたは追加で、ステムループ、例えば、ヒストンステムループなどを含んでいてもよい。ステムループは、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上のヌクレオチド塩基対を含んでいてもよい。例えば、ステムループは、4、5、6、7、または8のヌクレオチド塩基対を含んでいてもよい。ステムループは、mRNAの任意の領域に位置していてもよい。例えば、ステムループは、非翻訳領域の前もしくは後(5'非翻訳領域または3'非翻訳領域)、コード領域、またはポリA配列もしくはポリA尾部に位置していてもよい。一部の実施形態では、ステムループは、mRNAの1種または複数種の機能(複数可)、例えば、翻訳の開始、翻訳効率、及び／または転写停止などに影響を及ぼし得る。

40

【0186】

mRNAは、代わりにまたは追加で、ポリA配列及び／またはポリアデニル化シグナルを含んでいてもよい。ポリA配列は、完全にまたは主に、アデニンヌクレオチドまたはその類似体もしくは誘導体で構成されていてもよい。ポリA配列は、mRNAの3'非翻訳領域に隣接して位置する尾部であってもよい。一部の実施形態では、ポリA配列は、mRNAの核外移行、翻訳、及び／または安定性に影響を及ぼし得る。

50

【0187】

mRNAは、代わりにまたは追加で、マイクロRNA結合部位を含んでいてもよい。

【0188】

一部の実施形態では、mRNAは、第1のコード領域と第2のコード領域の間の内部翻訳開始を可能とする配列内リボソーム進入部位(IRES)配列を含む介在配列を有する、または2Aペプチドなどの自己開裂ペプチドをコードする介在配列を有する、第1のコード領域及び第2のコード領域を含むバイシストロン性mRNAである。IRES配列及び2Aペプチドは一般的に、同一のベクターに由来する複数種のタンパク質の発現を増強するために使用される。様々なIRES配列が当該技術分野において周知かつ入手可能であり、それらを使用してもよく、それらとしては、例えば、脳心筋炎ウイルスIRESが挙げられる。

10

【0189】

一実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、自己開裂ペプチドをコードする配列を含んでいてもよい。自己開裂ペプチドは、限定するわけではないが、2Aペプチドであってもよい。様々な2Aペプチドが当該技術分野において周知かつ入手可能であり、それらを使用してもよく、それらとしては、例えば、口蹄疫ウイルス(FMDV)2Aペプチド、ウマ鼻炎Aウイルス2Aペプチド、Thosea asignaウイルス2Aペプチド、及びブタテシオウイルス-1 2Aペプチドが挙げられる。2Aペプチドは、2Aペプチド配列において正常なペプチド結合が阻害されて、1つの翻訳イベントから2種の不連続なタンパク質が生じることになるように、リボソームスキッピングにより1つの転写物から2種のタンパク質を生成するために、数種類のウイルスが使用している。非限定例として、2Aペプチドは、タンパク質配列: GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (配列番号: 79)、そのフラグメントまたはバリエーションを有していてもよい。一実施形態では、2Aペプチドは、最後のグリシンと最後のプロリンの間を開裂する。別の非限定例として、本開示のポリヌクレオチドは、タンパク質配列GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (配列番号: 79)、そのフラグメントまたはバリエーションを有する2Aペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含んでいてもよい。2Aペプチドをコードするポリヌクレオチド配列の1つの例は、GGAAGCGGAGCTACTAAGCTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAAACCTGGACCT (配列番号: 80) である。1つの例示的な実施形態では、2Aペプチドは、以下の配列: 5'-TCCGGACTCAGATCCGGGGATCTCAAAATTTGTCGCTCCTGTCAAACAAACTCTTAAGCTTTGATTTACTCAAAGCTGGCTGGGGATGTAGAAAGCAATCCAGGTCCACTC-3' (配列番号: 81) がコードしている。本明細書に記載及び/または当該技術分野において周知の方法を用いて、2Aペプチドのポリヌクレオチド配列を修飾またはコドン最適化してもよい。

20

30

【0190】

一実施形態では、この配列を使用して、2種またはそれ以上の目的のポリペプチドのコード領域を分離してもよい。非限定例として、F2Aペプチドをコードする配列は、第1のコード領域Aと第2のコード領域Bの間にあってもよい(A-F2Apep-B)。F2Aペプチドが存在することにより、F2Aペプチド配列の末端におけるグリシンとプロリンの間で1つの長いタンパク質の開裂が生じ(NPGPが開裂してNPG及びPとなる)、その結果、独立したタンパク質A(F2Aペプチドの21アミノ酸が結合しNPGで終了している)及び独立したタンパク質B(F2Aペプチドの1アミノ酸Pが結合している)が生成される。同様に、その他の2Aペプチド(P2A、T2A、及びE2A)では、長いタンパク質内におけるそのペプチドの存在により、2Aペプチド配列の末端におけるグリシンとプロリンの間で開裂が生じる(NPGPが開裂してNPG及びPとなる)。タンパク質A及びタンパク質Bは、同一の目的のペプチドまたはポリペプチドであってもよく、または異なる目的のペプチドまたはポリペプチドであってもよい。特定の実施形態では、タンパク質Aは、免疫原性細胞死を誘導するポリペプチドであり、タンパク質Bは

40

50

、炎症反応及び／または免疫応答を刺激する及び／または免疫応答性を制御する別のポリペプチドである（以下で更に説明する）。

【0191】

一部の実施形態では、本明細書に記載のmRNA構築物はリンカーを含む。一部の実施形態では、リンカーは、1アミノ酸～約200アミノ酸を含むペプチドリナーである。一部の実施形態では、リンカーは、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25、少なくとも26、少なくとも27、少なくとも28、少なくとも29、少なくとも30、少なくとも31、少なくとも32、少なくとも33、少なくとも34、少なくとも35、少なくとも36、少なくとも37、少なくとも38、少なくとも39、または少なくとも40アミノ酸を含む。

【0192】

一部の実施形態では、リンカーは、例えば、 $(G_nS)_m$ を含むGS (Gly/Ser) リンカーであってもよく、式中、 n は1～20の整数であり、 m は1～20の整数である。一部の実施形態では、GSリンカーは(GGGGS)。(配列番号：86)を含んでもよく、式中、 o は1～5の整数である。一部の実施形態では、GSリンカーは、GGSGGGGGSGG (配列番号：87)、GGSGGGGGG (配列番号：88)、またはGGSGSGGS (配列番号：89)を含んでもよい。特定の実施形態では、リンカーは G_6S (GGGGGGGS) (配列番号：90)である。

【0193】

一部の実施形態では、リンカーは、例えば、 $(Gly)_p$ を含むGlyリッチリンカーであってもよく、式中、 p は1～40の整数である。一部の実施形態では、Glyリッチリンカーは、GGGGG (配列番号：91)、GGGGGG (配列番号：92)、GGGGGGG (配列番号：93)、またはGGGGGGGG (配列番号：94)を含んでもよい。

【0194】

一部の実施形態では、リンカーは、 $(EAAAK)_q$ (配列番号：95)を含んでもよく、式中、 q は1～5の整数である。一実施形態では、リンカーは、 $(EAAAK)_3$ 、すなわち、EAAAKEAAAKEAAAK (配列番号：96)を含んでもよい。

【0195】

更なる例示的なリンカーとしては、GGGGSLVPRGSGGGGS (配列番号：97)、GSGSGS (配列番号：98)、GGGGSLVPRGSGGGG (配列番号：99)、GSGSGHMGSGG (配列番号：100)、GSGGSGSGSGG (配列番号：101)、GSGGG (配列番号：102)、GSGSGSGS (配列番号：103)、GGGSEGGGSEGGGSEGGG (配列番号：104)、AAGAATAA (配列番号：105)、GSSSG (配列番号：106)、GSGGGTGSGSG (配列番号：107)、GSGSGSGSGSGGSGG (配列番号：108)、GSGGSGSGSGSGSGGSGG (配列番号：109)、及びGSGGSGSGSGSGSGSGGSGG (配列番号：110)が挙げられるがこれらに限定されない。

【0196】

本明細書で開示するリンカーをコードするヌクレオチドを構築して、本明細書で開示するORFまたはポリヌクレオチドのORFを融合してもよい。

【0197】

修飾mRNA

一部の実施形態では、本開示のmRNAは、1種または複数種の修飾核酸塩基、ヌクレオシド、またはヌクレオチドを含む（「修飾mRNA」または「mmRNA」と呼ばれる）。一部の実施形態では、修飾mRNAは、参照未修飾mRNAと比較した、高い安定性

、細胞内維持、向上した翻訳、及び／または、mRNAを導入する細胞の自然免疫応答の実質的な誘導の欠如を含む有用な特性を有していてもよい。それゆえ、修飾mRNAの使用は、タンパク質産生の効率、核酸の細胞内維持を向上させることに加えて、低い免疫原性を維持することを可能とする。

【0198】

一部の実施形態では、mRNAは、1種または複数種（例えば、1、2、3、または4種）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。一部の実施形態では、mRNAは、1種または複数種（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100種、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。一部の実施形態では、修飾mRNAは、対応する未修飾mRNAと比較した、mRNAを導入する細胞内における低い分解性を示していてもよい。

【0199】

一部の実施形態では、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 (ψ)、ピリジン-4-オンリボヌクレオシド、5-アザ-ウリジン、6-アザ-ウリジン、2-チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオ-ウリジン (s^2U)、4-チオ-ウリジン (s^4U)、4-チオ-シュードウリジン、2-チオ-シュードウリジン、5-ヒドロキシー-ウリジン (ho^5U)、5-アミノアリル-ウリジン、5-ハロ-ウリジン（例えば、5-ヨード-ウリジンまたは5-ブロモ-ウリジン）、3-メチル-ウリジン (m^3U)、5-メトキシ-ウリジン (mo^5U)、ウリジン5-オキシ酢酸 (cmo^5U)、ウリジン5-オキシ酢酸メチルエステル ($mcmo^5U$)、5-カルボキシメチル-ウリジン (cm^5U)、1-カルボキシメチル-シュードウリジン、5-カルボキシヒドロキシメチル-ウリジン (chm^5U)、5-カルボキシヒドロキシメチル-ウリジンメチルエステル ($mchm^5U$)、5-メトキシカルボニルメチル-ウリジン (mcm^5U)、5-メトキシカルボニルメチル-2-チオ-ウリジン (mcm^5s^2U)、5-アミノメチル-2-チオ-ウリジン (nm^5s^2U)、5-メチルアミノメチル-ウリジン (mnm^5U)、5-メチルアミノメチル-2-チオ-ウリジン (mnm^5s^2U)、5-メチルアミノメチル-2-セレノ-ウリジン (mnm^5se^2U)、5-カルバモイルメチル-ウリジン (ncm^5U)、5-カルボキシメチルアミノメチル-ウリジン ($cmnm^5U$)、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオ-ウリジン ($cmnm^5s^2U$)、5-プロピニル-ウリジン、1-プロピニル-シュードウリジン、5-タウリノメチル-ウリジン (τm^5U)、1-タウリノメチル-シュードウリジン、5-タウリノメチル-2-チオ-ウリジン (τm^5s^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、核酸塩基デオキシチミンを有する)、1-メチル-シュードウリジン ($m^1\psi$)、5-メチル-2-チオ-ウリジン (m^5s^2U)、1-メチル-4-チオ-シュードウリジン ($m^1s^4\psi$)、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 ($\tilde{m}Um$)、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 (mcm

⁵Um)、5-カルバモイルメチル-2'-O-メチル-ウリジン (ncm⁵Um)、5-カルボキシメチルアミノメチル-2'-O-メチル-ウリジン (cmn⁵Um)、3, 2'-O-ジメチル-ウリジン (m³Um)、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 (in⁵Um)、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、ならびに、5-[3-(1-E-プロペニルアミノ)]ウリジンが挙げられる。

【0200】

一部の実施形態では、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 (m³C)、N4-アセチル-シチジン (ac⁴C)、5-ホルミル-シチジン (f⁵C)、N4-メチル-シチジン (m⁴C)、5-メチル-シチジン (m⁵C)、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 (hm⁵C)、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 (s²C)、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 (k²C)、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 (m⁵Cm)、N4-アセチル-2'-O-メチル-シチジン (ac⁴Cm)、N4, 2'-O-ジメチル-シチジン (m⁴Cm)、5-ホルミル-2'-O-メチル-シチジン (f⁵Cm)、N4, N4, 2'-O-トリメチル-シチジン (m⁴₂Cm)、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。

【0201】

一部の実施形態では、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 (m¹A)、2-メチル-アデニン (m²A)、N6-メチル-アデノシン (m⁶A)、2-メチルチオ-N6-メチル-アデノシン (ms²m⁶A)、N6-イソペンテニル-アデノシン (i⁶A)、2-メチルチオ-N6-イソペンテニル-アデノシン (ms²i⁶A)、N6-(シス-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン (io⁶A)、2-メチルチオ-N6-(シス-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン (ms²io⁶A)、N6-グリシニルカルバモイル-アデノシン (g⁶A)、N6-スレオニルカルバモイル-アデノシン (t⁶A)、N6-メチル-N6-スレオニルカルバモイル-アデノシン (m⁶t⁶A)、2-メチルチオ-N6-スレオニルカルバモイル-アデノシン (ms²g⁶A)、N6, N6-ジメチル-アデノシン (m⁶₂A)、N6-ヒドロキシノルバリルカルバモイル-アデノシン (hn⁶A)、2-メチルチオ-N6-ヒドロキシノルバリルカルバモイル-アデノシン (ms²hn⁶A)、N6-アセチル-アデノシン (ac⁶A)、7-メチル-アデニン、2-メチルチオ-アデニン、2-メトキシ-アデニン、α-チオ-アデノシン、2'-O-メチル-アデノシン (Am)、N6, 2'-O-ジメチル-アデノシン (m⁶Am)、N6, N6, 2'-O-トリメチル-アデノシン (m⁶₂Am)、1, 2'-O-ジメチル-アデノシン (m¹Am)、2'-O-リ

10

20

30

40

50

ボシルアデノシン（ホスフェート）（ $Ar(p)$ ）、2-アミノ-N6-メチルプリン、1-チオアデノシン、8-アジドアデノシン、2'-F-アラアデノシン、2'-F-アデノシン、2'-OH-アラアデノシン、及びN6-（19-アミノペンタオキサノナデシル）-アデノシンが挙げられる。

【0202】

一部の実施形態では、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^1I ）、ワイオシン（ imG ）、メチルワイオシン（ $mimG$ ）、4-脱メチルワイオシン（ $imG-14$ ）、イソワイオシン（ $imG2$ ）、ワイプトシン（ yW ）、ペルオキシワイプトシン（ o_2yW ）、ヒドロキシワイプトシン（ $OhyW$ ）、未修飾ヒドロキシワイプトシン（ $OhyW^*$ ）、7-デアザーグアノシン、クエウオシン（Q）、エポキシクエウオシン（ oQ ）、ガラクトシルクエウオシン（ $galQ$ ）、マンノシルクエウオシン（ $manQ$ ）、7-シアノ-7-デアザーグアノシン（ $preQ_0$ ）、7-アミノメチル-7-デアザーグアノシン（ $preQ_1$ ）、アルカエオシン（ G^+ ）、7-デアザー-8-アザーグアノシン、6-チオグアノシン、6-チオ-7-デアザーグアノシン、6-チオ-7-デアザー-8-アザーグアノシン、7-メチルグアノシン（ m^7G ）、6-チオ-7-メチルグアノシン、7-メチルイノシン、6-メトキシグアノシン、1-メチルグアノシン（ m^1G ）、N2-メチルグアノシン（ m^2G ）、N2, N2-ジメチルグアノシン（ m^2_2G ）、N2, 7-ジメチルグアノシン（ $m^2, ^7G$ ）、N2, N2, 7-ジメチルグアノシン（ $m^2, ^2, ^7G$ ）、8-オキソグアノシン、7-メチル-8-オキソグアノシン、1-メチル-6-チオグアノシン、N2-メチル-6-チオグアノシン、N2, N2-ジメチル-6-チオグアノシン、 α -チオグアノシン、2'-O-メチルグアノシン（ Gm ）、N2-メチル-2'-O-メチルグアノシン（ m^2Gm ）、N2, N2-ジメチル-2'-O-メチルグアノシン（ m^2_2Gm ）、1-メチル-2'-O-メチルグアノシン（ m^1Gm ）、N2, 7-ジメチル-2'-O-メチルグアノシン（ $m^2, ^7Gm$ ）、2'-O-メチルイノシン（ Im ）、1, 2'-O-ジメチルイノシン（ m^1Im ）、2'-O-リボシルグアノシン（ホスフェート）（ $Gr(p)$ ）、1-チオグアノシン、O6-メチルグアノシン、2'-F-アラグアノシン、及び2'-F-グアノシンが挙げられる。

【0203】

一部の実施形態では、本開示のmRNAとしては、上記修飾核酸塩基のうちの1種または複数種の組み合わせ（例えば、上記修飾核酸塩基のうちの2、3、または4種の組み合わせ）が挙げられる。

【0204】

一部の実施形態では、修飾核酸塩基は、シュードウリジン（ ψ ）、N1-メチルシュードウリジン（ $m^1\psi$ ）、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、5-メチルシトシン、2-チオ-1-メチル-1-デアザシュードウリジン、2-チオ-1-メチルシュードウリジン、2-チオ-5-アザウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオシュードウリジン、4-メトキシ-2-チオシュードウリジン、4-メトキシシュードウリジン、4-チオ-1-メチルシュードウリジン、4-チオシュードウリジン、5-アザウリジン、ジヒドロシュードウリジン、5-メトキシウリジン、または2'-O-メチルウリジンである。一部の実施形態では、本開示のmRNAとしては、上記修飾核酸塩基のうちの1種または複数種の組み合わせ（例えば、上記修飾核酸塩基のうちの2、3、または4種の組み合わせ）が挙げられる。

【0205】

一部の実施形態では、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、N4-アセチルシチジン（ ac^4C ）、5-メチルシチジン（ m^5C ）、5-ハロシチジン（例えば、5-ヨードシチジン）、5-ヒドロキシメチルシチジン（ hm^5C ）、1-メチルシュードイソシチジン、2-チオシチジン（ s^2C ）、2-チオ-5-メチルシチジンが挙げられる。一部の実

施形態では、本開示のmRNAとしては、上記修飾核酸塩基のうちの1種または複数種の組み合わせ（例えば、上記修飾核酸塩基のうちの2、3、または4種の組み合わせ）が挙げられる。

【0206】

一部の実施形態では、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、7-デアザ-アデニン、1-メチル-アデノシン (m^1A)、2-メチル-アデニン (m^2A)、N6-メチル-アデノシン (m^6A) が挙げられる。一部の実施形態では、本開示のmRNAとしては、上記修飾核酸塩基のうちの1種または複数種の組み合わせ（例えば、上記修飾核酸塩基のうちの2、3、または4種の組み合わせ）が挙げられる。

10

【0207】

一部の実施形態では、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、イノシン (I)、1-メチル-イノシン (m^1I)、ワイオシン (imG)、メチルワイオシン (mimG)、7-デアザ-グアノシン、7-シアノ-7-デアザ-グアノシン (preQ0)、7-アミノメチル-7-デアザ-グアノシン (preQ1)、7-メチル-グアノシン (m^7G)、1-メチル-グアノシン (m^1G)、8-オキソ-グアノシン、7-メチル-8-オキソ-グアノシンが挙げられる。一部の実施形態では、本開示のmRNAとしては、上記修飾核酸塩基のうちの1種または複数種の組み合わせ（例えば、上記修飾核酸塩基のうちの2、3、または4種の組み合わせ）が挙げられる。

20

【0208】

一部の実施形態では、修飾核酸塩基は、1-メチル-シュードウリジン ($m^1\psi$)、5-メトキシ-ウリジン (mo^5U)、5-メチル-シチジン (m^5C)、シュードウリジン (ψ)、 α -チオ-グアノシン、または α -チオ-アデノシンである。一部の実施形態では、本開示のmRNAとしては、上記修飾核酸塩基のうちの1種または複数種の組み合わせ（例えば、上記修飾核酸塩基のうちの2、3、または4種の組み合わせ）が挙げられる。

【0209】

一部の実施形態では、mRNAはシュードウリジン (ψ) を含む。一部の実施形態では、mRNAはシュードウリジン (ψ) 及び5-メチル-シチジン (m^5C) を含む。一部の実施形態では、mRNAは1-メチル-シュードウリジン ($m^1\psi$) を含む。一部の実施形態では、mRNAは1-メチル-シュードウリジン ($m^1\psi$) 及び5-メチル-シチジン (m^5C) を含む。一部の実施形態では、mRNAは2-チオウリジン (s^2U) を含む。一部の実施形態では、mRNAは2-チオウリジン及び5-メチル-シチジン (m^5C) を含む。一部の実施形態では、mRNAは5-メトキシ-ウリジン (mo^5U) を含む。一部の実施形態では、mRNAは5-メトキシ-ウリジン (mo^5U) 及び5-メチル-シチジン (m^5C) を含む。一部の実施形態では、mRNAは2'-O-メチルウリジンを含む。一部の実施形態では、mRNAは2'-O-メチルウリジン及び5-メチル-シチジン (m^5C) を含む。一部の実施形態では、mRNAはN6-メチル-アデノシン (m^6A) を含む。一部の実施形態では、mRNAはN6-メチル-アデノシン (m^6A) 及び5-メチル-シチジン (m^5C) を含む。

30

40

【0210】

特定の実施形態では、本開示のmRNAは、特定の修飾で均一に修飾（すなわち、完全に修飾、全配列にわたり修飾）されている。一部の実施形態では、本開示のmRNAは修飾されており、特定のヌクレオチドまたは核酸塩基のうちの少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%は、修飾されている。例えば、mRNAは5-メチル-シチジン (m^5C) で均一に修飾することができ、それは、mRNA配列中の全てのシトシン残基が5-メチル-シチジン (m^5C) で置換されることを意味する。同様に、本開示のmRNAは、上記したような修飾残基で置換することにより、配列中に存在する任意の型のヌクレオチド残基で均一に修

50

飾することができる。一部の実施形態では、本開示のmRNAは、1-メチルシュードウリジン ($m^1\psi$) で均一に修飾されており、それは、mRNA配列中の全てのウリジン残基が1-メチルシュードウリジン ($m^1\psi$) で置換されることを意味する。一部の実施形態では、ウリジンのうちの少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%は、1-メチルシュードウリジン ($m^1\psi$) である。

【0211】

一部の実施形態では、コード領域（例えば、ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム）において、本開示のmRNAを修飾してもよい。その他の実施形態では、コード領域を除く領域において、mRNAを修飾してもよい。例えば、一部の実施形態では、5'-UTR及び／または3'-UTRを提供し、それらの一方または両方は独立して、1つまたは複数の異なるヌクレオシド修飾を含有していてもよい。このような実施形態では、ヌクレオシド修飾はまた、コード領域内に存在し得る。

【0212】

本開示のmmRNA内に存在し得るヌクレオシド修飾及びその組み合わせの例としては、PCT特許出願公開WO2012045075、WO2014081507、WO2014093924、WO2014164253、及びWO2014159813に記載されているヌクレオシド修飾及びその組み合わせが挙げられるがこれらに限定されない。

【0213】

本開示のmmRNAは、糖、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間連結部に対する修飾の組み合わせを含んでいてもよい。これらの組み合わせとしては、本明細書に記載の任意の1つまたは複数の修飾を挙げることができる。

【0214】

特定の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、本開示のmRNAの天然ヌクレオチドで部分的または完全に置換されていてもよい。非限定例として、天然ヌクレオチドウリジンは、本明細書に記載の修飾ヌクレオシドで置換されていてもよい。別の非限定例では、天然ヌクレオチドウリジンは、本明細書で開示する修飾ヌクレオシドのうちの少なくとも1つで部分的（例えば、天然ウリジンのうちの約0.1%、1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99.9%）に置換されていてもよい。

【0215】

本開示のmRNAまたはその領域はコドン最適化されていてもよい。コドン最適化法は当該技術分野において周知であり、様々な目的、宿主生物のコドン頻度を揃えて適切なフォールディングを確保すること、GC含有量にバイアスをかけてmRNA安定性を高めるまたは二次構造を縮小すること、遺伝子合成または遺伝子発現を低下させ得るタンデムリピートコドンまたは塩基配列を最小限とすること、転写制御領域及び翻訳制御領域をカスタマイズすること、タンパク質輸送配列を挿入または除去すること、コードされたタンパク質内の翻訳後修飾部位（例えば、グリコシル化部位）を除去／付加すること、タンパク質ドメインを付加、除去または再編成させること、制限部位を挿入または欠失させること、リボソーム結合部位及びmRNA分解部位を修飾すること、タンパク質の様々なドメインが適切に折り畳まれるように、または、ポリヌクレオチドの二次構造の課題が減少または解消するように翻訳速度を調節することに有用であり得る。コドン最適化用のツール、アルゴリズム及びサービスは、当該技術分野において周知であり、非限定例としては、GeneArt (Life Technologies)、DNA2.0 (Menlo Park CA) が提供するサービス、及び／または、所有権のある方法が挙げられる。一実施形態では、mRNA配列は、例えば、哺乳動物細胞内における発現を最適化するまたはmRNA安定性を向上させるための最適化アルゴリズムを用いて最適化されている。

【0216】

特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載のポリヌクレオチド配列のいずれかに

対する少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、または少なくとも99%の配列同一性を有するポリヌクレオチドを含む。

【0217】

in vitro 転写 (IVT) 及び合成法を含むがこれらに限定されない当該技術分野において利用可能な方法を用いて、本開示のmRNAを作製してもよい。酵素 (IVT) 合成法、固相合成法、液相合成法、複合合成法、小領域合成法、及びライゲーション法を利用してよい。一実施形態では、IVT酵素合成法を用いてmRNAを作製する。IVTを用いてポリヌクレオチドを作製するための方法は当技術分野において周知であり、国際出願PCT/US2013/30062 (その内容全体は参照により本明細書に組み込まれる) に記載されている。それゆえ、本開示はまた、本明細書に記載のmRNAを *in vitro* 転写するのに使用可能なポリヌクレオチド、例えば、DNA、構築物、及びベクターを含む。

10

【0218】

合成中または合成後に、非天然修飾核酸塩基をポリヌクレオチド、例えば、mRNAに導入してもよい。特定の実施形態では、修飾は、ヌクレオシド間連結部上、プリン塩基もしくはピリミジン塩基上、または糖上にあってもよい。特定の実施形態では、化学合成を用いて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内の他の任意の場所に修飾を導入してもよい。修飾核酸及びその合成の例は、PCT出願第PCT/US2012/058519号に開示されている。修飾ポリヌクレオチドの合成はまた、Verma and Eckstein, *Annual Review of Biochemistry*, vol. 76, 99-134 (1998) に記載されている。

20

【0219】

酵素ライゲーション法または化学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、異なる機能性部分、例えば、標的化用物質または送達用物質、蛍光標識、液剤、ナノ粒子などにコンジュゲートしてもよい。ポリヌクレオチドのコンジュゲート及び修飾ポリヌクレオチドについては、Goodchild, *Bioconjugate Chemistry*, vol. 1 (3), 165-187 (1990) において考察されている。

【0220】

非翻訳領域 (UTR)

ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むポリヌクレオチドの翻訳は、様々なシス作用性核酸構造がもたらす様々なメカニズムにより制御及び調節することができる。例えば、ヘアピンまたはその他の高次 (例えば、シュドノット) 分子内mRNA二次構造を形成する天然のシス作用性RNAエレメントは、ポリヌクレオチドに翻訳調節活性をもたらし得、とりわけ、RNAエレメントが、5'キャップ構造に近接した5'UTR内に位置している場合、RNAエレメントはポリヌクレオチド翻訳の開始に影響を及ぼすまたはポリヌクレオチド翻訳の開始を調節する (Pelletier and Sonenberg (1985) *Cell* 40 (3): 515-526; Kozak (1986) *Proc Natl Acad Sci* 83: 2850-2854)。

30

40

【0221】

非翻訳領域 (UTR) は、開始コドンの前の翻訳されないポリヌクレオチドの核酸区画 (5'UTR)、及び終止コドンの後の翻訳されないポリヌクレオチドの核酸区画 (3'UTR) である。一部の実施形態では、ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム (ORF) を含む本発明のポリヌクレオチド (例えば、リボ核酸 (RNA)、例えば、メッセンジャーRNA (mRNA)) は、UTR (例えば、5'UTRもしくはその機能性フラグメント、3'UTRもしくはその機能性フラグメント、またはこれらの組み合わせ) を更に含む。

【0222】

シス作用性RNAエレメントはまた、多数のフレームシフトイベントに関与する翻訳伸

50

長に影響を及ぼし得る (Namy et al., (2004) Mol Cell 13 (2): 157-168)。内部リボソーム進入配列 (IRES) は、一般的には 5' UTR 内に位置しているが天然 mRNA のコード領域内において発見されたこともまた報告されている別のタイプのシス作用性 RNA エLEMENT である (Holcik et al., (2000) Trends Genet 16 (10): 469-473)。細胞性 mRNA 内において、IRES は、5' キャップ構造と共存していることが多く、キャップ依存性翻訳が妨げられた条件下で翻訳される機能的な能力を mRNA にもたらす (Gebauer et al., (2012) Cold Spring Harb Perspect Biol 4 (7): a012245)。別のタイプの天然シス作用性 RNA エLEMENT は上流オープンリーディングフレーム (uORF) を含む。天然 uORF は多数の mRNA の 5' UTR 内に単数または多数存在しており、下流主要 ORF の翻訳に、一般的には悪い方に、影響を及ぼす (とりわけ、酵母菌における GCN4 mRNA 及び哺乳動物における ATF4 mRNA を除くが、それらにおいては、uORF が、高い eIF2 リン酸化の条件下で下流主要 ORF の翻訳を促進するように機能している (Hinnebusch (2005) Annu Rev Microbiol 59: 407-450))。ポリヌクレオチド (例えば、mRNA) を含む構成要素、構造、ELEMENT、モチーフ、及び／または特定の配列がもたらす別の例示的な翻訳調節活性としては、mRNA の安定化または不安定化 (Baker & Parker (2004) Curr Opin Cell Biol 16 (3): 293-299)、翻訳の活性化 (Villalba et al., (2011) Curr Opin Genet Dev 21 (4): 452-457)、及び翻訳の抑制 (Blumer et al., (2002) Mech Dev 110 (1-2): 97-112) が挙げられるがこれらに限定されない。導入することで非相同ポリヌクレオチドを修飾するために天然シス作用性 RNA エLEMENT を使用する場合、天然シス作用性 RNA エLEMENT がそれらの対応する機能を付与し得るということを研究が示している (Goldberg-Cohen et al., (2002) J Biol Chem 277 (16): 13635-13640)。

【0223】

機能性 RNA エLEMENT

一部の実施形態では、本開示は、修飾を含むポリヌクレオチド (例えば、RNA エLEMENT) を提供し、修飾は所望の翻訳調節活性をもたらす。このような修飾については、PCT 出願第 PCT/US2018/033519 号 (その全体は参照により本明細書に組み込まれる) に記載されている。

【0224】

一部の実施形態では、本開示は、5' 非翻訳領域 (UTR)、開始コドン、ポリペプチドをコードする完全オープンリーディングフレーム、3' UTR、及び少なくとも 1 つの修飾を含むポリヌクレオチドを提供し、少なくとも 1 つの修飾、例えば、mRNA 翻訳の翻訳忠実度を増強及び／または向上させる修飾は、所望の翻訳調節活性をもたらす。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性はシス作用性調節活性である。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性は、開始コドンにおけるまたは開始コドンに隣接したところにおける、43S 開始前複合体 (PIC) またはリボソームの滞留時間の延長である。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性は、開始コドンにおけるまたは開始コドンからの、ポリペプチド合成の開始の増加である。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性は、完全オープンリーディングフレームから翻訳されるポリペプチドの量の増加である。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性は、PIC またはリボソームによる開始コドン解読の忠実度の向上である。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性は、PIC またはリボソームによる読み漏らしの抑制または低下である。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性は、PIC またはリボソームによる開始コドン解読速度の低下である。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性は、mRNA 内の開始コドン以外の任意のコドンにおけるポリペプチド合成の開始の阻害または抑制である。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性は、mRNA 内の完全オープンリーディングフレーム以外の任意のオープンリーディングフレーム

10

20

30

40

50

から翻訳されるポリペプチドの量の抑制または低下である。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性は、異常翻訳産物の生成の阻害または低下である。一部の実施形態では、所望の翻訳調節活性は、上記の翻訳調節活性のうちの1つまたは複数の組み合わせである。

【0225】

それゆえ、本開示は、本明細書に記載の所望の翻訳調節活性をもたらす配列及び／またはRNA二次構造（複数可）を含むRNAエレメントを含む、ポリヌクレオチド、例えば、mRNAを提供する。一部の態様では、mRNAは、mRNA翻訳の翻訳忠実度を増強及び／または向上させる配列及び／またはRNA二次構造（複数可）を含むRNAエレメントを含む。一部の態様では、mRNAは、所望の翻訳調節活性、例えば、読み漏らしを抑制及び／または低下させることなどをもたらす配列及び／またはRNA二次構造（複数可）を含むRNAエレメントを含む。一部の態様では、本開示は、読み漏らしを抑制及び／または低下させることによってmRNAの翻訳忠実度を増強する配列及び／またはRNA二次構造（複数可）を含むRNAエレメントを含むmRNAを提供する。

10

【0226】

一部の実施形態では、RNAエレメントは天然ヌクレオチド及び／または修飾ヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、RNAエレメントは、本明細書に記載の所望の翻訳調節活性をもたらす、連結ヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含む。一部の実施形態では、RNAエレメントは、安定したRNA二次構造を形成するまたは安定したRNA二次構造へと折り畳まれる、連結ヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含み、RNA二次構造は本明細書に記載の所望の翻訳調節活性をもたらす。RNAエレメントは、エレメント（例えば、GCリッチエレメント）の一次配列に基づいて、エレメントが形成するRNA二次構造（例えば、ステムループ）により、RNA分子内におけるエレメントの位置（例えば、mRNAの5'UTR内に位置している）により、エレメント（例えば、「翻訳エンハンサーエレメント」）の生物学的機能及び／または生物学的活性により、及びこれらの任意の組み合わせにより、同定及び／または特性決定することができる。

20

【0227】

一部の実施形態では、本開示は、読み漏らしを抑制する及び／またはmRNA翻訳の翻訳忠実度を増強する1つまたは複数の構造的修飾を有するmRNAを提供し、構造的修飾のうちの少なくとも1つはGCリッチRNAエレメントである。一部の実施形態では、本開示は、少なくとも1つの修飾を含むmRNAを提供し、少なくとも1つの修飾は、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に先行する、連結ヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含むGCリッチRNAエレメントである。一実施形態では、GCリッチRNAエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の約30、約25、約20、約15、約10、約5、約4、約3、約2、または約1ヌクレオチド（複数可）上流に位置している。別の実施形態では、GCリッチRNAエレメントは、コザックコンセンサス配列の15～30、15～20、15～25、10～15、または5～10ヌクレオチド上流に位置している。別の実施形態では、GCリッチRNAエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に直接隣接して位置している。

30

40

【0228】

一部の実施形態では、本開示は、任意の順番で連結した3～30、5～25、10～20、15～20、約20、約15、約12、約10、約7、約6、または約3ヌクレオチドの配列、その誘導体または類似体を含むGCリッチRNAエレメントを提供し、配列組成は、70～80%シトシン塩基、60～70%シトシン塩基、50%～60%シトシン塩基、40～50%シトシン塩基、30～40%シトシン塩基である。一部の実施形態では、本開示は、任意の順番で連結した3～30、5～25、10～20、15～20、約20、約15、約12、約10、約7、約6、または約3ヌクレオチドの配列、その誘導体または類似体を含むGCリッチRNAエレメントを提供し、配列組成は、約80%シトシン、約70%シトシン、約60%シトシン、約50%シトシン、約40%シトシン、ま

50

たは約30%シトシンである。

【0229】

一部の実施形態では、本開示は、任意の順番で連結した20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、または3ヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含むGCリッチRNAエレメントを提供し、配列組成は、70~80%シトシン、60~70%シトシン、50%~60%シトシン、40~50%シトシン、または30~40%シトシンである。一部の実施形態では、本開示は、任意の順番で連結した20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、または3ヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含むGCリッチRNAエレメントを提供し、配列組成は、約80%シトシン、約70%シトシン、約60%シトシン、約50%シトシン、約40%シトシン、または約30%シトシンである。

10

【0230】

一部の実施形態では、本開示は、少なくとも1つの修飾を含むmRNAを提供し、少なくとも1つの修飾は、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に先行する、連結ヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含むGCリッチRNAエレメントであり、GCリッチRNAエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の約30、約25、約20、約15、約10、約5、約4、約3、約2、または約1ヌクレオチド（複数可）上流に位置しており、GCリッチRNAエレメントは、任意の順番で連結した3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20ヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含み、配列組成は>50%シトシンである。一部の実施形態では、配列組成は、>55%シトシン、>60%シトシン、>65%シトシン、>70%シトシン、>75%シトシン、>80%シトシン、>85%シトシン、または>90%シトシンである。

20

【0231】

一部の実施形態では、本開示は、少なくとも1つの修飾を含むmRNAを提供し、少なくとも1つの修飾は、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に先行する、連結ヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含むGCリッチRNAエレメントであり、GCリッチRNAエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の約30、約25、約20、約15、約10、約5、約4、約3、約2、または約1ヌクレオチド（複数可）上流に位置しており、GCリッチRNAエレメントは、約3~30、5~25、10~20、15~20、または約20、約15、約12、約10、約6、もしくは約3ヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含み、配列は繰り返しGCモチーフを含み、繰り返しGCモチーフは[CCG]_nであり、式中、n=1~10、n=2~8、n=3~6、またはn=4~5である。一部の実施形態では、配列は繰り返しGCモチーフ[CCG]_nを含み、式中、n=1、2、3、4、または5である。一部の実施形態では、配列は繰り返しGCモチーフ[CCG]_nを含み、式中、n=1、2、または3である。一部の実施形態では、配列は繰り返しGCモチーフ[CCG]_nを含み、式中、n=1である。一部の実施形態では、配列は繰り返しGCモチーフ[CCG]_nを含み、式中、n=2である。一部の実施形態では、配列は繰り返しGCモチーフ[CCG]_nを含み、式中、n=3である。一部の実施形態では、配列は繰り返しGCモチーフ[CCG]_nを含み、式中、n=4（配列番号：111）である。一部の実施形態では、配列は繰り返しGCモチーフ[CCG]_nを含み、式中、n=5（配列番号：112）である。

30

40

【0232】

一部の実施形態では、GCリッチRNAエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の約30、約25、約20、約15、約10、約5、約4、約3、約2、または約1ヌクレオチド（複数可）上流に位置している。別の実施形態では、GCリッチRNAエレメントは、コザックコンセンサス配列の約15~30、15~20、15~25、10~15、または5~10ヌクレオチド上流に位置している。別の実施形態で

50

は、GCリッチRNAエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に直接隣接して位置している。

【0233】

一部の実施形態では、本開示は、少なくとも1つの修飾を含む修飾mRNAを提供し、少なくとも1つの修飾は、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に先行する、連結ヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含むGCリッチRNAエレメントであり、GCリッチRNAエレメントは本明細書で提供する配列のうちのいずれか1つを含む。一部の実施形態では、GCリッチRNAエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の約30、約25、約20、約15、約10、約5、約4、約3、約2、または約1ヌクレオチド（複数可）上流に位置している。一部の実施形態では、GCリッチRNAエレメントは、コザックコンセンサス配列の約15～30、15～20、15～25、10～15、または5～10ヌクレオチド上流に位置している。一部の実施形態では、GCリッチRNAエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に直接隣接して位置している。

10

【0234】

一部の実施形態では、本開示は、少なくとも1つの修飾を含むmRNAを提供し、少なくとも1つの修飾は、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に先行する、配列番号：113に記載の配列またはその誘導体もしくは類似体を含むGCリッチRNAエレメントである。一部の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に直接隣接して位置しかつその上流に位置する、配列番号：113に記載の配列を含む。一部の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10塩基上流に位置する、配列番号：113に記載の配列を含む。その他の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の1～3、3～5、5～7、7～9、9～12、または12～15塩基上流に位置する、配列番号：113に記載の配列を含む。

20

【0235】

一部の実施形態では、本開示は、少なくとも1つの修飾を含むmRNAを提供し、少なくとも1つの修飾は、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に先行する、配列番号：114に記載の配列またはその誘導体もしくは類似体を含むGCリッチRNAエレメントである。一部の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に直接隣接して位置しかつその上流に位置する、配列番号：114に記載の配列を含む。一部の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10塩基上流に位置する、配列番号：114に記載の配列を含む。その他の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の1～3、3～5、5～7、7～9、9～12、または12～15塩基上流に位置する、配列番号：114に記載の配列を含む。

30

【0236】

一部の実施形態では、本開示は、少なくとも1つの修飾を含むmRNAを提供し、少なくとも1つの修飾は、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に先行する、配列番号：115に記載の配列またはその誘導体もしくは類似体を含むGCリッチRNAエレメントである。一部の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に直接隣接して位置しかつその上流に位置する、配列番号：115に記載の配列を含む。一部の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10塩基上流に位置する、配列番号：115に記載の配列を含む。その他の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の1～3、3～5、5～7、7～9、9～12、または12～15塩基上流に位置する、配列番号：115に記載の配列を含む。

40

50

【0237】

一部の実施形態では、本開示は、少なくとも1つの修飾を含むmRNAを提供し、少なくとも1つの修飾は、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列に先行する、配列番号：113に記載の配列またはその誘導体もしくは類似体を含むGCリッチRNAエレメントであり、5'UTRは配列番号：116に記載の配列を含む。

【0238】

一部の実施形態では、GCリッチエレメントは、本明細書に記載の5'UTR配列内のコザックコンセンサス配列に直接隣接して位置しかつその上流に位置する、配列番号：113に記載の配列を含む。一部の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10塩基上流に位置する、配列番号：113に記載の配列を含み、5'UTRは配列番号：116に示す配列を含む。

10

【0239】

その他の実施形態では、GCリッチエレメントは、mRNAの5'UTR内のコザックコンセンサス配列の1~3、3~5、5~7、7~9、9~12、または12~15塩基上流に位置する、配列番号：113に記載の配列を含み、5'UTRは配列番号：116に記載の配列を含む。

【0240】

一部の実施形態では、5'UTRは配列番号：117に記載の配列を含む。

【0241】

一部の実施形態では、5'UTRは配列番号：118に記載の配列を含む。

20

【0242】

一部の実施形態では、本開示は、少なくとも1つの修飾を含むmRNAを提供し、少なくとも1つの修飾は、ヘアピンまたはステムループを形成する順番に連結したヌクレオチドの配列またはその誘導体もしくは類似体を含む、安定したRNA二次構造を含むGCリッチRNAエレメントである。一実施形態では、安定したRNA二次構造はコザックコンセンサス配列の上流にある。別の実施形態では、安定したRNA二次構造は、コザックコンセンサス配列の約30、約25、約20、約15、約10、または約5ヌクレオチド上流に位置している。別の実施形態では、安定したRNA二次構造は、コザックコンセンサス配列の約20、約15、約10、または約5ヌクレオチド上流に位置している。別の実施形態では、安定したRNA二次構造は、コザックコンセンサス配列の約5、約4、約3、約2、約1ヌクレオチド上流に位置している。別の実施形態では、安定したRNA二次構造は、コザックコンセンサス配列の約15~30、約15~20、約15~25、約10~15、または約5~10ヌクレオチド上流に位置している。別の実施形態では、安定したRNA二次構造は、コザックコンセンサス配列の12~15ヌクレオチド上流に位置している。別の実施形態では、安定したRNA二次構造は、約-30 kcal/mol、約-20~-30 kcal/mol、約-20 kcal/mol、約-10~-20 kcal/mol、約-10 kcal/mol、約-5~-10 kcal/molのΔGを有している。

30

【0243】

別の実施形態では、修飾は、ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームに機能的に連結しており、修飾及びオープンリーディングフレームは非相同である。

40

【0244】

別の実施形態では、GCリッチRNAエレメントの配列は、グアニン（G）核酸塩基及びシトシン（C）核酸塩基のみで構成されている。

【0245】

本明細書に記載の所望の翻訳調節活性をもたらすRNAエレメントは、周知の技術、例えば、リボソームプロファイリングなどを使用して同定及び特性決定することができる。リボソームプロファイリングは、mRNAに結合したPIC及び／またはリボソームの位置の同定を可能とする技術である（例えば、Ingolia et al., (2009)

50

Science 324 (5924) : 218-23 (参照により本明細書に組み込まれる)を参照のこと)。この技術は、PIC及び／またはリボソームでmRNAの領域またはセグメントをヌクレアーゼ消化から保護することをベースとしている。保護により、「フットプリント」と呼ばれる、RNAの30bpフラグメントの生成がもたらされる。RNAフットプリントの配列及び頻度は、当該技術分野において周知の方法（例えば、RNA-seq）を用いて解析することができる。フットプリントはリボソームのA部位のほぼ中央にある。PICまたはリボソームがmRNAに沿った特定の位置または場所に滞留している場合、これらの位置で生成されるフットプリントは比較的一般的なものとなり得る。PIC及び／またはリボソームが低いプロセッシビティを示す位置においてより多くのフットプリントが生成され、PIC及び／またはリボソームが高いプロセッシビティを示す位置においてより少ないフットプリントが生成されることを研究が示している（Gardiner et al., (2014) eLife 3 : e03735）。一部の実施形態では、本明細書に記載のRNAエレメントのうちのいずれか1つまたは複数を含むポリヌクレオチドに沿った不連続な位置または場所におけるPICまたはリボソームの滞留時間または占有時間をリボソームプロファイリングで測定する。

【0246】

UTRは、ポリヌクレオチド内のコード領域に対して相同または非相同であってもよい。一部の実施形態では、UTRは、ポリペプチドをコードするORFに対して相同である。一部の実施形態では、UTRは、ポリペプチドをコードするORFに対して非相同である。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、2つまたはそれ以上の5'UTRまたはその機能性フラグメントを含み、そのそれぞれは同一のまたは異なるヌクレオチド配列を有している。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、2つまたはそれ以上の3'UTRまたはその機能性フラグメントを含み、そのそれぞれは同一のまたは異なるヌクレオチド配列を有している。

【0247】

一部の実施形態では、5'UTRもしくはその機能性フラグメント、3'UTRもしくはその機能性フラグメント、またはこれらの任意の組み合わせは、配列最適化されている。

【0248】

一部の実施形態では、5'UTRもしくはその機能性フラグメント、3'UTRもしくはその機能性フラグメント、またはこれらの任意の組み合わせは、少なくとも1つの化学修飾核酸塩基、例えば、N1-メチルシュードウラシルまたは5-メトキシウラシルを含む。

【0249】

UTRは、調節する役割、例えば、高いまたは低い安定性、局在化、及び／または翻訳効率をもたらす機能を有していてもよい。UTRを含むポリヌクレオチドを細胞、組織、または生物に投与してもよく、通常の方法を用いて1種または複数種の調節機能を測定してもよい。一部の実施形態では、5'UTRの機能性フラグメントまたは3'UTRの機能性フラグメントはそれぞれ、全長5'UTRまたは全長3'UTRの1種または複数種の調節機能を含む。

【0250】

天然5'UTRは、翻訳開始において役割を果たす機能を有している。それら天然5'UTRは、一般的に、リボソームが多くの遺伝子の翻訳を開始するプロセスに関与することが知られているコザック配列と同様の特徴を有している。コザック配列はコンセンサスCCR(A/G)CCAUGG(配列番号:135)を有しており、式中、Rは、開始コドン(AUG)の3塩基上流のプリン(アデニンまたはグアニン)であり、開始コドン(AUG)に別の「G」が続く。5'UTRはまた、伸長因子結合に関与する二次構造を形成することが知られている。

【0251】

特定の標的器官に豊富に発現している遺伝子において一般的に存在している機能を改変することにより、ポリヌクレオチドの安定性及びタンパク質産生を向上させることができる。例えば、肝臓発現mRNA、例えば、アルブミン、血清アミロイドA、アポリポタン

パク質 A/B/E、トランスフェリン、 α フェトプロテイン、エリスロポエチン、または第 V I I I 因子などの 5' UTR を導入することにより、肝細胞株または肝臓におけるポリヌクレオチドの発現を増強させることができる。同様に、その他の組織特異的 mRNA に由来する 5' UTR を使用して、それらの組織、筋肉（例えば、MyoD、ミオシン、ミオグロビン、ミオゲニン、ハーキュリン）、内皮細胞（例えば、Tie-1、CD36）、骨髄細胞（例えば、C/EBP、AML1、G-CSF、GM-CSF、CD11b、MSR、Fr-1、i-NOS）、白血球（例えば、CD45、CD18）、脂肪組織（例えば、CD36、GLUT4、ACRP30、アディポネクチン）、及び肺上皮細胞（例えば、SP-A/B/C/D）における発現を向上させることが可能である。

【0252】

一部の実施形態では、UTR は、それらのタンパク質が共通の機能、構造、特徴、または特性を共有する転写産物のファミリーから選択される。例えば、コードポリペプチドは、特定の細胞、組織において、または発達中の一定の期間において発現するタンパク質のファミリーに属していてもよい（すなわち、少なくとも 1 つの機能、構造、特徴、局在化、起源、または発現パターンを共有する）。遺伝子または mRNA のいずれかに由来する UTR を、同一のまたは異なるファミリーのタンパク質の任意のその他の UTR と交換して、新しいポリヌクレオチドを作製してもよい。

【0253】

一部の実施形態では、5' UTR 及び 3' UTR は非相同であってもよい。一部の実施形態では、5' UTR は、3' UTR とは異なる種に由来していてもよい。一部の実施形態では、3' UTR は、5' UTR とは異なる種に由来していてもよい。

【0254】

共同所有する国際特許出願第 PCT/US2014/021522 号（公開番号 WO/2014/164253、その全体は参照により本明細書に組み込まれる）は、本発明のポリヌクレオチドにおいて、ORF に隣接する領域として利用可能な例示的な UTR のリストを提供している。

【0255】

本出願の例示的な UTR としては、グロビン、例えば、 α グロビンまたは β グロビン（例えば、Xenopus、マウス、ウサギ、またはヒトのグロビン）など、強力なコザック翻訳開始シグナル、CYBA（例えば、ヒトシトクロム b-245 α ポリペプチド）、アルブミン（例えば、ヒトアルブミン 7）、HSD17B4（ヒドロキシステロイド（17- β ）デヒドロゲナーゼ）、ウイルス（例えば、タバコエッチウイルス（TEV）、ベネズエラウマ脳炎ウイルス（VEEV）、デング熱ウイルス、サイトメガロウイルス（CMV）（例えば、CMV 前初期 1（IE1））、肝炎ウイルス（例えば、B 型肝炎ウイルス）、シンドビスウイルス、または PAV オオムギ黄萎ウイルス）、熱ショックタンパク質（例えば、hsp70）、翻訳開始因子（例えば、eIF4G）、グルコース輸送体（例えば、hGLUT1（ヒトグルコース輸送体 1））、アクチン（例えば、ヒト α アクチンまたは β アクチン）、GAPDH、チューブリン、ヒストン、クエン酸回路酵素、トポイソメラーゼ（例えば、5' TOP モチーフを欠く TOP 遺伝子の 5' UTR（オリゴピリミジントラクト））、リボソームタンパク質大 32（L32）、リボソームタンパク質（例えば、ヒトまたはマウスのリボソームタンパク質、例えば、rps9 など）、ATP 合成酵素（例えば、ATP5A1、またはミトコンドリア H^+ -ATP 合成酵素の β サブユニット）、成長ホルモン e（例えば、ウシ（bGH）またはヒト（hGH））、伸長因子（例えば、伸長因子 1 $\alpha 1$ （EEF1A1））、マンガンスーパーオキシドジスムターゼ（MnSOD）、筋細胞増強因子 2A（MEF2A）、 β -F1-ATPアーゼ、クレアチンキナーゼ、ミオグロビン、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）、コラーゲン（例えば、コラーゲン I 型 $\alpha 2$ （Col1A2）、コラーゲン I 型 $\alpha 1$ （Col1A1）、コラーゲン V 型 $\alpha 2$ （Col6A2）、コラーゲン V 型 $\alpha 1$ （Col6A1））、リボフォリン（例えば、リボフォリン I（RPN1））、低比重リボタンパク質受容体関連タンパク質（例えば、LRP1）、カルジオトロフィン様サイトカイン因子（例えば、N

10

20

30

40

50

nt 1)、カルレティキュリン (Calr)、プロコラーゲンーリジン2-オキシグルタレート5-ジオキシゲナーゼ1 (Plod1)、及びヌクレオビンジン (例えば、Nucb1) の核酸配列に由来する1つまたは複数の5' UTR及び／または3' UTRが挙げられるがこれらに限定されない。

【0256】

一部の実施形態では、5' UTRは、βグロビン5' UTR、強力なコザック翻訳開始シグナルを含有する5' UTR、シトクロムb-245αポリペプチド (CYBA) 5' UTR、ヒドロキシステロイド (17-β) デヒドロゲナーゼ (HSD17B4) 5' UTR、タバコエッチウイルス (TEV) 5' UTR、ベネズエラウマ脳炎ウイルス (VEEV) 5' UTR、非構造タンパク質をコードする風疹ウイルス (RV) RNAの5' 隣接オープンリーディングフレーム、デング熱ウイルス (DEN) 5' UTR、熱ショックタンパク質70 (Hsp70) 5' UTR、eIF4G 5' UTR、GLUT1 5' UTR、その機能性フラグメント及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

10

【0257】

一部の実施形態では、3' UTRは、βグロビン3' UTR、CYBA 3' UTR、アルブミン3' UTR、成長ホルモン (GH) 3' UTR、VEEV 3' UTR、B型肝炎ウイルス (HBV) 3' UTR、αグロビン3' UTR、DEN 3' UTR、PAVオオムギ黄萎ウイルス (BYDV-PAV) 3' UTR、伸長因子1 α1 (EEF1A1) 3' UTR、マンガンスーパーオキシドジスムターゼ (MnSOD) 3' UTR、ミトコンドリアH (+) -ATP合成酵素のβサブユニット (β-mRNA) 3' UTR、GLUT1 3' UTR、MEF2A 3' UTR、β-F1-ATPアーゼ3' UTR、その機能性フラグメント及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。

20

【0258】

任意の遺伝子またはmRNAに由来する野生型UTRを本発明のポリヌクレオチドに導入してもよい。一部の実施形態では、例えば、ORFに対するUTRの方向または位置を変化させることにより、または、別のヌクレオチドを付加する、ヌクレオチドを欠失させる、ヌクレオチドを交換または転移することにより、野生型UTRまたは天然UTRに対してUTRを変化させてバリエーションUTRを作製してもよい。一部の実施形態では、5' UTRのバリエーションまたは3' UTRのバリエーション、例えば、野生型UTRの変異体、または、1つまたは複数のヌクレオチドをUTRの末端に付加したまたはUTRの末端から除去したバリエーションを利用してもよい。

30

【0259】

加えて、1つまたは複数の合成UTRを1つまたは複数の非合成UTRと組み合わせて使用してもよい。例えば、Mandal and Rossi, Nat. Protoc. 2013 8 (3): 568-82 (その内容全体は参照により本明細書に組み込まれる) を参照されたい。

【0260】

UTRまたはその一部を、それらが選択された転写産物と同一の方向に配置してもよく、または、UTRまたはその一部の方向または位置を変化させてもよい。それゆえ、5' UTR及び／または3' UTRを反転、短縮、延長してもよく、または、1つまたは複数のその他の5' UTRまたは3' UTRと組み合わせてもよい。

40

【0261】

一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、多重UTR、例えば、二重、三重、または四重の5' UTRまたは3' UTRを含む。例えば、二重UTRは、直列または実質的に直列のいずれかの、同一UTRの2つのコピーを含む。例えば、二重βグロビン3' UTRを使用してもよい (US2010/0129877 (その内容全体は参照により本明細書に組み込まれる) を参照のこと)。

【0262】

特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、本明細書で開示するUTRのいずれかから選択される5' UTR及び／または3' UTRを含む。一部の実施形態では、5' U

50

TRは、

5'UTR-001 (上流UTR) (GGGAAAUAGAGAGAAAAGAGA
GUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC) (配列番号：76)、

5'UTR-002 (上流UTR) (GGGAGAU CAGAGAGAAAAGAGA
GUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC) (配列番号：136)、

5'UTR-003 (上流UTR) (WO2016/100812を参照のこと)、

5'UTR-004 (上流UTR) (GGGAGACAAGCUUGGCAUUC CG
UACUGUUGGUAAAGCCACC) (配列番号：137)、

5'UTR-006 (上流UTR) (WO2016/100812を参照のこと)、

5'UTR-008 (上流UTR) (GGGAAUUAACAGAGAAAAGAGA
GUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC) (配列番号：138)、

5'UTR-009 (上流UTR) (GGGAAAUUAGACAGAAAAGAGA
GUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC) (配列番号：139)、

5'UTR-010、上流 (GGGAAAUAGAGAGUAAAGAACAGUAA
GAAGAAAUAUAAGAGCCACC) (配列番号：140)、

5'UTR-011 (上流UTR) (GGGAAAAAAGAGAGAAAAGAGA
CUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC) (配列番号：141)、

5'UTR-012 (上流UTR) (GGGAAAUAGAGAGAAAAGAGA
GUAAGAAGAUUAUAAGAGCCACC) (配列番号：142)、

5'UTR-013 (上流UTR) (GGGAAAUAGAGACAAAACAAGA
GUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC) (配列番号：143)、

5'UTR-014 (上流UTR) (GGGAAAUUAGAGAGUAAAGACA
GUAAGUAGAAUUAAGAGCCACC) (配列番号：144)、

5'UTR-015 (上流UTR) (GGGAAAUAGAGAGAAUAGAGA
GUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC) (配列番号：145)、

5'UTR-016 (上流UTR) (GGGAAAUAGAGAGAAAAGAGA
GUAAGAAGAAAAUUAAGAGCCACC) (配列番号：146)、

5'UTR-017 (上流UTR) (GGGAAAUAGAGAGAAAAGAGA
GUAAGAAGAAAUUAAGAGCCACC) (配列番号：147)、または、

5'UTR-018 (上流UTR) 5'UTR (UCAAGCUUUUGGACCCUC
GUACAGAAGCUAAUACGACUCACUAUAGGGAAAUAAGAGA
GAAAAGAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC) (配列番号
：75)、

を含む。

【0263】

特定の実施形態では、本発明の5'UTR配列及び／または3'UTR配列は、配列番号
：75～76、116～118、132～134、または136～147のいずれかを含む
5'UTR配列及び／または配列番号：4、77～78、または121のいずれかを含む
3'UTR配列及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される配列に対して少な
くとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少な
くとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少な
くとも約99%、または約100%同一なヌクレオチド配列を含む。

【0264】

特定の実施形態では、本発明の5'UTR配列及び／または3'UTR配列は、配列番号
：75、配列番号：76、配列番号：116、配列番号：117、配列番号：118、配
列番号：132、または配列番号：134のいずれかを含む5'UTR配列及び／または配
列番号：77、配列番号：78、または配列番号：121のいずれかを含む3'UTR配列
及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される配列に対して少なくとも約60
%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95
%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99

%、または約100%同一なヌクレオチド配列を含む。

【0265】

一部の実施形態では、5' UTRは、配列番号：75、配列番号：76、配列番号：116、配列番号：117、配列番号：118、配列番号：132、または配列番号：134に記載のヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、3' UTRは、配列番号：77、配列番号：78、または配列番号：121に記載のヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、5' UTRは、配列番号：75、配列番号：76、配列番号：116、配列番号：117、配列番号：118、配列番号：132、または配列番号：134に記載のヌクレオチド配列を含み、3' UTRは、配列番号：77、配列番号：78、または配列番号：121に記載のヌクレオチド配列を含む。

10

【0266】

本発明のポリヌクレオチドは、特徴部の組み合わせを含んでいてもよい。例えば、ORFは、強力なコザック翻訳開始シグナルを含む5' UTR及び／またはポリA尾部の鋳型付加用のオリゴ(dT)配列を含む3' UTRに隣接していてもよい。5' UTRは、同一の及び／または異なるUTRに由来する第1のポリヌクレオチドフラグメント及び第2のポリヌクレオチドフラグメントを含んでいてもよい(例えば、US2010/0293625(その全体は参照により本明細書に組み込まれる)を参照のこと)。

【0267】

その他の非UTR配列を本発明のポリヌクレオチド内の領域またはサブ領域として使用してもよい。例えば、イントロンまたはイントロン配列の一部を本発明のポリヌクレオチドに導入してもよい。イントロン配列の導入により、タンパク質産生の増加に加えて、ポリヌクレオチド発現レベルの上昇が可能となる。一部の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、UTRの代わりにまたはUTRに加えて配列内リボソーム進入部位(IRES)を含む(例えば、Yakubov et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 2010 394(1):189-193(その内容全体は参照により本明細書に組み込まれる)を参照のこと)。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは5' UTR配列の代わりにIRESを含む。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドはORF及びウイルスキャプシド配列を含む。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、非合成3' UTRと組み合わせた合成5' UTRを含む。

20

【0268】

一部の実施形態では、UTRはまた、少なくとも1つの翻訳エンハンサーポリヌクレオチド、翻訳エンハンサーエレメント(translation enhancer element)、または翻訳エンハンサーエレメント(translational enhancer elements)(ひとまとめて「TEE」と呼び、ポリペプチドの量またはポリヌクレオチドから生成されるタンパク質の量を増加させる核酸配列のことを意味する)を含んでいてもよい。非限定例として、TEEは転写プロモーターと開始コドンの間に位置していてもよい。一部の実施形態では、5' UTRはTEEを含む。

30

【0269】

一態様では、TEEは、核酸の翻訳、限定するわけではないが例えば、キャップ依存性翻訳またはキャップ非依存性翻訳などの活性を促進させることができる、UTR内の保存エレメントである。

40

【0270】

マイクロRNA(miRNA)結合部位

本開示のmRNAは、調節エレメント、例えば、マイクロRNA(miRNA)結合部位、転写因子結合部位、構造化されたmRNA配列及び／またはモチーフ、内在核酸結合分子用の擬似受容体として機能するように改変された人工結合部位、及びこれらの組み合わせを含んでいてもよい。一部の実施形態では、このような調節エレメントを含むmRNAは、「センサー配列」を含むものと呼ばれる。センサー配列の非限定例については、米国公開2014/0200261(その内容全体は参照により本明細書に組み込まれる)に記載されている。

50

【0271】

一部の実施形態では、本開示のmRNAは、目的のポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム（ORF）を含み、1つまたは複数のmiRNA結合部位（複数可）を更に含む。miRNA結合部位（複数可）の組み込みまたは導入により、天然miRNAの組織特異的及び／または細胞型特異的発現を基準とした、本開示のポリヌクレオチドの調節がもたらされ、それにより、それからコードされるポリペプチドの調節がもたらされる。

【0272】

miRNA、例えば、天然miRNAは、mRNAに結合して、安定性を低下させることまたはポリヌクレオチドの翻訳を阻害することのいずれかにより遺伝子発現を下方制御する、19～25ヌクレオチド長の非コードRNAである。miRNA配列は、「シード」領域、すなわち、成熟miRNAの2～8位の領域内の配列を含む。miRNAシードは成熟miRNAの2～8位または2～7位を含んでいてもよい。一部の実施形態では、miRNAシードは7ヌクレオチド（例えば、成熟miRNAのヌクレオチド2～8）を含んでいてもよく、対応するmiRNA結合部位内のシード相補性部位は、miRNAの1位に向かい合うアデノシン（A）に隣接している。一部の実施形態では、miRNAシードは6ヌクレオチド（例えば、成熟miRNAのヌクレオチド2～7）を含んでいてもよく、対応するmiRNA結合部位内のシード相補性部位は、miRNAの1位に向かい合うアデノシン（A）に隣接している。例えば、Grimson A, Farh KK, Johnston WK, Garrett-Engle P, Lim LP, Bartel DP; Mol Cell. 2007 Jul 6; 27(1): 91-105を参照されたい。標的細胞または組織のmiRNAプロファイリングを実施して、細胞または組織内におけるmiRNAの有無を確認してもよい。一部の実施形態では、本開示のmRNAは、1つまたは複数のマイクロRNA結合部位、マイクロRNA標的配列、マイクロRNA相補配列、またはマイクロRNAシード相補配列を含む。このような配列は、米国公開US 2005/0261218及び米国公開US 2005/0059005（そのそれぞれの内容全体は参照により本明細書に組み込まれる）において教示されているマイクロRNAなどの任意の周知のマイクロRNAに相当し得る、例えば、それらに対する相補性を有し得る。

【0273】

本明細書で使用する場合、用語「マイクロRNA（miRNAまたはmiR）結合部位」とは、miRNAと相互作用する、それと会合する、またはそれに結合する上で、miRNAの全てまたは領域に対する十分な相補性を有し、5' UTR及び／または3' UTR内に含まれる、mRNA内の配列のことを意味する。一部の実施形態では、本開示のmRNAは、目的のポリペプチドをコードするORFを含み、1つまたは複数のmiRNA結合部位（複数可）を更に含む。例示的な実施形態では、mRNAの5' UTR及び／または3' UTRは、1つまたは複数のmiRNA結合部位（複数可）を含む。

【0274】

miRNAに対する十分な相補性を有するmiRNA結合部位とは、mRNAのmiRNA介在性調節、例えば、mRNAのmiRNA介在性翻訳抑制または分解を促進するのに十分な相補性の度合いのことを意味する。本開示の例示的な態様では、miRNAに対する十分な相補性を有するmiRNA結合部位とは、mRNAのmiRNA介在性分解、例えば、mRNAのmiRNAガイドRNA誘導サイレンシング複合体（RISC）介在性開裂を促進するのに十分な相補性の度合いのことを意味する。miRNA結合部位は、例えば、19～25ヌクレオチドのmiRNA配列、19～23ヌクレオチドのmiRNA配列、または22ヌクレオチドのmiRNA配列に対する相補性を有していてもよい。miRNA結合部位は、miRNAの一部のみ、例えば、天然miRNA配列の全長のうちの1ヌクレオチド未満、2ヌクレオチド未満、3ヌクレオチド未満、または4ヌクレオチド未満の部分に対して相補的であってもよい。所望の調節がmRNA分解である場合、完全または完璧な相補性（例えば、天然miRNAの全長の全てまたはかなりの部分に対

する完全な相補性または完璧な相補性)が好ましい。

【0275】

一部の実施形態では、miRNA結合部位は、miRNAシード配列との相補性(例えば、部分的または完璧な相補性)を有する配列を含む。一部の実施形態では、miRNA結合部位は、miRNAシード配列との完璧な相補性を有する配列を含む。一部の実施形態では、miRNA結合部位は、miRNA配列との相補性(例えば、部分的または完璧な相補性)を有する配列を含む。一部の実施形態では、miRNA結合部位は、miRNA配列との完璧な相補性を有する配列を含む。一部の実施形態では、miRNA結合部位は、1、2、または3ヌクレオチドの置換、末端付加、及び/またはランケートを別にすれば、miRNA配列との完璧な相補性を有する。

10

【0276】

一部の実施形態では、miRNA結合部位は、対応するmiRNAと同一の長さである。その他の実施形態では、miRNA結合部位は、5'末端、3'末端、またはその両方において、対応するmiRNAよりも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12ヌクレオチド(複数可)短い。更にその他の実施形態では、マイクロRNA結合部位は、5'末端、3'末端、またはその両方において、対応するマイクロRNAよりも2ヌクレオチド短い。対応するmiRNAよりも短いmiRNA結合部位は、それでもなお、miRNA結合部位のうちの1つまたは複数を導入したmRNAを分解することができる、または、mRNAが翻訳されるのを防止することができる。

【0277】

一部の実施形態では、miRNA結合部位は、ダイサーを含有する活性RISCの一部である対応する成熟miRNAに結合する。別の実施形態では、miRNA結合部位がRISC内の対応するmiRNAに結合すると、miRNA結合部位を含有するmRNAが分解される、または、mRNAが翻訳されることが防止される。一部の実施形態では、miRNA結合部位はmiRNAに対する十分な相補性を有し、その結果、miRNAを含むRISC複合体が、miRNA結合部位を含むポリヌクレオチドを開裂させる。その他の実施形態では、miRNA結合部位は不完全な相補性を有し、その結果、miRNAを含むRISC複合体が、miRNA結合部位を含むポリヌクレオチド内における不安定性を生じさせる。別の実施形態では、miRNA結合部位は不完全な相補性を有し、その結果、miRNAを含むRISC複合体が、miRNA結合部位を含むポリヌクレオチドの転写を抑制する。

20

【0278】

一部の実施形態では、miRNA結合部位は、対応するmiRNAからの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12のミスマッチ(複数可)を有する。

【0279】

一部の実施形態では、miRNA結合部位は、対応するmiRNAの少なくとも約10、少なくとも約11、少なくとも約12、少なくとも約13、少なくとも約14、少なくとも約15、少なくとも約16、少なくとも約17、少なくとも約18、少なくとも約19、少なくとも約20、または少なくとも約21連続ヌクレオチドに対してそれぞれ相補的な、少なくとも約10、少なくとも約11、少なくとも約12、少なくとも約13、少なくとも約14、少なくとも約15、少なくとも約16、少なくとも約17、少なくとも約18、少なくとも約19、少なくとも約20、または少なくとも約21連続ヌクレオチドを有している。

30

40

【0280】

本開示のmRNAに1つまたは複数のmiRNA結合部位を導入することにより、問題のmiRNAが利用可能である場合、mRNAを分解または翻訳抑制用に標的化することができる。これにより、mRNAの送達時におけるオフターゲット効果を抑制することができる。例えば、本開示のmRNAが組織または細胞への送達を意図したものではないがその最終到達地点が上記組織または細胞である場合、組織または細胞内に豊富に存在するmiRNAは、miRNAの1つまたは複数の結合部位がmRNAの5'UTR及び/また

50

は3'UTRに導入された場合に、目的の遺伝子の発現を阻害し得る。

【0281】

逆の言い方をすれば、特定の組織内におけるタンパク質発現を増強させるために、通常は存在するmiRNA結合部位をmRNA配列から除去してもよい。例えば、特定のmiRNA用の結合部位をmRNAから除去して、miRNAを含有する組織または細胞内におけるタンパク質発現を向上させてもよい。

【0282】

一実施形態では、本開示のmRNAは、特定の細胞、限定するわけではないが例えば、正常細胞及び／またはがん性細胞などに対する細胞傷害性または細胞保護的なmRNA治療薬を調節するために、5'UTR及び／または3'UTR内に少なくとも1つのmiRNA結合部位を含んでいてもよい。別の実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、特定の細胞、限定するわけではないが例えば、正常細胞及び／またはがん性細胞などに対する細胞傷害性または細胞保護的なmRNA治療薬を調節するために、5'-UTR及び／または3'-UTR内に2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のmiRNA結合部位を含んでいてもよい。

【0283】

複数の組織内における発現の調節は、1つまたは複数のmiRNA結合部位、例えば、1つまたは複数の異なるmiRNA結合部位の導入または除去により実施することができる。miRNA結合部位を除去するかまたは挿入するかの決定は、発達中の組織及び／または細胞内及び／または疾患部内におけるmiRNA発現パターン及び／またはそのプロファイリングに基づいて行うことができる。miRNA、miRNA結合部位、ならびにその発現パターン及び生物学における役割の同定については報告されている（例えば、Bonauer et al., Curr Drug Targets 2010 11:943-949; Anand and Cheresch Curr Opin Hematol 2011 18:171-176; Contreras and Rao Leukemia 2012 26:404-413 (2011 Dec 20. doi:10.1038/leu.2011.356); Bartel Cell 2009 136:215-233; Landgraf et al, Cell, 2007 129:1401-1414; Gentner and Naldini, Tissue Antigens. 2012 80:393-403、及びこれらの中の全ての参考文献（そのそれぞれの全体は参照により本明細書に組み込まれる））。

【0284】

miRNA及びmiRNA結合部位は、米国公開第2014/0200261号、第2005/0261218号、及び第2005/0059005号（そのそれぞれの全体は参照により本明細書に組み込まれる）に記載されている非限定例を含む任意の周知の配列に対応していてもよい。

【0285】

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

【0286】

とりわけ、miRNAは、免疫細胞（造血細胞とも呼ばれる）、例えば、抗原提示細胞（APC）（例えば、樹状細胞及びマクロファージ）、マクロファージ、単球、Bリンパ球、Tリンパ球、顆粒球、ナチュラルキラー細胞などにおいて他と異なるように発現していることが知られている。免疫細胞特異的miRNAは、免疫原性、自己免疫、感染症に

対する免疫応答、炎症に加えて、遺伝子療法及び組織／臓器移植後における望ましくない免疫応答に關与している。免疫細胞特異的miRNAはまた、造血細胞（免疫細胞）の発生、増殖、分化、及びアポトーシスにおける多くの局面を調節している。例えば、miR-142及びmiR-146は免疫細胞においてのみ発現しており、骨髓系樹状細胞においてとりわけ豊富に存在している。ポリヌクレオチドの3'-UTRにmiR-142結合部位を付加することにより、ポリヌクレオチドに対する免疫応答を遮断することができ、組織及び細胞におけるより安定した遺伝子導入が可能となるということが実証されている。miR-142は抗原提示細胞において外来ポリヌクレオチドを効率的に分解し、導入細胞の細胞傷害性除去を抑制する（例えば、Annoni A et al., blood, 2009, 114, 5152-5161; Brown BD, et al., Nat med. 2006, 12 (5), 585-591; Brown BD, et al., blood, 2007, 110 (13): 4144-4152（そのそれぞれの全体は参照により本明細書に組み込まれる））。

10

【0287】

抗原介在性免疫応答とは外来抗原が引き起こす免疫応答のことを意味し得、外来抗原は、生体に侵入すると、抗原提示細胞によって処理されて抗原提示細胞の表面上に提示される。T細胞は提示抗原を認識して、その抗原を発現する細胞の細胞傷害性除去を引き起こすことができる。

【0288】

本開示のmRNAの5'UTR及び／または3'UTRにmiR-142結合部位を導入することによって、miR-142介在性分解を介して、抗原提示細胞における遺伝子発現を選択的に抑制し、抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）における抗原提示を制限することにより、mRNAの送達後における抗原介在性免疫応答を予防することができる。そのため、mRNAは、細胞傷害性除去を引き起こすことなく、標的組織または細胞において安定的に発現する。

20

【0289】

一実施形態では、免疫細胞、とりわけ、抗原提示細胞において発現することが知られているmiRNA用の結合部位を本開示のmRNAに導入し、miRNA介在性RNA分解を介して、抗原提示細胞におけるポリヌクレオチドの発現を抑制し、抗原介在性免疫応答を抑制することができる。mRNAの発現は、免疫細胞特異的miRNAが発現していない非免疫細胞において維持される。例えば、一部の実施形態では、肝臓特異的タンパク質に対する免疫原性反応を予防するために、任意のmiR-122結合部位を除去してもよく、miR-142（及び／またはmiR-146）結合部位を本開示のmRNAの5'UTR及び／または3'UTRに導入してもよい。

30

【0290】

APC及びマクロファージにおける選択的な分解及び抑制を更に促進させるために、本開示のmRNAは、単独、または、miR-142結合部位及び／またはmiR-146結合部位との組み合わせのいずれかで、5'UTR及び／または3'UTR内に更なる負の調節エレメントを含んでいてもよい。非限定例として、更なる負の調節エレメントは構成的崩壊エレメント（Constitutive Decay Element）（CDE）である。

40

【0291】

免疫細胞特異的miRNAとしては、hsa-let-7a-2-3p、hsa-let-7a-3p、hsa-7a-5p、hsa-let-7c、hsa-let-7e-3p、hsa-let-7e-5p、hsa-let-7g-3p、hsa-let-7g-5p、hsa-let-7i-3p、hsa-let-7i-5p、miR-10a-3p、miR-10a-5p、miR-1184、hsa-let-7f-1-3p、hsa-let-7f-2-5p、hsa-let-7f-5p、miR-125b-1-3p、miR-125b-2-3p、miR-125b-5p、miR-1279、miR-130a-3p、miR-130a-5p、miR-132-3p、miR-

50

132-5p、miR-142-3p、miR-142-5p、miR-143-3p、
miR-143-5p、miR-146a-3p、miR-146a-5p、miR-1
46b-3p、miR-146b-5p、miR-147a、miR-147b、miR
-148a-5p、miR-148a-3p、miR-150-3p、miR-150-
5p、miR-151b、miR-155-3p、miR-155-5p、miR-15
a-3p、miR-15a-5p、miR-15b-5p、miR-15b-3p、mi
R-16-1-3p、miR-16-2-3p、miR-16-5p、miR-17-5
p、miR-181a-3p、miR-181a-5p、miR-181a-2-3p、
miR-182-3p、miR-182-5p、miR-197-3p、miR-197
-5p、miR-21-5p、miR-21-3p、miR-214-3p、miR-2
14-5p、miR-223-3p、miR-223-5p、miR-221-3p、m
iR-221-5p、miR-23b-3p、miR-23b-5p、miR-24-1
-5p、miR-24-2-5p、miR-24-3p、miR-26a-1-3p、m
iR-26a-2-3p、miR-26a-5p、miR-26b-3p、miR-26
b-5p、miR-27a-3p、miR-27a-5p、miR-27b-3p、mi
R-27b-5p、miR-28-3p、miR-28-5p、miR-2909、mi
R-29a-3p、miR-29a-5p、miR-29b-1-5p、miR-29b
-2-5p、miR-29c-3p、miR-29c-5p、miR-30e-3p、
miR-30e-5p、miR-331-5p、miR-339-3p、miR-339
-5p、miR-345-3p、miR-345-5p、miR-346、miR-34
a-3p、miR-34a-5p、miR-363-3p、miR-363-5p、m
iR-372、miR-377-3p、miR-377-5p、miR-493-3p、
miR-493-5p、miR-542、miR-548b-5p、miR-548c-5
p、miR-548i、miR-548j、miR-548n、miR-574-3p、
miR-598、miR-718、miR-935、miR-99a-3p、miR-9
9a-5p、miR-99b-3p、及びmiR-99b-5pが挙げられるがこれらに
限定されない。更に、マイクロアレイハイブリダイゼーション及びマイクローム解析により、免疫細胞における新規のmiRNAを同定してもよい（例えば、Jima DD et al., Blood, 2010, 116: e118-e127; Vaz C et al., BMC Genomics, 2010, 11, 288（それぞれの内容全体は参照により本明細書に組み込まれる））。

10

20

30

【0292】

一部の実施形態では、本開示のmRNAはmiRNA結合部位を含み、miRNA結合部位は、72~74及び82~83（miRNA結合部位配列のうちのいずれか1種または複数種の1つまたは複数のコピーを含む）から選択される1種または複数種のヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、本開示のmRNAは、配列番号：72~74及び82~83（これらの任意の組み合わせを含む）から選択される少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上の同一のまたは異なるmiRNA結合部位を更に含む。

【0293】

一部の実施形態では、本開示のmRNAは、少なくとも1つのmiR-122結合部位、少なくとも2つのmiR-122結合部位、少なくとも3つのmiR-122結合部位、少なくとも4つのmiR-122結合部位、または少なくとも5つのmiR-122結合部位を含む。一態様では、miRNA結合部位は、miR-122に結合するまたはmiR-122に対して相補的である。別の態様では、miRNA結合部位はmiR-122-3pまたはmiR-122-5pに結合する。特定の態様では、miRNA結合部位は、配列番号：74に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一なヌクレオチド配列を含み、miRNA結合部位はmiR-122に結合する。別の特定の態様では、miRNA結合部位は、配列番号：83に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95

40

50

%、または100%同一なヌクレオチド配列を含み、miRNA結合部位はmiR-122に結合する。

【0294】

一部の実施形態では、miRNA結合部位は、ポリヌクレオチドの任意の位置（例えば、5'UTR及び／または3'UTR）において、本開示のmRNAに挿入されている。一部の実施形態では、5'UTRはmiRNA結合部位を含む。一部の実施形態では、3'UTRはmiRNA結合部位を含む。一部の実施形態では、5'UTR及び3'UTRはmiRNA結合部位を含む。mRNA内の挿入部位は、mRNA内へのmiRNA結合部位の挿入が対応するmiRNAの不在下における機能性ポリペプチドの翻訳を妨げない限り、またmiRNAの存在下において、mRNA内へのmiRNA結合部位の挿入及び対応するmiRNAへのmiRNA結合部位の結合が、mRNAの分解またはmRNAの翻訳の防止を可能とする限りにおいて、mRNA内の任意の場所であってもよい。

10

【0295】

一部の実施形態では、miRNA結合部位は、ORFを含む本開示のmRNA内のORFの終止コドンから少なくとも約30ヌクレオチド下流に挿入されている。一部の実施形態では、miRNA結合部位は、本開示のmRNA内のORFの終止コドンから少なくとも約10ヌクレオチド、少なくとも約15ヌクレオチド、少なくとも約20ヌクレオチド、少なくとも約25ヌクレオチド、少なくとも約30ヌクレオチド、少なくとも約35ヌクレオチド、少なくとも約40ヌクレオチド、少なくとも約45ヌクレオチド、少なくとも約50ヌクレオチド、少なくとも約55ヌクレオチド、少なくとも約60ヌクレオチド、少なくとも約65ヌクレオチド、少なくとも約70ヌクレオチド、少なくとも約75ヌクレオチド、少なくとも約80ヌクレオチド、少なくとも約85ヌクレオチド、少なくとも約90ヌクレオチド、少なくとも約95ヌクレオチド、または少なくとも約100ヌクレオチド下流に挿入されている。一部の実施形態では、miRNA結合部位は、本開示のmRNA内のORFの終止コドンから約10ヌクレオチド～約100ヌクレオチド、約20ヌクレオチド～約90ヌクレオチド、約30ヌクレオチド～約80ヌクレオチド、約40ヌクレオチド～約70ヌクレオチド、約50ヌクレオチド～約60ヌクレオチド、約45ヌクレオチド～約65ヌクレオチド下流に挿入されている。

20

【0296】

miRNA遺伝子調節は、miRNAの周囲の配列、限定するわけではないが例えば、周囲の配列の種類、配列のタイプ（例えば、非相同、相同、外来、内在性、または人工）、周囲の配列内の調節エレメント及び／または周囲の配列内の構造エレメントなどに影響され得る。miRNAは5'UTR及び／または3'UTRに影響され得る。非限定例として、非ヒト3'UTRは、同一配列タイプのヒト3'UTRと比較して、目的のポリペプチドの発現時にmiRNA配列の調節作用を増強し得る。

30

【0297】

一実施形態では、5'UTRのその他の調節エレメント及び／または構造エレメントは、miRNA介在性遺伝子調節に影響を及ぼし得る。調節エレメント及び／または構造エレメントの1つの例は、タンパク質翻訳を開始するための翻訳伸長因子の結合に必要な、5'UTR内の構造化IRES（配列内リボソーム進入部位）である。5'-UTR内のこの二次構造化エレメントに結合したEIF4A2は、miRNA介在性遺伝子発現に必要である（Meijer HA et al., Science, 2013, 340, 82-85（その全体は参照により本明細書に組み込まれる））。本開示のmRNAは、マイクロRNA介在性遺伝子調節を増強するために、この構造化5'UTRを更に含んでもよい。

40

【0298】

少なくとも1つのmiRNA結合部位を本開示のmRNAの3'UTRに導入してもよい。この文脈では、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、またはそれ以上のmiRNA結合部位を本開示のmRNAの3'UTRに導入してもよい。例えば、1～10、1～9、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、2、または1つのmiR

50

NA結合部位を本開示のmRNAの3'UTRに導入してもよい。一実施形態では、本開示のmRNAに導入されたmiRNA結合部位は、同一のmiRNA部位であってもよく、または異なるmiRNA部位であってもよい。本開示のmRNAに導入された異なるmiRNA結合部位の組み合わせとしては、異なるmiRNA部位のいずれかの2つ以上のコピーが導入された組み合わせを挙げることができる。別の実施形態では、本開示のmRNAに導入されたmiRNA結合部位は、体内の同一のまたは異なる組織を標的とし得る。非限定例として、本開示のmRNAの3'-UTRへの組織特異的、細胞型特異的、または疾患特異的miRNA結合部位の導入により、特定の細胞型（例えば、肝細胞、骨髄細胞、内皮細胞、がん細胞など）における発現の度合いが低下し得る。

【0299】

10

一実施形態では、本開示のmRNAの3'UTRの5'末端近傍、3'UTRの5'末端と3'末端の間のほぼ中間、及び／または3'UTRの3'末端近傍に、miRNA結合部位を導入してもよい。非限定例として、3'UTRの5'末端近傍及び3'UTRの5'末端と3'末端のほぼ中間に、miRNA結合部位を導入してもよい。別の非限定例として、3'UTRの3'末端近傍及び3'UTRの5'末端と3'末端のほぼ中間に、miRNA結合部位を導入してもよい。更に別の非限定例として、3'UTRの5'末端近傍及び3'UTRの3'末端近傍に、miRNA結合部位を導入してもよい。

【0300】

別の実施形態では、3'UTRは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10のmiRNA結合部位を含んでもよい。miRNA結合部位は、miRNA、miRNAシード配列、及び／またはシード配列前後のmiRNA配列に対して相補的であってもよい。

20

【0301】

異なる組織、細胞型、または生物学的条件におけるmiRNAの発現パターンに基づいて、特定の組織、細胞型、または生物学的条件によりの絞って発現させるために、本開示のmRNAを改変してもよい。組織特異的miRNA結合部位の導入により、組織もしくは細胞における、または生物学的条件に関するタンパク質発現を最適化するために、本開示のmRNAを設計してもよい。

【0302】

一実施形態では、本開示のmRNAは、目的の組織または細胞内におけるコードポリペプチドの発現を抑制するために、少なくとも1つのmiRNAを含んでもよい。非限定例として、本開示のmRNAは、肝臓内における目的のコードポリペプチドの発現を抑制するために、少なくとも1つのmiR-122結合部位を含んでもよい。別の非限定例として、本開示のmRNAは、少なくとも1つの、miR-142-3p結合部位、miR-142-3pシード配列、シードを含まないmiR-142-3p結合部位、miR-142-5p結合部位、miR-142-5pシード配列、シードを含まないmiR-142-5p結合部位、miR-146結合部位、miR-146シード配列、及び／またはシード配列を含まないmiR-146結合部位を含んでもよい。

30

【0303】

一実施形態では、本開示のmRNAは、免疫細胞におけるmRNA治療薬を選択的に分解して、治療薬送達により引き起こされる望ましくない免疫原性反応を抑制するために、3'UTR内に少なくとも1つのmiRNA結合部位を含んでもよい。非限定例として、miRNA結合部位は、抗原提示細胞において、本開示のmRNAをより不安定にし得る。これらのmiRNAの非限定例としては、mir-142-5p、mir-142-3p、mir-146a-5p、及びmir-146-3pが挙げられる。

40

【0304】

一実施形態では、本開示のmRNAは、RNA結合タンパク質と相互作用し得るmRNAの領域内に少なくとも1つのmiRNA配列を含む。

【0305】

一実施形態では、本開示のmRNA（例えば、RNA、例えば、mRNA）は、（

50

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

【0306】

一部の実施形態では、本開示の mRNA は、本明細書で開示するポリペプチドをコードするウラシル修飾配列及び、本明細書で開示する miRNA 結合部位、例えば、miR-142 に結合する miRNA 結合部位を含む。一部の実施形態では、ポリペプチドをコードするウラシル修飾配列は、少なくとも 1 つの化学修飾核酸塩基、例えば、5-メトキシウラシルを含む。一部の実施形態では、本開示のポリペプチドをコードするウラシル修飾配列内の核酸塩基のタイプ (例えば、ウラシル) のうちの少なくとも 95% は、修飾核酸塩基である。一部の実施形態では、ポリペプチドをコードするウラシル修飾配列内のウラシルのうちの少なくとも 95% は、5-メトキシウリジンである。一部の実施形態では、本明細書で開示するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列及び miRNA 結合部位を含む mRNA は、送達用物質、例えば、式 (I) を有する化合物、例えば、化合物 X と配合されている。

【0307】

脂質ナノ粒子

本開示は、有利な特性を有する医薬組成物を提供する。本明細書に記載の脂質組成物を、治療薬及び／または予防薬、例えば、mRNA を哺乳動物の細胞または器官に送達するための脂質ナノ粒子組成物に有利に使用してもよい。例えば、本明細書に記載の脂質は免疫原性をほとんど有していないまたは有していない。例えば、本明細書で開示する脂質化合物は、参照脂質 (例えば、MC3、KC2、または DLiDMA) と比較してより低い免疫原性を有している。例えば、本明細書で開示する脂質及び治療薬または予防薬、例えば、mRNA を含む製剤は、参照脂質 (例えば、MC3、KC2、または DLiDMA) 及び同一の治療薬または予防薬を含む対応する製剤と比較して、高い治療指数を有している。

【0308】

特定の実施形態では、本出願は、

- (a) ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む mRNA、及び、
- (b) 送達用物質、

を含む医薬組成物を提供する。

【0309】

特定の実施形態では、本出願は、

(i) ヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、

(ii) ヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA、

(iii) ヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、

(iv) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA、

(v) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、

(vi) ヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA、または、

(vii) ヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコー

ドする mRNA、
及び送達用物質、
を含む医薬組成物を提供する。

【0310】

一部の実施形態では、本出願は、

(i) 第1の送達用物質、及びヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、

(ii) 第2の送達用物質、及びヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、

(iii) 第3の送達用物質、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び、

(iv) 第4の送達用物質、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、
を含む医薬組成物を提供する。

10

【0311】

一部の実施形態では、本出願は、

(i) 第1の送達用物質、及びヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、

(ii) 第2の送達用物質、及びヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及び、

(iii) 第3の送達用物質、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、
を含む医薬組成物を提供する。

20

【0312】

LNPの脂質成分

一部の実施形態では、LNPは、(i) イオン性脂質、(ii) ステロールまたはその他の構造脂質、(iii) 非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、(iv) PEG脂質を含む。これらのカテゴリーの脂質については以下でより詳細に記載している。

【0313】

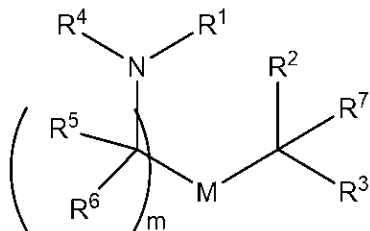
(i) イオン性脂質

本開示の脂質ナノ粒子は1種または複数種のイオン性脂質を含む。特定の実施形態では、本開示のイオン性脂質は、中心アミン部分及び少なくとも1つの生分解性基を含む。本明細書に記載のイオン性脂質を、核酸分子を哺乳動物の細胞または器官へと送達するための本開示の脂質ナノ粒子に有利に使用してもよい。以下に記載するイオン性脂質の構造は、それらを本発明のその他の脂質と区別するための接頭辞 I を含む。

30

【0314】

本発明の第1の態様では、本明細書に記載の化合物は、式 (I I) の化合物、



40

(I I)、

もしくはその N-酸化物、またはその塩もしくは異性体であり、

式中、

R¹ は、C₅-30 アルキル、C₅-20 アルケニル、-R*YR'、-YR'、及び -R'、M'R' からなる群から選択され、

R² 及び R³ は、H、C₁-14 アルキル、C₂-14 アルケニル、-R*YR'、-YR'、及び -R*OR' からなる群から独立して選択される、または、R² 及び R³ は、それらが結合している原子と共に複素環または炭素環を形成し、

50

R^4 は、水素、 C_{3-6} 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-(CH_2)_oC(R^{10})_2(CH_2)_{n-o}Q$ 、 $-CHQR$ 、 $-CQ(R)_2$ 、及び非置換 C_{1-6} アルキルからなる群から選択され、式中、 Q は、炭素環、複素環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(R)R^8$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-N(R)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 、及び $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ から選択され、それぞれの o は、1、2、3、及び4から独立して選択され、それぞれの n は、1、2、3、4及び5から独立して選択され、

それぞれの R^5 は、 OH 、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、及び H からなる群から独立して選択され、

それぞれの R^6 は、 OH 、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、及び H からなる群から独立して選択され、

M 及び M' は、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M''$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基から独立して選択され、式中、 M'' は、結合、 C_{1-13} アルキル、または C_{2-13} アルケニルであり、

R^7 は、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、及び H からなる群から選択され、

R^8 は、 C_{3-6} 炭素環及び複素環からなる群から選択され、

R^9 は、 H 、 CN 、 NO_2 、 C_{1-6} アルキル、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 C_{2-6} アルケニル、 C_{3-6} 炭素環及び複素環からなる群から選択され、

R^{10} は、 H 、 OH 、 C_{1-3} アルキル、及び C_{2-3} アルケニルからなる群から選択され、

それぞれの R は、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、 $(CH_2)_qOR^*$ 、及び H からなる群から独立して選択され、

それぞれの q は、1、2、及び3から独立して選択され、

それぞれの R' は、 C_{1-18} アルキル、 C_{2-18} アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び H からなる群から独立して選択され、

それぞれの R'' は、 C_{1-15} アルキル及び C_{3-15} アルケニルからなる群から独立して選択され、

それぞれの R^* は、 C_{1-12} アルキル及び C_{2-12} アルケニルからなる群から独立して選択され、

それぞれの Y は独立して、 C_{3-6} 炭素環であり、

それぞれの X は、 F 、 Cl 、 Br 、及び I からなる群から独立して選択され、

m は、5、6、7、8、9、10、11、12、及び13から選択され、 R^4 が $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-CHQR$ 、または $-CQ(R)_2$ であるとき、 $(i)_n$ が1、2、3、4、または5の場合、 Q は $-N(R)_2$ ではない、または、 $(ii)_n$ が1または2の場合、 Q は5、6、または7員環ヘテロシクロアルキルではない。

【0315】

別の態様では、本開示は、式(III)の化合物、

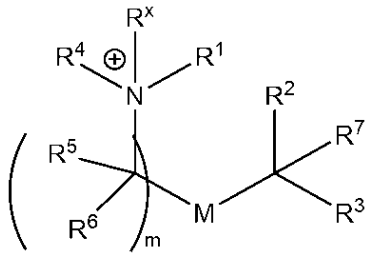
10

20

30

40

50



(I I I I) もしくはその N-酸化物、またはその塩もしくは異性体に関し、
式中、

R^1 は、 C_5-30 アルキル、 C_5-20 アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び $-R'$ 、 M' 、 R' からなる群から選択され、

R^2 及び R^3 は、 H 、 C_1-14 アルキル、 C_2-14 アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び $-R^*OR''$ からなる群から独立して選択される、または、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に複素環または炭素環を形成し、

R^4 は、水素、 C_3-6 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-(CH_2)_oC(R^{10})_2(CH_2)_{n-o}Q$ 、 $-CHQR$ 、 $-CQ(R)_2$ 、及び非置換 C_1-6 アルキルからなる群から選択され、式中、 Q は、炭素環、複素環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $N(R)R^8$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-N(R)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 、及び $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ から選択され、それぞれの o は、1、2、3、及び 4 から独立して選択され、それぞれの n は、1、2、3、4 及び 5 から独立して選択され、

R^x は、 C_1-6 アルキル、 C_2-6 アルケニル、 $-(CH_2)_vOH$ 、及び $-(CH_2)_vN(R)_2$ からなる群から選択され、

式中、 v は、1、2、3、4、5、及び 6 から選択され、

それぞれの R^5 は、 OH 、 C_1-3 アルキル、 C_2-3 アルケニル、及び H からなる群から独立して選択され、

それぞれの R^6 は、 OH 、 C_1-3 アルキル、 C_2-3 アルケニル、及び H からなる群から独立して選択され、

M 及び M' は、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M''$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基から独立して選択され、式中、 M'' は、結合、 C_1-13 アルキル、または C_2-13 アルケニルであり、

R^7 は、 C_1-3 アルキル、 C_2-3 アルケニル、及び H からなる群から選択され、

R^8 は、 C_3-6 炭素環及び複素環からなる群から選択され、

R^9 は、 H 、 CN 、 NO_2 、 C_1-6 アルキル、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 C_2-6 アルケニル、 C_3-6 炭素環及び複素環からなる群から選択され、

R^{10} は、 H 、 OH 、 C_1-3 アルキル、及び C_2-3 アルケニルからなる群から選択され、

それぞれの R は、 C_1-3 アルキル、 C_2-3 アルケニル、 $(CH_2)_qOR^*$ 、及び H からなる群から独立して選択され、

それぞれの q は、1、2、及び 3 から独立して選択され、

それぞれの R' は、 C_{1-18} アルキル、 C_{2-18} アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び H からなる群から独立して選択され、

それぞれの R'' は、 C_{1-15} アルキル及び C_{3-15} アルケニルからなる群から独立して選択され、

それぞれの R^* は、 C_{1-12} アルキル及び C_{2-12} アルケニルからなる群から独立して選択され、

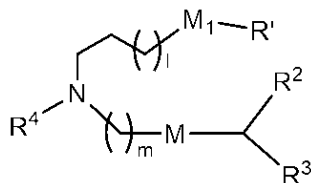
それぞれの Y は独立して、 C_{3-6} 炭素環であり、

それぞれの X は、 F 、 Cl 、 Br 、及び I からなる群から独立して選択され、

m は、5、6、7、8、9、10、11、12、及び13から選択される。

【0316】

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



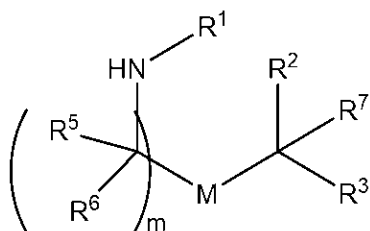
(I IA)、

もしくはその N -酸化物、またはその塩もしくは異性体を含み、

式中、 l は、1、2、3、4、及び5から選択され、 m は、5、6、7、8、及び9から選択され、 M_1 は結合または M' であり、 R^4 は、水素、非置換 C_{1-3} アルキル、 $-(CH_2)_oC(R^{10})_2(CH_2)_n-Q$ 、または $-(CH_2)_nQ$ であり、式中、 Q は、 OH 、 $-NHC(S)N(R)_2$ 、 $-NHC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)R^8$ 、 $-NHC(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-NHC(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、ヘテロアリール、またはヘテロシクロアルキルであり、 M 及び M' は、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M'-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基から独立して選択され、 R^2 及び R^3 は、 H 、 C_{1-14} アルキル、及び C_{2-14} アルケニルからなる群から独立して選択される。例えば、 m は、5、7、または9である。例えば、 Q は、 OH 、 $-NHC(S)N(R)_2$ 、または $-NHC(O)N(R)_2$ である。例えば、 Q は $-N(R)C(O)R$ または $-N(R)S(O)_2R$ である。

【0317】

特定の実施形態では、式 (I) の化合物のサブセットは、式 (IB) の化合物、



(I IB)、もしくはその N -酸化物、またはその塩もしくは異性体を含み、

式中、全ての可変因子は本明細書において定義したとおりである。例えば、 m は、5、6、7、8、及び9から選択され、 M 及び M' は、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M'-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基から独立して選択され、 R^2 及び R^3 は、 H 、 C_{1-14} アルキル、及び C_{2-14} アルケニルからなる群から独立して選択される。例えば、 m は、5、7、または9である。特定の実施形態では、式 (I) の化合物のサブセットは、式 (II) の化合物、

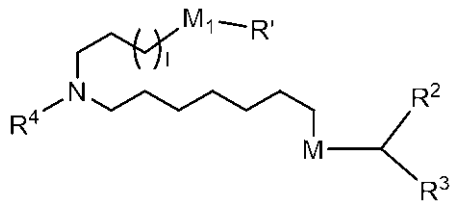
10

20

30

40

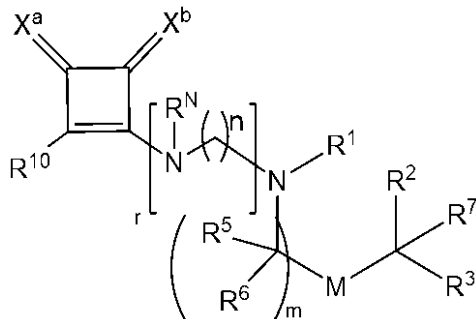
50



(I II)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含み、式中、 l は、1、2、3、4、及び5から選択され、 M_1 は結合または M' であり、 R^4 は、水素、非置換 C_{1-3} アルキル、 $-(CH_2)_oC(R^{10})_2(CH_2)_n-Q$ 、または $-(CH_2)_nQ$ であり、式中、 n は、2、3、または4であり、 Q は、OH、 $-NHC(S)N(R)_2$ 、 $-NHC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)R^8$ 、 $-NHC(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-NHC(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、ヘテロアリール、またはヘテロシクロアルキルであり、 M 及び M' は、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M'$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基から独立して選択され、 R^2 及び R^3 は、H、 C_{1-14} アルキル、及び C_{2-14} アルケニルからなる群から独立して選択される。

【0318】

本開示の別の態様は、式(I VI)の化合物、



(I VI)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体に関し、式中、

R^1 は、 C_{5-30} アルキル、 C_{5-20} アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び $-R''M'R'$ からなる群から選択され、

R^2 及び R^3 は、H、 C_{1-14} アルキル、 C_{2-14} アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び $-R^*OR''$ からなる群から独立して選択される、または、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に複素環または炭素環を形成し、

それぞれの R^5 は、OH、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、及びHからなる群から独立して選択され、

それぞれの R^6 は、OH、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、及びHからなる群から独立して選択され、

M 及び M' は、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M'$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基から独立して選択され、式中、 M' は、結合、 C_{1-13} アルキル、または C_{2-13} アルケニルであり、

R^7 は、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、及びHからなる群から選択され、

それぞれの R は、H、 C_{1-3} アルキル、及び C_{2-3} アルケニルからなる群から独立して選択され、

R^N はHまたは C_{1-3} アルキルであり、

それぞれの R' は、 C_{1-18} アルキル、 C_{2-18} アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び H からなる群から独立して選択され、

それぞれの R'' は、 C_{1-15} アルキル及び C_{3-15} アルケニルからなる群から独立して選択され、

それぞれの R^* は、 C_{1-12} アルキル及び C_{2-12} アルケニルからなる群から独立して選択され、

それぞれの Y は独立して、 C_3-6 炭素環であり、

それぞれの X は、 F 、 Cl 、 Br 、及び I からなる群から独立して選択され、

X^a 及び X^b はそれぞれ独立して、 O または S であり、

R^{10} は、 H 、ハロ、 $-OH$ 、 R 、 $-N(R)_2$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-S(O)R$ 、 $-S(O)OR$ 、 $-S(O)_2OR$ 、 $-NO_2$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-NH(CH_2)_tN(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_pO(CH_2)_qN(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_sOR$ 、 $-N((CH_2)_sOR)_2$ 、炭素環、複素環、アリール、及びヘテロアリールからなる群から選択され、

m は、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 11 、 12 、及び 13 から選択され、

n は、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、及び 10 から選択され、

r は 0 または 1 であり、

t^1 は、 1 、 2 、 3 、 4 、及び 5 から選択され、

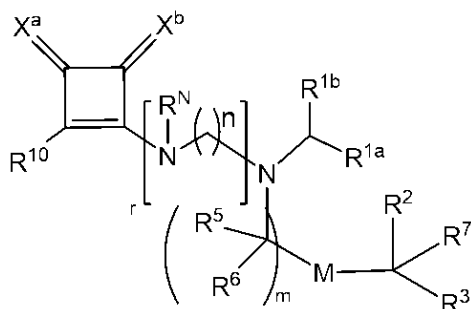
p^1 は、 1 、 2 、 3 、 4 、及び 5 から選択され、

q^1 は、 1 、 2 、 3 、 4 、及び 5 から選択され、

s^1 は、 1 、 2 、 3 、 4 、及び 5 から選択される。

【0319】

一実施形態では、式 (VI) の化合物のサブセットは、式 (VI-a) の化合物、



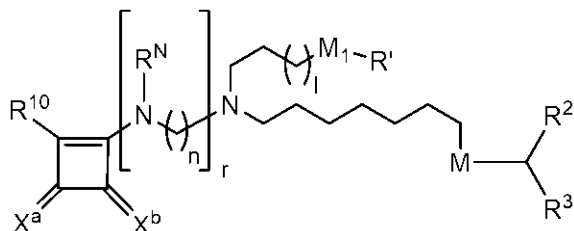
(VI-a)、もしくはその N -酸化物、またはその塩もしくは異性体を含み、式中、

R^{1a} 及び R^{1b} は、 C_{1-14} アルキル及び C_{2-14} アルケニルからなる群から独立して選択され、

R^2 及び R^3 は、 C_{1-14} アルキル、 C_{2-14} アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び $-R^*OR''$ からなる群から独立して選択される、または、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に複素環または炭素環を形成する。

【0320】

別の実施形態では、式 (VI) の化合物のサブセットは、式 (VII) の化合物、



10

20

30

40

50

(I V I I)、
もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含み、
式中、

lは、1、2、3、4、及び5から選択され、

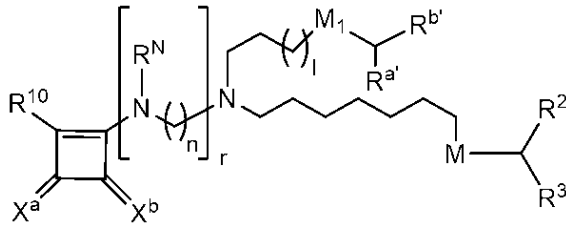
M₁は結合またはM'であり、

R²及びR³は、H、C₁₋₁₄アルキル、及びC₂₋₁₄アルケニルからなる群から独立して選択される。

【0321】

別の実施形態では、式(I V I)の化合物のサブセットは、式(I V I I I)の化合物、

10



(I V I I I)、
もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含み、
式中、

20

lは、1、2、3、4、及び5から選択され、

M₁は結合またはM'であり、

R^a及びR^bは、C₁₋₁₄アルキル及びC₂₋₁₄アルケニルからなる群から独立して選択され、

R²及びR³は、C₁₋₁₄アルキル及びC₂₋₁₄アルケニルからなる群から独立して選択される。

【0322】

式(I I)、(I I A)、(I V I)、(I V I-a)、(I V I I)、または(I V I I I)のうちのいずれか1つの化合物は、適用可能な場合、以下の特徴のうちの1つまたは複数を含む。

30

【0323】

一部の実施形態では、M₁はM'である。

【0324】

一部の実施形態では、M及びM'は独立して、-C(O)O-または-O-C(O)-である。

【0325】

一部の実施形態では、M及びM'のうちの少なくとも1つは-C(O)O-または-O-C(O)-である。

【0326】

特定の実施形態では、M及びM'のうちの少なくとも1つは-O-C(O)-である。

40

【0327】

特定の実施形態では、Mは-O-C(O)-であり、M'は-C(O)O-である。一部の実施形態では、Mは-C(O)O-であり、M'は-O-C(O)-である。特定の実施形態では、M及びM'はそれぞれ-O-C(O)-である。一部の実施形態では、M及びM'はそれぞれ-C(O)O-である。

【0328】

特定の実施形態では、M及びM'のうちの少なくとも1つは-O-C(O)-M''-C(O)O-である。

【0329】

一部の実施形態では、M及びM'は独立して、-S-S-である。

50

【0330】

一部の実施形態では、M及びM'のうちの少なくとも1つは-S-S-である。

【0331】

一部の実施形態では、M及びM'のうちの1つは-C(O)O-または-O C(O)-であり、もう一方は-S-S-である。例えば、Mが-C(O)O-または-O C(O)-であり、M'が-S-S-である、または、M'が-C(O)O-または-O C(O)-であり、Mが-S-S-である。

【0332】

一部の実施形態では、M及びM'のうちの1つは-O C(O)-M''-C(O)O-であり、式中、M''は、結合、 $1C_{-13}$ アルキル、または C_{2-13} アルケニルである。その他の実施形態では、M''は $1C_{-6}$ アルキルまたは C_{2-6} アルケニルである。特定の実施形態では、M''は $1C_{-4}$ アルキルまたは C_{2-4} アルケニルである。例えば、一部の実施形態では、M''は $1C_{-4}$ アルキルである。例えば、一部の実施形態では、M''は $2C_{-4}$ アルキルである。例えば、一部の実施形態では、M''は $3C_{-4}$ アルキルである。例えば、一部の実施形態では、M''は $4C_{-4}$ アルキルである。例えば、一部の実施形態では、M''は $2C_{-6}$ アルケニルである。例えば、一部の実施形態では、M''は $3C_{-6}$ アルケニルである。例えば、一部の実施形態では、M''は $4C_{-6}$ アルケニルである。

10

【0333】

一部の実施形態では、lは、1、3、または5である。

【0334】

一部の実施形態では、R⁴は水素である。

20

【0335】

一部の実施形態では、R⁴は水素ではない。

【0336】

一部の実施形態では、R⁴は非置換メチルまたは-(CH₂)_nQであり、式中、QはO H、-NHC(S)N(R)₂、-NHC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、または-N(R)S(O)₂Rである。

【0337】

一部の実施形態では、QはOHである。

【0338】

一部の実施形態では、Qは-NHC(S)N(R)₂である。

30

【0339】

一部の実施形態では、Qは-NHC(O)N(R)₂である。

【0340】

一部の実施形態では、Qは-N(R)C(O)Rである。

【0341】

一部の実施形態では、Qは-N(R)S(O)₂Rである。

【0342】

一部の実施形態では、Qは-O(CH₂)_nN(R)₂である。

【0343】

一部の実施形態では、Qは-O(CH₂)_nORである。

40

【0344】

一部の実施形態では、Qは-N(R)R⁸である。

【0345】

一部の実施形態では、Qは-NHC(=NR⁹)N(R)₂である。

【0346】

一部の実施形態では、Qは-NHC(=CHR⁹)N(R)₂である。

【0347】

一部の実施形態では、Qは-O C(O)N(R)₂である。

【0348】

50

一部の実施形態では、Qは $-N(R)C(O)OR$ である。

【0349】

一部の実施形態では、nは2である。

【0350】

一部の実施形態では、nは3である。

【0351】

一部の実施形態では、nは4である。

【0352】

一部の実施形態では、 M_1 は不在である。

【0353】

一部の実施形態では、少なくとも1つの R^5 はヒドロキシルである。例えば、1つの R^5 はヒドロキシルである。

【0354】

一部の実施形態では、少なくとも1つの R^6 はヒドロキシルである。例えば、1つの R^6 はヒドロキシルである。

【0355】

一部の実施形態では、 R^5 及び R^6 のうちの1つはヒドロキシルである。例えば、1つの R^5 はヒドロキシルであり、それぞれの R^6 は水素である。例えば、1つの R^6 はヒドロキシルであり、それぞれの R^5 は水素である。

【0356】

一部の実施形態では、 R^x は C_{1-6} アルキルである。一部の実施形態では、 R^x は C_{1-3} アルキルである。例えば、 R^x はメチルである。例えば、 R^x はエチルである。例えば、 R^x はプロピルである。

【0357】

一部の実施形態では、 R^x は $-(CH_2)_vOH$ であり、vは、1、2、または3である。例えば、 R^x はメタノイルである。例えば、 R^x はエタノイルである。例えば、 R^x はプロパノイルである。

【0358】

一部の実施形態では、 R^x は $-(CH_2)_vN(R)_2$ であり、vは、1、2、または3であり、それぞれのRはHまたはメチルである。例えば、 R^x は、メタンアミノ、メチルメタンアミノ、またはジメチルメタンアミノである。例えば、 R^x は、アミノメタニル、メチルアミノメタニル、またはジメチルアミノメタニルである。例えば、 R^x は、アミノエタニル、メチルアミノエタニル、またはジメチルアミノエタニルである。例えば、 R^x は、アミノプロパニル、メチルアミノプロパニル、またはジメチルアミノプロパニルである。

【0359】

一部の実施形態では、 R' は、 C_{1-18} アルキル、 C_{2-18} アルケニル、 $-R^*YR''$ 、または $-YR''$ である。

【0360】

一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は独立して、 C_{3-14} アルキルまたは C_{3-14} アルケニルである。

【0361】

一部の実施形態では、 R^{1b} は C_{1-14} アルキルである。一部の実施形態では、 R^{1b} は C_{2-14} アルキルである。一部の実施形態では、 R^{1b} は C_{3-14} アルキルである。一部の実施形態では、 R^{1b} は C_{1-8} アルキルである。一部の実施形態では、 R^{1b} は C_{1-5} アルキルである。一部の実施形態では、 R^{1b} は C_{1-3} アルキルである。一部の実施形態では、 R^{1b} は、 C_1 アルキル、 C_2 アルキル、 C_3 アルキル、 C_4 アルキル、及び C_5 アルキルから選択される。例えば、一部の実施形態では、 R^{1b} は C_1 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R^{1b} は C_2 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R^{1b} は C_3 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R^{1b} は C_4 アルキルで

10

20

30

40

50

ある。例えば、一部の実施形態では、 R^{1b} は C_5 アルキルである。

【0362】

一部の実施形態では、 R^1 は $-(CHR^5R^6)_m-M-CR^2R^3R^7$ とは異なる。

【0363】

一部の実施形態では、 $-CHR^{1a}R^{1b}-$ は $-(CHR^5R^6)_m-M-CR^2R^3R^7$ とは異なる。

【0364】

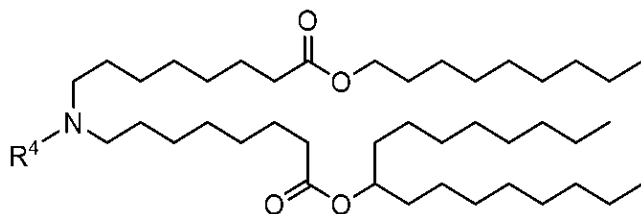
一部の実施形態では、 R^7 はHである。一部の実施形態では、 R^7 は C_{1-3} アルキルから選択される。例えば、一部の実施形態では、 R^7 は C_1 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R^7 は C_2 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R^7 は C_3 アルキルである。一部の実施形態では、 R^7 は、 C_4 アルキル、 C_4 アルケニル、 C_5 アルキル、 C_5 アルケニル、 C_6 アルキル、 C_6 アルケニル、 C_7 アルキル、 C_7 アルケニル、 C_9 アルキル、 C_9 アルケニル、 C_{11} アルキル、 C_{11} アルケニル、 C_{17} アルキル、 C_{17} アルケニル、 C_{18} アルキル、及び C_{18} アルケニルから選択される。

【0365】

一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は C_{1-14} アルキルである。一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は C_{2-14} アルキルである。一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は C_{3-14} アルキルである。一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は C_{1-8} アルキルである。一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は C_{1-5} アルキルである。一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は C_{1-3} アルキルである。一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は、 C_1 アルキル、 C_2 アルキル、 C_3 アルキル、 C_4 アルキル、及び C_5 アルキルから選択される。例えば、一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は C_1 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は C_2 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は C_3 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 $R^{b'}$ は C_4 アルキルである。

【0366】

一実施形態では、式(I)の化合物は、式(IIa)の化合物、

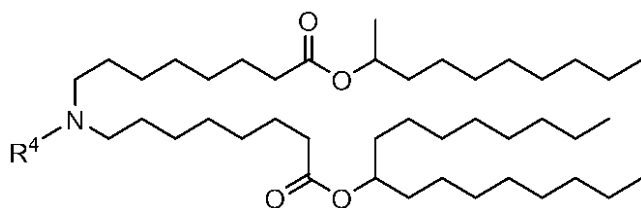


(IIa)、

もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体であり、式中、 R^4 は、本明細書に記載のとおりである。

【0367】

別の実施形態では、式(I)の化合物は、式(IIb)の化合物、



(IIb)、

もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体であり、式中、 R^4 は、本明細書に記載のとおりである。

【0368】

別の実施形態では、式(I)の化合物は、式(IIc)または式(IIE)の化合物、

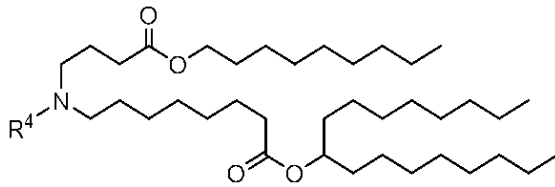
10

20

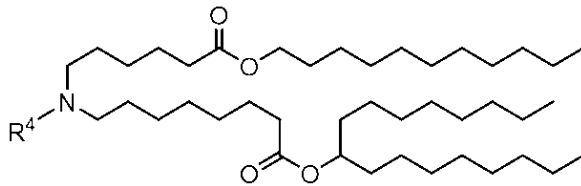
30

40

50



(I I I c) または

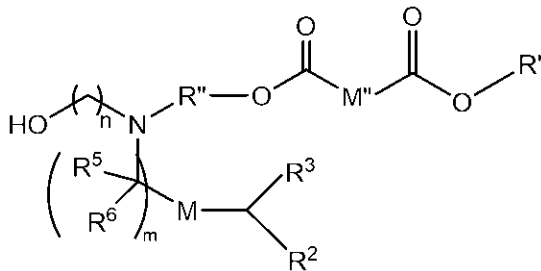


(I I I e)

もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体であり、式中、 R^4 は、本明細書に記載のとおりである。

【0369】

別の実施形態では、式(I I)の化合物は、式(I I I f)の化合物、

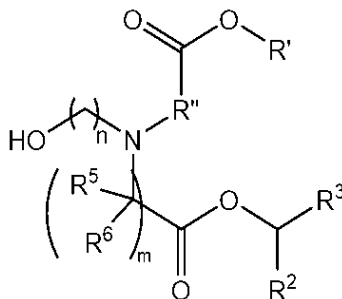


(I I I f) もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体であり、
式中、

M は $-C(O)O-$ または $-OC(O)-$ であり、 M' は C_6 アルキルまたは C_{2-6} アルケニルであり、 R^2 及び R^3 は、 C_{5-14} アルキル及び C_{5-14} アルケニルからなる群から独立して選択され、 n は、2、3、及び4から選択される。

【0370】

更なる実施形態では、式(I I)の化合物は、式(I I d)の化合物、

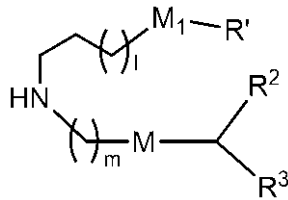


(I I I d)、

もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体であり、式中、 n は、2、3、または4であり、 m 、 R' 、 R'' 、及び R^6 は、本明細書に記載のとおりである。例えば、 R^2 及び R^3 のそれぞれは、 C_{5-14} アルキル及び C_{5-14} アルケニルからなる群から独立して選択されてもよい。

【0371】

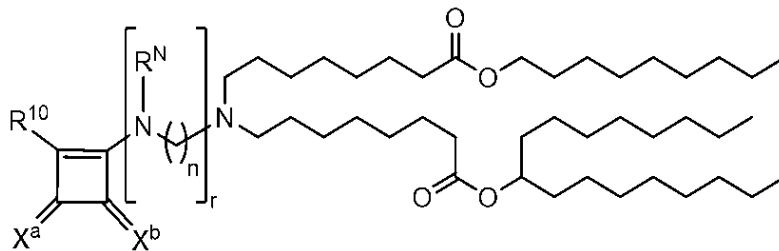
更なる実施形態では、式 (I) の化合物は、式 (I I g) の化合物、



(I I I g)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体であり、式中、
 lは、1、2、3、4、及び5から選択され、mは、5、6、7、8、及び9から選択され、
 M₁は結合またはM'であり、M及びM'は、-C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)-M'-、
 -C(O)O-、-C(O)N(R')-、-P(O)(OR')O-、-S-S-、アリール基、及びヘテロアリール基から独立して選択され、R²及びR³は、H、
 C₁₋₁₄アルキル、及びC₂₋₁₄アルケニルからなる群から独立して選択される。例えば、
 M'は、C₁₋₆アルキル（例えば、C₁₋₄アルキル）またはC₂₋₆アルケニル（例えば、
 C₂₋₄アルケニル）である。例えば、R²及びR³は、C₅₋₁₄アルキル及びC₅₋₁₄
 アルケニルからなる群から独立して選択される。

【0372】

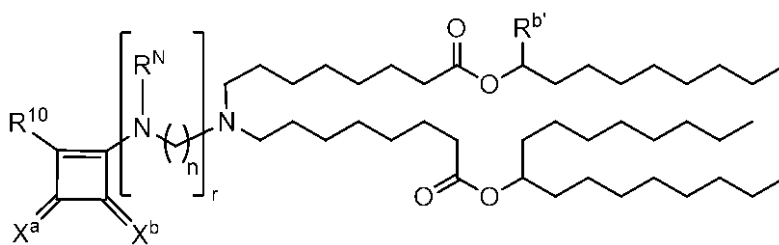
別の実施形態では、式 (I V I) の化合物のサブセットは、式 (I V I I a) の化合物、



(I V I I a)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含む。

【0373】

別の実施形態では、式 (I V I) の化合物のサブセットは、式 (I V I I I a) の化合物、



(I V I I I a)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含む。

【0374】

別の実施形態では、式 (I V I) の化合物のサブセットは、式 (I V I I I b) の化合物、

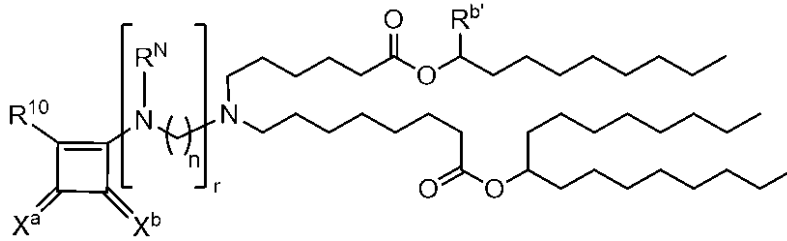
10

20

30

40

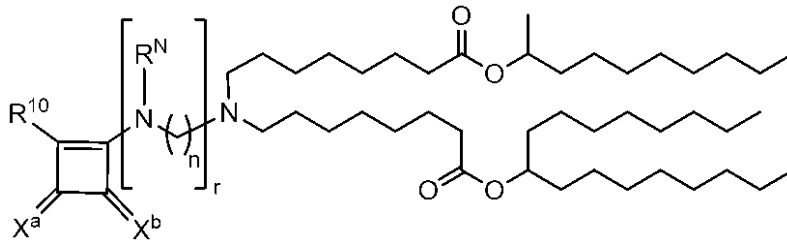
50



(I V I I I b)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含む。

【0375】

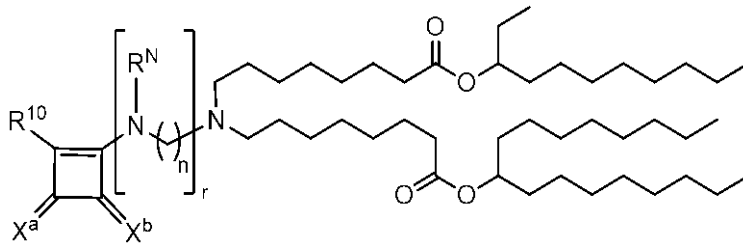
別の実施形態では、式(I V I)の化合物のサブセットは、式(I V I I b-1)の化合物、



(I V I I b-1)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含む。

【0376】

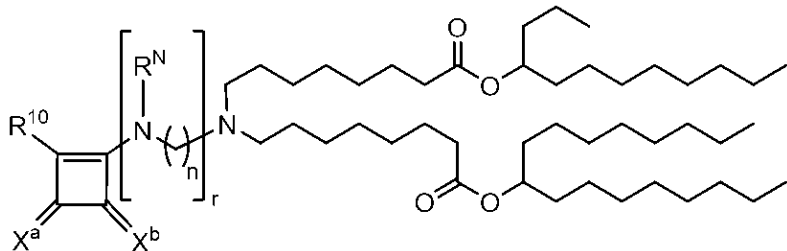
別の実施形態では、式(I V I)の化合物のサブセットは、式(I V I I b-2)の化合物、



(I V I I b-2)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含む。

【0377】

別の実施形態では、式(I V I)の化合物のサブセットは、式(I V I I b-3)の化合物、



(I V I I b-3)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含む。

別の実施形態では、式(V I)の化合物のサブセットは、式(V I I c)の化合物、

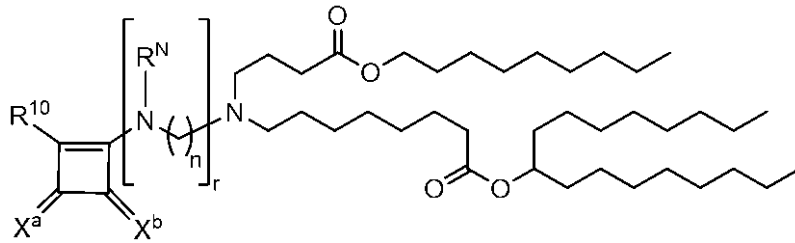
10

20

30

40

50

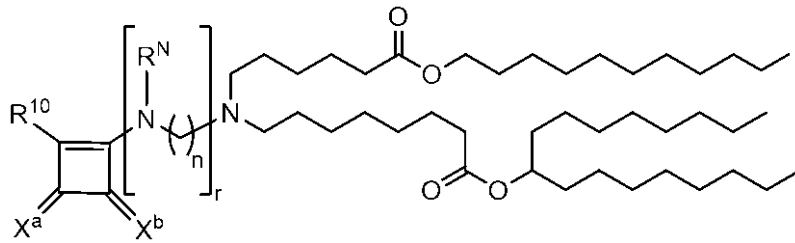


(I VII c)

を含む。

【0378】

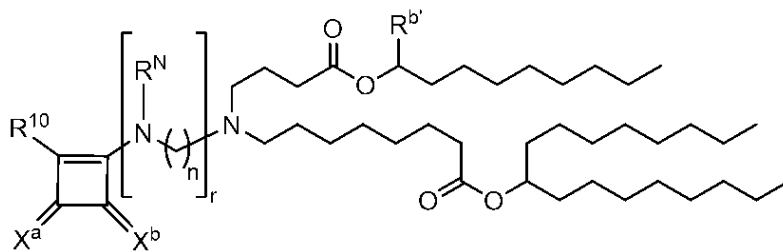
別の実施形態では、式 (I VI) の化合物のサブセットは、式 (VII d) の化合物、



(I VII d)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含む。

【0379】

別の実施形態では、式 (I VI) の化合物のサブセットは、式 (I VII I c) の化合物、

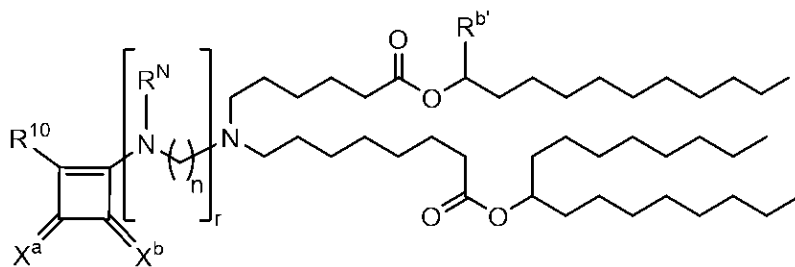


(I VII I c)

を含む。

【0380】

別の実施形態では、式 (I VI) の化合物のサブセットは、式 (I VII I d) の化合物、



(I VII I d)、もしくはそのN-酸化物、またはその塩もしくは異性体を含む。

【0381】

式 (I I)、(I IA)、(I IB)、(I II)、(I II a)、(I II b)、(I II c)、(I II d)、(I II e)、(I II f)、(I II g

10

20

30

40

50

)、I (III)、(I VI)、(I VI-a)、(I VII)、(I VIII)、(I VIIa)、(I VIIIa)、(I VIIIb)、(I VIIb-1)、(I VIIb-2)、(I VIIb-3)、(I VIIc)、(I VIId)、(I VIIIc)、または(I VIIId)のうちのいずれか1つの化合物は、適用可能な場合、以下の特徴のうちの1つまたは複数を含む。

【0382】

一部の実施形態では、 R^4 は、 C_{3-6} 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-(CH_2)_oC(R^{10})_2(CH_2)_n-oQ$ 、 $-CHQR$ 、及び $-CQ(R)_2$ からなる群から選択され、式中、 Q は、 C_{3-6} 炭素環、 N 、 O 、 S 、及び P から選択される1つまたは複数のヘテロ原子を有する5～14員環の芳香族または非芳香族複素環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、及び $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ から選択され、それぞれの o は、1、2、3、及び4から独立して選択され、それぞれの n は、1、2、3、4、及び5から独立して選択される。

【0383】

別の実施形態では、 R^4 は、 C_{3-6} 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-(CH_2)_oC(R^{10})_2(CH_2)_n-oQ$ 、 $-CHQR$ 、及び $-CQ(R)_2$ からなる群から選択され、式中、 Q は、 C_{3-6} 炭素環、 N 、 O 、及び S から選択される1つまたは複数のヘテロ原子を有する5～14員環ヘテロアリール、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ 、及び、オキソ(=O)、OH、アミノ、及び C_{1-3} アルキルから選択される1つまたは複数の置換基で置換された、 N 、 O 、及び S から選択される1つまたは複数のヘテロ原子を有する5～14員環ヘテロシクロアルキルから選択され、それぞれの o は、1、2、3、及び4から独立して選択され、それぞれの n は、1、2、3、4、及び5から独立して選択される。

【0384】

別の実施形態では、 R^4 は、 C_{3-6} 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-(CH_2)_oC(R^{10})_2(CH_2)_n-oQ$ 、 $-CHQR$ 、及び $-CQ(R)_2$ からなる群から選択され、式中、 Q は、 C_{3-6} 炭素環、 N 、 O 、及び S から選択される1つまたは複数のヘテロ原子を有する5～14員環複素環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ から選択され、それぞれの o は、1、2、3、及び4から独立して選択され、それぞれの n は、1、2、3、4、及び5から独立して選択され、 Q が5～14員環複素環、また(i) R^4 が、 n は1または2である $-(CH_2)_nQ$ 、(ii) R^4 が、 n は1である $-(CH_2)_nCHQR$ 、または(iii) R^4 が $-CHQR$ 及び $-CQ(R)_2$ であるとき、 Q は、5～14員環ヘテロアリールまたは8～14員環ヘテロシクロアルキルのいずれかである。

【0385】

別の実施形態では、 R^4 は、 C_{3-6} 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-(CH_2)_oC(R^{10})_2(CH_2)_n-oQ$ 、 $-CHQR$ 、及び $-CQ(R)_2$ からなる群から選択され、式中、 Q は、 C_{3-6} 炭素環、 N 、 O 、及び S から選択される1つまたは複数のヘテロ原子を有する5～14員環ヘテロアリール、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N$

(R) S (O)₂ R、-N (R) C (O) N (R)₂、-N (R) C (S) N (R)₂、-C (R) N (R)₂ C (O) O Rから選択され、それぞれのoは、1、2、3、及び4から独立して選択され、それぞれのnは、1、2、3、4、及び5から独立して選択される。

【0386】

別の実施形態では、R⁴は-(CH₂)_nQであり、式中、Qは-N (R) S (O)₂ R⁸であり、nは、1、2、3、4、及び5から選択される。更なる実施形態では、R⁴は-(CH₂)_nQであり、式中、Qは-N (R) S (O)₂ R⁸であり、式中、R⁸は、C₃₋₆炭素環、例えば、C₃₋₆シクロアルキルなどであり、nは、1、2、3、4、及び5から選択される。例えば、R⁴は-(CH₂)₃NHS (O)₂ R⁸であり、R⁸はシクロプロピルである。

10

【0387】

別の実施形態では、R⁴は-(CH₂)_oC (R¹⁰)₂(CH₂)_{n-o}Qであり、式中、Qは-N (R) C (O) Rであり、nは、1、2、3、4、及び5から選択され、oは、1、2、3、及び4から選択される。更なる実施形態では、R⁴は-(CH₂)_oC (R¹⁰)₂(CH₂)_{n-o}Qであり、式中、Qは-N (R) C (O) Rであり、式中、RはC₁₋₃アルキルであり、nは、1、2、3、4及び5から選択され、oは、1、2、3、及び4から選択される。別の実施形態では、R⁴は-(CH₂)_oC (R¹⁰)₂(CH₂)_{n-o}Qであり、式中、Qは-N (R) C (O) Rであり、式中、RはC₁₋₃アルキルであり、nは3であり、oは1である。一部の実施形態では、R¹⁰は、H、OH、C₁₋₃アルキル、またはC₂₋₃アルケニルである。例えば、R⁴は3-アセトアミド-2, 2-ジメチルプロピルである。

20

【0388】

一部の実施形態では、1つのR¹⁰はHであり、1つのR¹⁰はC₁₋₃アルキルまたはC₂₋₃アルケニルである。別の実施形態では、それぞれのR¹⁰はC₁₋₃アルキルまたはC₂₋₃アルケニルである。別の実施形態では、それぞれのR¹⁰はC₁₋₃アルキル（例えば、メチル、エチル、またはプロピル）である。例えば、1つのR¹⁰はメチルであり、1つのR¹⁰はエチルまたはプロピルである。例えば、1つのR¹⁰はエチルであり、1つのR¹⁰はメチルまたはプロピルである。例えば、1つのR¹⁰はプロピルであり、1つのR¹⁰はメチルまたはエチルである。例えば、それぞれのR¹⁰はメチルである。例えば、それぞれのR¹⁰はエチルである。例えば、それぞれのR¹⁰はプロピルである。

30

【0389】

一部の実施形態では、1つのR¹⁰はHであり、1つのR¹⁰はOHである。別の実施形態では、それぞれのR¹⁰はOHである。

【0390】

別の実施形態では、R⁴は、非置換C₁₋₄アルキル、例えば、非置換メチルである。

【0391】

別の実施形態では、R⁴は水素である。

【0392】

特定の実施形態では、本開示は、式(I)を有する化合物を提供し、式中、R⁴は-(CH₂)_nQまたは-(CH₂)_nCHQRであり、式中、Qは-N (R)₂であり、nは、3、4、及び5から選択される。

40

【0393】

特定の実施形態では、本開示は、式(I)を有する化合物を提供し、式中、R⁴は、-(CH₂)_nQ、-(CH₂)_nCHQR、-CHQR、及び-CQ (R)₂からなる群から選択され、式中、Qは-N (R)₂であり、nは、1、2、3、4、及び5から選択される。

【0394】

特定の実施形態では、本開示は、式(I)を有する化合物を提供し、式中、R²及びR³は、C₂₋₁₄アルキル、C₂₋₁₄アルケニル、-R^{*}YR[']、-YR[']、及び $\oplus R^{\oplus}$ からなる群から独立して選択される、または、R²及びR³は、それらが結合している原

50

子と共に複素環または炭素環を形成し、 R^4 は $-(CH_2)_nQ$ または $-(CH_2)_nCHQR$ であり、式中、 Q は $-N(R)_2$ であり、 n は、3、4、及び5から選択される。

【0395】

特定の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、 C_{2-14} アルキル、 C_{2-14} アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び $\Theta R''$ からなる群から独立して選択される、または、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に複素環または炭素環を形成する。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、 C_{2-14} アルキル及び C_{2-14} アルケニルからなる群から独立して選択される。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び $-R^*OR''$ からなる群から独立して選択される。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、複素環または炭素環を形成する。

10

【0396】

一部の実施形態では、 R^1 は、 C_{5-20} アルキル及び C_{5-20} アルケニルからなる群から選択される。一部の実施形態では、 R^1 は、ヒドロキシルで置換された C_{5-20} アルキルである。

【0397】

その他の実施形態では、 R^1 は、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及び $-R''M'R'$ からなる群から選択される。

【0398】

特定の実施形態では、 R^1 は、 $-R^*YR''$ 及び $-YR''$ から選択される。一部の実施形態では、 Y はシクロプロピル基である。一部の実施形態では、 R^* は C_8 アルキルまたは C_8 アルケニルである。特定の実施形態では、 R'' は C_{1-12} アルキルである。例えば、 R'' は C_9 アルキルであってもよい。例えば、 R'' は C_{1-8} アルキル（例えば、 C_4 、 C_5 、 C_6 、 C_7 、または C_8 アルキル）であってもよい。

20

【0399】

一部の実施形態では、 R は $(CH_2)_qOR^*$ であり、 q は、1、2、及び3から選択され、 R^* は、アミノ、 C_1-C_6 アルキルアミノ、及び C_1-C_6 ジアルキルアミノからなる群から選択される1つまたは複数の置換基で置換された C_{1-12} アルキルである。例えば、 R は $(CH_2)_qOR^*$ であり、 q は、1、2、及び3から選択され、 R^* は、 C_1-C_6 ジアルキルアミノで置換された C_{1-12} アルキルである。例えば、 R は $(CH_2)_qOR^*$ であり、 q は、1、2、及び3から選択され、 R^* は、 C_1-C_6 ジアルキルアミノで置換された C_{1-3} アルキルである。例えば、 R は $(CH_2)_qOR^*$ であり、 q は、1、2、及び3から選択され、 R^* は、ジメチルアミノで置換された C_{1-3} アルキル（例えば、ジメチルアミノエタニル）である。

30

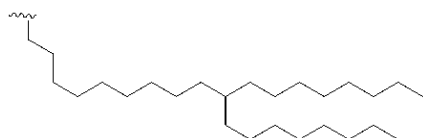
【0400】

一部の実施形態では、 R^1 は C_{5-20} アルキルである。一部の実施形態では、 R^1 は C_6 アルキルである。一部の実施形態では、 R^1 は C_8 アルキルである。その他の実施形態では、 R^1 は C_9 アルキルである。特定の実施形態では、 R^1 は C_{14} アルキルである。その他の実施形態では、 R^1 は C_{18} アルキルである。

【0401】

一部の実施形態では、 R^1 は C_{21-30} アルキルである。一部の実施形態では、 R^1 は C_{26} アルキルである。一部の実施形態では、 R^1 は C_{28} アルキルである。特定の実施形態では、 R^1 は

40



である。

【0402】

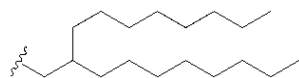
一部の実施形態では、 R^1 は C_{5-20} アルケニルである。特定の実施形態では、 R^1 は

50

C₁₈アルケニルである。一部の実施形態では、R¹はリノレイルである。

【0403】

特定の実施形態では、R¹は分枝鎖（例えば、デカン-2-イル、ウンデカン-3-イル、ドデカン-4-イル、トリデカン-5-イル、テトラデカン-6-イル、2-メチルウンデカン-3-イル、2-メチルデカン-2-イル、3-メチルウンデカン-3-イル、4-メチルドデカン-4-イル、またはヘプタデカ-9-イル）である。特定の実施形態では、R¹は

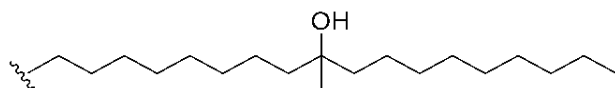


10

である。

【0404】

特定の実施形態では、R¹は非置換C₅-20アルキルまたはC₅-20アルケニルである。特定の実施形態では、R'は置換C₆-20アルキルまたはC₅-20アルケニル（例えば、1-シクロプロピルノニルなどのC₃-6炭素環で置換された、または、OHまたはアルコキシで置換された）である。例えば、R¹は

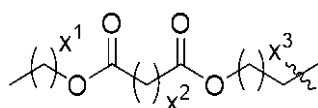


20

である。

【0405】

その他の実施形態では、R¹は-R', M', R'である。特定の実施形態では、M'は-O-C(O)-M', -C(O)-O-である。例えば、R¹は



であり、式中、x¹は、1~13の整数（例えば、3、4、5、及び6から選択される）であり、x²は、1~13の整数（例えば、1、2、及び3から選択される）であり、x³は、2~14の整数（例えば、4、5、及び6から選択される）である。例えば、x¹は、3、4、5、及び6から選択され、x²は、1、2、及び3から選択され、x³は、4、5、及び6から選択される。

30

【0406】

その他の実施形態では、R¹は-(CHR⁵R⁶)_m-M-CR²R³R⁷とは異なる。

【0407】

一部の実施形態では、R'は-R'YR'及び-YR'から選択される。一部の実施形態では、YはC₃-8シクロアルキルである。一部の実施形態では、YはC₆-10アリールである。一部の実施形態では、Yはシクロプロピル基である。一部の実施形態では、Yはシクロヘキシル基である。特定の実施形態では、R*はC₁アルキルである。

40

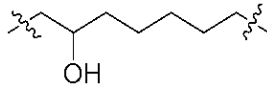
【0408】

一部の実施形態では、R'は、C₃-12アルキル及びC₃-12アルケニルからなる群から選択される。一部の実施形態では、R'はC₈アルキルである。一部の実施形態では、Yに隣接したR'はC₁アルキルである。一部の実施形態では、Yに隣接したR'はC₉アルキル（例えば、C₄、C₅、C₆、C₇、もしくはC₈、またはC₉アルキル）である。

【0409】

一部の実施形態では、R'は置換C₃-12（例えば、例えば、ヒドロキシルで置換されたC₃-12アルキル）である。例えば、R'は

50



である。

【0410】

一部の実施形態では、R' は C₄ アルキル及び C₄ アルケニルから選択される。特定の
実施形態では、R' は C₅ アルキル及び C₅ アルケニルから選択される。一部の実施形態では、
R' は C₆ アルキル及び C₆ アルケニルから選択される。一部の実施形態では、R' は C₇
アルキル及び C₇ アルケニルから選択される。一部の実施形態では、R' は C₉ アルキル及
び C₉ アルケニルから選択される。

10

【0411】

一部の実施形態では、R' は、C₄ アルキル、C₄ アルケニル、C₅ アルキル、C₅ アル
ケニル、C₆ アルキル、C₆ アルケニル、C₇ アルキル、C₇ アルケニル、C₉ アルキル、
C₉ アルケニル、C₁₁ アルキル、C₁₁ アルケニル、C₁₇ アルキル、C₁₇ アルケニル
、C₁₈ アルキル、及び C₁₈ アルケニルから選択され、そのそれぞれは直鎖または分枝鎖
のいずれかである。

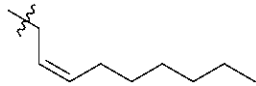
【0412】

一部の実施形態では、R' は直鎖である。一部の実施形態では、R' は分枝鎖である。

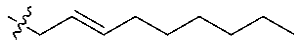
【0413】

一部の実施形態では、R' は

20

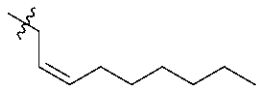


または

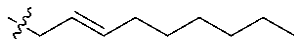


である。一部の実施形態では、R' は

30

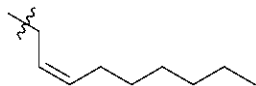


または

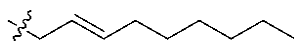


であり、M' は -OC(O)- である。その他の実施形態では、R' は

40



または



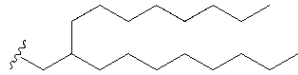
であり、M' は -C(O)O- である。

【0414】

その他の実施形態では、R' は C₁₁ アルキル及び C₁₁ アルケニルから選択される。そ

50

他の実施形態では、 R' は、 C_{12} アルキル、 C_{12} アルケニル、 C_{13} アルキル、 C_{13} アルケニル、 C_{14} アルキル、 C_{14} アルケニル、 C_{15} アルキル、 C_{15} アルケニル、 C_{16} アルキル、 C_{16} アルケニル、 C_{17} アルキル、 C_{17} アルケニル、 C_{18} アルキル、及び C_{18} アルケニルから選択される。特定の実施形態では、 R' は直鎖 C_{4-18} アルキルまたは C_{4-18} アルケニルである。特定の実施形態では、 R' は分枝鎖（例えば、デカン-2-イル、ウンデカン-3-イル、ドデカン-4-イル、トリデカン-5-イル、テトラデカン-6-イル、2-メチルウンデカン-3-イル、2-メチルデカン-2-イル、3-メチルウンデカン-3-イル、4-メチルドデカン-4-イル、またはヘプタデカン-9-イル）である。特定の実施形態では、 R' は

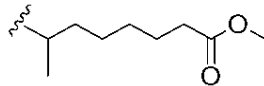


10

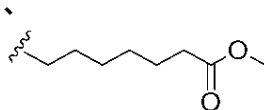
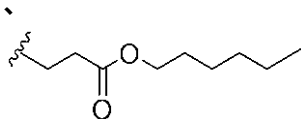
である。

【0415】

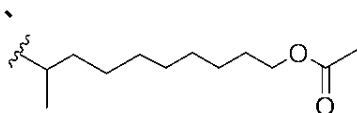
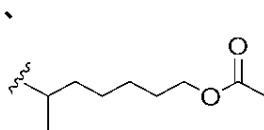
特定の実施形態では、 R' は非置換 C_{1-18} アルキルである。特定の実施形態では、 R' は置換 C_{1-18} アルキル（例えば、例えば、メトキシなどのアルコキシもしくは1-シクロプロピルノニルなどの C_{3-6} 炭素環、または $C(O)OCH_3$ もしくは $OC(O)CH_3$ などの $C(O)O$ -アルキルもしくは $OC(O)$ -アルキルで置換された、 C_{1-15} アルキル）である。例えば、 R' は、



20

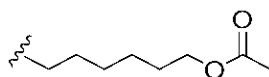


30



40

、または

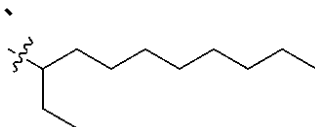
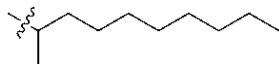


である。

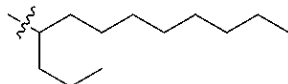
【0416】

50

特定の実施形態では、 R' は分枝鎖 C_{1-8} アルキルである。例えば、 R' は、



、または



である。

【0417】

一部の実施形態では、 R'' は、 C_{1-15} アルキル及び C_{3-15} アルケニルからなる群から選択される。一部の実施形態では、 R'' は、 C_3 アルキル、 C_4 アルキル、 C_5 アルキル、 C_6 アルキル、 C_7 アルキル、または C_8 アルキルである。一部の実施形態では、 R'' は、 C_9 アルキル、 C_{10} アルキル、 C_{11} アルキル、 C_{12} アルキル、 C_{13} アルキル、 C_{14} アルキル、または C_{15} アルキルである。

【0418】

一部の実施形態では、 M' は $-C(O)O-$ である。一部の実施形態では、 M' は $-OC(O)-$ である。一部の実施形態では、 M' は $-OC(O)-M''-C(O)O-$ である。

【0419】

一部の実施形態では、 M' は、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、または $-OC(O)-M''-C(O)O-$ である。一部の実施形態では、式中、 M' は $-OC(O)-M''-C(O)O-$ であり、 M'' は C_{1-4} アルキルまたは C_{2-4} アルケニルである。

【0420】

その他の実施形態では、 M' はアリール基またはヘテロアリール基である。例えば、 M' は、フェニル、オキサゾール、及びチアゾールからなる群から選択されてもよい。

【0421】

一部の実施形態では、 M は $-C(O)O-$ である。一部の実施形態では、 M は $-OC(O)-$ である。一部の実施形態では、 M は $-C(O)N(R')$ である。一部の実施形態では、 M は $-P(O)(OR')O-$ である。一部の実施形態では、 M は $-OC(O)-M''-C(O)O-$ である。

【0422】

一部の実施形態では、 M は $-C(O)$ である。一部の実施形態では、 M は $-OC(O)-$ であり、 M' は $-C(O)O-$ である。一部の実施形態では、 M は $-C(O)O-$ であり、 M' は $-OC(O)-$ である。一部の実施形態では、 M 及び M' はそれぞれ $-OC(O)-$ である。一部の実施形態では、 M 及び M' はそれぞれ $-C(O)O-$ である。

【0423】

その他の実施形態では、 M はアリール基またはヘテロアリール基である。例えば、 M は、フェニル、オキサゾール、及びチアゾールからなる群から選択されてもよい。

【0424】

一部の実施形態では、 M は M' と同一である。その他の実施形態では、 M は M' とは異なる。

【0425】

一部の実施形態では、 M'' は結合である。一部の実施形態では、 M'' は C_3 アルキルまたは C_{2-13} アルケニルである。一部の実施形態では、 M'' は C_6 アルキルまた

10

20

30

40

50

は $C_2 - 6$ アルケニルである。特定の実施形態では、 M'' は直鎖アルキルまたはアルケニルである。特定の実施形態では、 M'' は、分枝鎖、例えば、 $-CH(C_3H_7)CH_2-$ である。

【0426】

一部の実施形態では、それぞれの R^5 は H である。一部の実施形態では、それぞれの R^6 は H である。特定のこのような実施形態では、それぞれの R^5 及びそれぞれの R^6 は H である。

【0427】

一部の実施形態では、 R^7 は H である。その他の実施形態では、 R^7 は $C_1 - 3$ アルキル（例えば、メチル、エチル、プロピル、または *i*-プロピル）である。

【0428】

一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は独立して、 $C_5 - 14$ アルキルまたは $C_5 - 14$ アルケニルである。

【0429】

一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は同一である。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は C_8 アルキルである。特定の実施形態では、 R^2 及び R^3 は C_2 アルキルである。その他の実施形態では、 R^2 及び R^3 は C_3 アルキルである。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は C_4 アルキルである。特定の実施形態では、 R^2 及び R^3 は C_5 アルキルである。その他の実施形態では、 R^2 及び R^3 は C_6 アルキルである。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は C_7 アルキルである。

【0430】

その他の実施形態では、 R^2 及び R^3 は異なる。特定の実施形態では、 R^2 は C_8 アルキルである。一部の実施形態では、 R^3 は $C_1 - 7$ （例えば、 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 、 C_6 、または C_7 アルキル）または C_9 アルキルである。

【0431】

一部の実施形態では、 R^3 は C_1 アルキルである。一部の実施形態では、 R^3 は C_2 アルキルである。一部の実施形態では、 R^3 は C_3 アルキルである。一部の実施形態では、 R^3 は C_4 アルキルである。一部の実施形態では、 R^3 は C_5 アルキルである。一部の実施形態では、 R^3 は C_6 アルキルである。一部の実施形態では、 R^3 は C_7 アルキルである。一部の実施形態では、 R^3 は C_9 アルキルである。

【0432】

一部の実施形態では、 R^7 及び R^3 は H である。

【0433】

特定の実施形態では、 R^2 は H である。

【0434】

一部の実施形態では、 m は、5、6、7、8、または 9 である。一部の実施形態では、 m は、5、7、または 9 である。例えば、一部の実施形態では、 m は 5 である。例えば、一部の実施形態では、 m は 7 である。例えば、一部の実施形態では、 m は 9 である。

【0435】

一部の実施形態では、 R^4 は $-(CH_2)_nQ$ 及び $-(CH_2)_nCHQR$ から選択される。

【0436】

一部の実施形態では、 Q は、 $-OR$ 、 $-OH$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(H)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(H)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(O)N(H)(R)$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(S)N(H)(R)$ 、 $-C(R)N(R)_2$ 、 $C(O)OR$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、炭素環、及び複素環からなる群から選択される。

【0437】

10

20

30

40

50

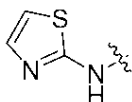
特定の実施形態では、Qは、 $-N(R)R^8$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-N(R)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、または $-N(R)C(O)OR$ である。

【0438】

特定の実施形態では、Qは、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR^9)N(R)_2$ 、または $-N(OR)C(=CHR^9)N(R)_2$ である。

【0439】

特定の実施形態では、Qは、チオ尿素またはその等価体、例えば、



または $-NHC(=NR^9)N(R)_2$ である。

【0440】

特定の実施形態では、Qは $-C(=NR^9)N(R)_2$ である。例えば、Qが $-C(=NR^9)N(R)_2$ である場合、nは4または5である。例えば、 R^9 は $-S(O)_2N(R)_2$ である。

【0441】

特定の実施形態では、Qは、 $-C(=NR^9)R$ または $-C(O)N(R)OR$ 、例えば、 $-CH(=N-OCH_3)$ 、 $-C(O)NH-OH$ 、 $-C(O)NH-OCH_3$ 、 $-C(O)N(CH_3)-OH$ 、または $-C(O)N(CH_3)-OCH_3$ である。

【0442】

特定の実施形態では、Qは $-OH$ である。

【0443】

特定の実施形態では、Qは、置換または非置換の5～10員環ヘテロアリアルであり、例えば、Qは、トリアゾール、イミダゾール、ピリミジン、プリン、2-アミノ-1,9-ジヒドロ-6H-プリン-6-オン-9-イル（またはグアニン-9-イル）、アデニン-9-イル、シトシン-1-イル、またはウラシル-1-イルであり、そのそれぞれは、アルキル、OH、アルコキシ、-アルキル-OH、-アルキル-O-アルキルから選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されており、置換基は更に置換されていてもよい。特定の実施形態では、Qは、例えば、オキソ(=O)、OH、アミノ、モノまたはジアルキルアミノ、及び C_{1-3} アルキルから選択される1つまたは複数の置換基で置換された置換5～14員環ヘテロシクロアルキルである。例えば、Qは、4-メチルピペラジニル、4-(4-メトキシベンジル)ピペラジニル、イソインドリン-2-イル-1,3-ジオン、ピロリジン-1-イル-2,5-ジオン、またはイミダゾリジン-3-イル-2,4-ジオンである。

【0444】

特定の実施形態では、Qは $-NHR^8$ であり、式中、 R^8 は、オキソ(=O)、アミノ(NH_2)、モノまたはジアルキルアミノ、 C_{1-3} アルキル、及びハロから選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換された C_{3-6} シクロアルキルである。例えば、 R^8 は、シクロブテニル、例えば、3-(ジメチルアミノ)-シクロブタ-3-エン-4-イル-1,2-ジオンである。更なる実施形態では、 R^8 は、オキソ(=O)、チオ(=S)、アミノ(NH_2)、モノまたはジアルキルアミノ、 C_{1-3} アルキル、ヘテロシクロアルキル、及びハロから選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換された C_{3-6} シクロアルキルであり、モノまたはジアルキルアミノ、 C_{1-3} アルキル、及びヘテロシクロアルキルは更に置換されている。例えば、 R^8 は、オキソ、アミノ、及びアルキルアミノのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルであり、アルキルアミノは、例えば、 C_{1-3} アルコキシ、アミノ、モノまたはジアルキルアミノ、及びハロのうちの

10

20

30

40

50

の1つまたは複数で更に置換されている。例えば、 R^8 は3-((ジメチルアミノ)エチル)アミノ)シクロブター-3-エニル-1, 2-ジオンである。例えば、 R^8 は、オキソ及びアルキルアミノのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルである。例えば、 R^8 は3-(エチルアミノ)シクロブター-3-エン-1, 2-ジオンである。例えば、 R^8 は、オキソ、チオ、及びアルキルアミノのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルである。例えば、 R^8 は3-(エチルアミノ)-4-チオキソシクロブター-2-エン-1-オンまたは2-(エチルアミノ)-4-チオキソシクロブター-2-エン-1-オンである。例えば、 R^8 は、チオ及びアルキルアミノのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルである。例えば、 R^8 は3-(エチルアミノ)シクロブター-3-エン-1, 2-ジチオンである。例えば、 R^8 は、オキソ及びジアルキルアミノのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルである。例えば、 R^8 は3-(ジエチルアミノ)シクロブター-3-エン-1, 2-ジオンである。例えば、 R^8 は、オキソ、チオ、及びジアルキルアミノのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルである。例えば、 R^8 は2-(ジエチルアミノ)-4-チオキソシクロブター-2-エン-1-オンまたは3-(ジエチルアミノ)-4-チオキソシクロブター-2-エン-1-オンである。例えば、 R^8 は、チオ及びジアルキルアミノのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルである。例えば、 R^8 は3-(ジエチルアミノ)シクロブター-3-エン-1, 2-ジチオンである。例えば、 R^8 は、オキソ及びアルキルアミノまたはジアルキルアミノのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルであり、アルキルアミノまたはジアルキルアミノは、例えば、1つまたは複数のアルコキシで更に置換されている。例えば、 R^8 は3-(ビス(2-メトキシエチル)アミノ)シクロブター-3-エン-1, 2-ジオンである。例えば、 R^8 は、オキソ及びヘテロシクロアルキルのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルである。例えば、 R^8 は、オキソ及び、ピペリジニル、ピペラジニル、またはモルホリニルのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルである。例えば、 R^8 は、オキソ及びヘテロシクロアルキルのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルであり、ヘテロシクロアルキルは、例えば、1つまたは複数の C_{1-3} アルキルで更に置換されている。例えば、 R^8 は、オキソ及びヘテロシクロアルキルのうちの1つまたは複数で置換されたシクロブテニルであり、ヘテロシクロアルキル(例えば、ピペリジニル、ピペラジニル、またはモルホリニル)はメチルで更に置換されている。

【0445】

特定の実施形態では、 Q は $-NHR^8$ であり、式中、 R^8 は、アミノ(NH_2)、モノまたはジアルキルアミノ、 C_{1-3} アルキル、及びハロから選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されたヘテロアリールである。例えば、 R^8 はチアゾールまたはイミダゾールである。

【0446】

特定の実施形態では、 Q は $-NHC(=NR^9)N(R)_2$ であり、式中、 R^9 は、 CN 、 C_{1-6} アルキル、 NO_2 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、または H である。例えば、 Q は、 $-NHC(=NR^9)N(CH_3)_2$ 、 $-NHC(=NR^9)NHCH_3$ 、 $-NHC(=NR^9)NH_2$ である。一部の実施形態では、 Q は $-NHC(=NR^9)N(R)_2$ であり、式中、 R^9 は CN であり、 R は、モノまたはジアルキルアミノで置換された C_{1-3} アルキルであり、例えば、 R は((ジメチルアミノ)エチル)アミノである。一部の実施形態では、 Q は $-NHC(=NR^9)N(R)_2$ であり、式中、 R^9 は、 C_{1-6} アルキル、 NO_2 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、または H であり、 R は、モノまたはジアルキルアミノで置換された C_{1-3} アルキルであり、例えば、 R は((ジメチルアミノ)エチル)アミノである。

【0447】

特定の実施形態では、 Q は $-NHC(=CHR^9)N(R)_2$ であり、式中、 R^9 は、 NO_2 、 CN 、 C_{1-6} アルキル、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、または H である。例えば、 Q は、 $-NHC(=CHR^9)N(CH_3)_2$ 、 $-NHC(=CHR^9)NHCH_3$ 、または $-NHC(=CHR^9)NH_2$ である。

【0448】

特定の実施形態では、Qは、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{C}(\text{O})\text{OR}$ 、 $-\text{N}(\text{OR})\text{C}(\text{O})\text{OR}$ 、例えば、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NHCH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{OCH}_3)\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{OCH}_3)\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{OH})\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 、または $-\text{NHC}(\text{O})\text{OCH}_3$ などである。

【0449】

特定の実施形態では、Qは $-\text{N}(\text{R})\text{C}(\text{O})\text{R}$ であり、式中、Rは、 C_{1-3} アルコシルまたは $\text{S}(\text{O})_z\text{C}_{1-3}$ アルキルで任意選択的に置換されたアルキルであり、式中、zは、0、1、または2である。

【0450】

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

【0451】

一部の実施形態では、nは1である。その他の実施形態では、nは2である。更なる実施形態では、nは3である。特定のその他の実施形態では、nは4である。例えば、 R^4 は $-(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ であってもよい。例えば、 R^4 は $-(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ であってもよい。例えば、 R^4 は $-(\text{CH}_2)_4\text{OH}$ であってもよい。例えば、 R^4 はベンジルであってもよい。例えば、 R^4 は4-メトキシベンジルであってもよい。

【0452】

一部の実施形態では、 R^4 は C_{3-6} 炭素環である。一部の実施形態では、 R^4 は C_{3-6} シクロアルキルである。例えば、 R^4 は、例えば、OH、ハロ、 C_{1-6} アルキルなどで任意選択的に置換されたシクロヘキシルであってもよい。例えば、 R^4 は2-ヒドロキシシクロヘキシルであってもよい。

【0453】

一部の実施形態では、RはHである。

【0454】

一部の実施形態では、Rは、モノまたはジアルキルアミノで置換された C_{1-3} アルキルであり、例えば、Rは（（ジメチルアミノ）エチル）アミノである。

【0455】

一部の実施形態では、Rは、 C_{1-3} アルコシル、アミノ、及び C_{1-3} ジアルキルアミノからなる群から選択される1つまたは複数の置換基で置換された C_{1-6} アルキルである。

【0456】

一部の実施形態では、Rは非置換 C_{1-3} アルキルまたは非置換 C_{2-3} アルケニルである。例えば、 R^4 は、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$ 、または $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_3$ であってもよい。

【0457】

一部の実施形態では、Rは、置換 C_{1-3} アルキル、例えば、 CH_2OH である。例えば、 R^4 は、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{OBn}$ 、 $-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCH}_2\text{OCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 CH_2SCH_3 、 $\text{CH}_2\text{S}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 、または $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$ であってもよい。

【0458】

一部の実施形態では、 R^4 は、以下の基、

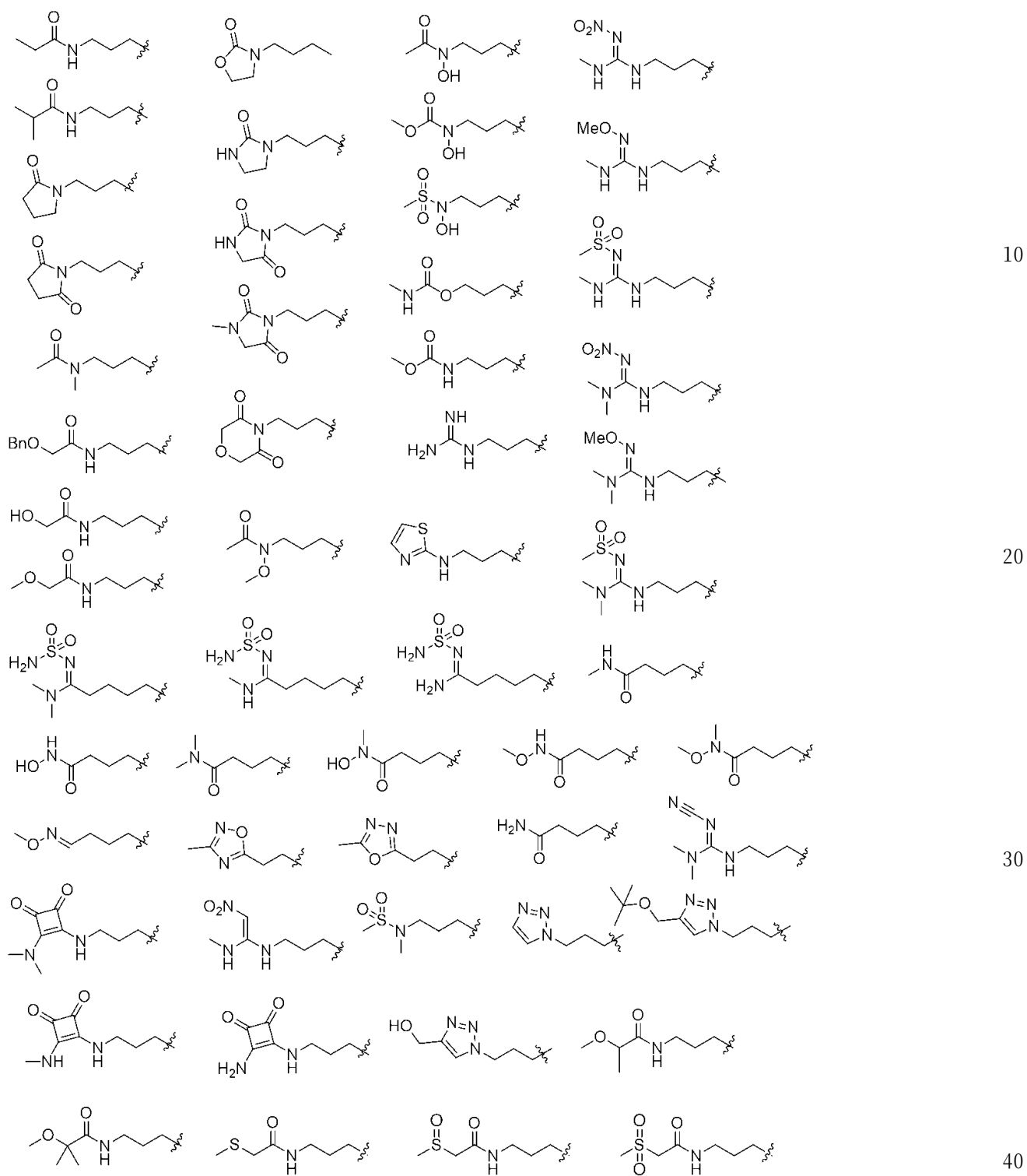
10

20

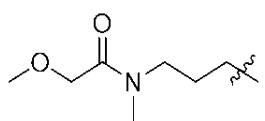
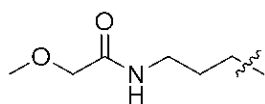
30

40

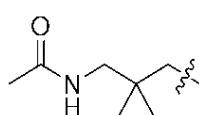
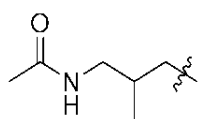
50



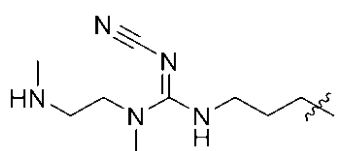
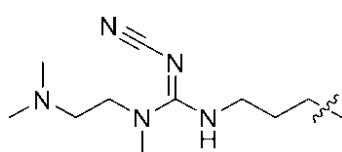




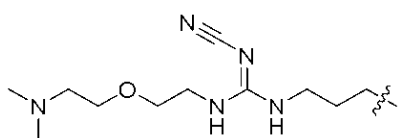
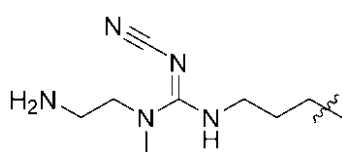
10



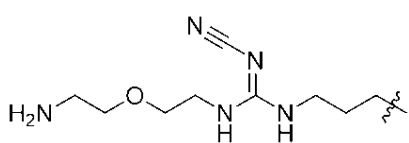
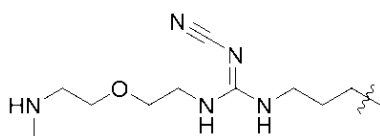
20



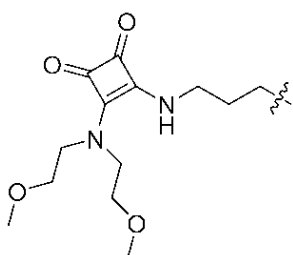
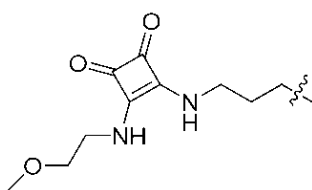
30



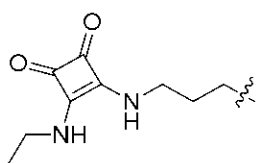
40



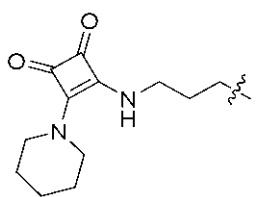
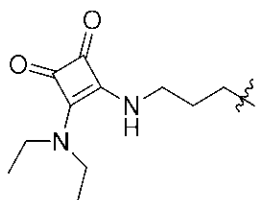
50



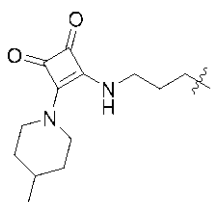
10



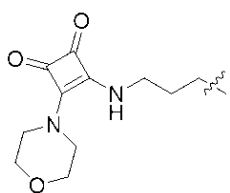
20



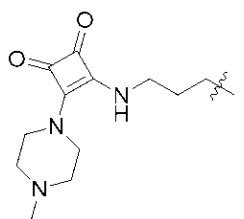
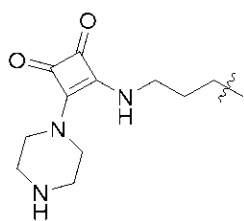
30



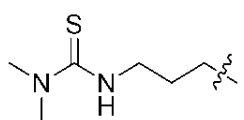
40



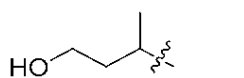
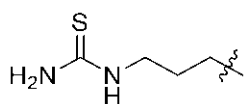
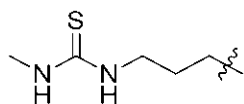
50



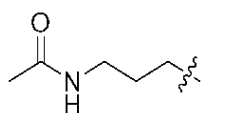
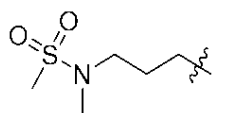
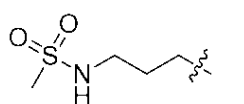
10



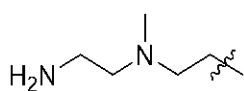
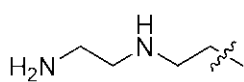
20



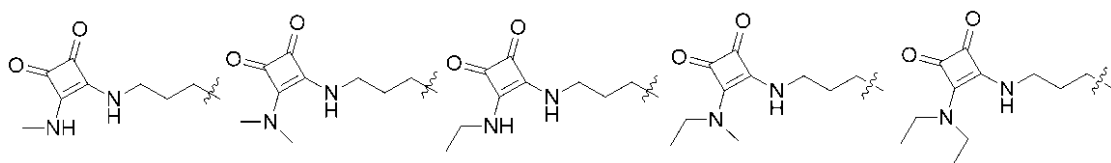
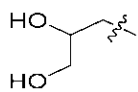
30



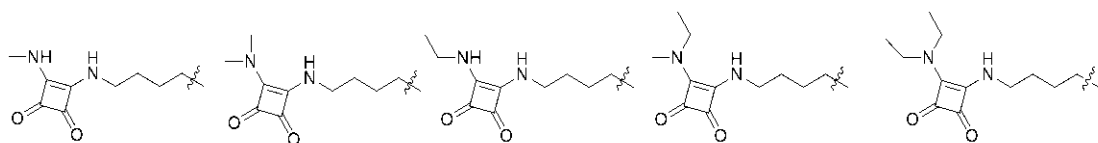
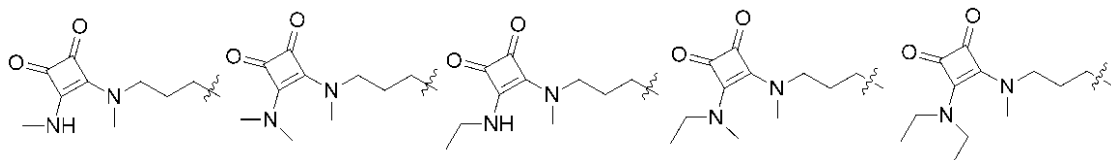
40



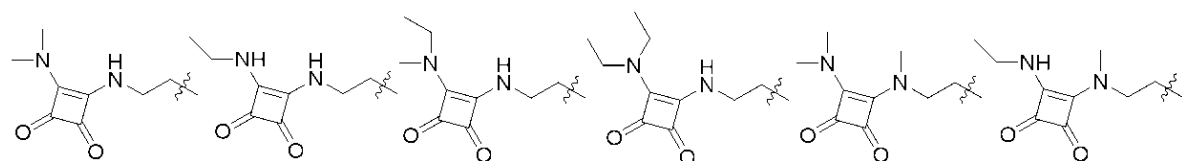
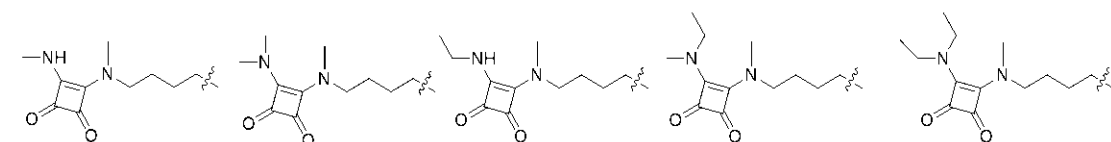
50



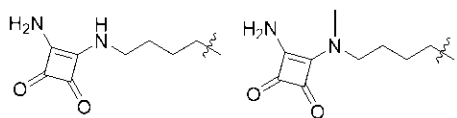
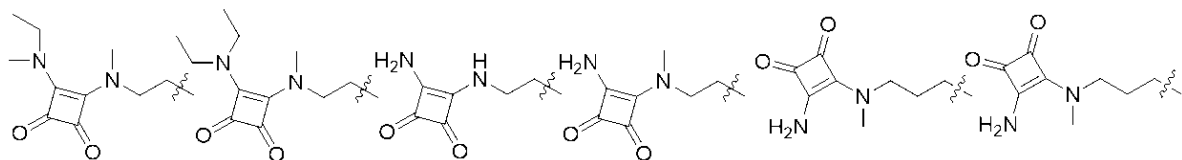
10



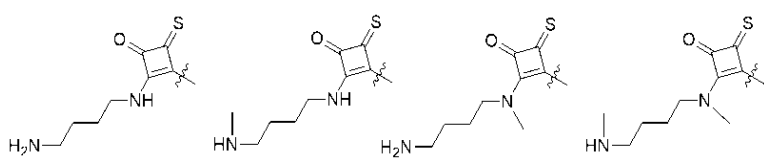
20



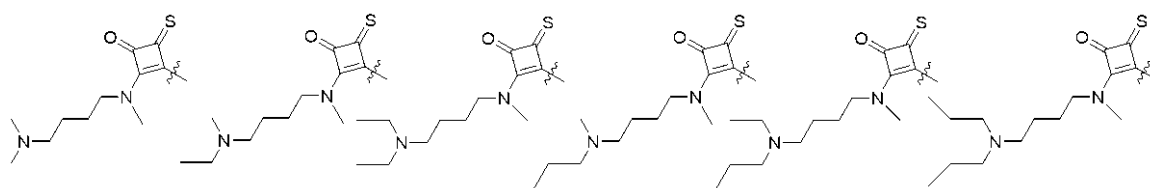
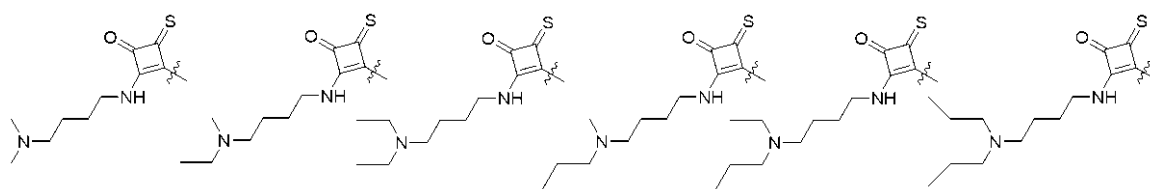
30



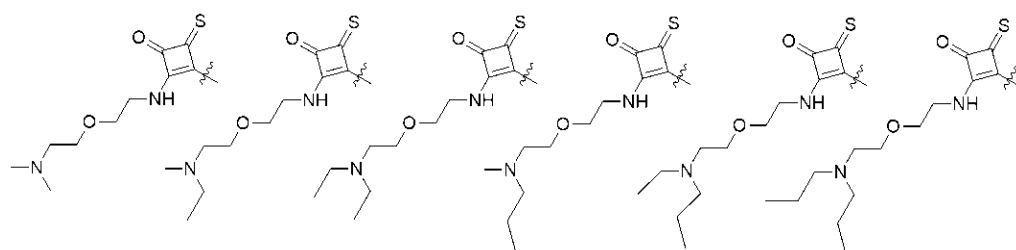
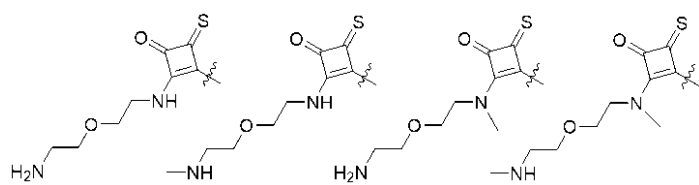
40



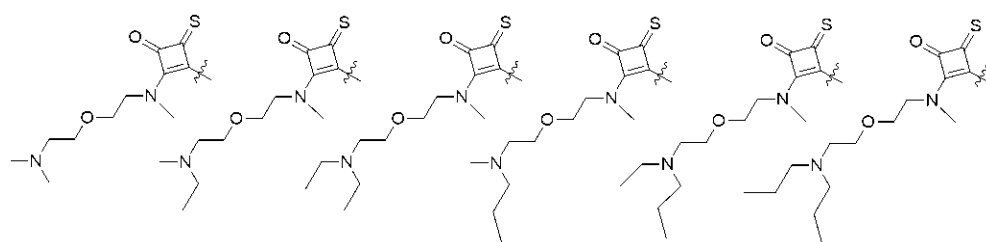
50



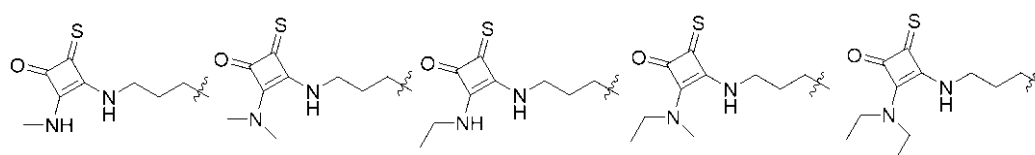
10



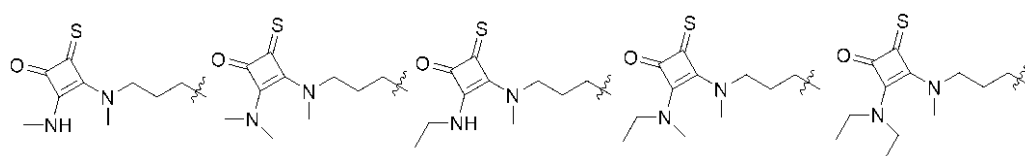
20



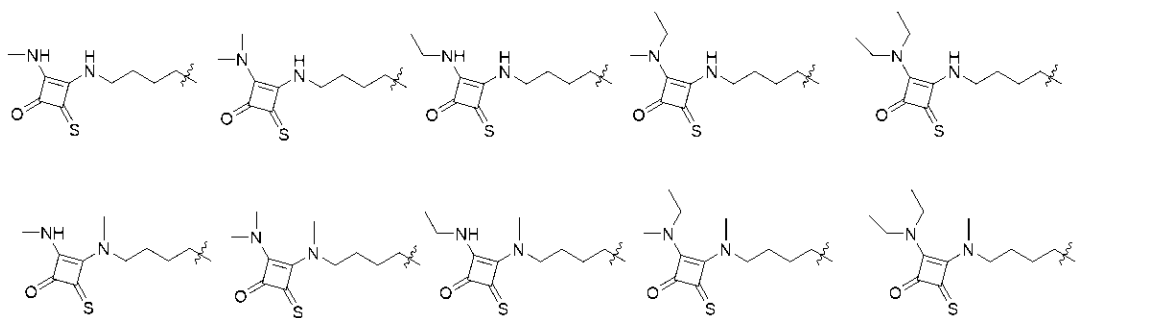
30



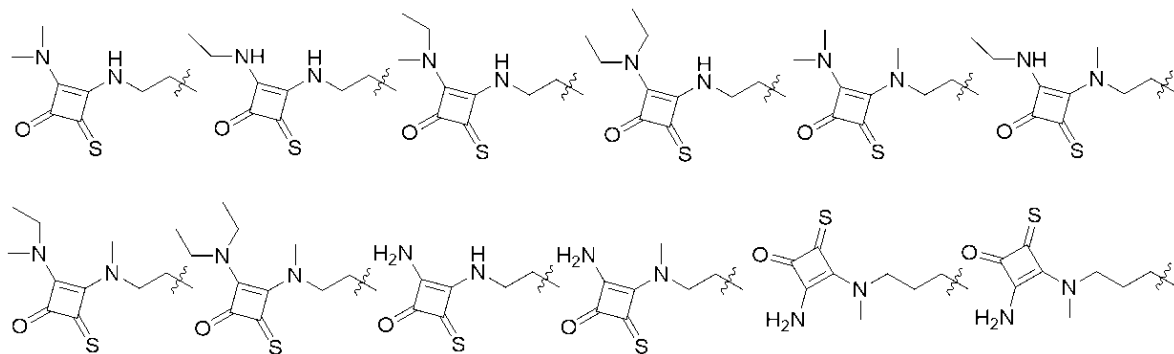
40



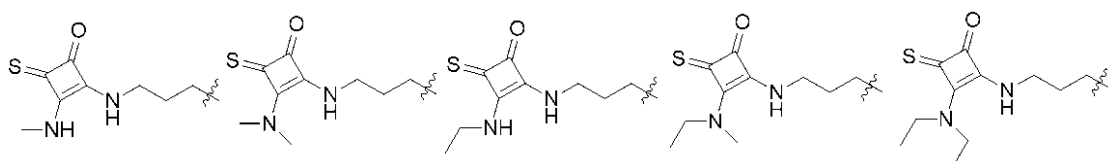
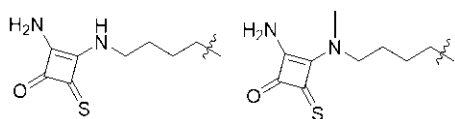
50



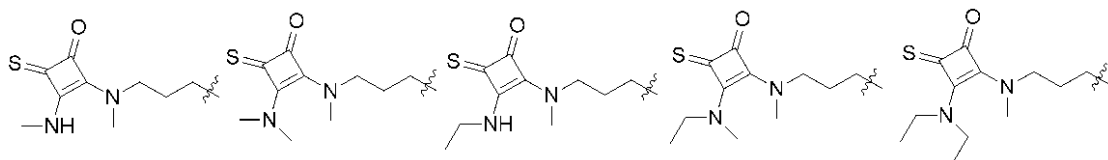
10



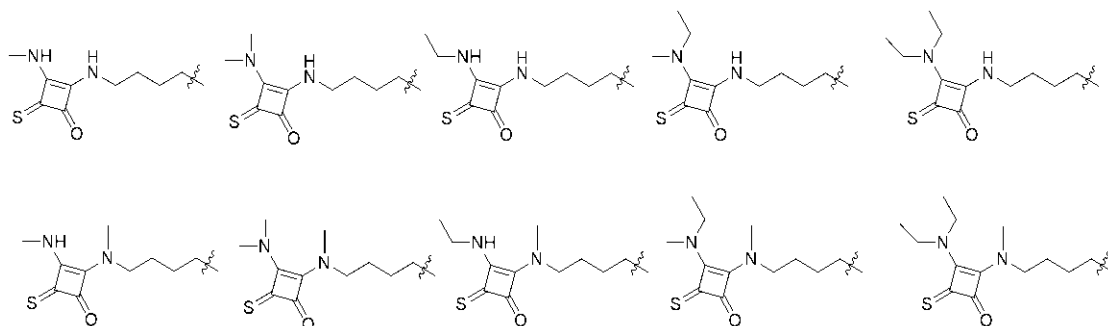
20



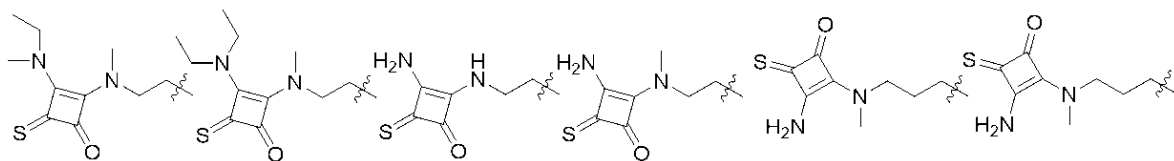
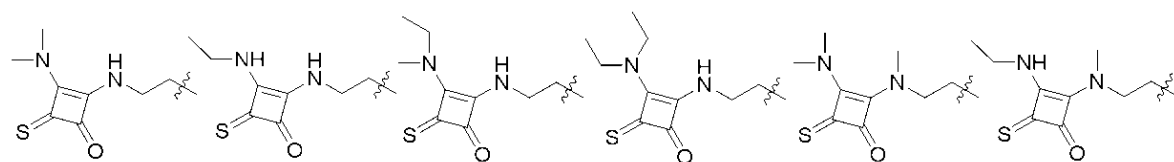
30



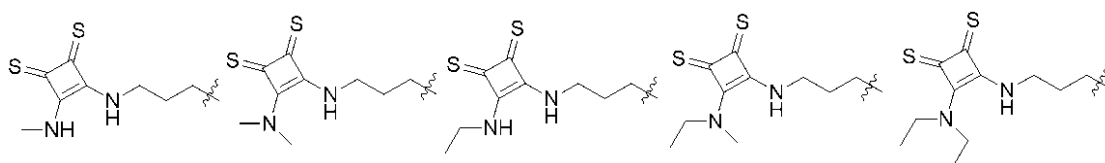
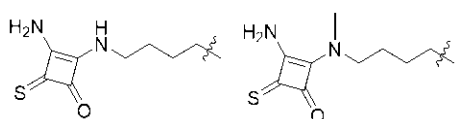
40



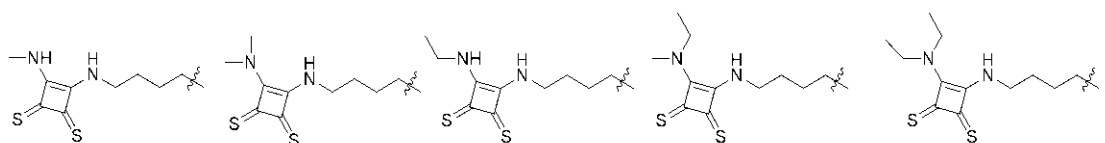
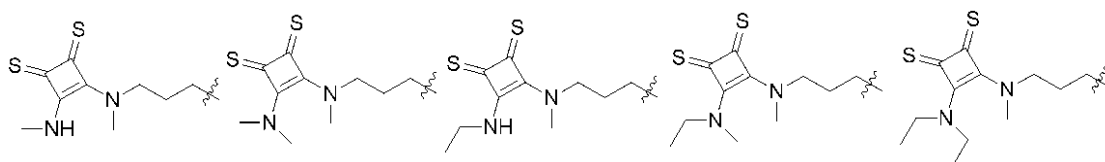
50



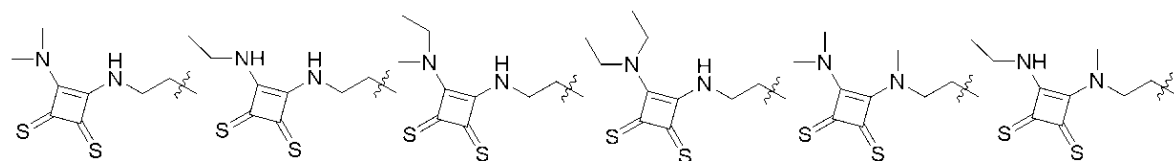
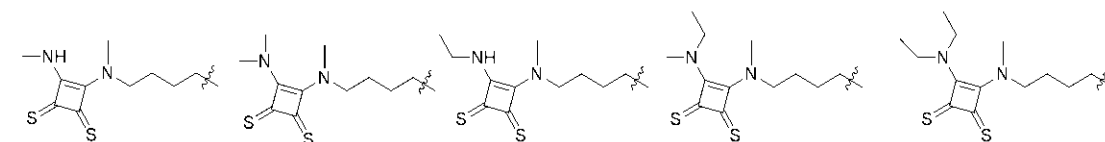
10



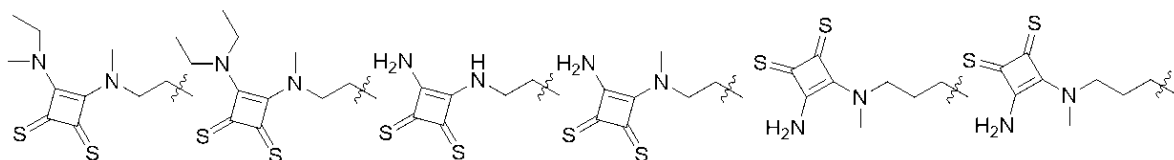
20



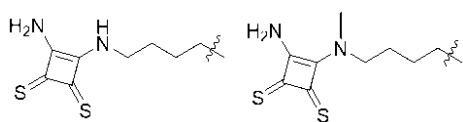
30



40



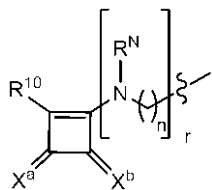
50



のいずれかから選択される。

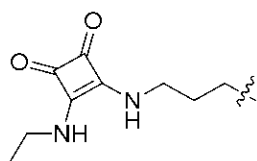
【 0 4 5 9 】

一部の実施形態では、

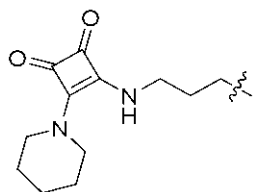
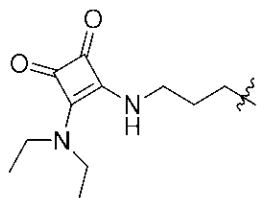


10

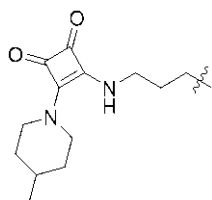
は、以下の基、



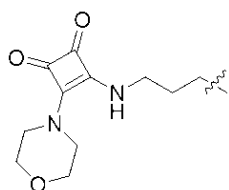
20



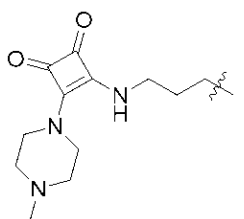
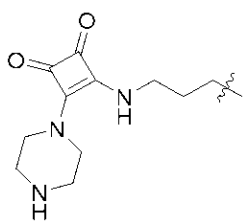
30



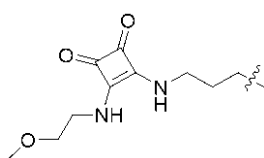
40



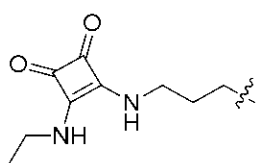
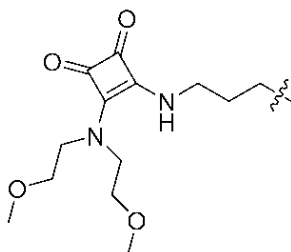
50



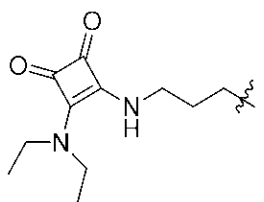
10



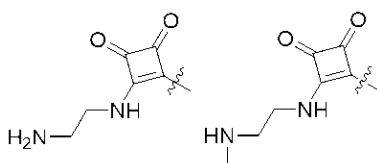
20



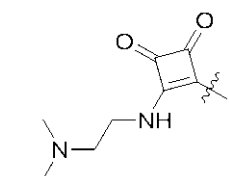
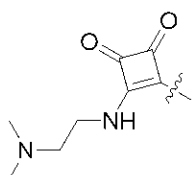
30



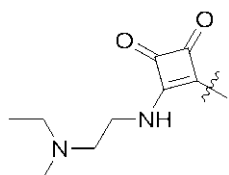
40



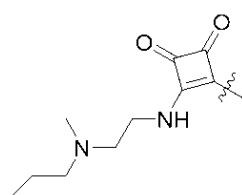
50



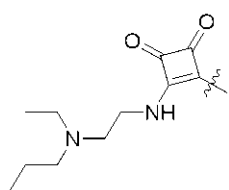
10



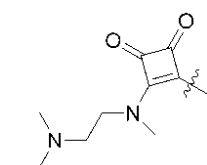
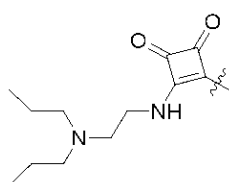
20



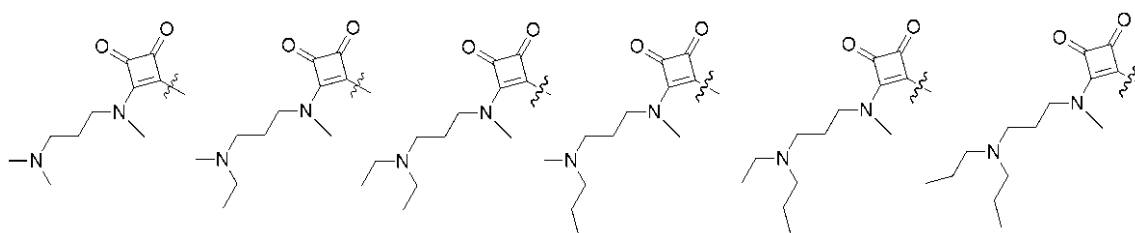
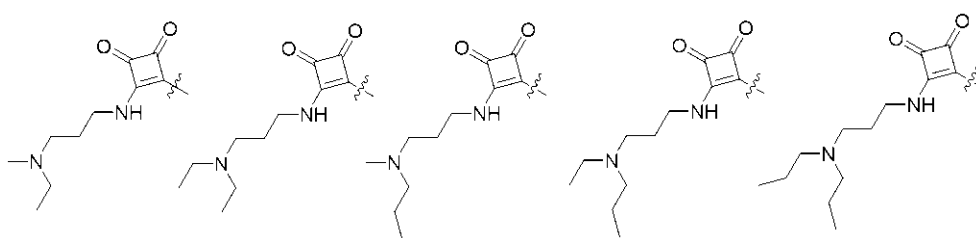
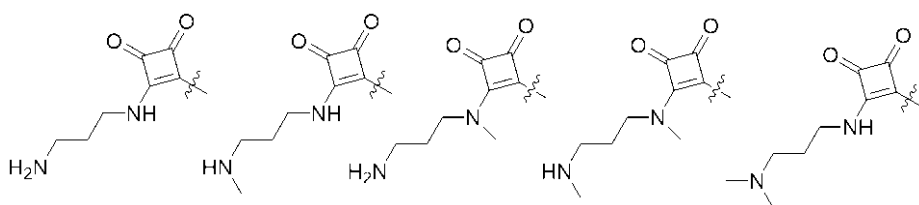
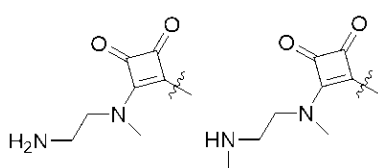
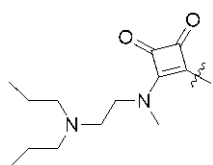
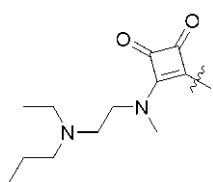
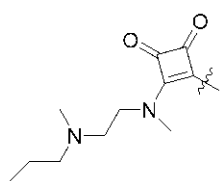
30



40



50



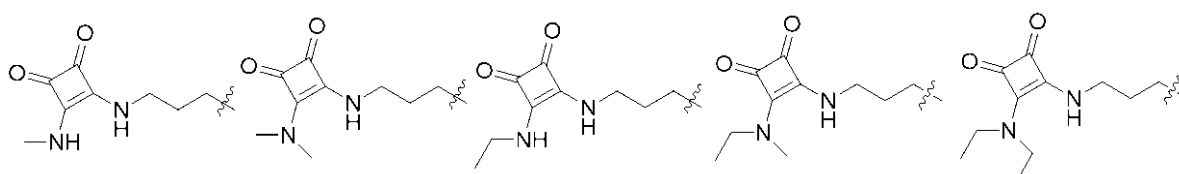
10

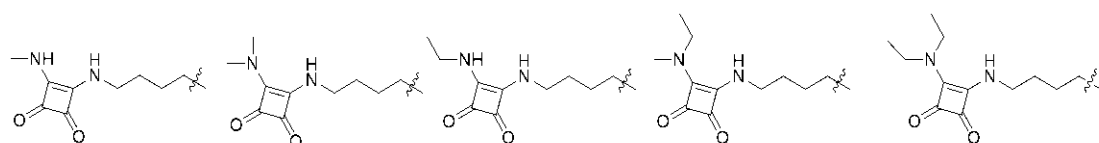
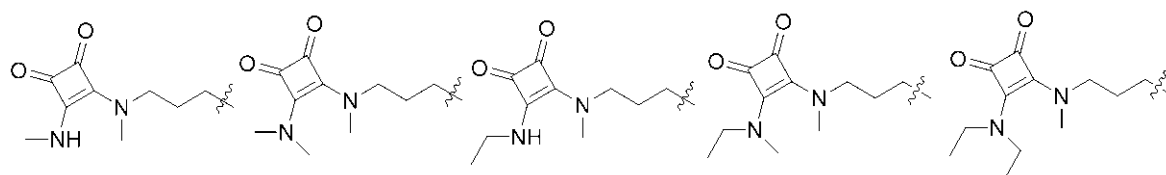
20

30

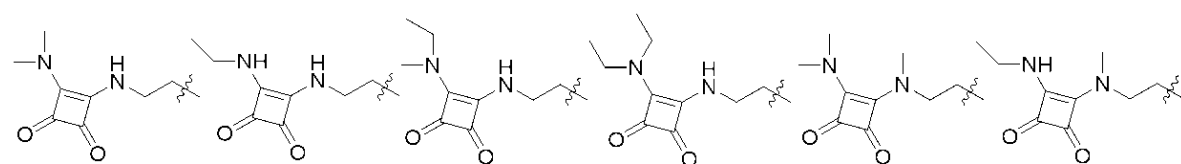
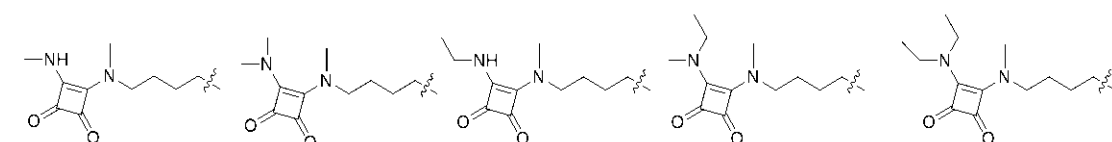
40

50

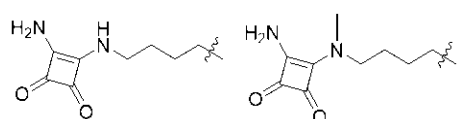
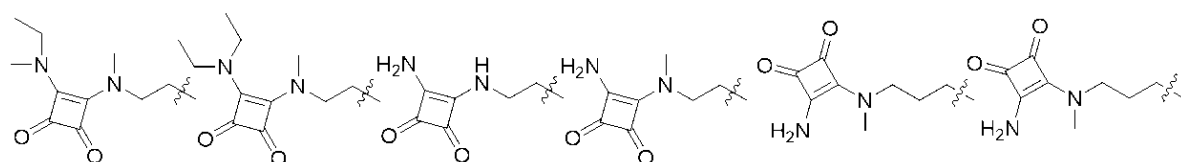




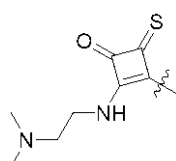
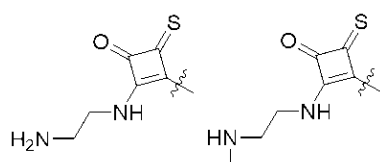
10



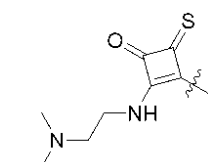
20



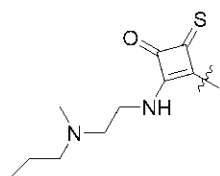
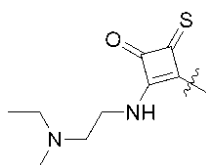
30



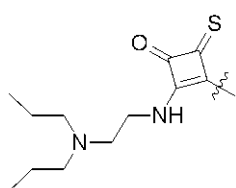
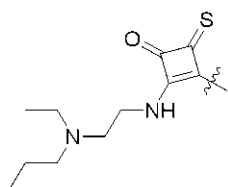
40



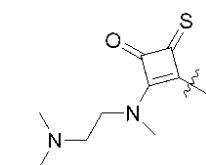
50



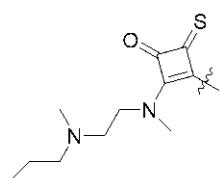
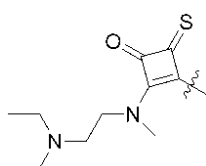
10



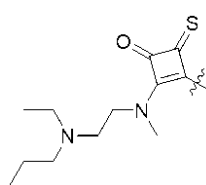
20



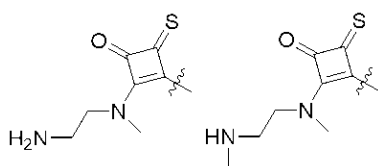
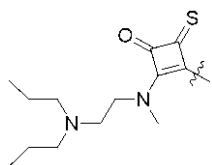
30



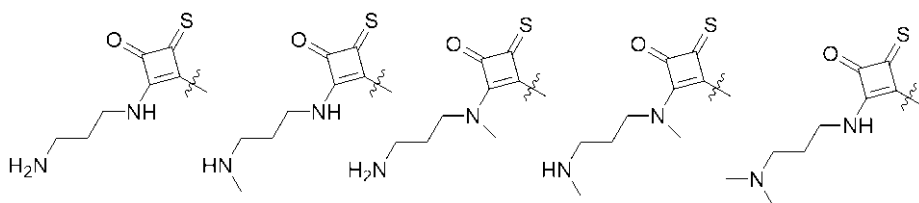
40



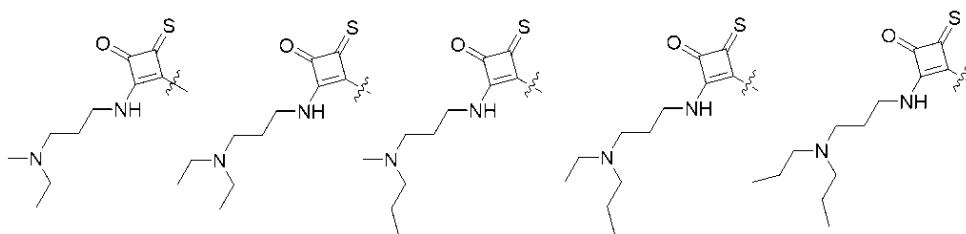
50



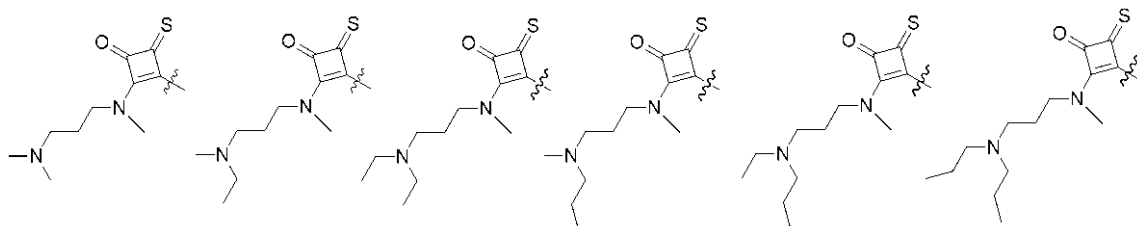
10



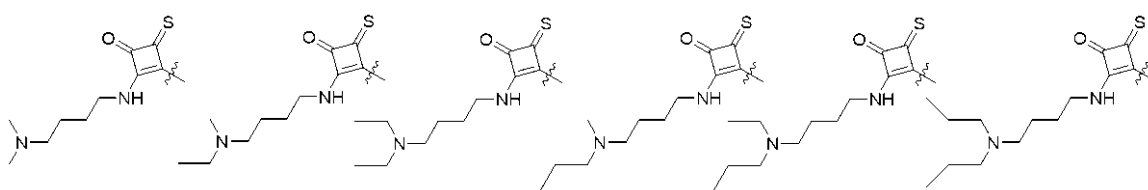
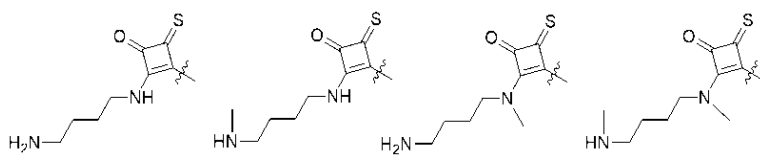
20



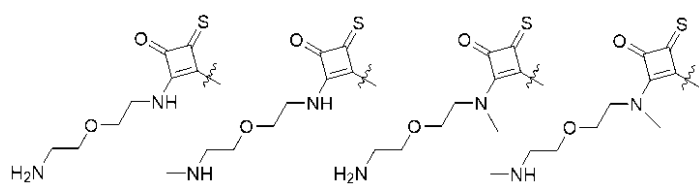
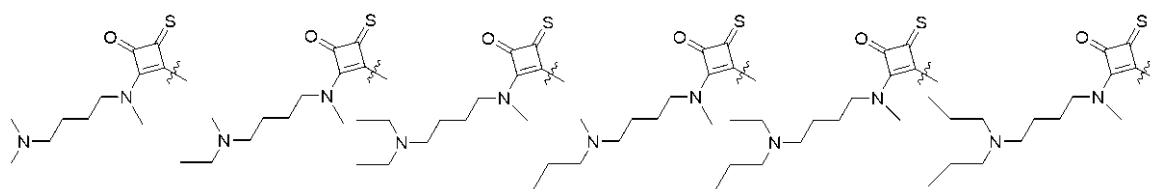
30



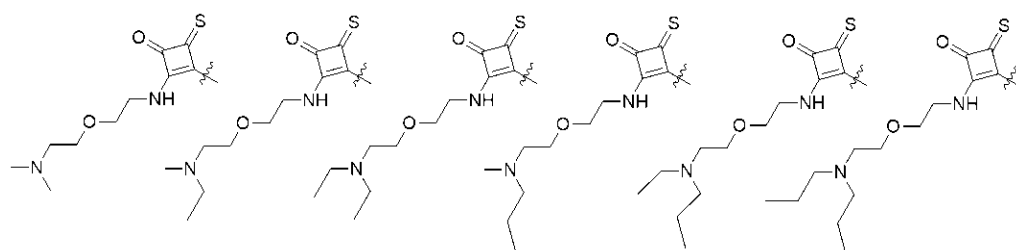
40



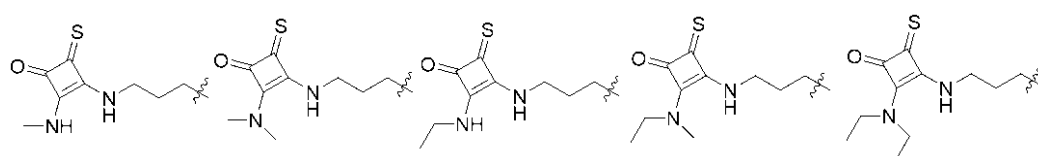
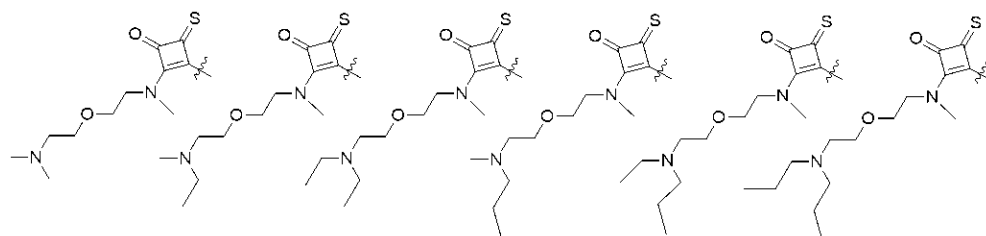
50



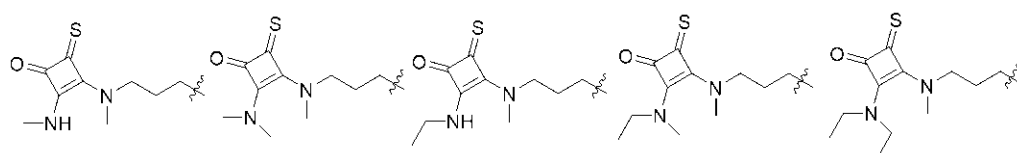
10



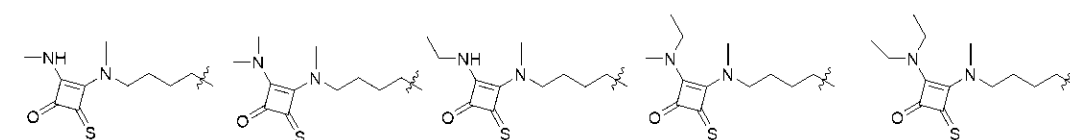
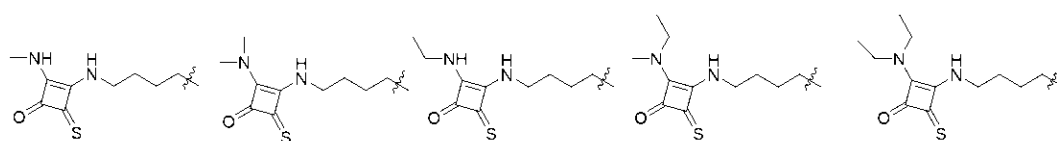
20



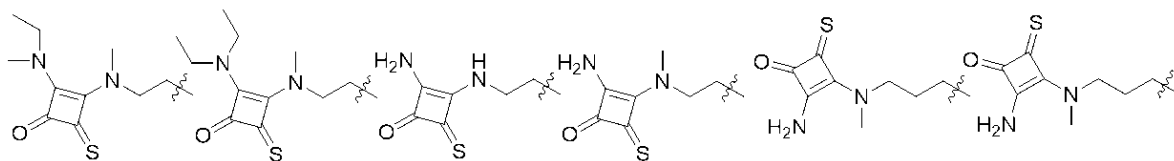
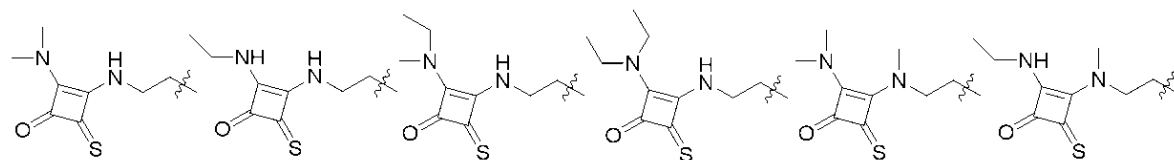
30



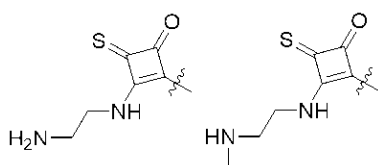
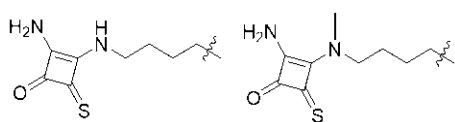
40



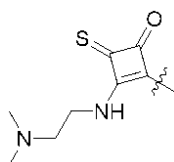
50



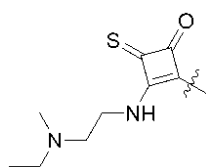
10



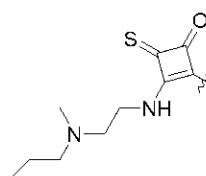
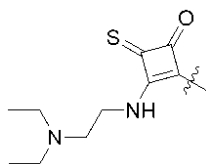
20



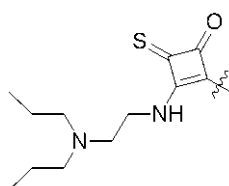
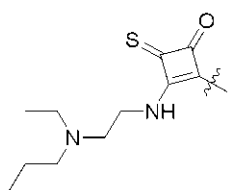
30



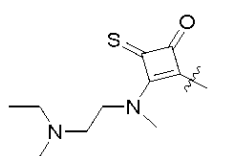
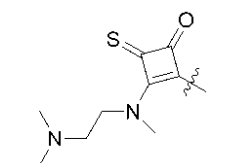
40



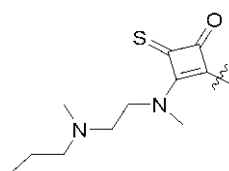
50



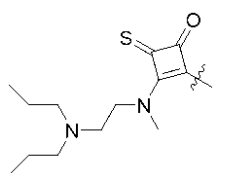
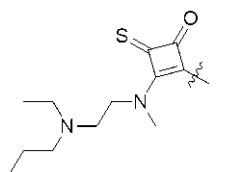
10



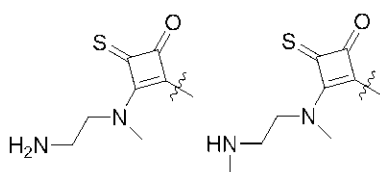
20



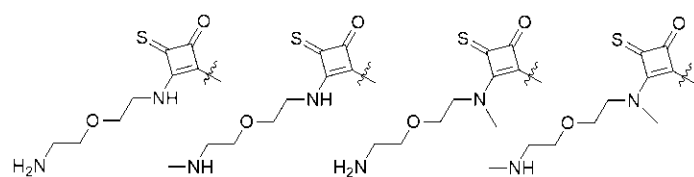
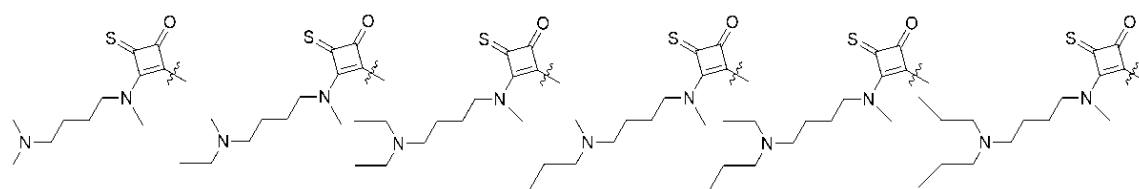
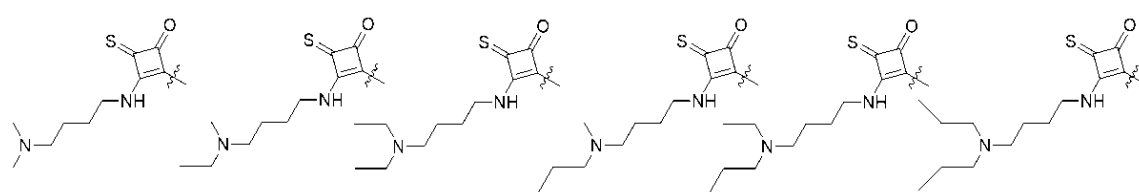
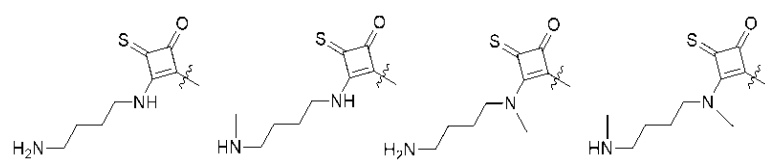
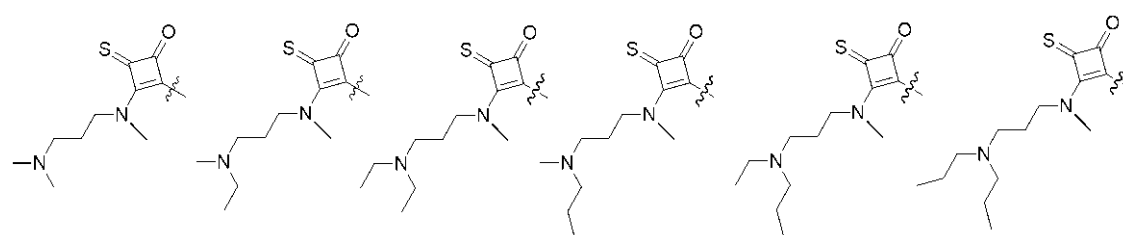
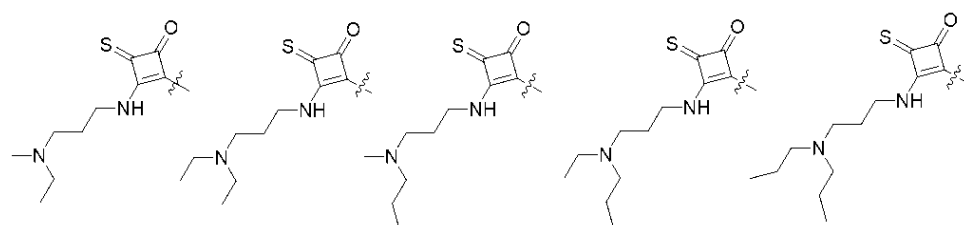
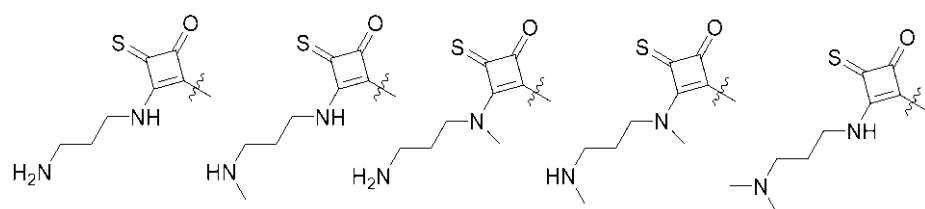
30



40



50



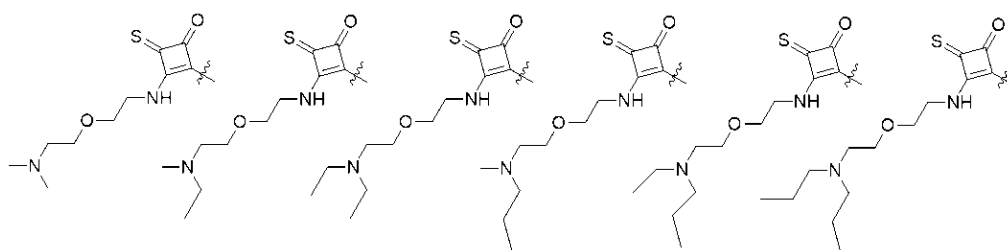
10

20

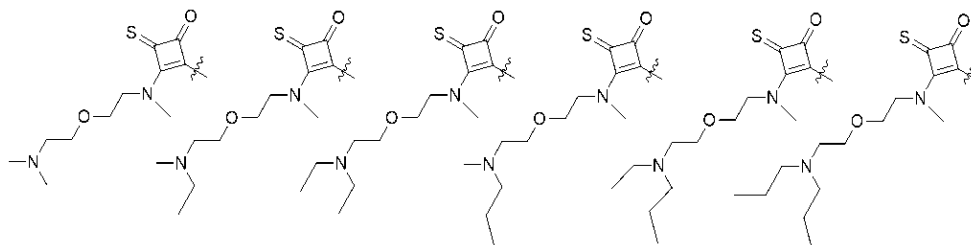
30

40

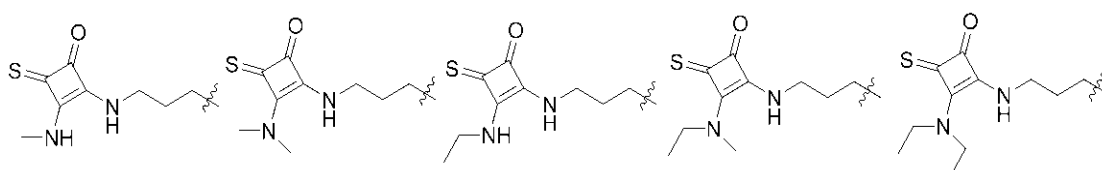
50



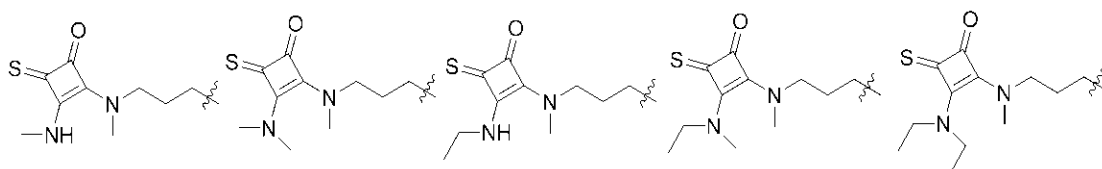
10



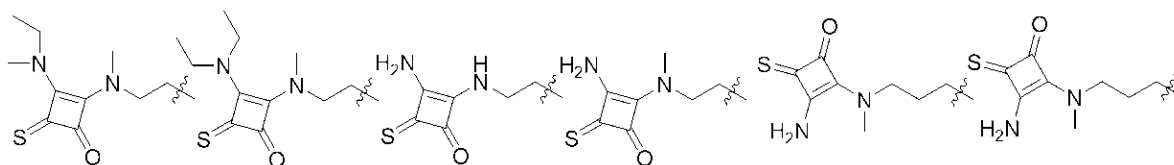
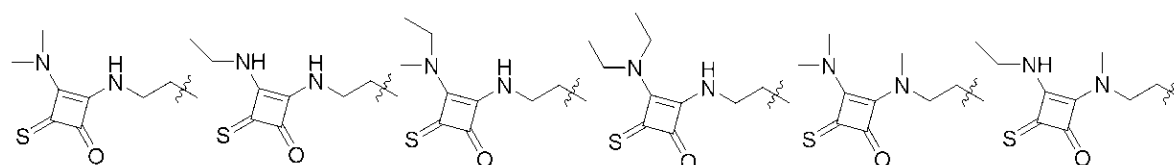
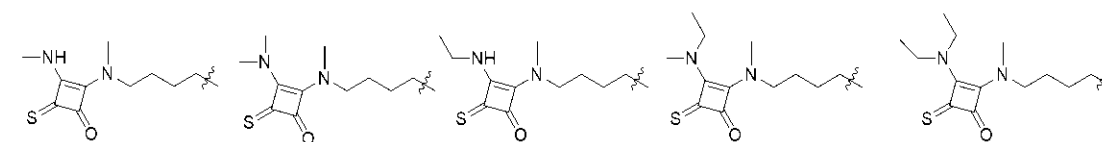
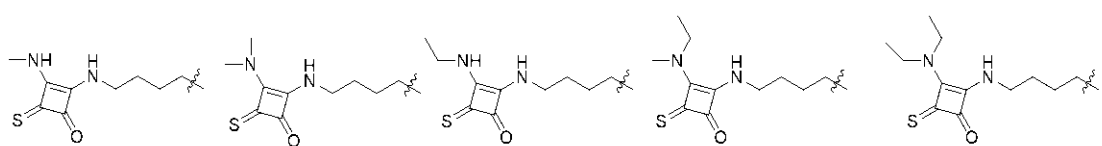
20



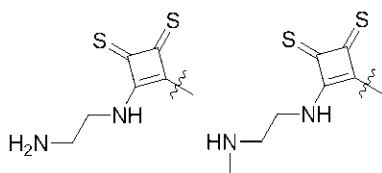
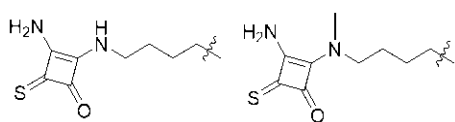
30



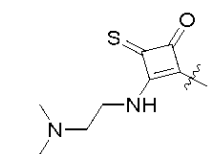
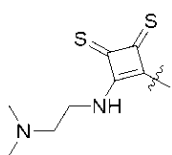
40



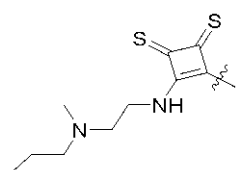
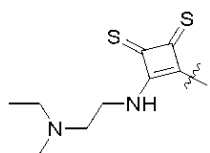
50



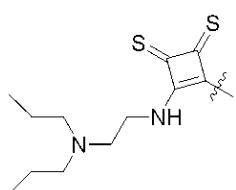
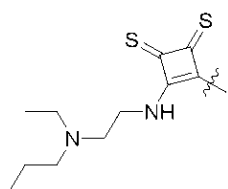
10



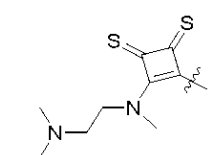
20



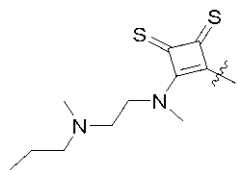
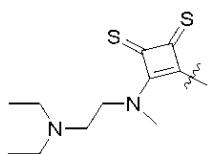
30



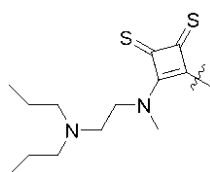
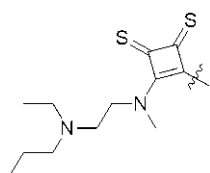
40



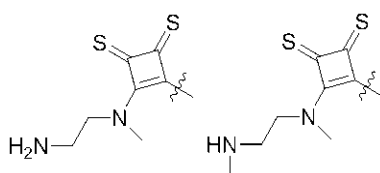
50



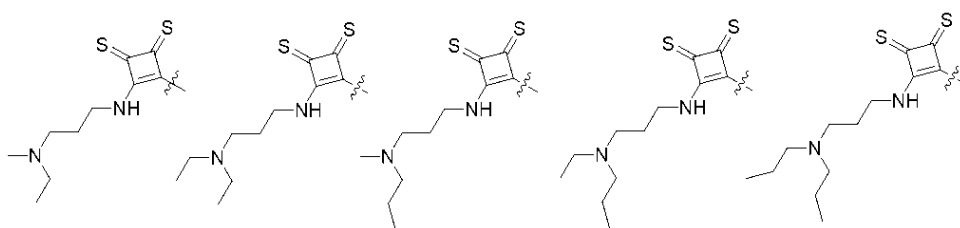
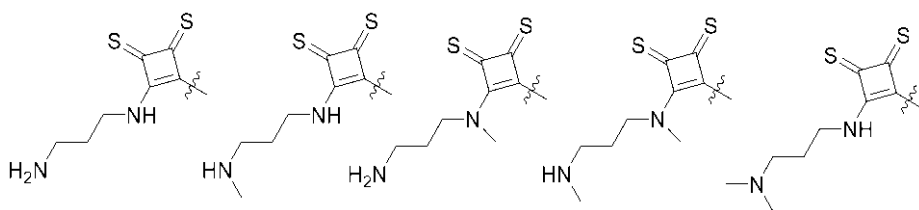
10



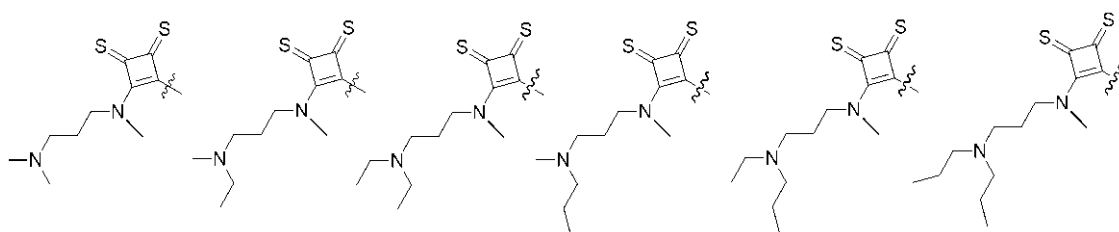
20



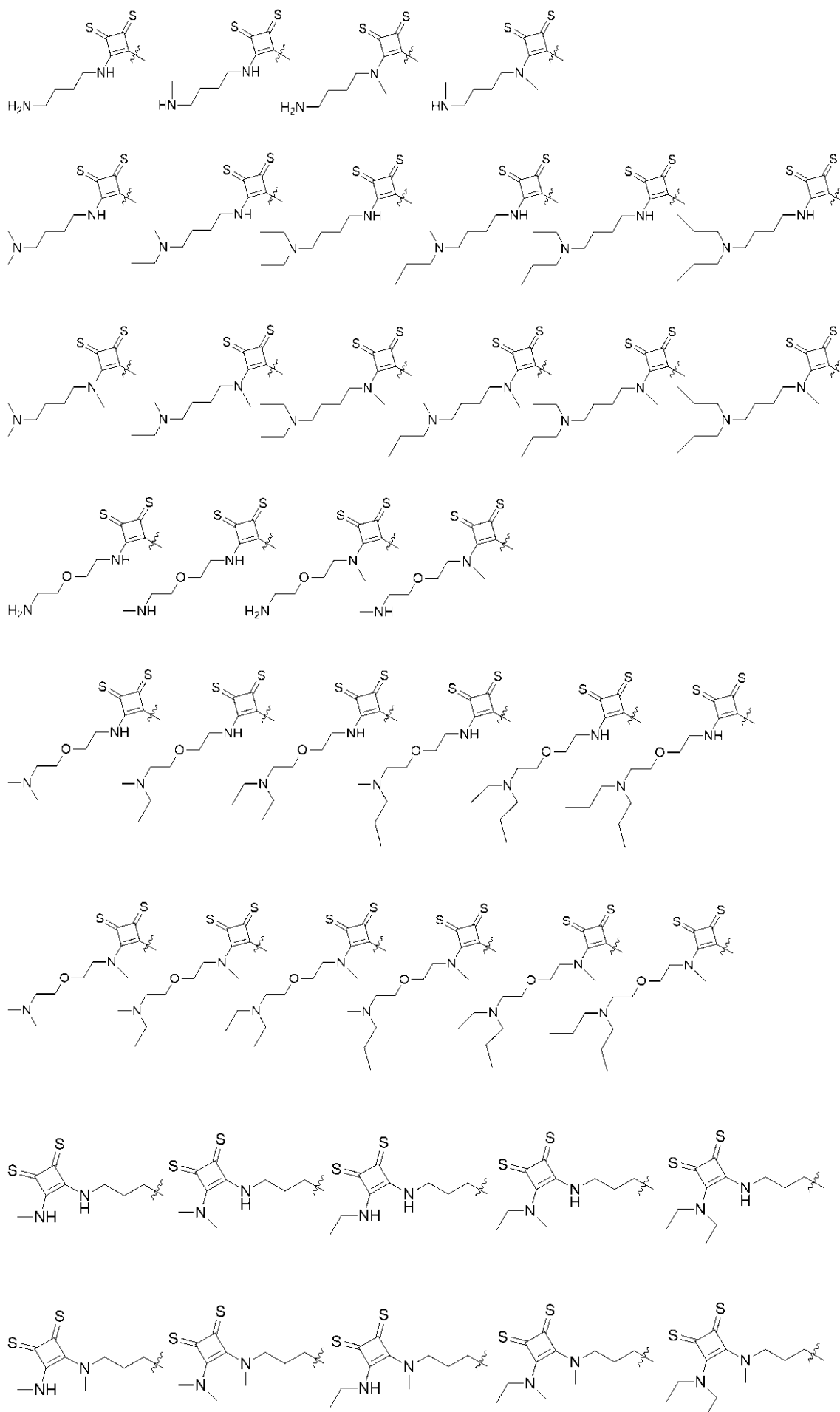
30

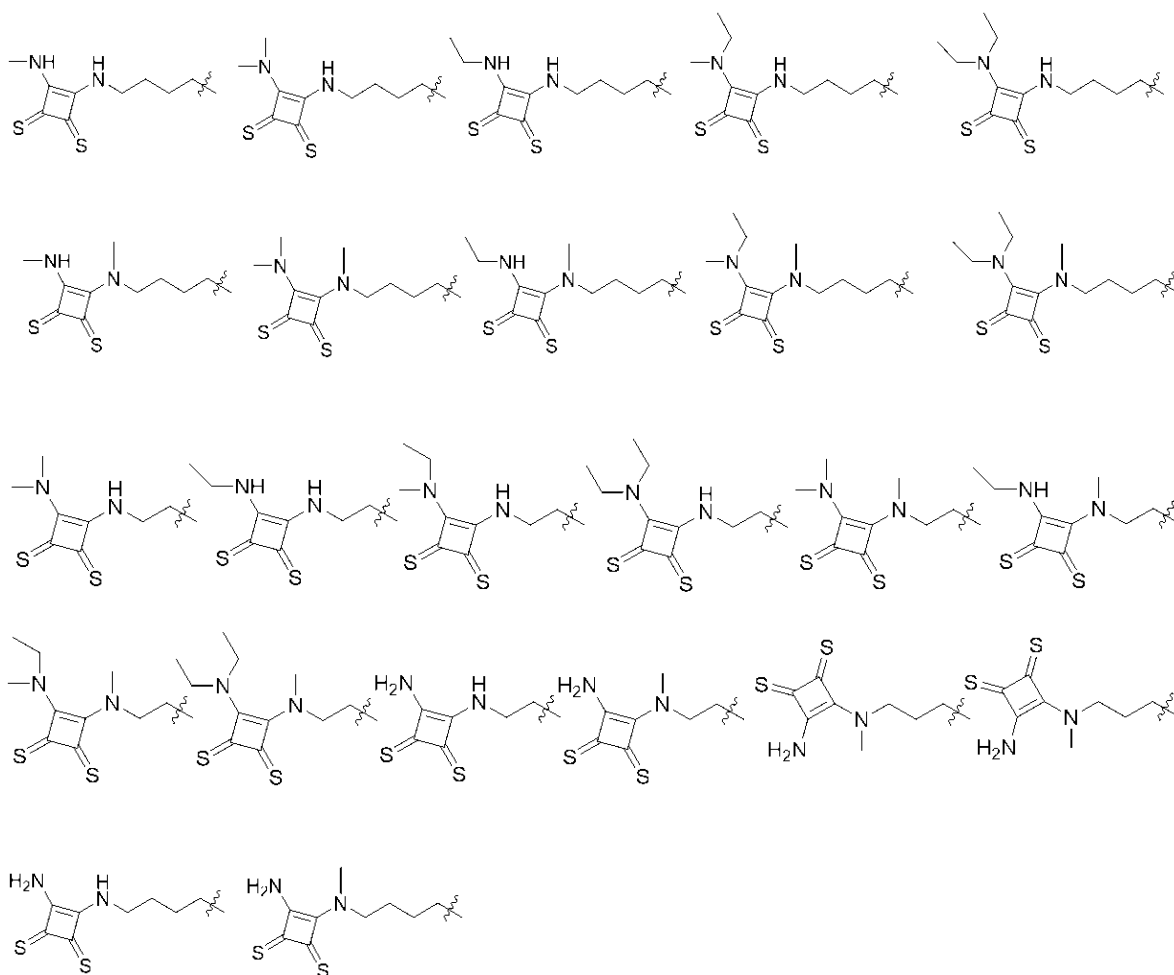


40



50





10

20

のいずれかから選択される。

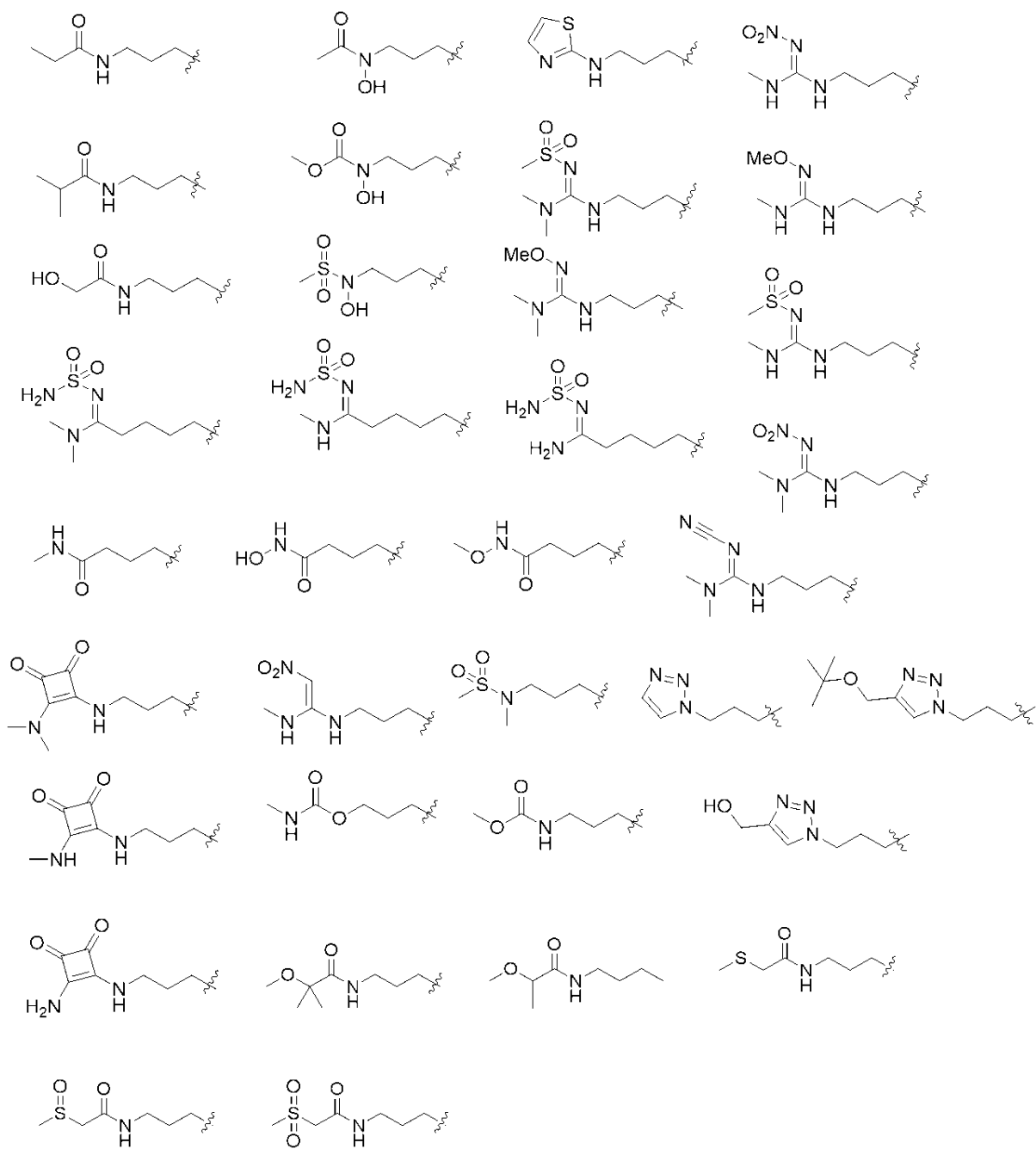
【 0 4 6 0 】

一部の実施形態では、 R^4 は、以下の基、

30

40

50



10

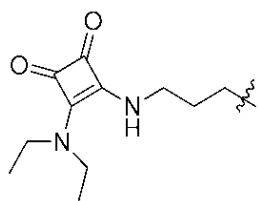
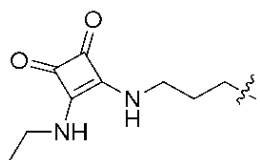
20

30

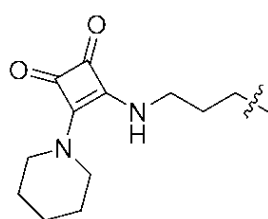
40

50

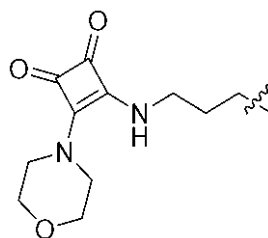




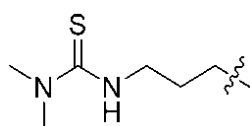
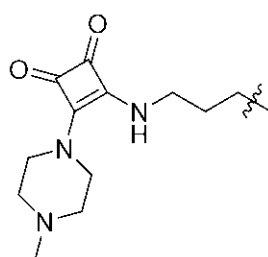
10



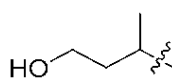
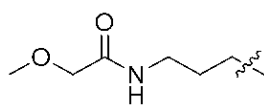
20



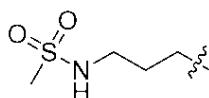
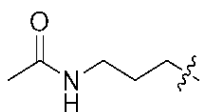
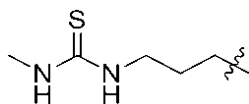
30



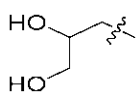
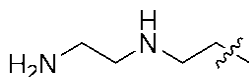
40



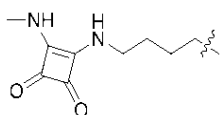
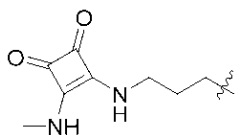
50



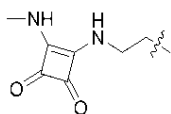
10



20



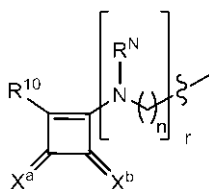
30



のいずれかから選択される。

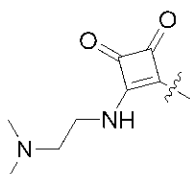
【 0 4 6 1 】

一部の実施形態では、



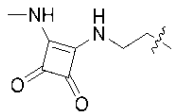
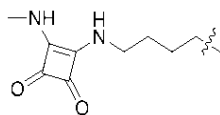
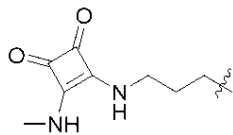
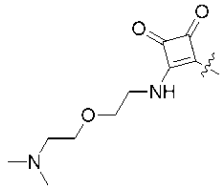
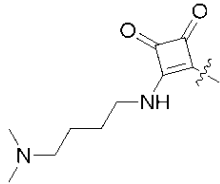
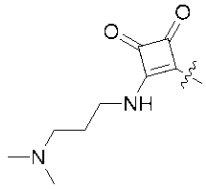
40

は、以下の基、



、

50



10

20

30

のいずれかから選択される。

【0462】

一部の実施形態では、式（ⅠⅠⅠ）の化合物はアニオンを更に含む。本明細書に記載するとおり、アニオンは、アミンと反応してアンモニウム塩を形成することができる任意のアニオンであってもよい。例としては、塩化物、臭化物、ヨウ化物、フッ化物、酢酸塩、ギ酸塩、トリフルオロ酢酸塩、ジフルオロ酢酸塩、トリクロロ酢酸塩、及びリン酸塩が挙げられるがこれらに限定されない。

【0463】

一部の実施形態では、本明細書に記載の式のいずれかの化合物は、筋肉内投与用のナノ粒子組成物を作製するのに好適である。

【0464】

一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、複素環または炭素環を形成する。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、N、O、S、及びPから選択される1つまたは複数のヘテロ原子を有する5～14員環の芳香族または非芳香族複素環を形成する。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、芳香族または非芳香族のいずれかの、任意選択的に置換された C_{3-20} 炭素環（例えば、 C_{3-18} 炭素環、 C_{3-15} 炭素環、 C_{3-12} 炭素環、または C_{3-10} 炭素環）を形成する。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、 C_{3-6} 炭素環を形成する。その他の実施形態では、 R^2 及

40

50

び R^3 は、それらが結合している原子と共に、 C_6 炭素環、例えば、シクロヘキシル基またはフェニル基などを形成する。特定の実施形態では、複素環または C_3-6 炭素環は、1つまたは複数のアルキル基で置換されている（例えば、同一の環原子または隣接もしくは非隣接環原子において）。例えば、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、1つまたは複数の C_5 アルキル置換を有するシクロヘキシル基またはフェニル基を形成していてもよい。特定の実施形態では、 R^2 及び R^3 が形成する複素環または C_3-6 炭素環は、炭素環基で置換されている。例えば、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、シクロヘキシルで置換されたシクロヘキシル基またはフェニル基を形成していてもよい。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、 C_7-15 炭素環、例えば、シクロヘプチル基、シクロペンタデカニル基、またはシクロナフチル基などを形成する。

【0465】

一部の実施形態では、 R^4 は $-(CH_2)_nQ$ 及び $-(CH_2)_nCHQR$ から選択される。一部の実施形態では、 Q は、 $-OR$ 、 $-OH$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(H)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(H)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-N(H)C(O)N(H)(R)$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(S)N(H)(R)$ 、及び複素環からなる群から選択される。その他の実施形態では、 Q は、イミダゾール、ピリミジン、及びプリンからなる群から選択される。

【0466】

一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、複素環または炭素環を形成する。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、 C_3-6 炭素環を形成する。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、 C_6 炭素環を形成する。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、フェニル基を形成する。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、シクロヘキシル基を形成する。一部の実施形態では、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、複素環を形成する。特定の実施形態では、複素環または C_3-6 炭素環は、1つまたは複数のアルキル基で置換されている（例えば、同一の環原子または隣接もしくは非隣接環原子において）。例えば、 R^2 及び R^3 は、それらが結合している原子と共に、1つまたは複数の C_5 アルキル置換を有するフェニル基を形成していてもよい。

【0467】

一部の実施形態では、 R^5 及び R^6 のうちの少なくとも1つの存在は、 C_1-3 アルキル、例えば、メチルである。一部の実施形態では、 M に隣接した R^5 及び R^6 のうちの1つは、 C_1-3 アルキル、例えば、メチルであり、もう一方は H である。一部の実施形態では、 M に隣接した R^5 及び R^6 のうちの1つは、 C_1-3 アルキル、例えば、メチルであり、もう一方は H であり、 M は $-OC(O)-$ または $-C(O)O-$ である。

【0468】

一部の実施形態では、 R^5 及び R^6 のうちの多くて1つの存在は、 C_1-3 アルキル、例えば、メチルである。一部の実施形態では、 M に隣接した R^5 及び R^6 のうちの1つは、 C_1-3 アルキル、例えば、メチルであり、もう一方は H である。一部の実施形態では、 M に隣接した R^5 及び R^6 のうちの1つは、 C_1-3 アルキル、例えば、メチルであり、もう一方は H であり、 M は $-OC(O)-$ または $-C(O)O-$ である。

【0469】

一部の実施形態では、 R^5 及び R^6 のうちの少なくとも1つの存在はメチルである。

【0470】

式(VI)、(VI-a)、(VII)、(VIIa)、(VIIb)、(VIIc)、(VIId)、(VIII)、(VIIIa)、(VIIIb)、(VIIIc)、または(VIIId)のうちのいずれか1つの化合物は、適用可能な場合、以下の特徴のう

ちの1つまたは複数を含む。

【0471】

一部の実施形態では、 r は0である。一部の実施形態では、 r は1である。

【0472】

一部の実施形態では、 n は、2、3、または4である。一部の実施形態では、 n は2である。一部の実施形態では、 n は4である。一部の実施形態では、 n は3ではない。

【0473】

一部の実施形態では、 R^N はHである。一部の実施形態では、 R^N は C_{1-3} アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R^N は C_1 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R^N は C_2 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R^N は C_2 アルキルである。

10

【0474】

一部の実施形態では、 X^a はOである。一部の実施形態では、 X^a はSである。一部の実施形態では、 X^b はOである。一部の実施形態では、 X^b はSである。

【0475】

一部の実施形態では、 R^{10} は、 $N(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_{t1}N(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_{p1}O(CH_2)_{q1}N(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_{s1}OR$ 、 $-N((CH_2)_{s1}OR)_2$ 、及び複素環からなる群から選択される。

【0476】

一部の実施形態では、 R^{10} は、 $-NH(CH_2)_{t1}N(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_{p1}O(CH_2)_{q1}N(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_{s1}OR$ 、 $-N((CH_2)_{s1}OR)_2$ 、及び複素環からなる群から選択される。

20

【0477】

一部の実施形態では、式中、 R^{10} は $-NH(CH_2)_oN(R)_2$ であり、 o は、2、3、または4である。

【0478】

一部の実施形態では、式中、 $-NH(CH_2)_{p1}O(CH_2)_{q1}N(R)_2$ であり、 p^1 は2である。一部の実施形態では、式中、 $-NH(CH_2)_{p1}O(CH_2)_{q1}N(R)_2$ であり、 q^1 は2である。

【0479】

一部の実施形態では、式中、 R^{10} は $-N((CH_2)_{s1}OR)_2$ であり、 s^1 は2である。

30

【0480】

一部の実施形態では、式中、 R^{10} は、 $-NH(CH_2)_oN(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_{p1}O(CH_2)_{q1}N(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_{s1}OR$ 、または $-N((CH_2)_{s1}OR)_2$ であり、 R はHまたは C_1-C_3 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R は C_1 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R は C_2 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R はHである。例えば、一部の実施形態では、 R はHであり、1つの R は C_1-C_3 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R はHであり、1つの R は C_1 アルキルである。例えば、一部の実施形態では、 R はHであり、1つの R は C_2 アルキルである。一部の実施形態では、式中、 R^{10} は、 $-NH(CH_2)_{t1}N(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_{p1}O(CH_2)_{q1}N(R)_2$ 、 $-NH(CH_2)_{s1}OR$ 、または $-N((CH_2)_{s1}OR)_2$ であり、それぞれの R は C_2-C_4 アルキルである。

40

【0481】

例えば、一部の実施形態では、1つの R はHであり、1つの R は C_2-C_4 アルキルである。一部の実施形態では、 R^{10} は複素環である。例えば、一部の実施形態では、 R^{10} はモルホリニルである。例えば、一部の実施形態では、 R^{10} はメチルピペラジニルである。

【0482】

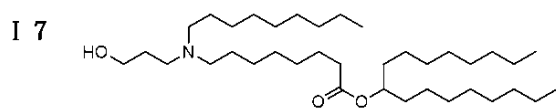
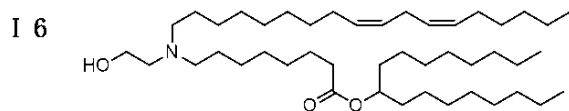
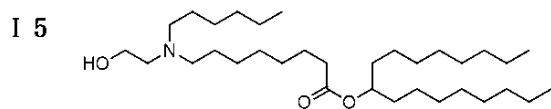
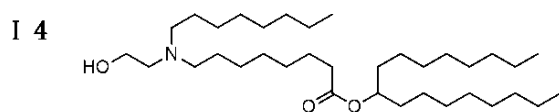
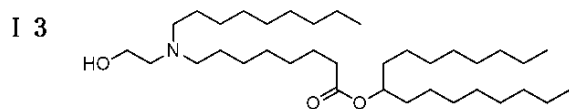
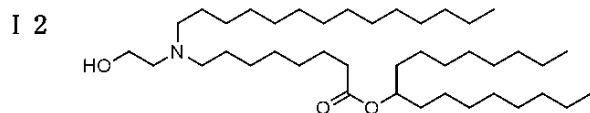
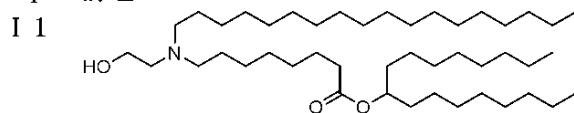
一部の実施形態では、 R^5 及び R^6 のうちのそれぞれの存在はHである。

50

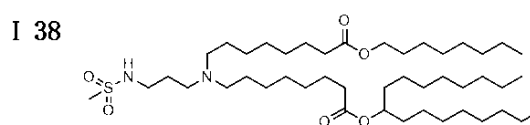
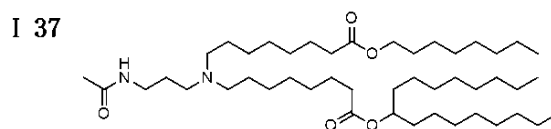
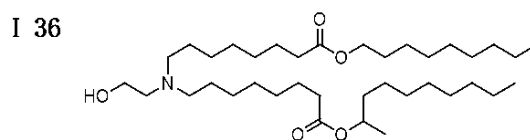
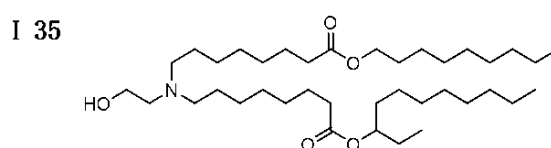
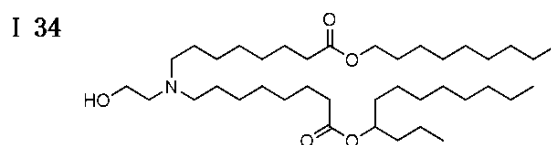
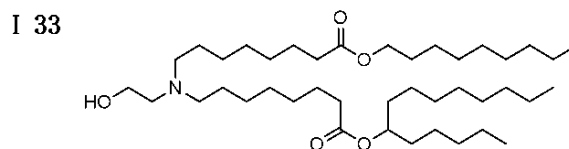
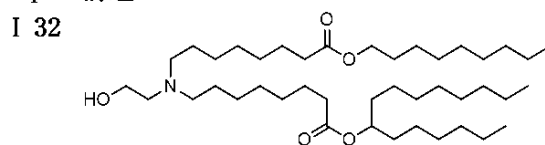
【0483】

一部の実施形態では、式（I）の化合物は、

Cpd 構造



Cpd 構造



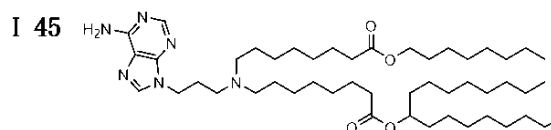
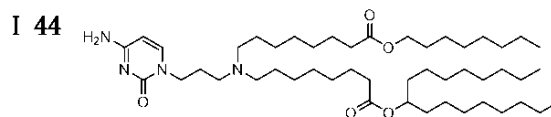
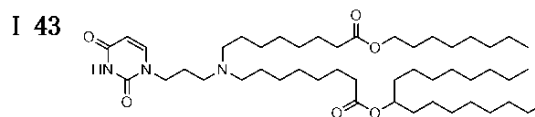
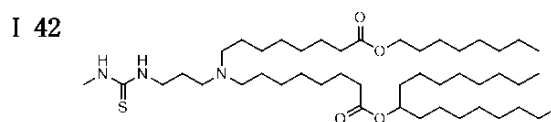
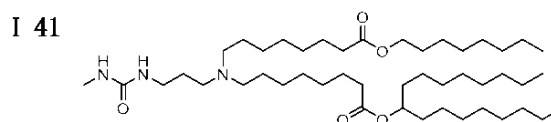
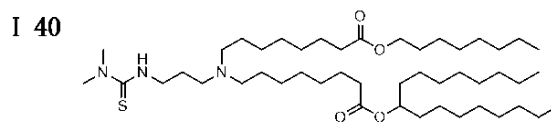
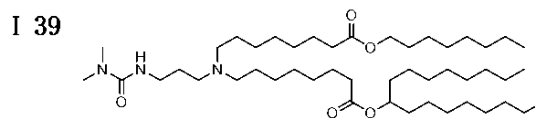
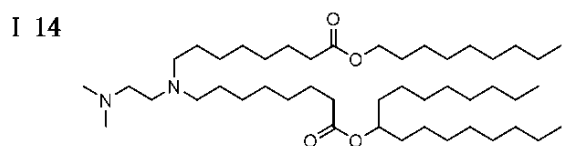
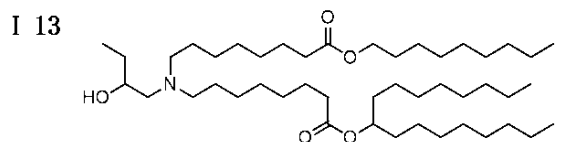
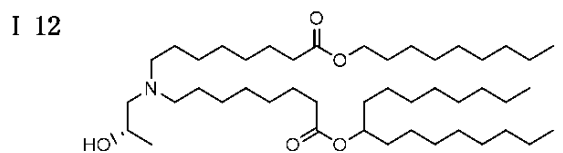
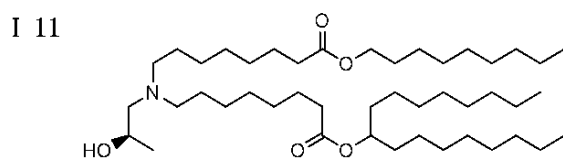
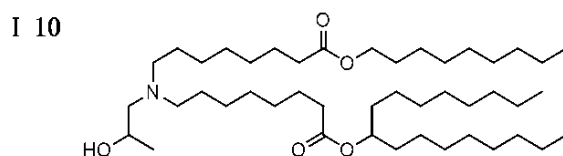
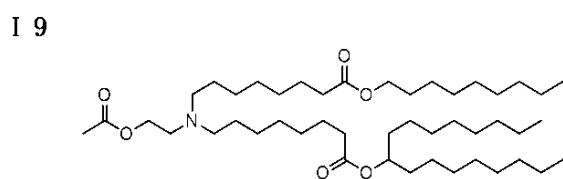
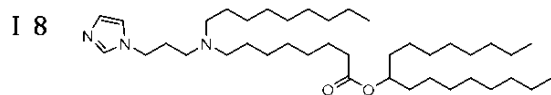
10

20

30

40

50



10

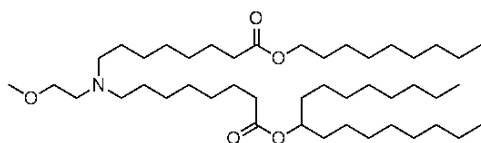
20

30

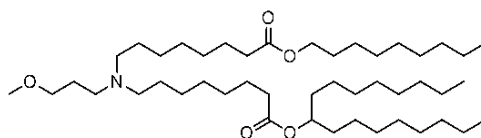
40

50

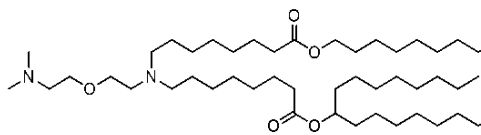
I 15



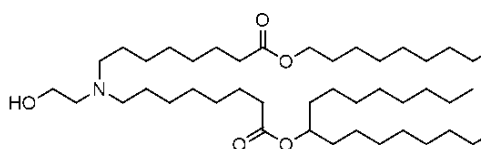
I 16



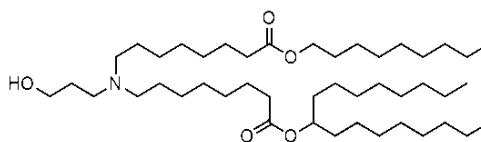
I 17



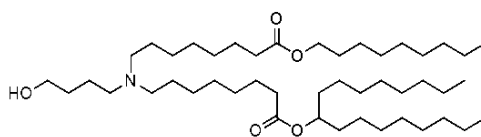
I 18



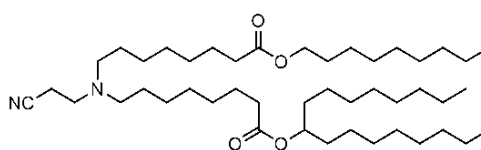
I 19



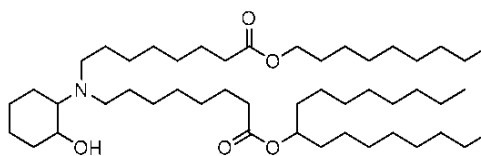
I 20



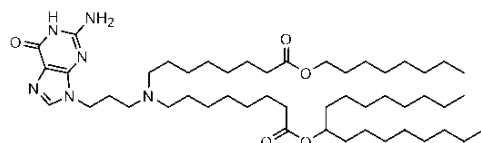
I 21



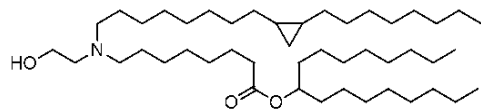
I 22



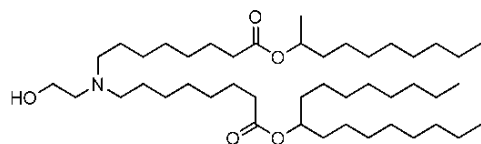
I 46



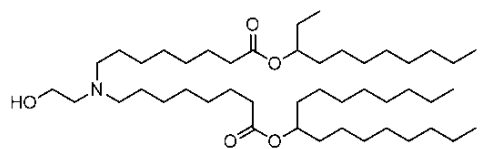
I 47



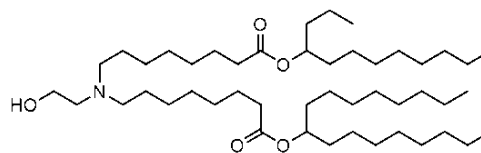
I 48



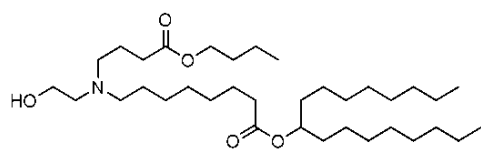
I 49



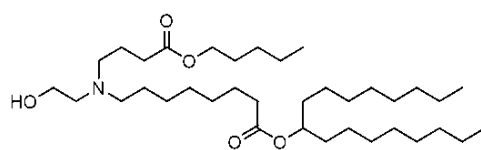
I 50



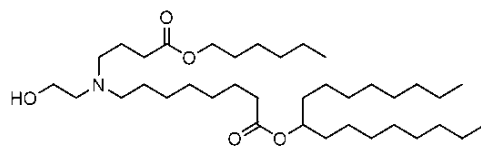
I 51



I 52



I 53



10

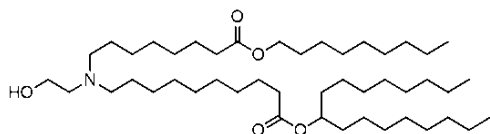
20

30

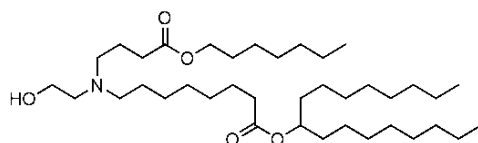
40

50

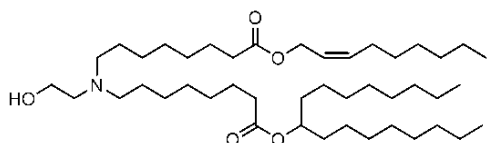
I 23



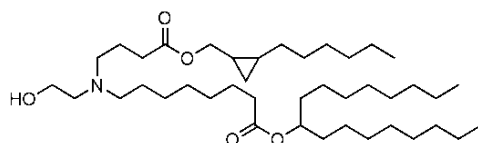
I 54



I 24

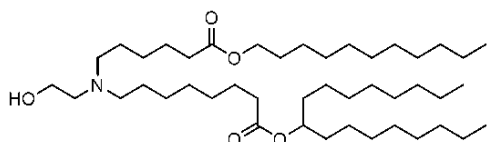


I 55

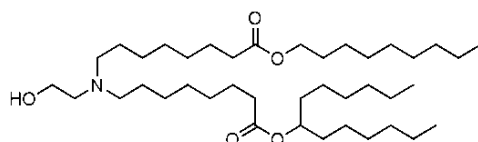


10

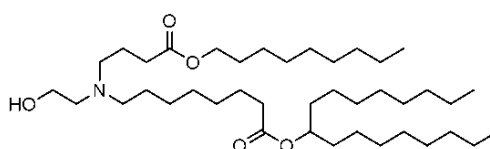
I 25



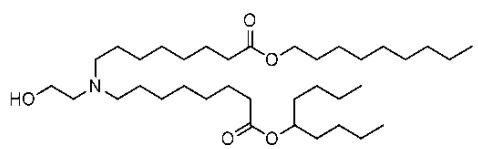
I 56



I 26

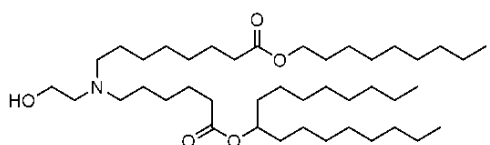


I 57

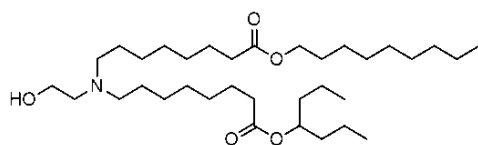


20

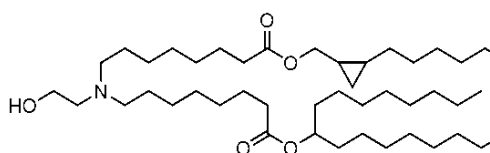
I 27



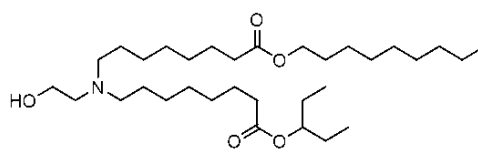
I 58



I 28

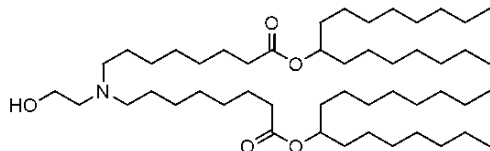


I 59

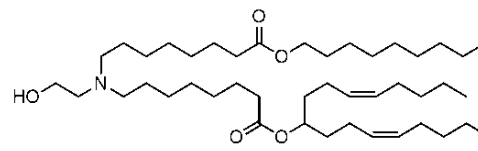


30

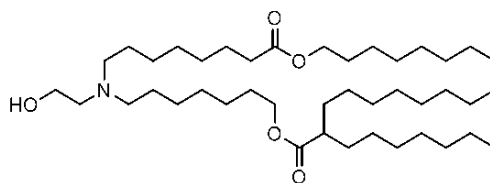
I 29



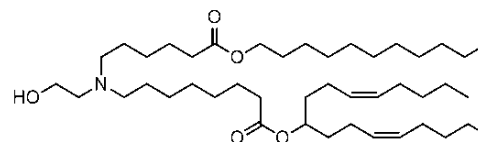
I 60



I 30

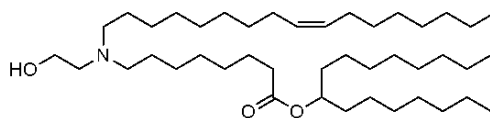


I 61



40

I 31



からなる群から選択される。

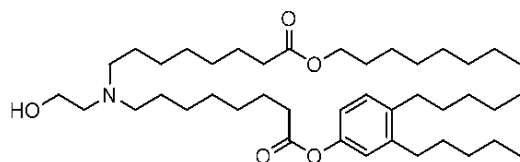
50

【 0 4 8 4 】

更なる実施形態では、式 (I I) の化合物は、

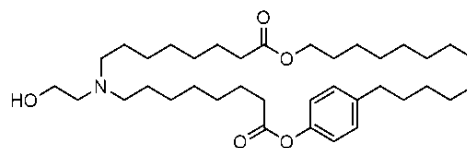
Cpd 構造

I 62

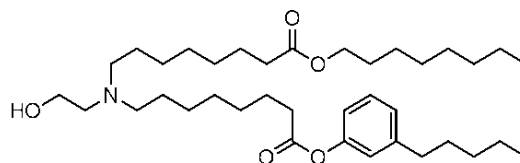


Cpd 構造

I 64



I 63



10

からなる群から選択される。

【 0 4 8 5 】

一部の実施形態では、式 (I I) または式 (I I V) の化合物は、

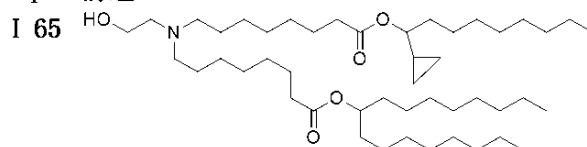
20

30

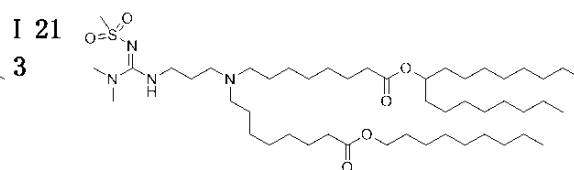
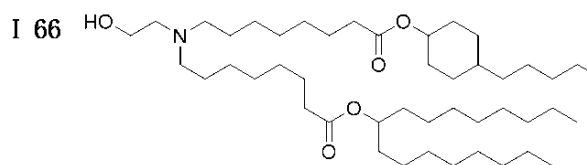
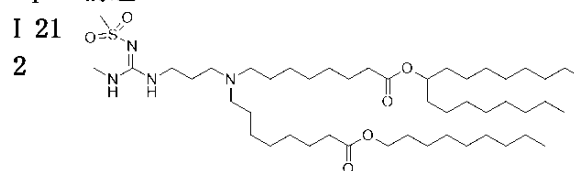
40

50

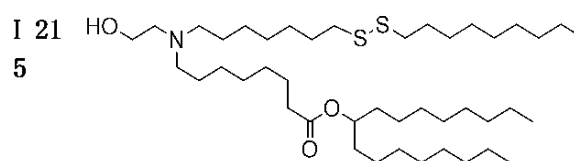
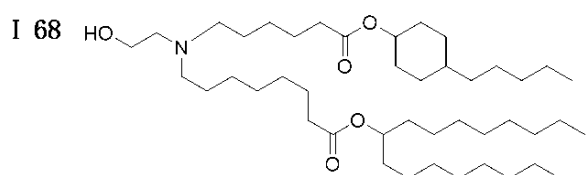
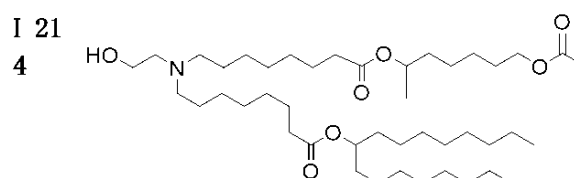
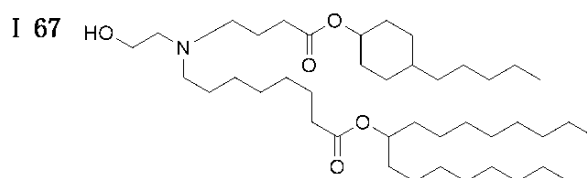
Cpd 構造



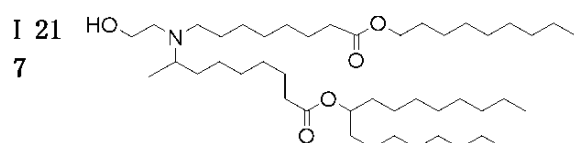
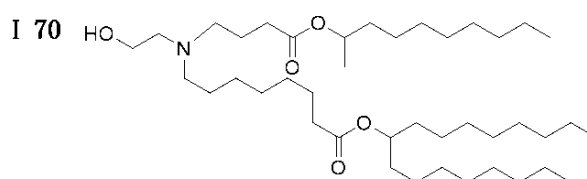
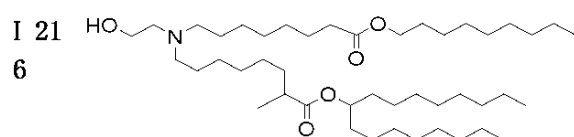
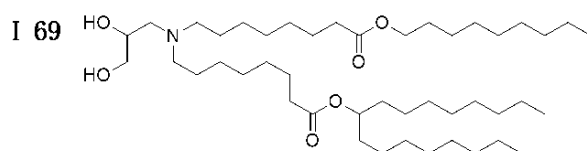
Cpd 構造



10



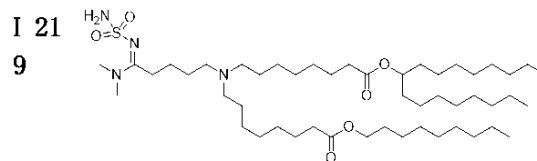
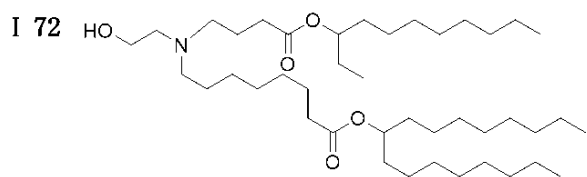
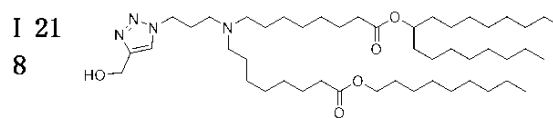
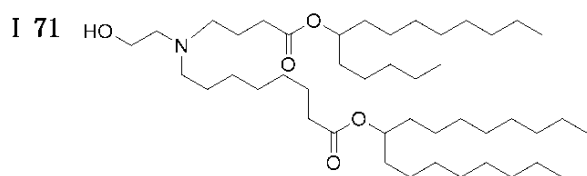
20



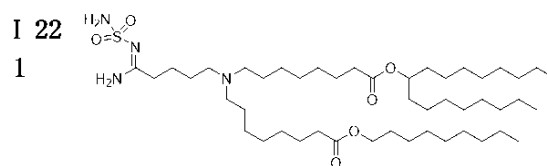
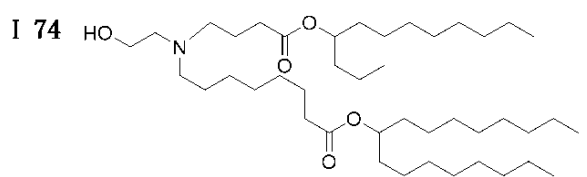
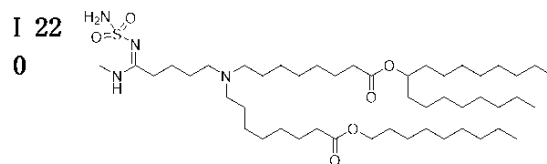
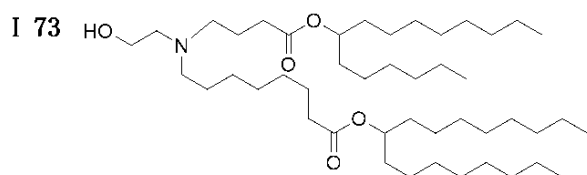
30

40

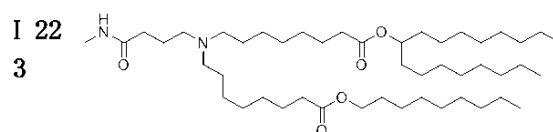
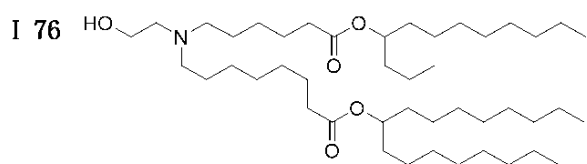
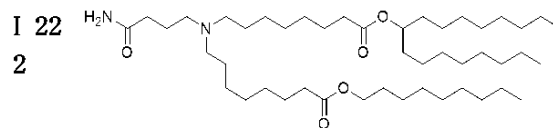
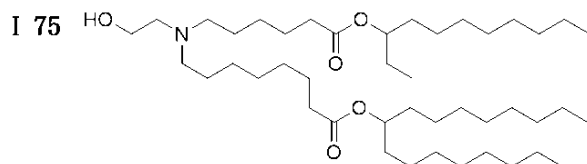
50



10



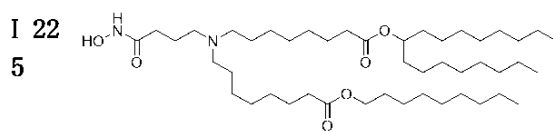
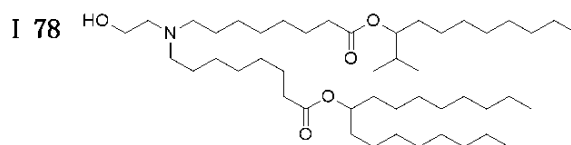
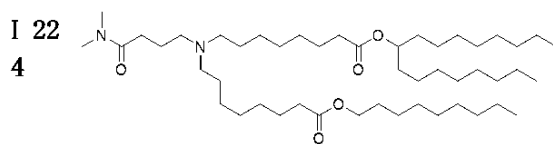
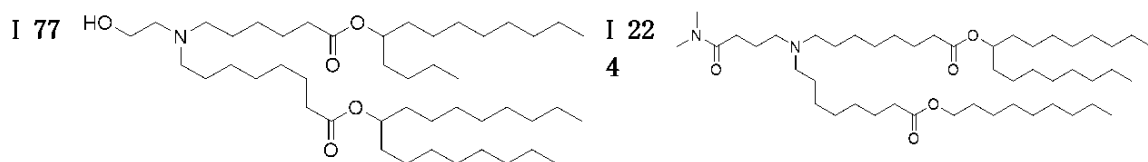
20



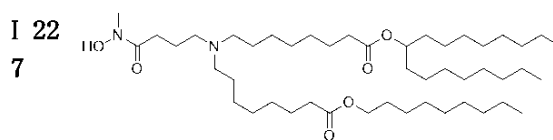
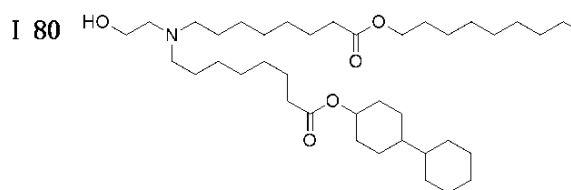
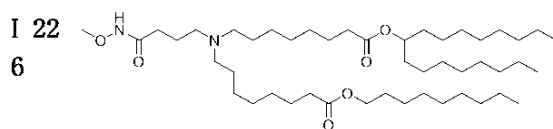
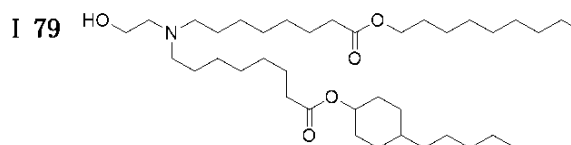
30

40

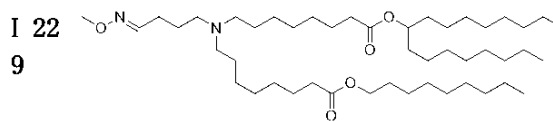
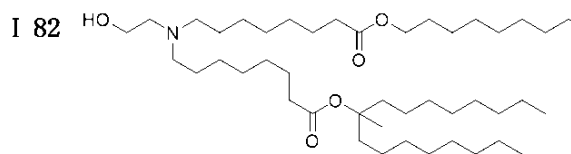
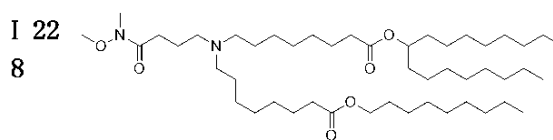
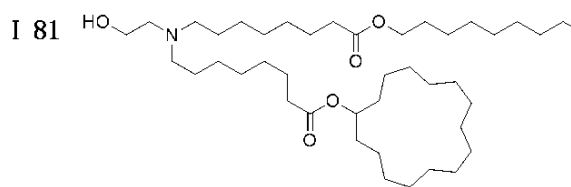
50



10



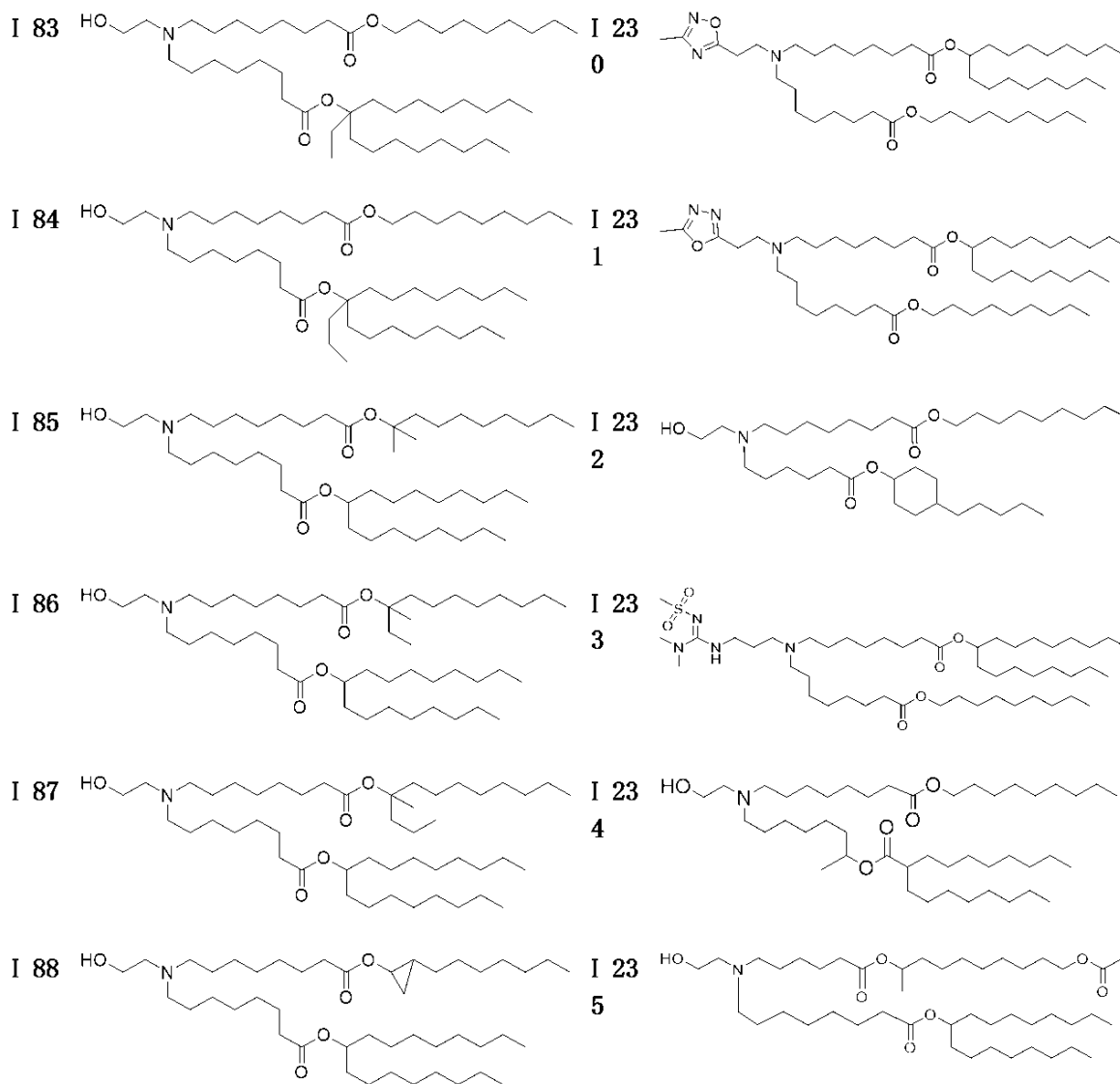
20

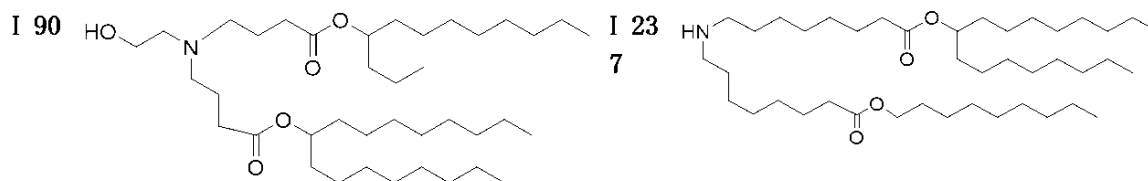
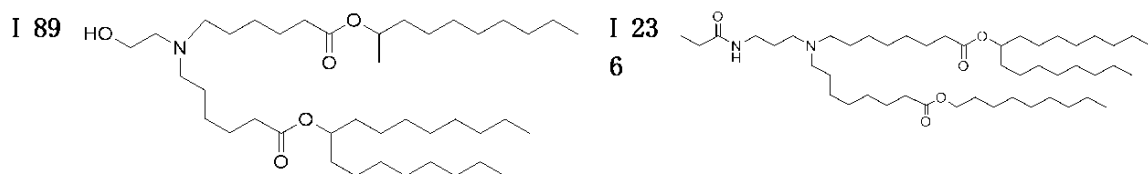


30

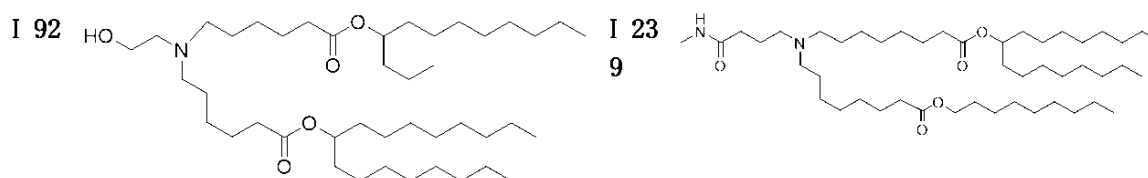
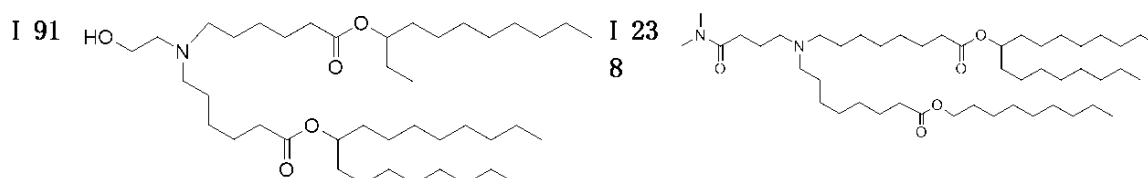
40

50

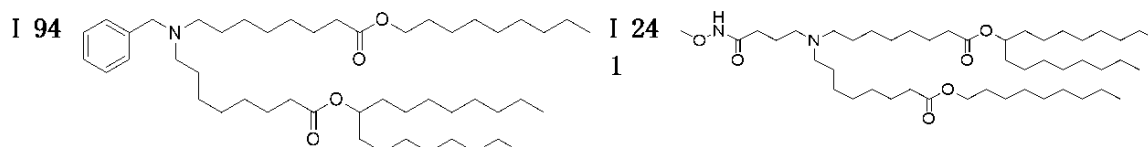
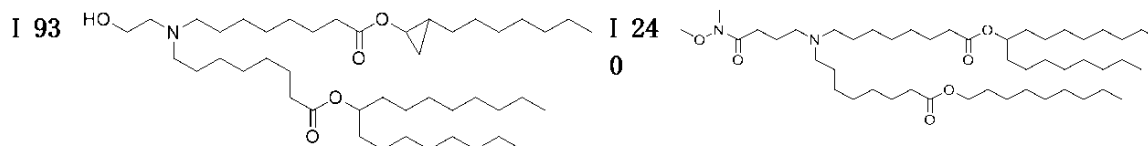




10



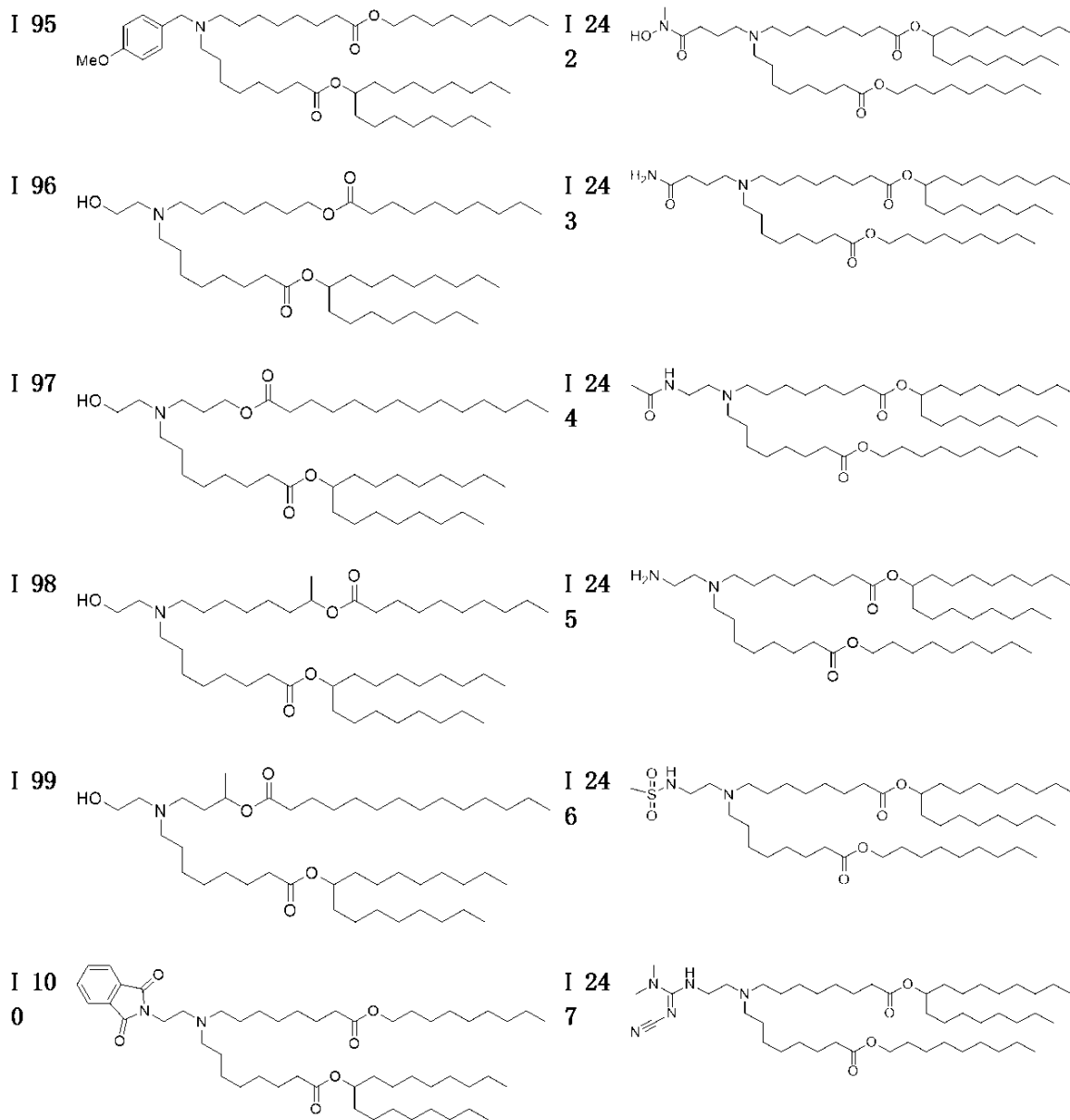
20



30

40

50



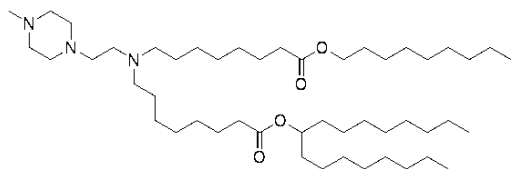
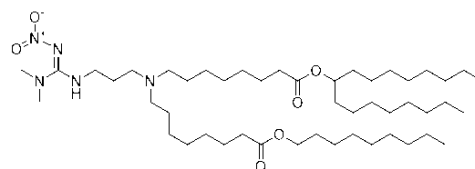
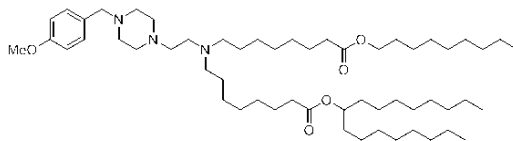
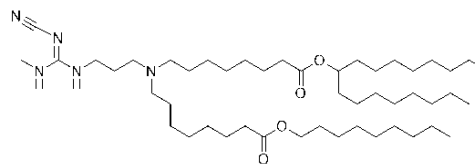
10

20

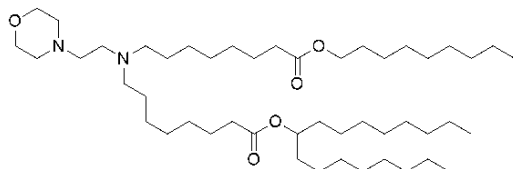
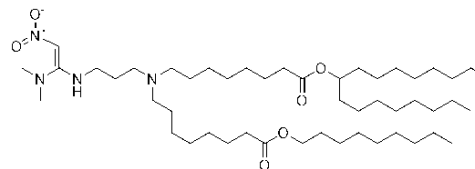
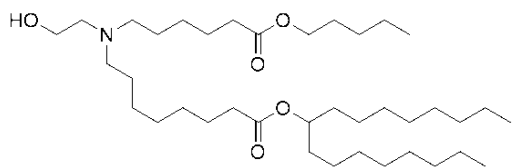
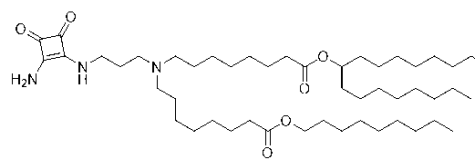
30

40

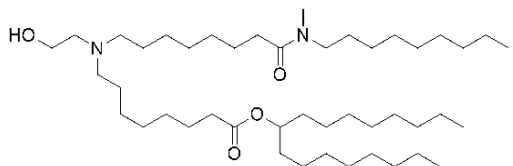
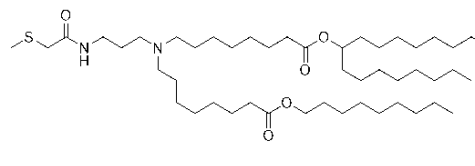
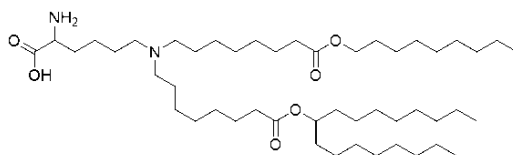
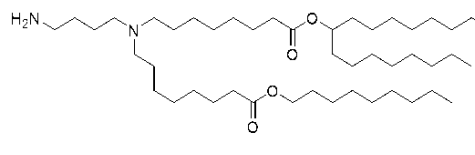
50

I 10I
1I 24
8I 10
2I 24
9

10

I 10
3I 25
0I 10
4I 25
1

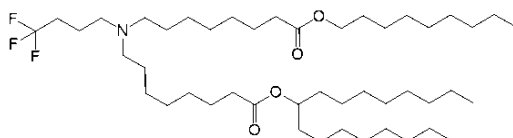
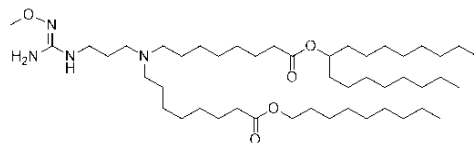
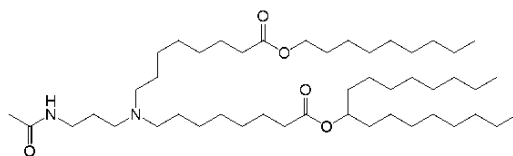
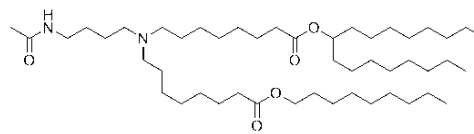
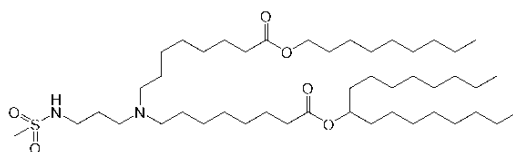
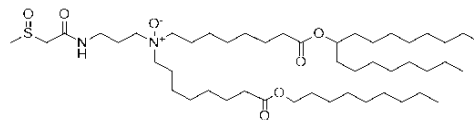
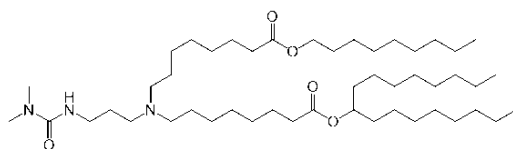
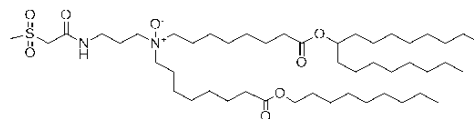
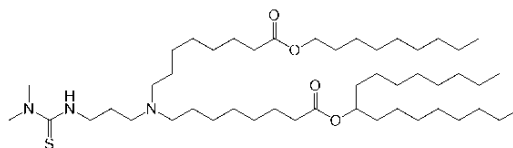
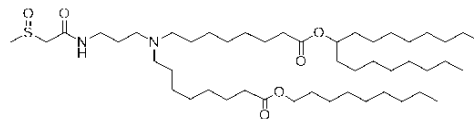
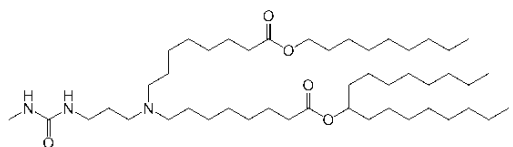
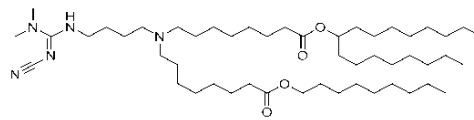
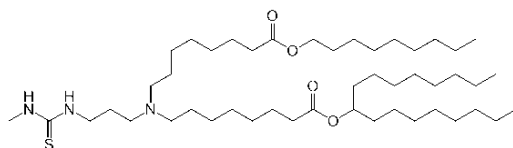
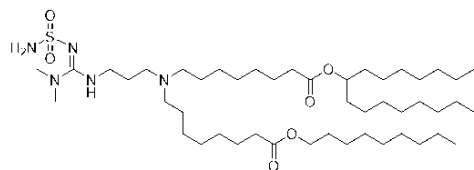
20

I 10
5I 25
2I 10
6I 25
3

30

40

50

I 10
7I 25
4I 10
8I 25
5I 10
9I 25
6I 1
10I 25
7I 11
1I 25
8I 11
2I 25
9I 11
3I 26
0

10

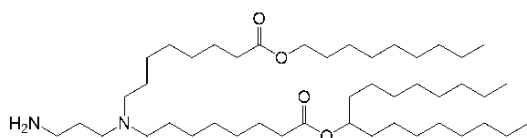
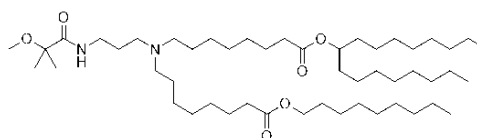
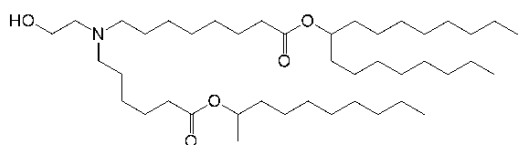
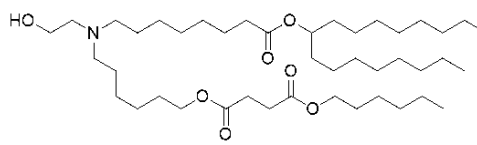
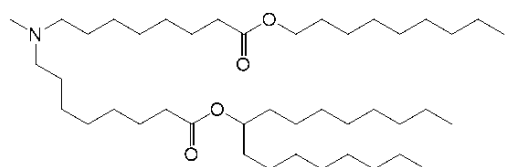
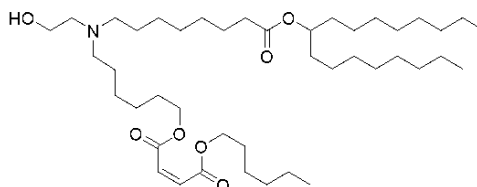
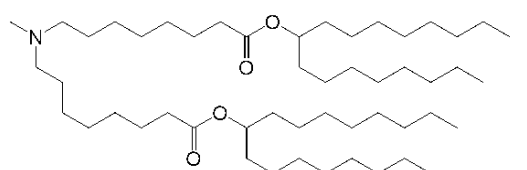
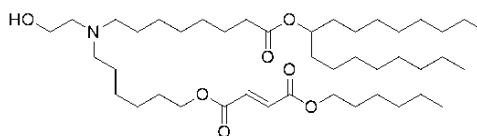
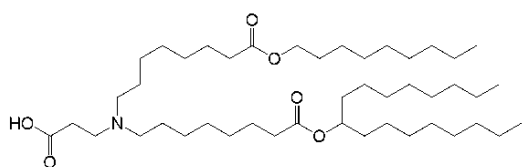
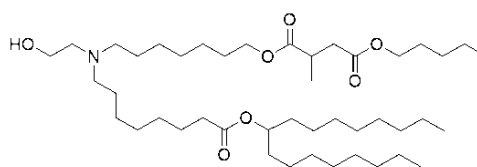
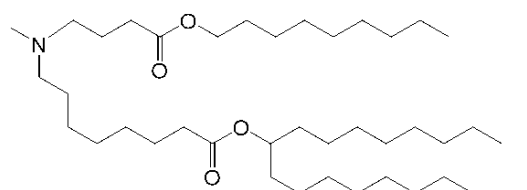
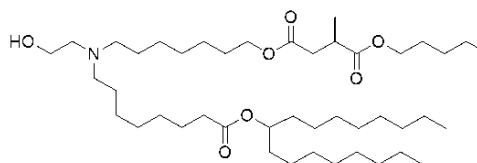
20

30

40

50

COC(=O)CCCCCCCCCC(CCCCNCNCCc1cc[nH]c1=O)C(=O)CCCCCCCCCCCCCCCCCCCOC(=O)CCN(CCCCOC(=O)CCCCCCCC)CCCCCCCCCOC(=O)CCCCCCCCCCCCCCCCCOC(=O)CCCCCCCCCN(CCCNc1cc(N)nc(C(=O)c2ccc(O)cc2)c1)CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCNCCCCOCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OCCN(CCCN1C=NC2=C1N=CN=C2N)CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCOC(=O)NCCN(CCCCCCCCCCCCCCCCCC)CCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OCCN(CCCN(CCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCCCCCCCC)CCCCC1=NC(=O)N=C2N=CN=C12)CCCCC1=NC(=O)N=C2N=CN=C12CCCCOC(=O)NCCCN(CCCCOC(=O)CCCCCCCCCCCCCCCCCC)CCCCCOC(=O)CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCOC(=O)N(CCCO)CCCCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCN(C)C(=NC#N)CNCCNCCCCCCCCCCCCCCCOC(=O)CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCOC(=O)CCCCCCCCCN(CCO)CCCCCCCCCOC(=O)Cc1ccc(CCCCC)cc1CCCCCCCCCOC(=O)CCCCCCCCCN(CCCCCCN=C(N)C#N)CCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCCCCCCCCCCOC(=O)N(CCCOC(=O)CCCCCCCCCCC)COCCCCCCCCCOC(=O)NCCN(CCCCCCCCCCOC(=O)CCCCCCCCC)CCCCCCCCCOC(=O)CCCCCCCCC

I 12
1I 26
8I 12
2I 26
9I 12
3I 27
0I 12
4I 27
1I 12
5I 27
2I 12
6I 27
3

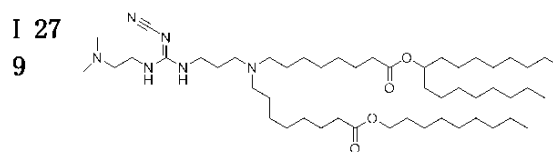
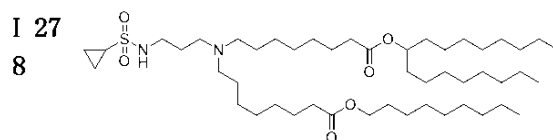
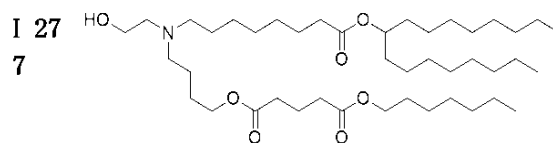
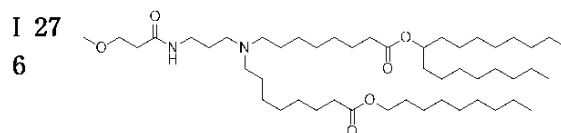
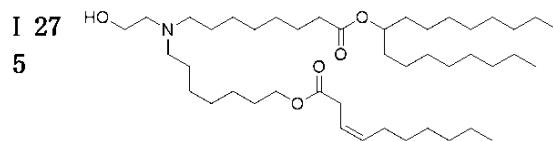
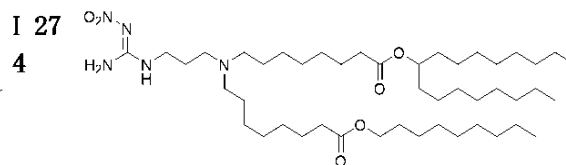
10

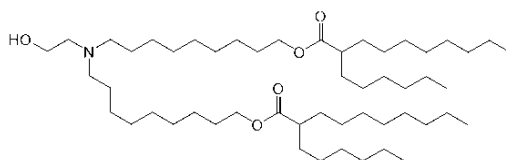
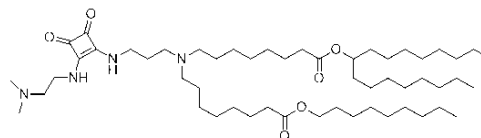
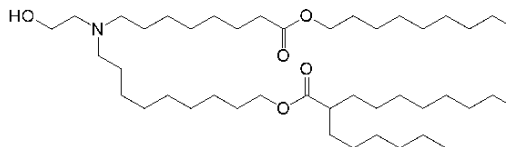
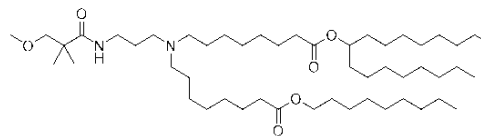
20

30

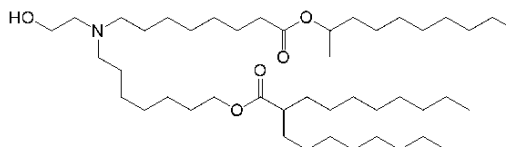
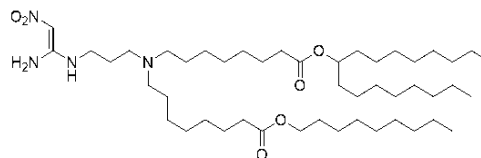
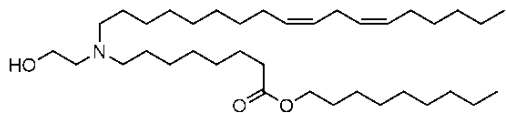
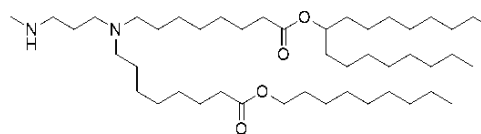
40

50

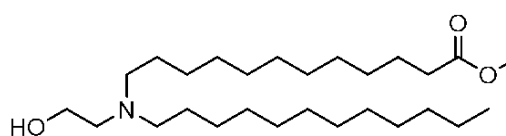
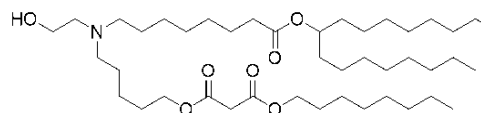
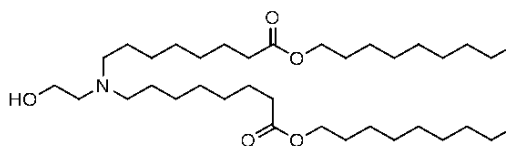
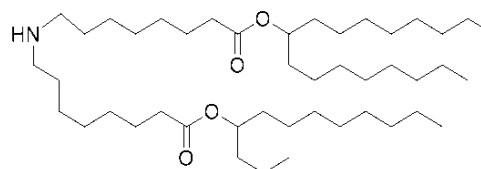


I 13
3I 28
0I 13
4I 28
1

10

I 13
5I 28
2I 13
6I 28
3

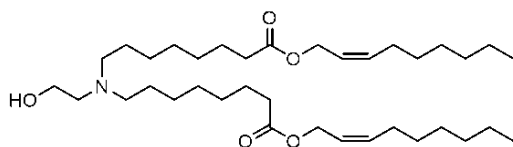
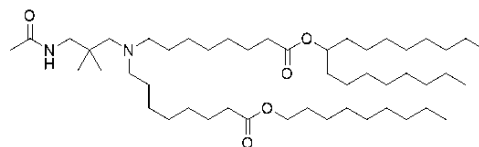
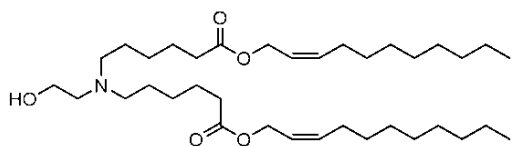
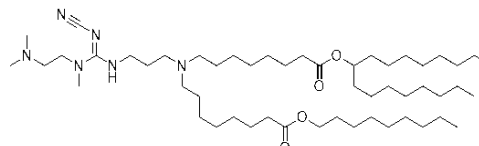
20

I 13
7I 28
4I 13
8I 28
5

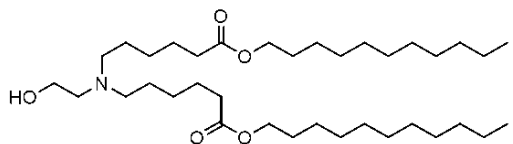
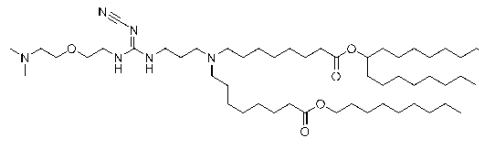
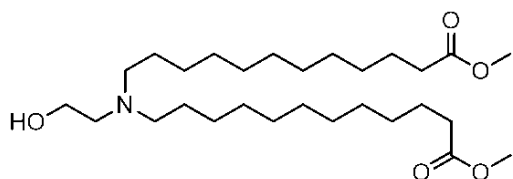
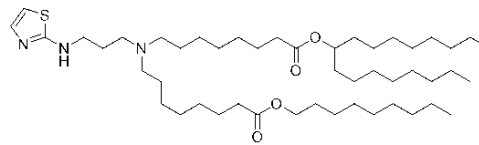
30

40

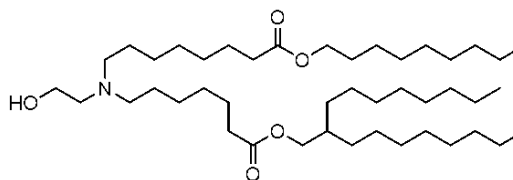
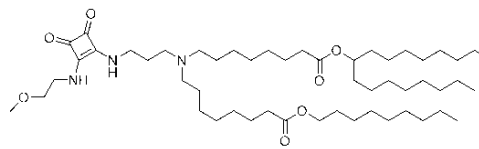
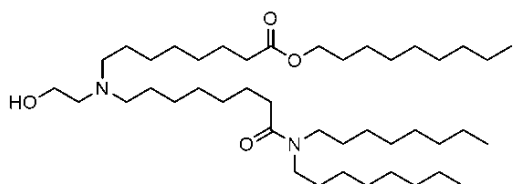
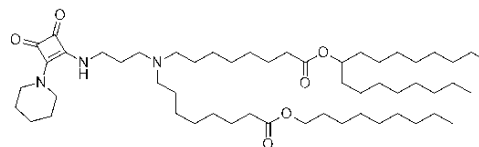
50

I 13
9I 28
6I 14
0I 28
7

10

I 14
1I 28
8I 14
2I 28
9

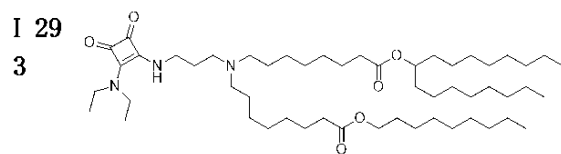
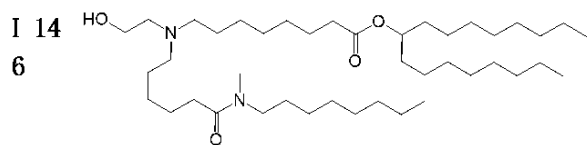
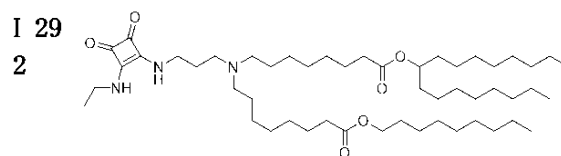
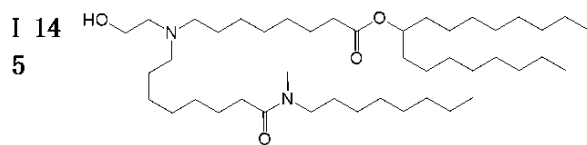
20

I 14
3I 29
0I 14
4I 29
1

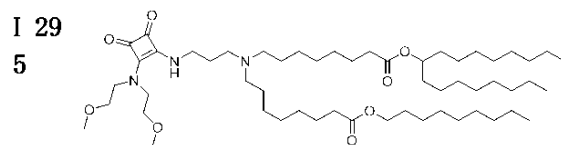
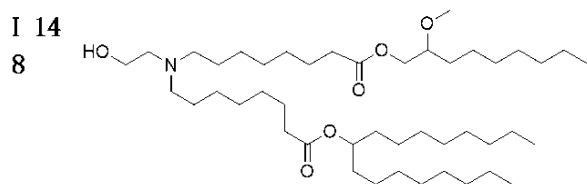
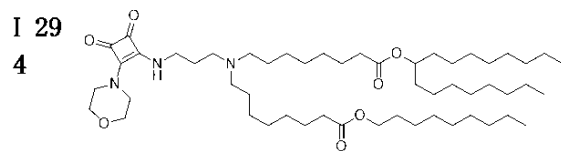
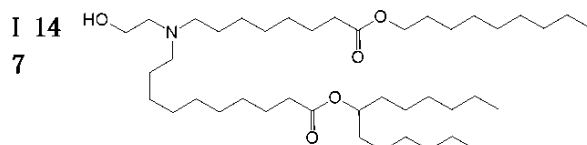
30

40

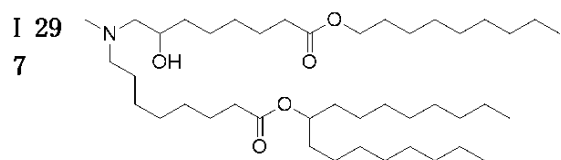
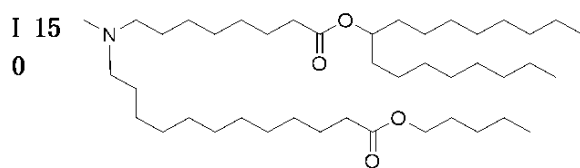
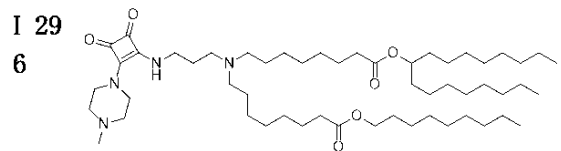
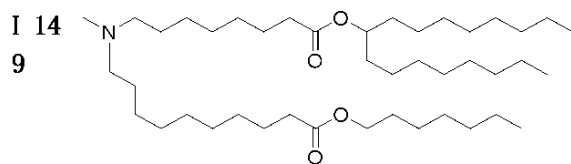
50



10



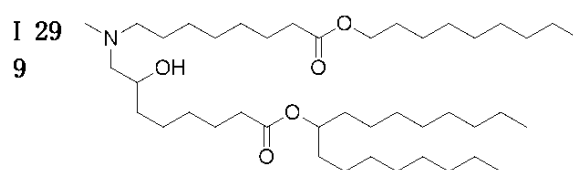
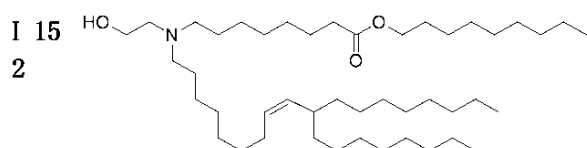
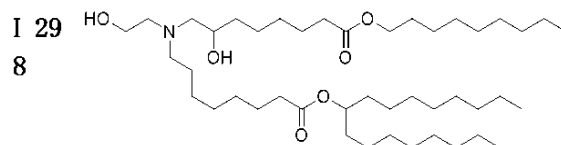
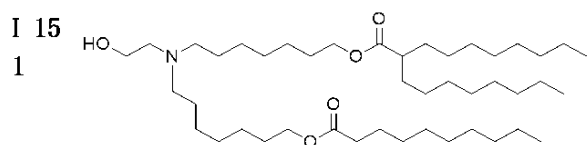
20



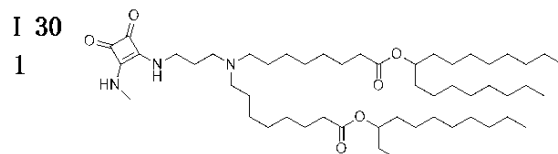
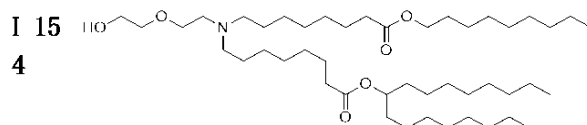
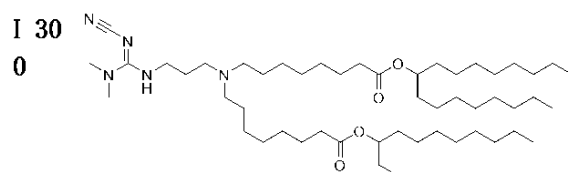
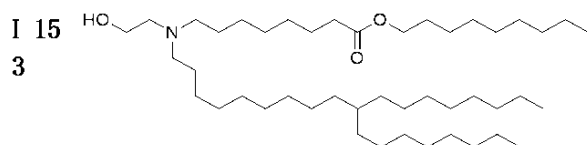
30

40

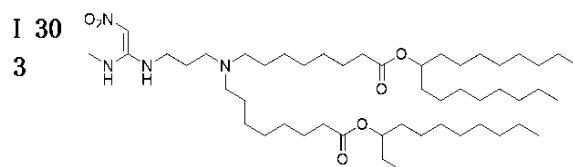
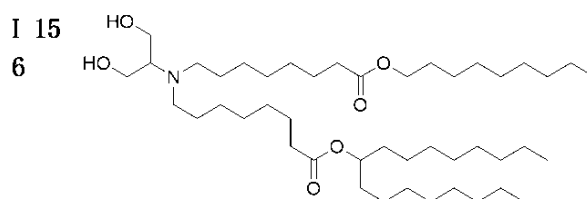
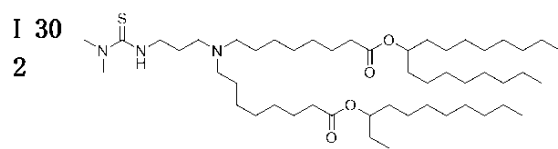
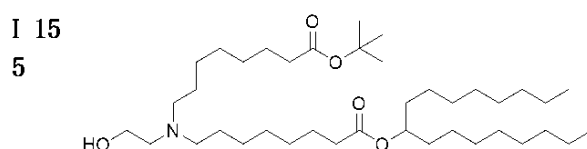
50



10



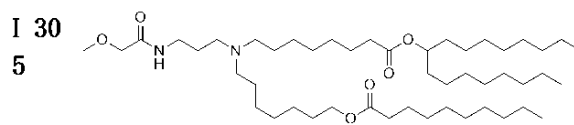
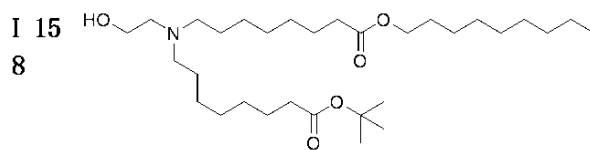
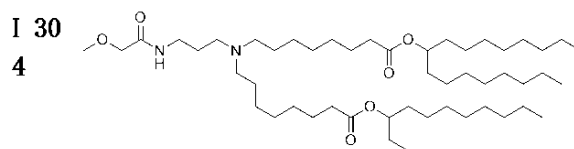
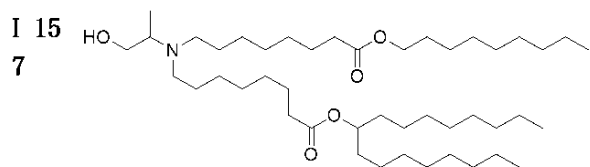
20



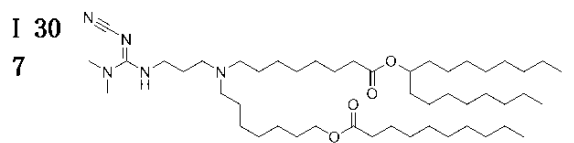
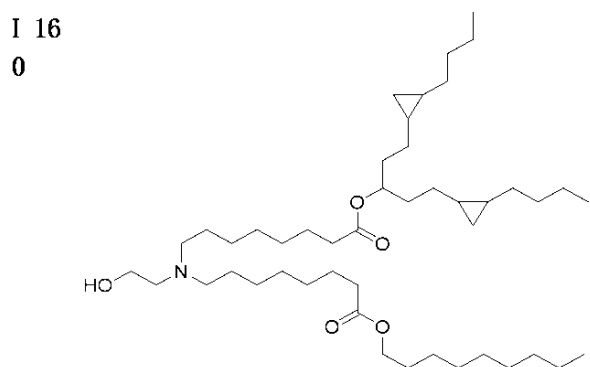
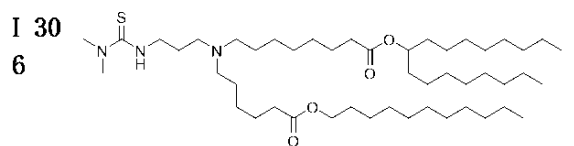
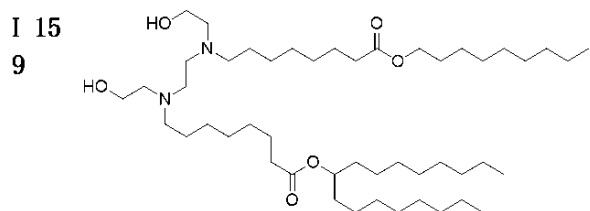
30

40

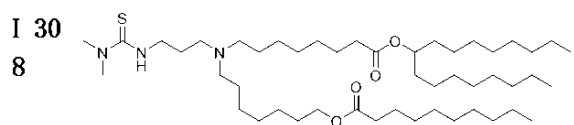
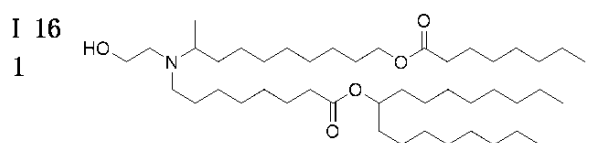
50



10



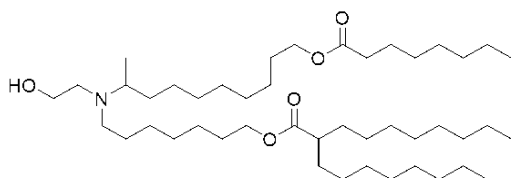
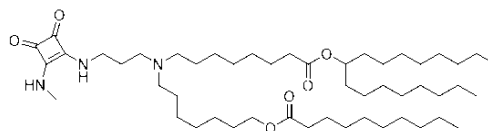
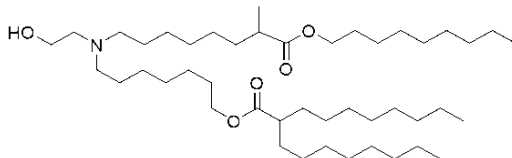
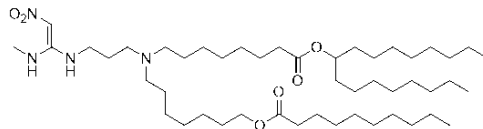
20



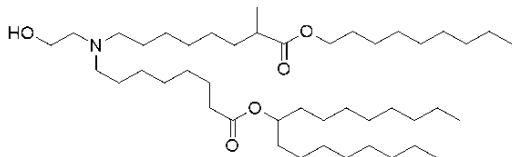
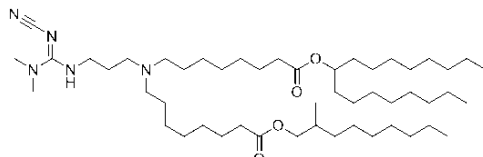
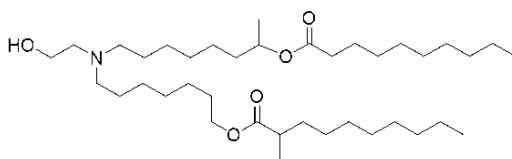
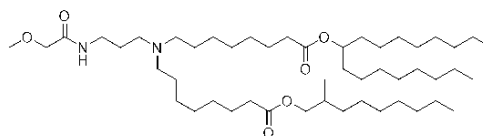
30

40

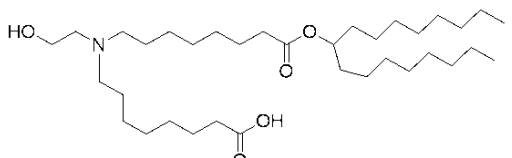
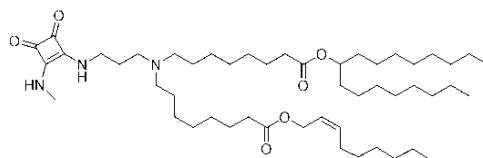
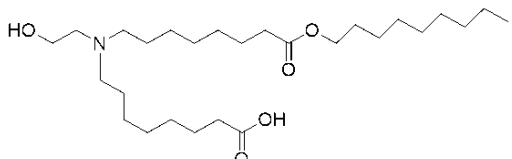
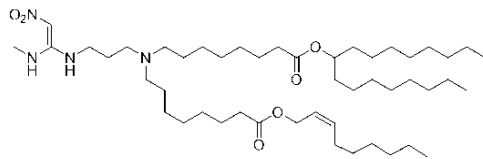
50

I 16
2I 30
9I 16
3I 31
0

10

I 16
4I 31
1I 16
5I 31
2

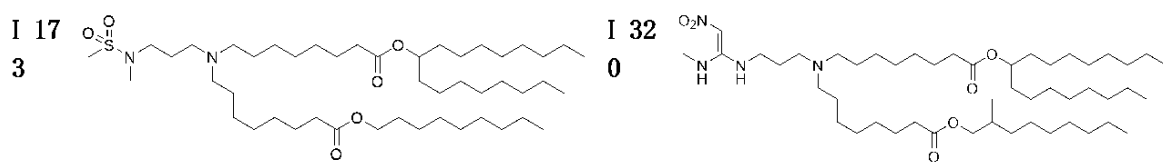
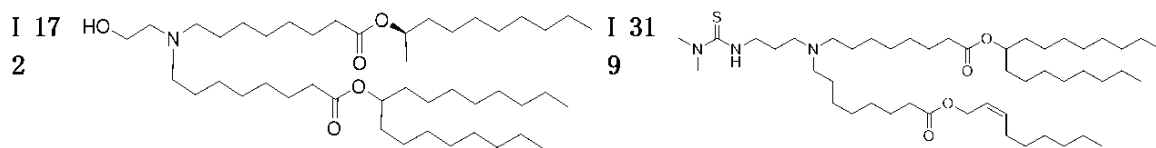
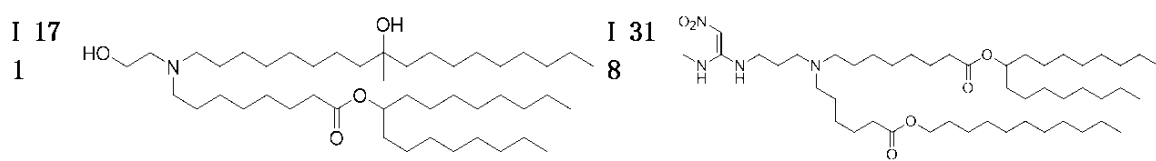
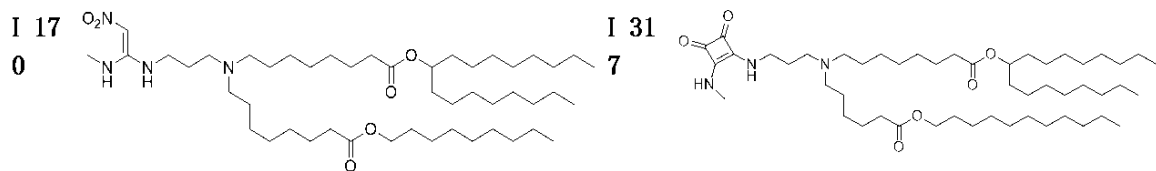
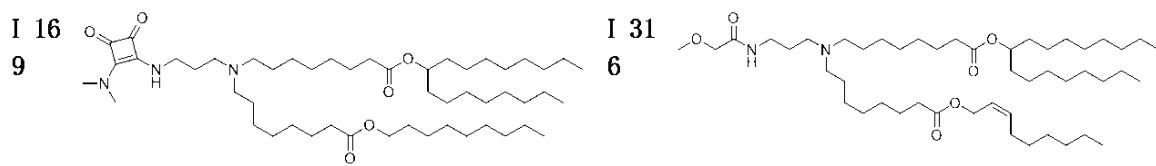
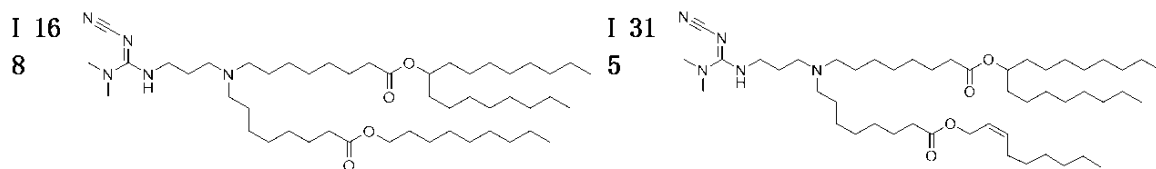
20

I 16
6I 31
3I 16
7I 31
4

30

40

50



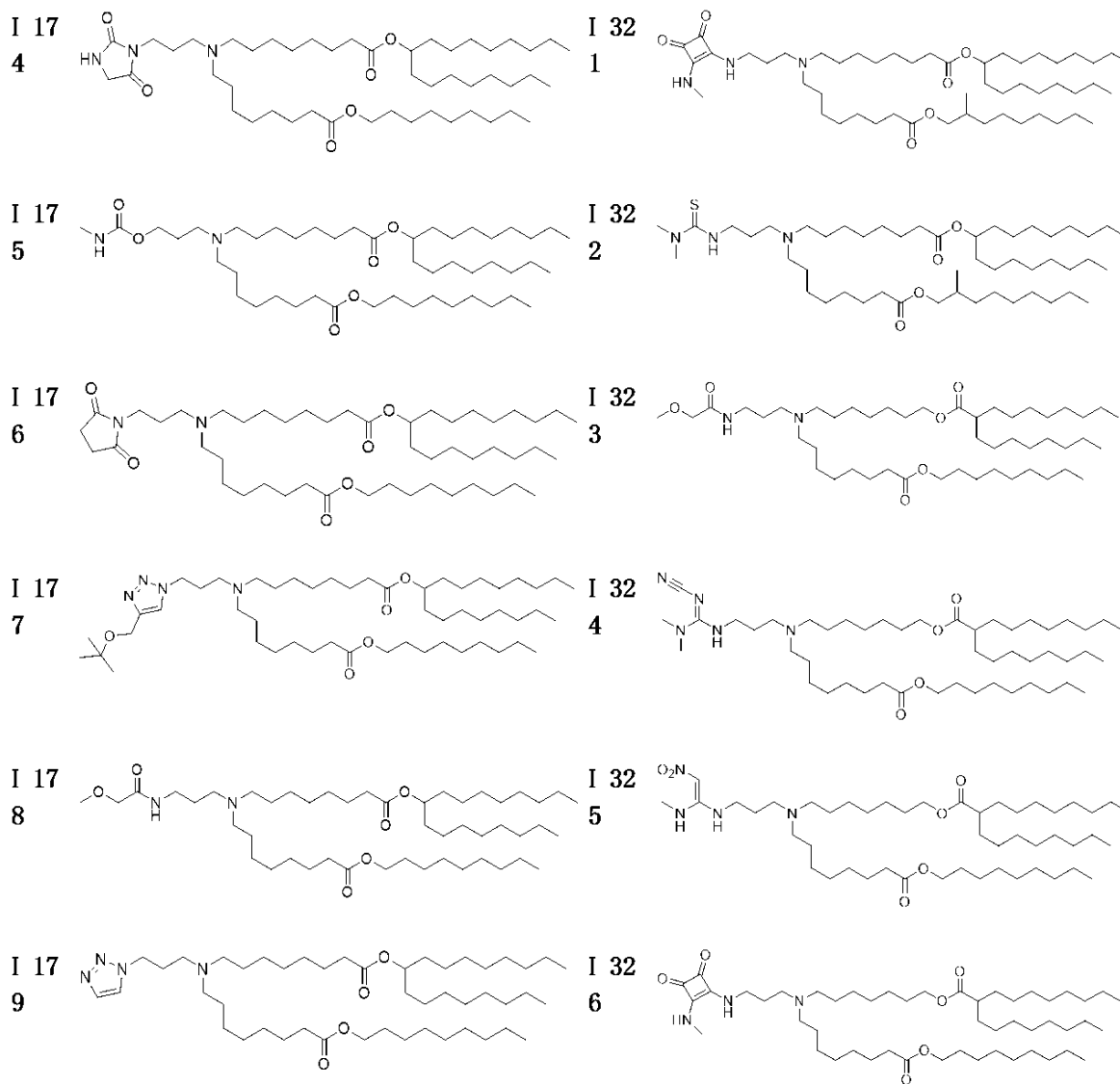
10

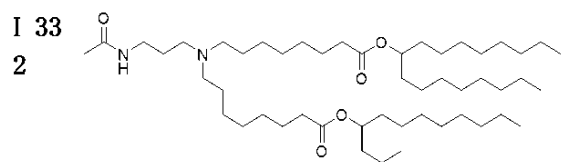
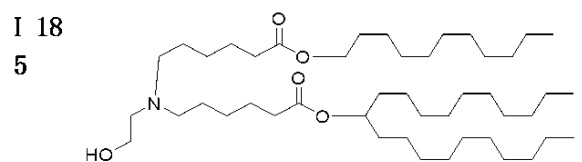
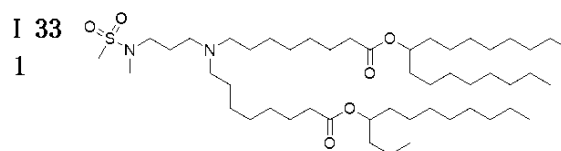
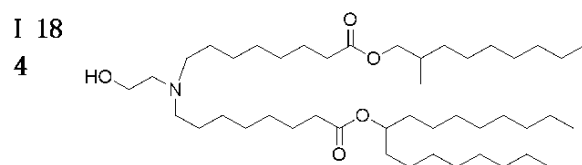
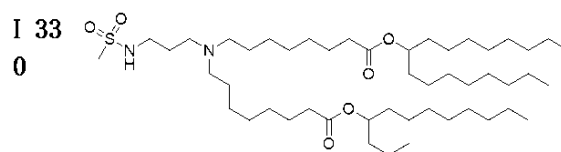
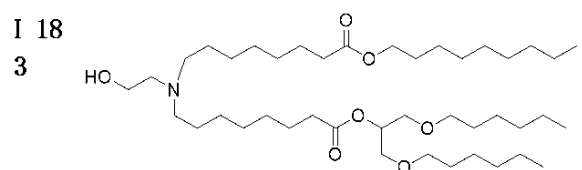
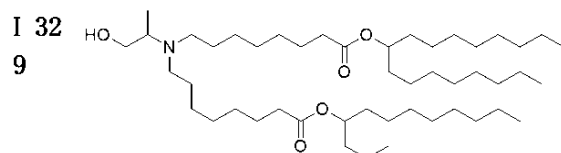
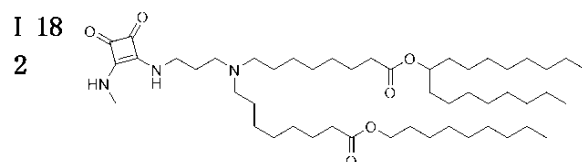
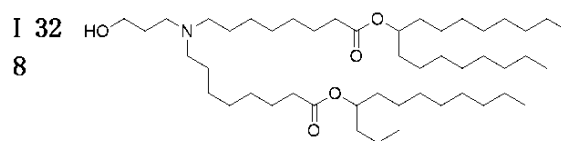
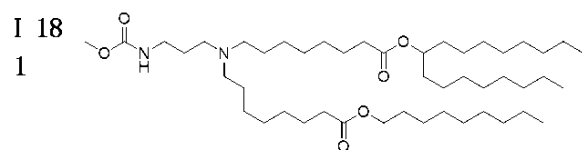
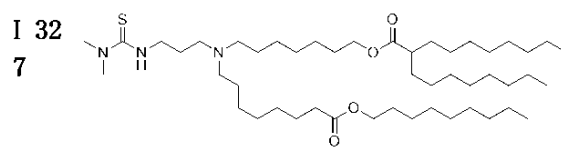
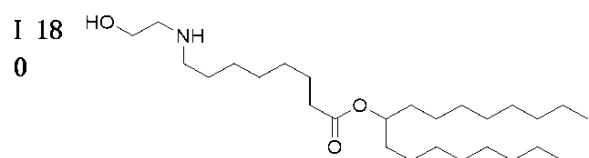
20

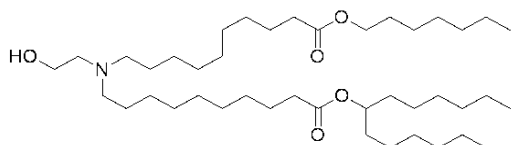
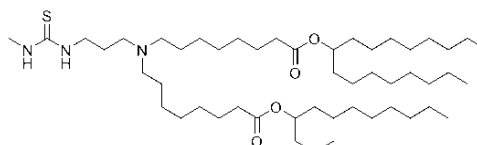
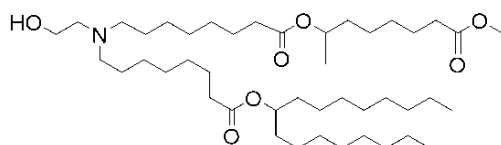
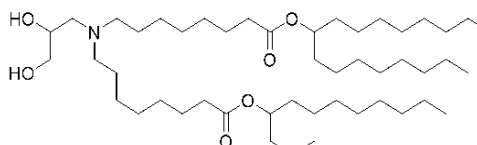
30

40

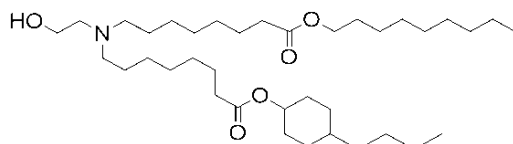
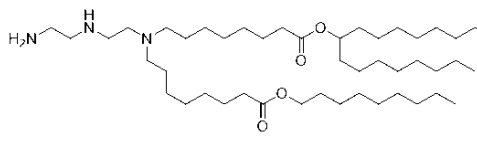
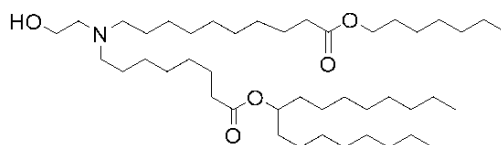
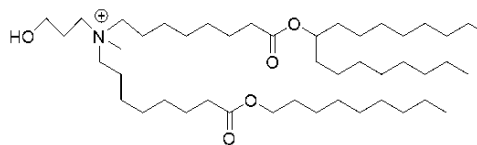
50



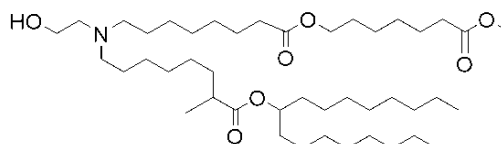
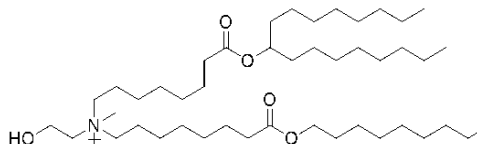
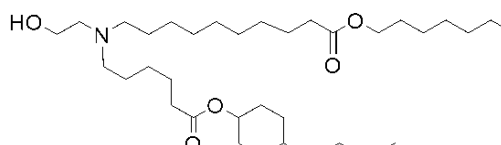
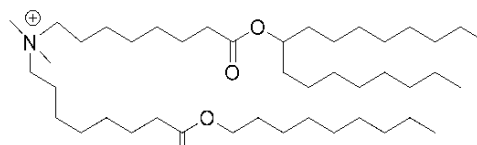


I 18
6I 33
3I 18
7I 33
4

10

I 18
8I 33
5I 18
9I 33
6

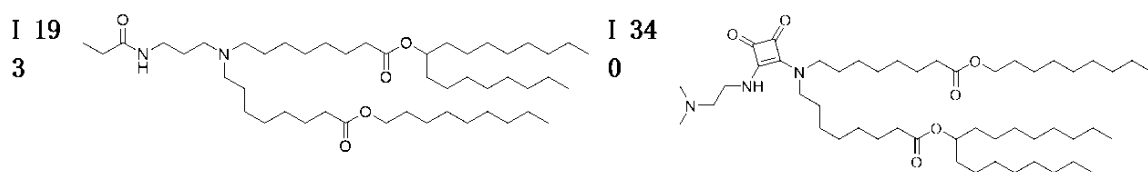
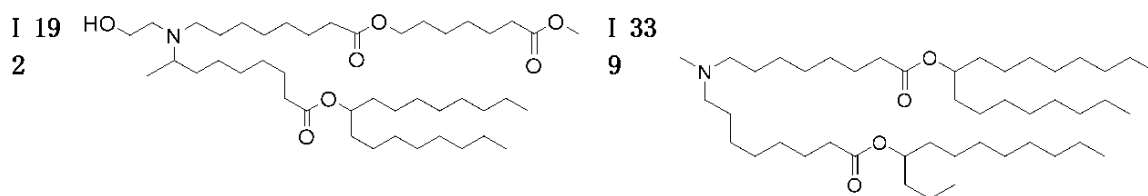
20

I 19
0I 33
7I 19
1I 33
8

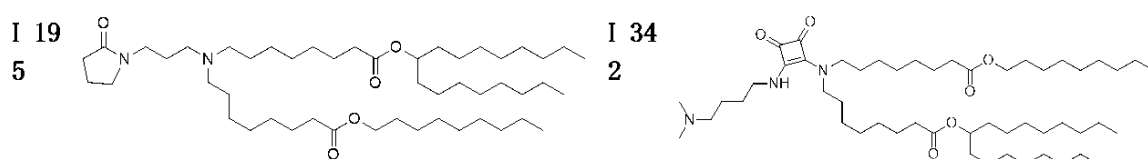
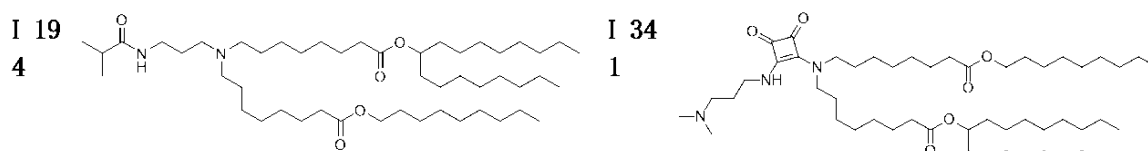
30

40

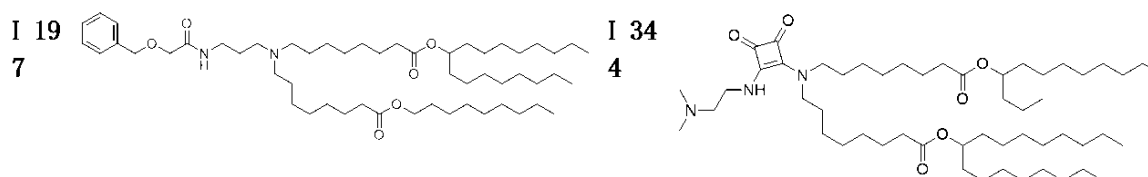
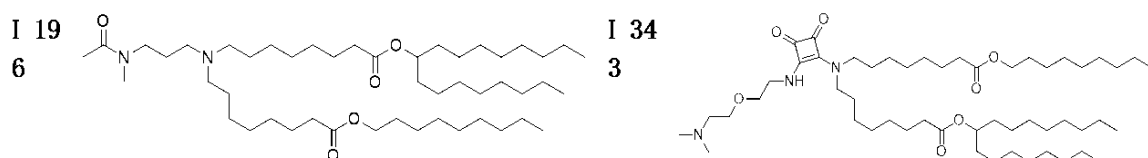
50



10



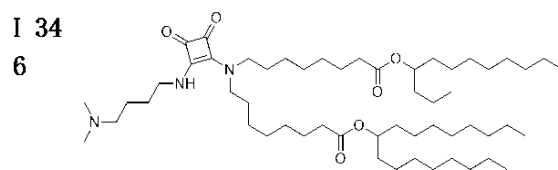
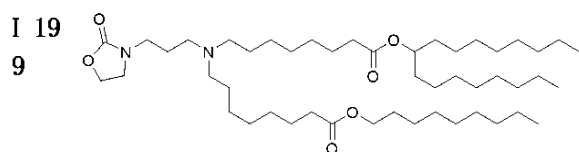
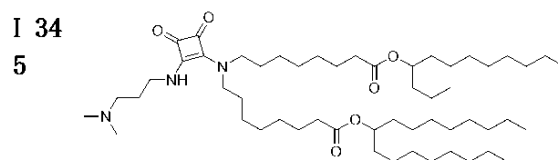
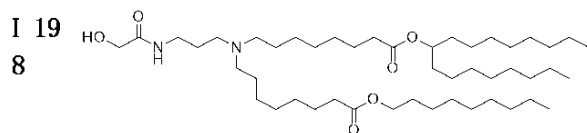
20



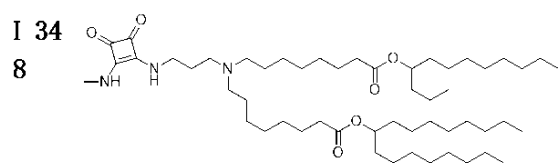
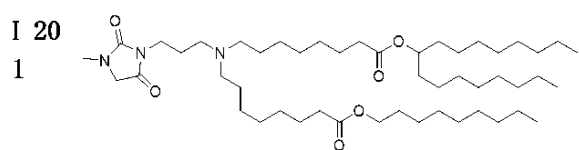
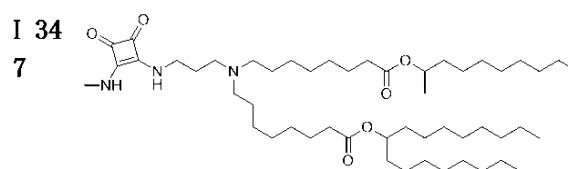
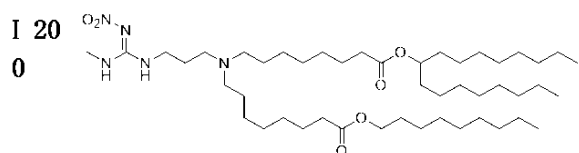
30

40

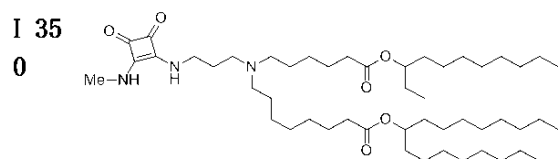
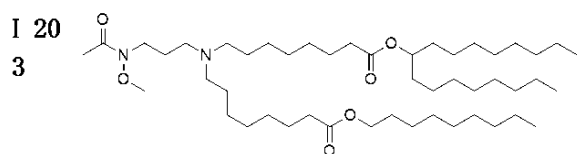
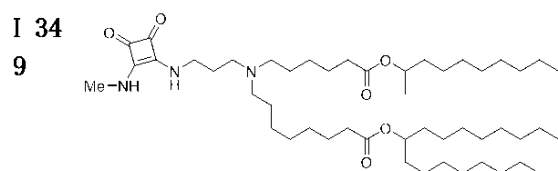
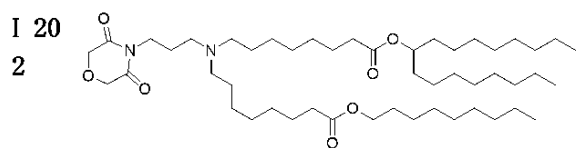
50



10



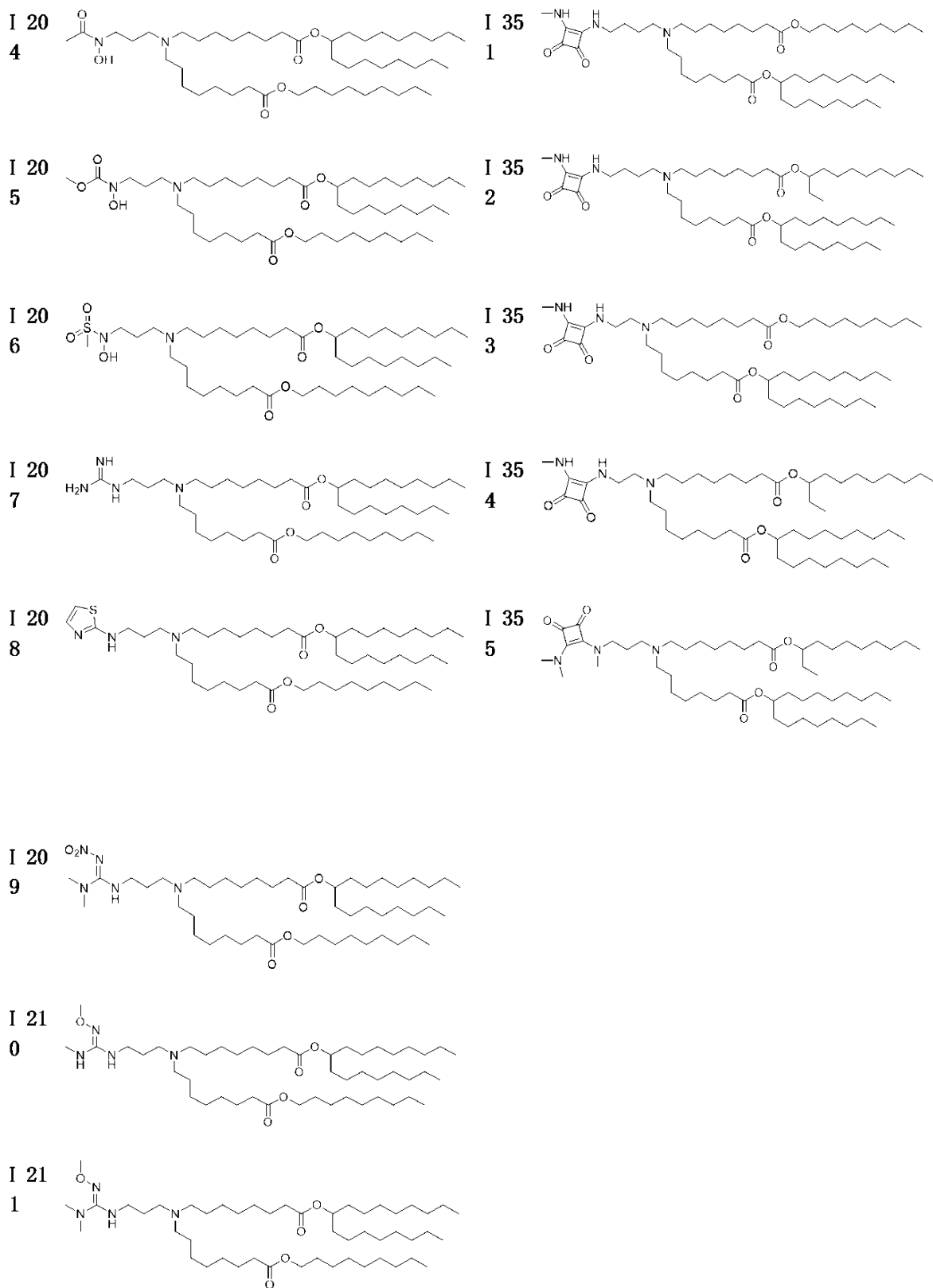
20



30

40

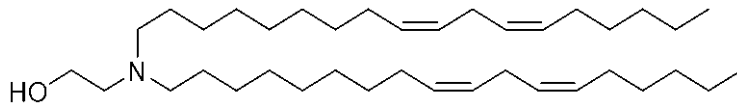
50



からなる群から選択される。

【 0 4 8 6 】

一部の実施形態では、本開示の脂質は、化合物 I - 3 4 0 A、



(化合物 I-340A) を含む。

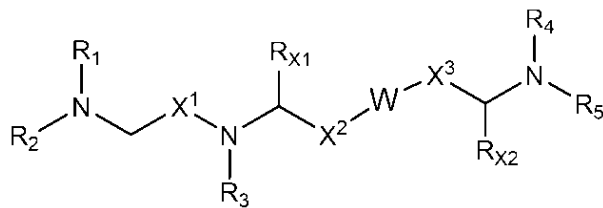
【0487】

式 (I I)、(I IA)、I (IB)、I (II)、(I IIa)、(I IIb)、(I IIc)、(I IId)、(I IIe)、(I IIIf)、(I IIg)、(I IIH)、(I VI)、(I VI-a)、(I VII)、(I VIIH)、(I VIIa)、(I VIIH a)、(I VIIH b)、(I VIIH b-1)、(I VIIH b-2)、(I VIIH b-3)、(I VIIH c)、(I VIIH d)、(I VIIH c)、または (I VIIH d) の脂質の中心アミン部分は、生理学的 pH において、プロトン化されていてもよい。それゆえ、脂質は、生理学的 pH において、正電荷または部分的な正電荷を有していてもよい。このような脂質は、カチオン性またはイオン性 (アミノ) 脂質と呼ばれることもある。脂質はまた、両性イオン性、すなわち、正電荷と負電荷の両方を有する中性分子であってもよい。

10

【0488】

一部の態様では、本開示のイオン性脂質は、式 I (I IX) の化合物、



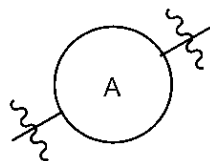
20

(I IX)、

またはその塩もしくは異性体のうちの1つまたは複数であってもよく、

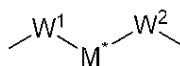
式中、

Wは



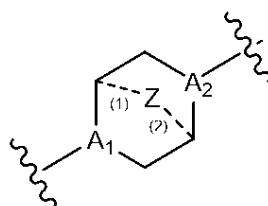
30

または



であり、

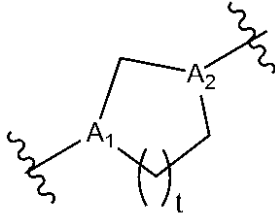
環 A は



40

または

50



であり、

t は 1 または 2 であり、

A_1 及び A_2 はそれぞれ、 CH または N から独立して選択され、

Z は CH_2 または 不在 であり、式中、 Z が CH_2 である場合、破線 (1) 及び (2) はそれぞれ単結合を表し、 Z が不在である場合、破線 (1) 及び (2) は両方とも不在であり、

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、及び R_5 は、 C_5-20 アルキル、 C_5-20 アルケニル、 $-R'$ 、 MR' 、 $-^*RYR''$ 、 $-YR''$ 、及び $^*OR''$ からなる群から独立して選択され、

R_{X1} 及び R_{X2} はそれぞれ独立して、 H または C_1-3 アルキルであり、

それぞれの M は、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(OS)-$ 、 $-SC(O)-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基からなる群から独立して選択され、

M^* は C_1-C_6 アルキルであり、

W^1 及び W^2 はそれぞれ、 $-O-$ 及び $-N(R_6)-$ からなる群から独立して選択され、

それぞれの R_6 は、 H 及び C_1-5 アルキルからなる群から独立して選択され、

X^1 、 X^2 、及び X^3 は、結合、 $-CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2-$ 、 $-CHR-$ 、 $-CHY-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-(CH_2)_n-C(O)-$ 、 $-C(O)-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2)_n-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2)_n-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-(CH_2)_n-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-C(S)-$ 、及び $-CH(SH)-$ からなる群から独立して選択され、

それぞれの Y は独立して、 C_3-6 炭素環であり、

それぞれの R^* は、 C_1-12 アルキル及び C_2-12 アルケニルからなる群から独立して選択され、

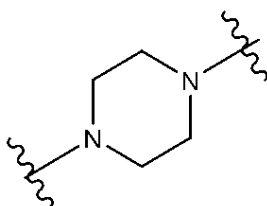
それぞれの R は、 C_1-3 アルキル及び C_3-6 炭素環からなる群から独立して選択され、

それぞれの R' は、 C_1-12 アルキル、 C_2-12 アルケニル、及び H からなる群から独立して選択され、

それぞれの R'' は、 C_1-12 アルキル、 C_3-12 アルケニル、及び $-R^*MR'$ からなる群から独立して選択され、

n は、1~6 の整数であり、

式中、環 A が



である場合、

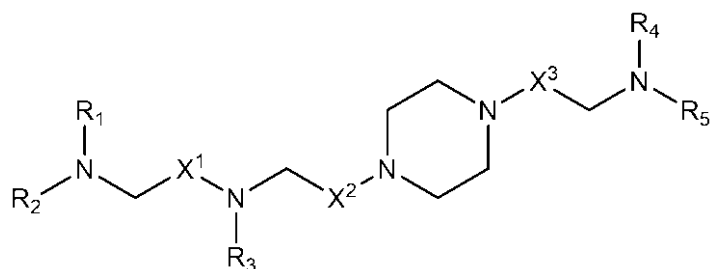
i) X^1 、 X^2 、及び X^3 のうちの少なくとも 1 つは $-CH_2-$ ではない、及び / また

は、

i i) R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、及び R_5 のうちの少なくとも1つは $-R''MR'$ である。

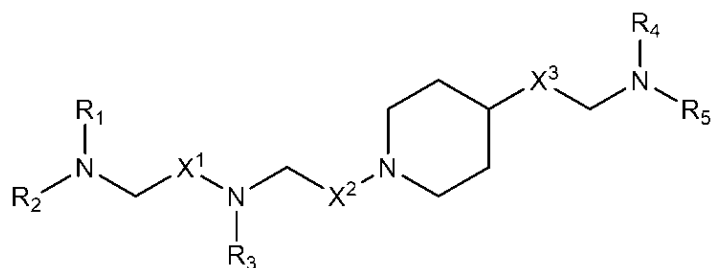
【0489】

一部の実施形態では、化合物は、式(I IX a 1)～(I IX a 8)のいずれかの化合物、



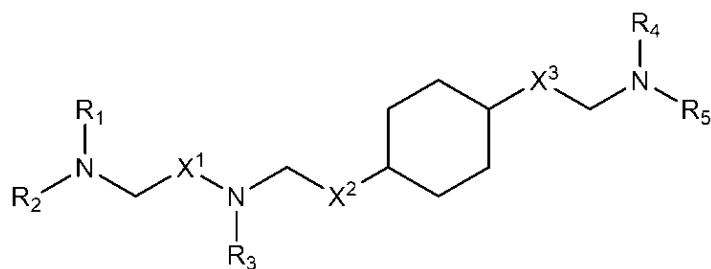
10

(I IX a 1)、



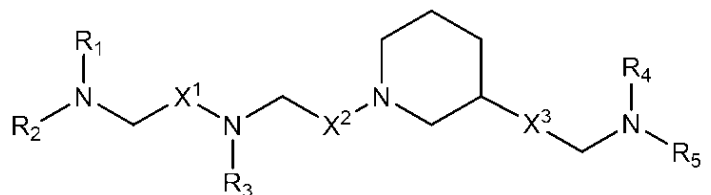
20

(I IX a 2)、



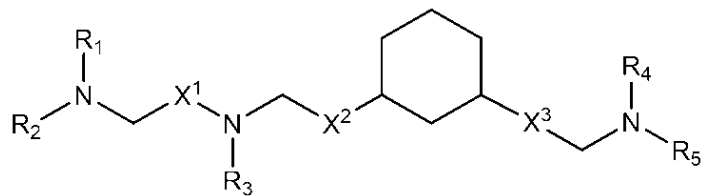
30

(I IX a 3)、



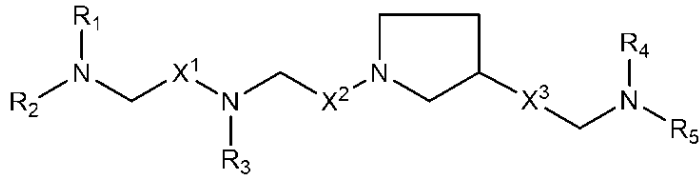
40

(I IX a 4)、

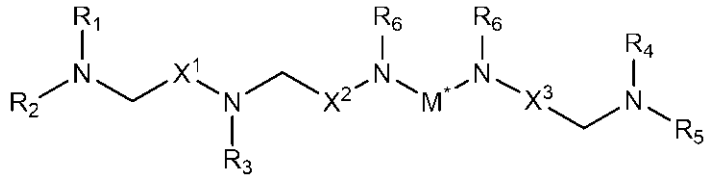


50

(I I X a 5 ') 、

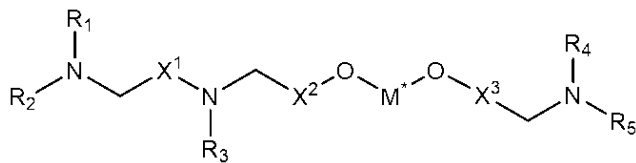


(I I X a 6) 、



10

(I I X a 7) 、または、



20

(I I X a 8)

である。

【 0 4 9 0 】

一部の実施形態では、イオン性脂質は、米国出願第 6 2 / 2 7 1 , 1 4 6 号、第 6 2 / 3 3 8 , 4 7 4 号、第 6 2 / 4 1 3 , 3 4 5 号、及び第 6 2 / 5 1 9 , 8 2 6 号、ならびに P C T 出願第 P C T / U S 2 0 1 6 / 0 6 8 3 0 0 号に記載されている化合物のうちの 1 つまたは複数である。

【 0 4 9 1 】

一部の実施形態では、イオン性脂質は、米国出願第 6 2 / 5 1 9 , 8 2 6 号に記載されている化合物 1 ~ 1 5 6 から選択される。

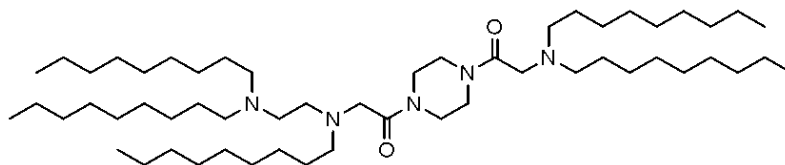
30

【 0 4 9 2 】

一部の実施形態では、イオン性脂質は、米国出願第 6 2 / 5 1 9 , 8 2 6 号に記載されている化合物 1 ~ 1 6 , 4 2 ~ 6 6 , 6 8 ~ 7 6 , 及び 7 8 ~ 1 5 6 から選択される。

【 0 4 9 3 】

一部の実施形態では、イオン性脂質は、

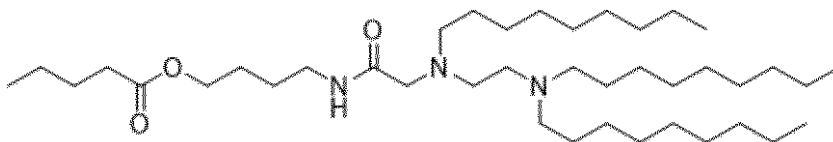


40

(化合物 I - 3 5 6 (本明細書ではまた、化合物 M と呼ぶ)) またはその塩である。

【 0 4 9 4 】

一部の実施形態では、イオン性脂質は、

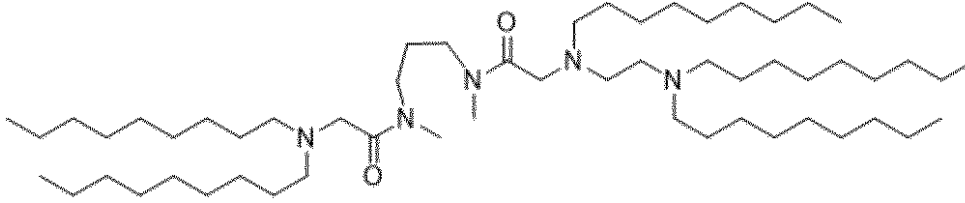


50

【化合物Ⅰ－N】 またはその塩である。

【0495】

一部の実施形態では、イオン性脂質は、

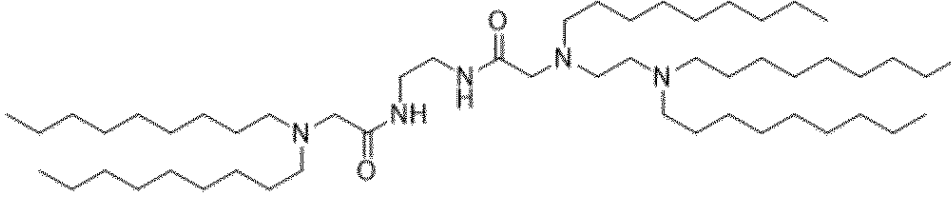


10

【化合物Ⅰ－O】 またはその塩である。

【0496】

一部の実施形態では、イオン性脂質は、

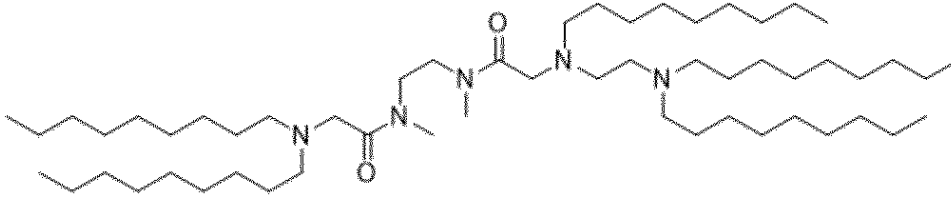


20

【化合物Ⅰ－P】 またはその塩である。

【0497】

一部の実施形態では、イオン性脂質は、



30

【化合物Ⅰ－Q】 またはその塩である。

【0498】

本明細書の式のいずれかの脂質、例えば、式（ⅠⅠ）、（ⅠⅠA）、（ⅠⅠB）、（ⅠⅠ）、（ⅠⅠa）、（ⅠⅠb）、（ⅠⅠc）、（ⅠⅠd）、（ⅠⅠe）、（ⅠⅠf）、（ⅠⅠg）、（ⅠⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠ-a）、（ⅠⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠⅠa）、（ⅠⅠⅠⅠb）、（ⅠⅠⅠⅠb-1）、（ⅠⅠⅠⅠb-2）、（ⅠⅠⅠⅠb-3）、（ⅠⅠⅠⅠc）、（ⅠⅠⅠⅠd）、（ⅠⅠⅠⅠⅠc）、（ⅠⅠⅠⅠⅠd）、（ⅠⅠⅠⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠⅠⅠa1）、（ⅠⅠⅠⅠⅠa2）、（ⅠⅠⅠⅠⅠa3）、（ⅠⅠⅠⅠⅠa4）、（ⅠⅠⅠⅠⅠa5）、（ⅠⅠⅠⅠⅠa6）、（ⅠⅠⅠⅠⅠa7）、または（ⅠⅠⅠⅠⅠa8）（これらの式のそれぞれの先頭には明確性のために文字Ⅰを付している）のいずれかを有する化合物の中心アミン部分は、生理学的 pHにおいて、プロトン化されていてもよい。それゆえ、脂質は、生理学的 pHにおいて、正電荷または部分的な正電荷を有していてもよい。このような脂質は、カチオン性またはイオン性（アミノ）脂質と呼ばれることもある。脂質はまた、両性イオン性、すなわち、正電荷と負電荷の両方を有する中性分子であってもよい。

40

【0499】

一部の実施形態では、本発明のイオン性アミノ脂質、例えば、式（Ⅰ）、（ⅠA）、（ⅠB）、（ⅠⅠ）、（ⅠⅠa）、（ⅠⅠb）、（ⅠⅠc）、（ⅠⅠd）、（ⅠⅠe）、（ⅠⅠf）、（ⅠⅠg）、（ⅠⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠ-a）、（ⅠⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠⅠa）、（ⅠⅠⅠⅠb）、（ⅠⅠⅠⅠb-1）、（ⅠⅠⅠⅠb-2）、（ⅠⅠⅠⅠb-3）、（ⅠⅠⅠⅠc）、（ⅠⅠⅠⅠd）、（ⅠⅠⅠⅠⅠc）、（ⅠⅠⅠⅠⅠd）

50

)、(IX)、(IXa1)、(IXa2)、(IXa3)、(IXa4)、(IXa5)、(IXa6)、(IXa7)、または(IXa8) (これらの式のそれぞれの先頭には明確性のために文字Iを付している) のいずれかを有する化合物の量は、脂質組成物中約1mol%~99mol%の範囲である。

【0500】

一実施形態では、本発明のイオン性アミノ脂質、例えば、式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf)、(IIg)、(III)、(VI)、(VI-a)、(VII)、(VIII)、(VIIa)、(VIIIa)、(VIIIb)、(VIIIb-1)、(VIIIb-2)、(VIIIb-3)、(VIIIc)、(VIIId)、(VIIIIc)、(VIIIID)、(IX)、(IXa1)、(IXa2)、(IXa3)、(IXa4)、(IXa5)、(IXa6)、(IXa7)、または(IXa8) (これらの式のそれぞれの先頭には明確性のために文字Iを付している) のいずれかを有する化合物の量は、脂質組成物中少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99mol%である。

【0501】

一実施形態では、本発明のイオン性アミノ脂質、例えば、式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf)、(IIg)、(III)、(VI)、(VI-a)、(VII)、(VIII)、(VIIa)、(VIIIa)、(VIIIb)、(VIIIb-1)、(VIIIb-2)、(VIIIb-3)、(VIIIc)、(VIIId)、(VIIIIc)、(VIIIID)、(IX)、(IXa1)、(IXa2)、(IXa3)、(IXa4)、(IXa5)、(IXa6)、(IXa7)、または(IXa8) (これらの式のそれぞれの先頭には明確性のために文字Iを付している) のいずれかを有する化合物の量は、脂質組成物中約30mol%~約70mol%、約35mol%~約65mol%、約40mol%~約60mol%、及び約45mol%~約55mol%の範囲である。

【0502】

1つの特定の実施形態では、本発明のイオン性アミノ脂質、例えば、式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf)、(IIg)、(III)、(VI)、(VI-a)、(VII)、(VIII)、(VIIa)、(VIIIa)、(VIIIb)、(VIIIb-1)、(VIIIb-2)、(VIIIb-3)、(VIIIc)、(VIIId)、(VIIIIc)、(VIIIID)、(IX)、(IXa1)、(IXa2)、(IXa3)、(IXa4)、(IXa5)、(IXa6)、(IXa7)、または(IXa8) (これらの式のそれぞれの先頭には明確性のために文字Iを付している) のいずれかを有する化合物の量は、脂質組成物中約45mol%である。

【0503】

1つの特定の実施形態では、本発明のイオン性アミノ脂質、例えば、式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf)、(IIg)、(III)、(VI)、(VI-a)、(VII)、(VIII)、(VIIa)、(VIIIa)、(VIIIb)、(VIIIb-1)、(VIIIb-2)、(VIIIb-3)、(VIIIc)、(VIIId)、(VIIIIc)、(VIIIID)、(IX)、(IXa1)、(IXa2)、(IXa3)、(IXa4)、(IXa5)、(IXa6)、(IXa7)、または(IXa8) (これらの式のそれぞれの

先頭には明確性のために文字 I を付している) のいずれかを有する化合物の量は、脂質組成物中約 40 mol % である。

【0504】

1つの特定の実施形態では、本発明のイオン性アミノ脂質、例えば、式 (I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf)、(IIg)、(III)、(VI)、(VI-a)、(VII)、(VIII)、(VIIIa)、(VIIIb)、(VIIIb-1)、(VIIIb-2)、(VIIIb-3)、(VIIIc)、(VIIId)、(VIIIIc)、(VIIIId)、(IX)、(IXa1)、(IXa2)、(IXa3)、(IXa4)、(IXa5)、(IXa6)、(IXa7)、または (IXa8) (これらの式のそれぞれの先頭には明確性のために文字 I を付している) のいずれかを有する化合物の量は、脂質組成物中約 50 mol % である。

【0505】

本明細書で開示するイオン性アミノ脂質、例えば、式 (I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf)、(IIg)、(III)、(VI)、(VI-a)、(VII)、(VIII)、(VIIIa)、(VIIIb)、(VIIIb-1)、(VIIIb-2)、(VIIIb-3)、(VIIIc)、(VIIId)、(VIIIIc)、(VIIIId)、(IX)、(IXa1)、(IXa2)、(IXa3)、(IXa4)、(IXa5)、(IXa6)、(IXa7)、または (IXa8) (これらの式のそれぞれの先頭には明確性のために文字 I を付している) のいずれかを有する化合物に加えて、本明細書で開示する脂質性組成物 (例えば、脂質ナノ粒子) は、別の構成成分、例えば、コレステロール及び／またはコレステロール類似体、非カチオン性ヘルパー脂質、構造脂質、PEG 脂質、及びこれらの任意の組み合わせなどを含んでもよい。

【0506】

本発明の別のイオン性脂質は、3-(ジドデシルアミノ)-N1, N1, 4-トリドデシル-1-ピペラジンエタンアミン (KL10)、N1-[2-(ジドデシルアミノ)エチル]-N1, N4, N4-トリドデシル-1, 4-ピペラジンジエタンアミン (KL22)、14, 25-ジトリドデシル-15, 18, 21, 24-テトラアザ-オクタトリアコンタン (KL25)、1, 2-ジリノレイルオキシ-N, N-ジメチルアミノプロパン (DLin-DMA)、2, 2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノメチル-[1, 3]-ジオキソラン (DLin-K-DMA)、ヘプタトリアコンタ-6, 9, 28, 31-テトラエン-19-イル 4-(ジメチルアミノ) ブタノエート (DLin-MC3-DMA)、2, 2-ジリノレイル-4-(2-ジメチルアミノエチル)-[1, 3]-ジオキソラン (DLin-KC2-DMA)、1, 2-ジオレイルオキシ-N, N-ジメチルアミノプロパン (DODMA)、(13Z, 165Z)-N, N-ジメチル-3-ノニドコサ-13-16-ジエン-1-アミン (L608)、2-({8-[(3β)-コレスト-5-エン-3-イルオキシ] オクチル} オキシ)-N, N-ジメチル-3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-1-アミン (オクチル-CLinDMA)、(2R)-2-({8-[(3β)-コレスト-5-エン-3-イルオキシ] オクチル} オキシ)-N, N-ジメチル-3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-1-アミン (オクチル-CLinDMA (2R))、及び (2S)-2-({8-[(3β)-コレスト-5-エン-3-イルオキシ] オクチル} オキシ)-N, N-ジメチル-3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-1-アミン (オクチル-CLinDMA (2S)) からなる非限定群から選択してもよい。これらに加えて、イオン性アミノ脂質はまた、環状アミン基を含む脂質であってもよい。

【0507】

本発明のイオン性脂質はまた、国際公開第WO2017/075531A1号 (その全体は参照により本明細書に組み込まれる) に開示されている化合物であってもよい。例え

10

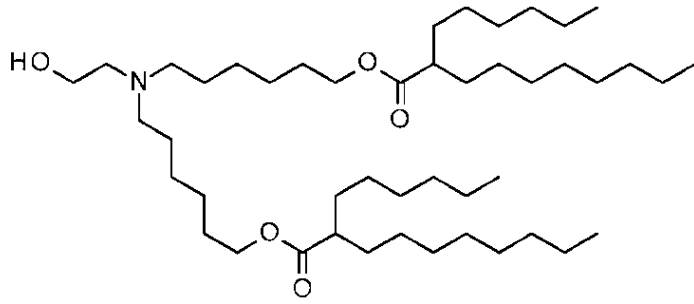
20

30

40

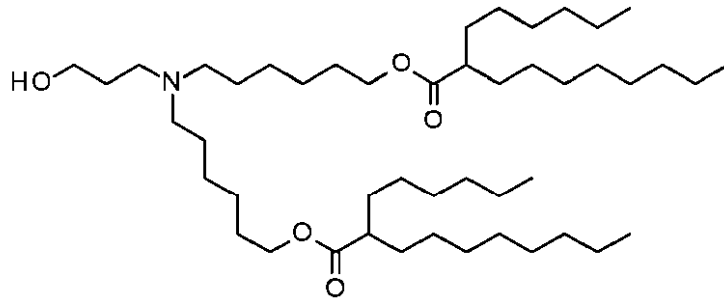
50

ば、イオン性アミノ脂質としては、



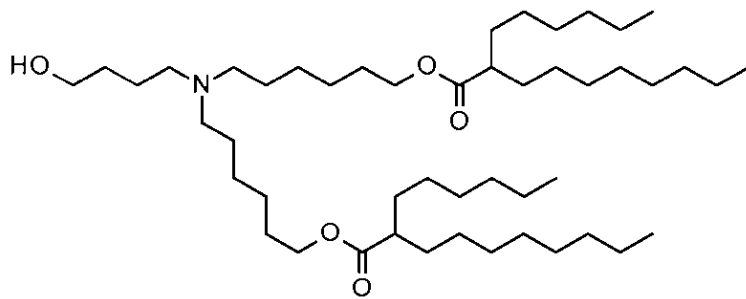
10

、



20

、



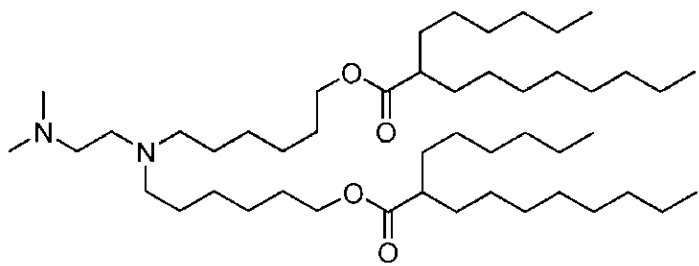
30

、

及びこれらの任意の組み合わせが挙げられるがこれらに限定されない。

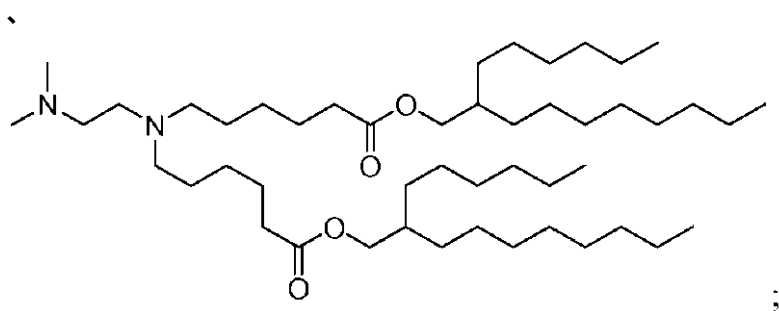
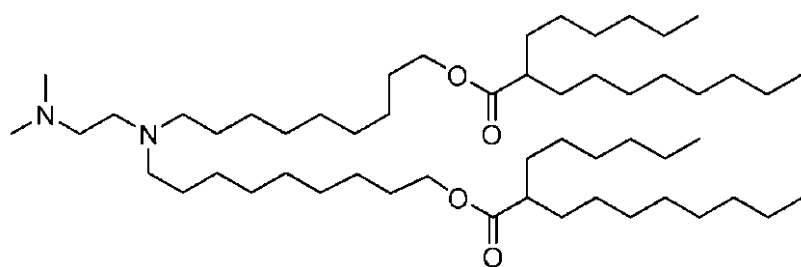
【0508】

本発明のイオン性脂質はまた、国際公開第WO2015/199952A1号（その全体は参照により本明細書に組み込まれる）に開示されている化合物であってもよい。例えば、イオン性アミノ脂質としては、

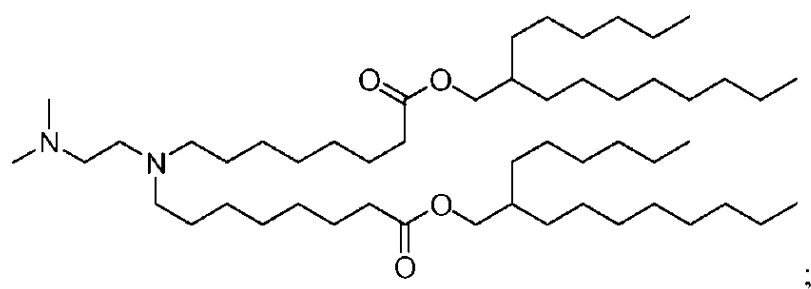


40

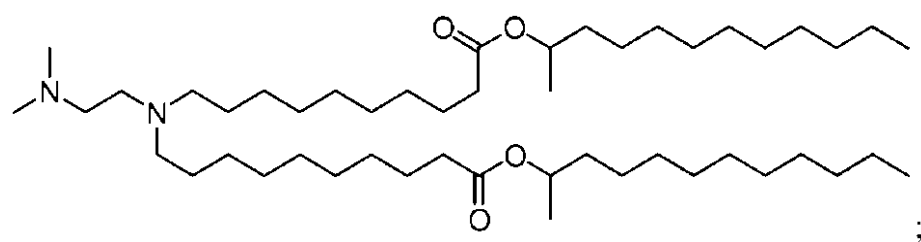
50



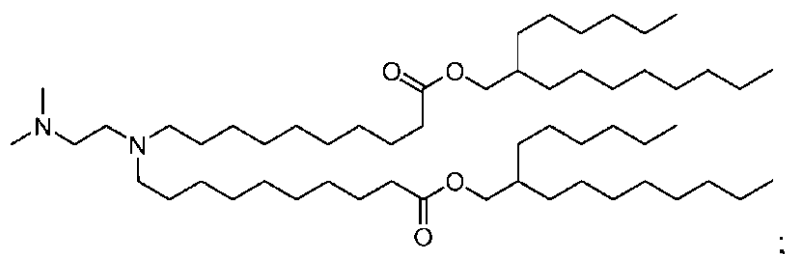
10



20

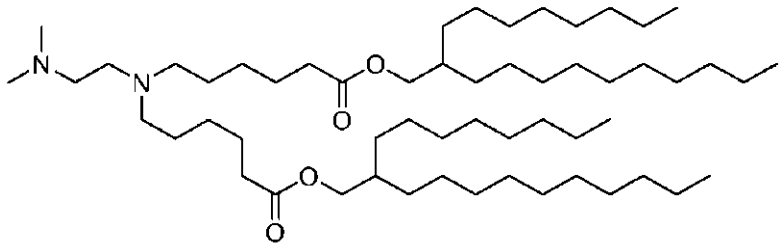


30



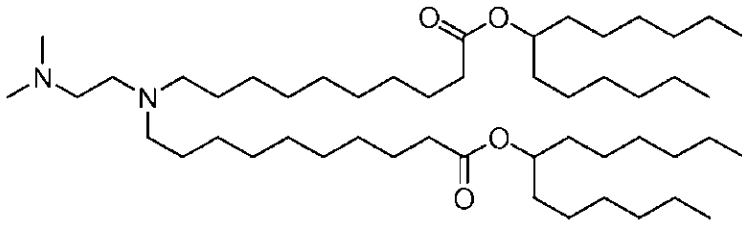
40

50

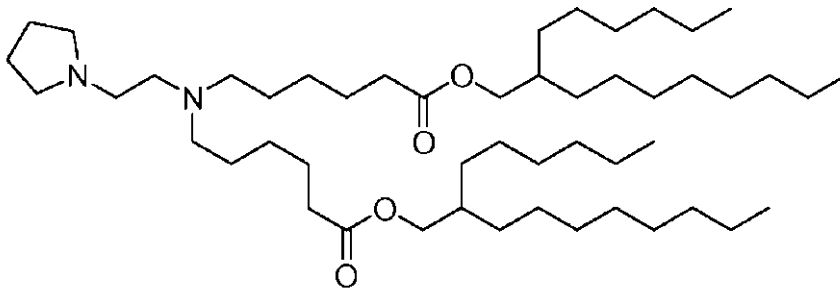


;

10

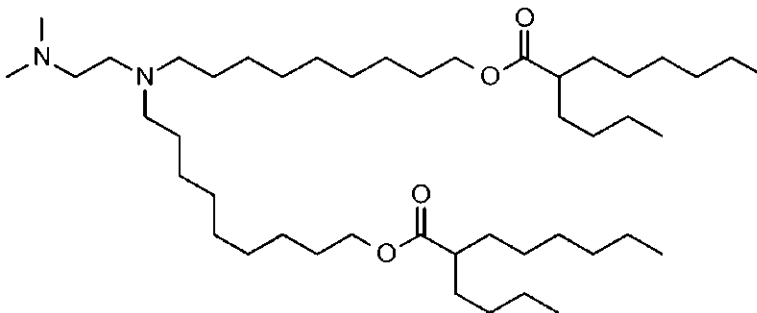


;



;

20



;

30

及びこれらの任意の組み合わせが挙げられるがこれらに限定されない。

【0509】

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPのイオン性脂質は、任意の化合物、例えば、式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf)、(IIg)、(III)、(VI)、(VI-a)、(VII)、(VIII)、(VIIa)、(VIIIa)、(VIIIb)、(VIIb-1)、(VIIb-2)、(VIIb-3)、(VIIc)、(VIId)、(VIIIdc)、(VIIId)、(IX)、(IXa1)、(IXa2)、(IXa3)、(IXa4)、(IXa5)、(IXa6)、(IXa7)、または(IXa8) (これらの式のそれぞれの先頭には明確性のために文字Iを付している) のいずれかを有する化合物中に含まれている化合物を含む。

40

【0510】

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPのイオン性脂質は、化合物番号I 1~356のいずれかを含む化合物を含む。

【0511】

50

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPのイオン性脂質は、化合物番号I 18（化合物Xまたは化合物IIとも呼ばれる）、I 25（化合物Yとも呼ばれる）、I 48、I 50、I 109、I 111、I 113、I 181、I 182、I 244、I 292、I 301、I 321、I 322、I 326、I 328、I 330、I 331、及びI 332からなる群から選択される少なくとも1種の化合物を含む。別の実施形態では、本開示のLNPのイオン性脂質は、化合物番号I 18（化合物Xまたは化合物IIとも呼ばれる）、I 25（化合物Yとも呼ばれる）、I 48、I 50、I 109、I 111、I 181、I 182、I 292、I 301、I 321、I 326、I 328、及びI 330からなる群から選択される化合物を含む。別の実施形態では、本開示のLNPのイオン性脂質は、化合物番号I 182、I 301、I 321、及びI 326からなる群から選択される化合物を含む。

10

【0512】

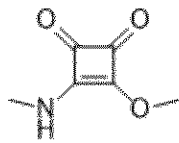
上記または関連する態様のいずれかでは、本発明の化合物、例えば、化合物番号1〜356のいずれかを含む化合物の合成は、2018年9月19日出願の米国仮特許出願第62/733,315号の合成の記述に従う。

【0513】

代表的な合成経路：

化合物I-182：ヘプタデカン-9-イル 8-（（3-（（2-（メチルアミノ）-3,4-ジオキソシクロブタ-1-エン-1-イル）アミノ）プロピル）（8-（ノニルオキシ）-8-オキソオクチル）アミノ）オクタノエート
3-メトキシ-4-（メチルアミノ）シクロブタ-3-エン-1,2-ジオン

20



化学式： $C_6H_7NO_3$

分子量：141.13

100 mLのジエチルエーテル中の3,4-ジメトキシ-3-シクロブテン-1,2-ジオン（1 g、7 mmol）の溶液に、THF中の2 Mメチルアミン溶液（3.8 mL、7.6 mmol）を加えると、ほぼ直ちに沈澱物が形成された。混合物を室温で24時間攪拌してから、濾過し、濾過固体をジエチルエーテルで洗浄し、空気乾燥した。濾過固体を高温EtOAc中に溶解し、濾過してから、濾液を室温まで冷まし、その後、0℃まで冷却して沈澱物を得た。この沈澱物を濾過で単離し、冷却EtOAcで洗浄してから空気乾燥し、その後、減圧下で乾燥させて、3-メトキシ-4-（メチルアミノ）シクロブタ-3-エン-1,2-ジオン（0.70 g、5 mmol、73%）を白色固体として得た。 ^1H NMR（300 MHz, DMSO- d_6 ） δ : ppm 8.50 (br. d, 1H, J = 69 Hz); 4.27 (s, 3H); 3.02 (sdd, 3H, J = 42 Hz, 4.5 Hz).

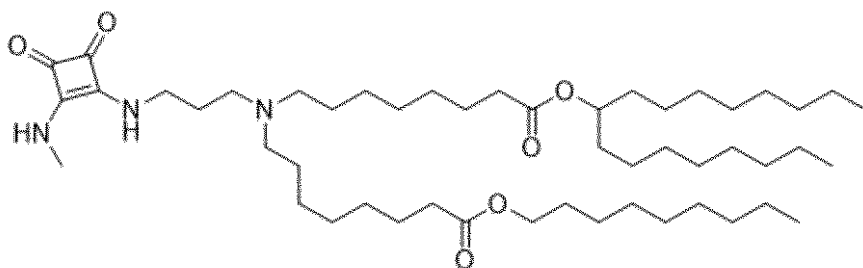
30

40

【0514】

ヘプタデカン-9-イル 8-（（3-（（2-（メチルアミノ）-3,4-ジオキソシクロブタ-1-エン-1-イル）アミノ）プロピル）（8-（ノニルオキシ）-8-オキソオクチル）アミノ）オクタノエート

50



化学式： $C_{50}H_{93}N_3O_6$

分子量：832.31

10

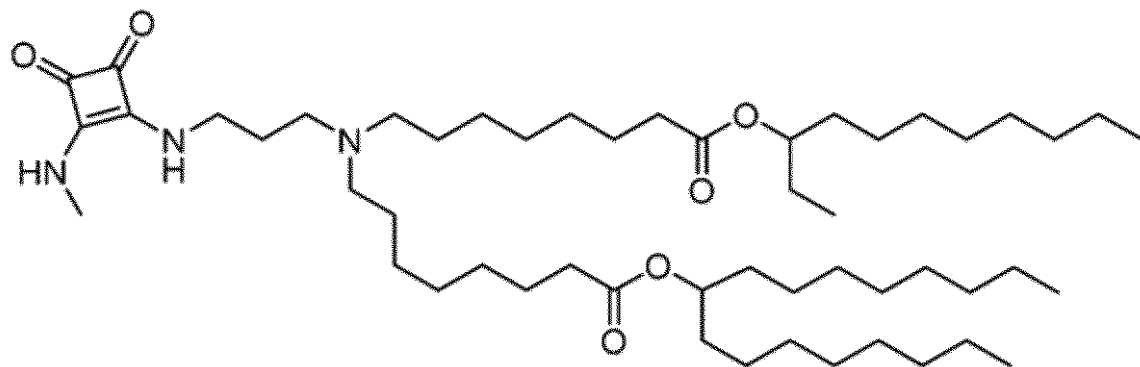
10 mLのエタノール中のヘプタデカン-9-イル 8-((3-アミノプロピル)(8-(ノニルオキシ)-8-オキソオクチル)アミノ)オクタノエート(200 mg、0.28 mmol)の溶液に、3-メトキシ-4-(メチルアミノ)シクロブター-3-エン-1,2-ジオン(39 mg、0.28 mmol)を加え、得られた無色溶液を室温で20時間攪拌したが、その後、LC/MSによると、出発アミンは残っていなかった。その溶液を減圧下で濃縮してから、残分をシリカゲルクロマトグラフィー(ジクロロメタン中の0~100%(ジクロロメタン中の1% NH_4OH 、20% $MeOH$ の混合液))で精製して、ヘプタデカン-9-イル 8-((3-((2-(メチルアミノ)-3,4-ジオキソシクロブター-1-エン-1-イル)アミノ)プロピル)(8-(ノニルオキシ)-8-オキソオクチル)アミノ)オクタノエート(138 mg、0.17 mmol、60%)をゴム状の白色固体として得た。UPLC/ELSD: RT=3分間。 $C_{51}H_{95}N_3O_6$ のMS(ES): m/z (MH^+) 833.4。 ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 7.86 (br. s., 1H); 4.86 (五重項, 1H, $J = 6$ Hz); 4.05 (t, 2H, $J = 6$ Hz); 3.92 (d, 2H, $J = 3$ Hz); 3.20 (s, 6H); 2.63 (br. s., 2H); 2.42 (br. s., 3H); 2.28 (m, 4H); 1.74 (br. s., 2H); 1.61 (m, 8H); 1.50 (m, 5H); 1.41 (m, 3H); 1.25 (br. m, 47H); 0.88 (t, 9H, $J = 7.5$ Hz)。

20

【0515】

30

化合物I-301: ヘプタデカン-9-イル 8-((3-((2-(メチルアミノ)-3,4-ジオキソシクロブター-1-エン-1-イル)アミノ)プロピル)(8-オキソ-8-(ウンデカン-3-イルオキシ)オクチル)アミノ)オクタノエート



40

化学式： $C_{52}H_{97}N_3O_6$

分子量：860.36

ヘプタデカン-9-イル 8-((3-アミノプロピル)(8-(ノニルオキシ)-8-オキソオクチル)アミノ)オクタノエートの代わりにヘプタデカン-9-イル 8-((3-((2-(メチルアミノ)-3,4-ジオキソシクロブター-1-エン-1-イル)アミノ)プロピル)(8-オキソ-8-(ウンデカン-3-イルオキシ)オクチル)アミノ)オクタノエート

50

(3-アミノプロピル) (8-オキソ-8-(ウンデカン-3-イルオキシ) オクチル) アミノ) オクタノエート (500 mg、0.66 mmol) を使用した以外は化合物 182 と同様に、化合物 I-301 を調製した。水溶液の精密検査後、残分をシリカゲルクロマトグラフィー (ジクロロメタン中の 0~50% (ジクロロメタン中の 1% NH₄OH、20% MeOH の混合液)) で精製して、ヘプタデカン-9-イル 8-(3-(2-(メチルアミノ)-3,4-ジオキソシクロブタ-1-エン-1-イル) アミノ) プロピル) (8-オキソ-8-(ウンデカン-3-イルオキシ) オクチル) アミノ) オクタノエート (180 mg、32%) を白色ろう状固体として得た。HPLC/UV (254 nm): RT=6.77 分間。C₅₂H₉₇N₃O₆ の MS (CI): m/z (MH⁺) 860.7。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 4.86-4.79 (m, 2H); 3.66 (bs, 2H); 3.25 (d, 3H, J = 4.9 Hz); 2.56-2.52 (m, 2H); 2.42-2.37 (m, 4H); 2.28 (dd, 4H, J = 2.7 Hz, 7.4 Hz); 1.78-1.68 (m, 3H); 1.64-1.50 (m, 16H); 1.48-1.38 (m, 6H); 1.32-1.18 (m, 43H); 0.88-0.84 (m, 12H)。

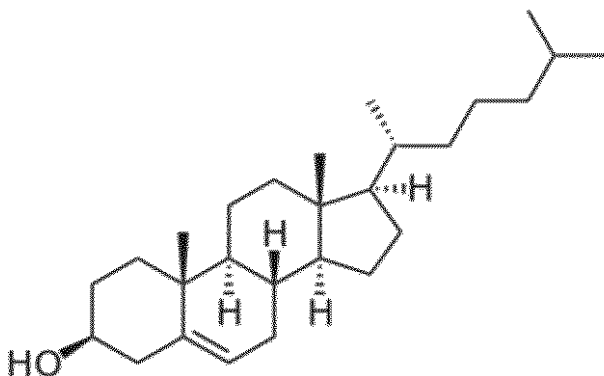
【0516】

(ii) コレステロール／構造脂質

一部の実施形態では、本明細書に記載の LNP は、1 種または複数種の構造脂質を含む。本明細書で使用する場合、用語「構造脂質」は、ステロール及び、ステロール部分を含む脂質をも意味する。脂質ナノ粒子中に構造脂質を組み込むことは、粒子中におけるその他の脂質の凝集を軽減させるのに役立ち得る。構造脂質としては、コレステロール、フェコステロール、エルゴステロール、ブラシカステロール、トマチジン、トマチン、ウルソール酸、αトコフェロール、及びこれらの混合物を挙げることができるがこれらに限定されない。特定の実施形態では、構造脂質はコレステロールである。特定の実施形態では、構造脂質としては、コレステロール、及びコルチコステロイド (例えば、プレドニゾン、デキサメタゾン、プレドニゾン、及びヒドロコルチゾンなど)、またはこれらの組み合わせが挙げられる。

【0517】

一部の実施形態では、構造脂質はステロールである。本明細書で定義するとおり、「ステロール」は、ステロイドアルコールで構成される、ステロイドのサブグループである。特定の実施形態では、構造脂質はステロイドである。特定の実施形態では、構造脂質はコレステロールである。特定の実施形態では、構造脂質はコレステロールの類似体である。特定の実施形態では、構造脂質はαトコフェロールである。構造脂質の例としては、以下、



,

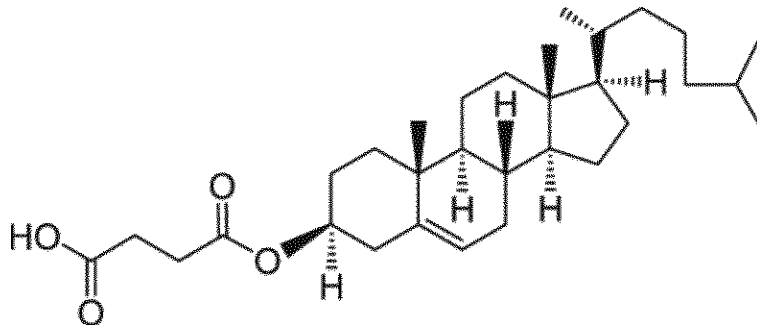
10

20

30

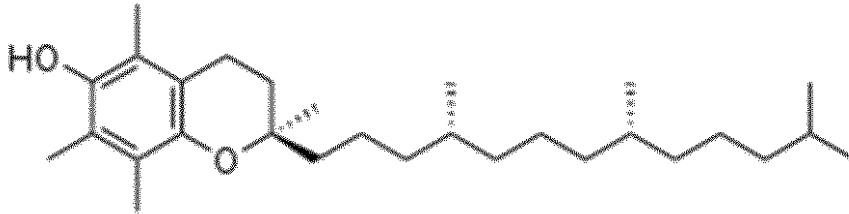
40

50



10

、及び



が挙げられるがこれらに限定されない。

20

【0518】

本明細書に記載のLNPは、1種または複数種の構造脂質を含む。

【0519】

本明細書で使用する場合、用語「構造脂質」は、ステロール及び、ステロール部分を含む脂質をも意味する。脂質ナノ粒子中に構造脂質を組み込むことは、粒子中におけるその他の脂質の凝集を軽減させるのに役立ち得る。特定の実施形態では、構造脂質としては、コレステロール、及びコルチコステロイド（例えば、プレドニゾロン、デキサメタゾン、プレドニゾン、及びヒドロコルチゾンなど）、またはこれらの組み合わせが挙げられる。

【0520】

一部の実施形態では、構造脂質はステロールである。本明細書で定義するとおり、「ステロール」は、ステロイドアルコールで構成される、ステロイドのサブグループである。構造脂質としては、ステロール（例えば、フィトステロールまたはズーステロール）を挙げることができるがこれらに限定されない。

30

【0521】

特定の実施形態では、構造脂質はステロイドである。例えば、ステロールとしては、コレステロール、 β -シトステロール、フェコステロール、エルゴステロール、シトステロール、カンベステロール、スティグマステロール、ブラシカステロール、エルゴステロール、トマチジン、トマチン、ウルソール酸、 α トコフェロール、または、本明細書の表1～表16中の化合物S1～148のうちのいずれか1つを挙げることができるがこれらに限定されない。

40

【0522】

特定の実施形態では、構造脂質はコレステロールである。特定の実施形態では、構造脂質はコレステロールの類似体である。

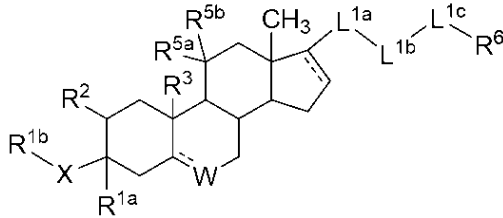
【0523】

特定の実施形態では、構造脂質は α トコフェロールである。

【0524】

一態様では、本発明の構造脂質は、式SIの構造を有する化合物、

50



式 S I、

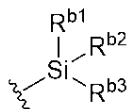
またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

式中、

R^{1a} は、H、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、または任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルキニルであり、

X は O または S であり、

R^{1b} は、H、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、または

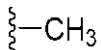


であり、

R^{b1} 、 R^{b2} 、及び R^{b3} のそれぞれは独立して、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルまたは任意選択的に置換された $C_6 - C_{10}$ アリールであり、

R^2 は H または OR^A であり、式中、 R^A は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^3 は H または



であり、

それぞれの

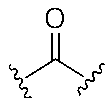


は独立して、単結合または二重結合を表し、

W は CR^{4a} または $CR^{4a}R^{4b}$ であり、式中、W と隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、W は CR^{4a} であり、W と隣接炭素の間に単結合が存在する場合、W は $CR^{4a}R^{4b}$ であり、

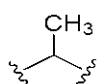
R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、H または OR^A であり、または、 R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



を形成し、

L^{1a} は、不在、



10

20

30

40

50

、または



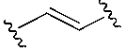
であり、

L^{1b} は、不在、



10

、または



であり、

m は 1、2、または 3 であり、

L^{1c} は、不在、



20

、または



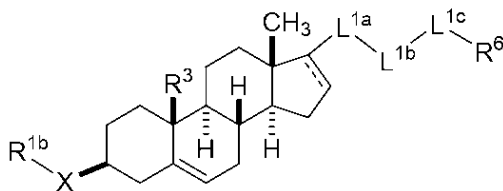
であり、

R^6 は、任意選択的に置換された $C_3 - C_{10}$ シクロアルキル、任意選択的に置換された $C_3 - C_{10}$ シクロアルケニル、任意選択的に置換された $C_6 - C_{10}$ アリール、任意選択的に置換された $C_2 - C_9$ ヘテロシクリル、または任意選択的に置換された $C_2 - C_9$ ヘテロアリールである。

30

【0525】

一部の実施形態では、化合物は、式 S I a の構造、



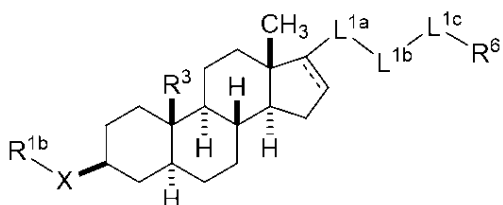
式 S I a、

40

またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0526】

一部の実施形態では、化合物は、式 S I b の構造、

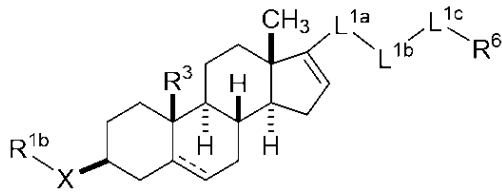


50

式 S I b、
またはその薬学的に許容される塩を有する。

【 0 5 2 7 】

一部の実施形態では、化合物は、式 S I c の構造、

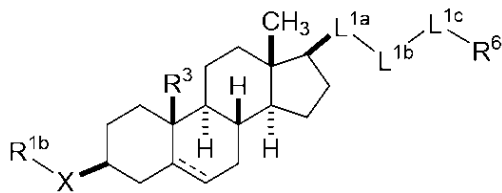


10

式 S I c、
またはその薬学的に許容される塩を有する。

【 0 5 2 8 】

一部の実施形態では、化合物は、式 S I d の構造、

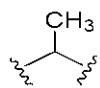


20

式 S I d、
またはその薬学的に許容される塩を有する。

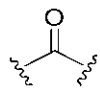
【 0 5 2 9 】

一部の実施形態では、L^{1 a}は不在である。一部の実施形態では、L^{1 a}は



30

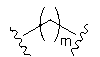
である。一部の実施形態では、L^{1 a}は



である。

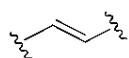
【 0 5 3 0 】

一部の実施形態では、L^{1 b}は不在である。一部の実施形態では、L^{1 b}は



40

である。一部の実施形態では、L^{1 b}は



である。

【 0 5 3 1 】

一部の実施形態では、mは1または2である。一部の実施形態では、mは1である。一部の実施形態では、mは2である。

【 0 5 3 2 】

50

一部の実施形態では、 L^{1c} は不在である。一部の実施形態では、 L^{1c} は



である。一部の実施形態では、 L^{1c} は



である。

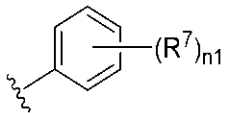
10

【0533】

一部の実施形態では、 R^6 は任意選択的に置換された C_6-C_{10} アリールである。

【0534】

一部の実施形態では、 R^6 は



であり、式中、

20

n_1 は、0、1、2、3、4、または5であり、

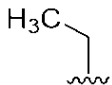
それぞれの R^7 は独立して、ハロゲンまたは任意選択的に置換された C_1-C_6 アルキルである。

【0535】

一部の実施形態では、それぞれの R^7 は独立して、

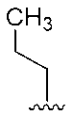


、

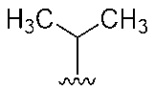


30

、

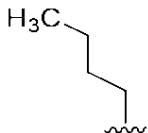


、



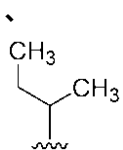
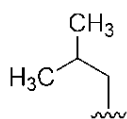
40

、

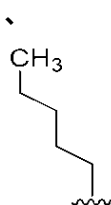
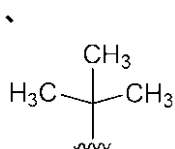


、

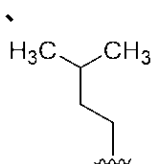
50



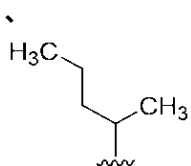
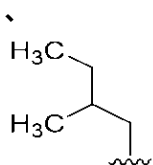
10



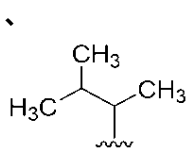
20



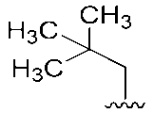
30



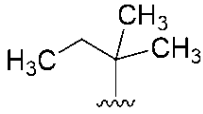
40



50



、または



である。

10

【0536】

一部の実施形態では、 n_1 は、0、1、または2である。一部の実施形態では、 n_1 は0である。一部の実施形態では、 n_1 は1である。一部の実施形態では、 n_1 は2である。

【0537】

一部の実施形態では、 R^6 は任意選択的に置換された $C_3 - C_{10}$ シクロアルキルである。

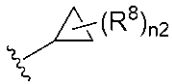
【0538】

一部の実施形態では、 R^6 は任意選択的に置換された $C_3 - C_{10}$ モノシクロアルキルである。

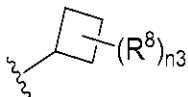
【0539】

20

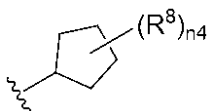
一部の実施形態では、 R^6 は、



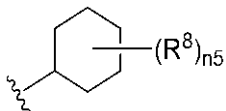
、



、



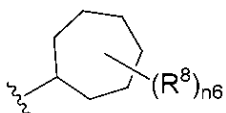
、



30

40

、または



であり、式中、

n_2 は0、1、2、3、4、または5であり、

50

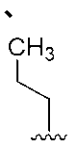
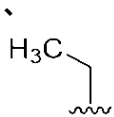
n_3 は 0、1、2、3、4、5、6、または 7 であり、
 n_4 は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、または 9 であり、
 n_5 は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または 11 であり、
 n_6 は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、または 13 であり、
 それぞれの R^8 は独立して、ハロまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルである。

【0540】

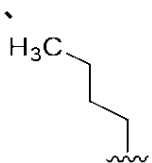
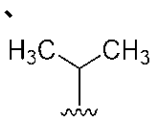
一部の実施形態では、それぞれの R^8 は独立して、



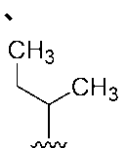
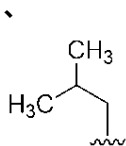
10



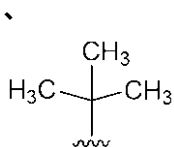
20



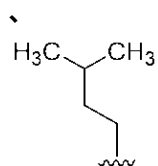
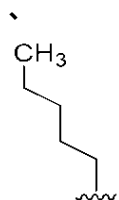
30



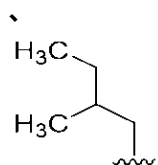
40



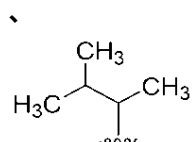
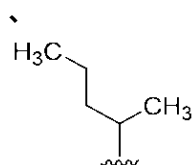
50



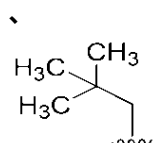
10



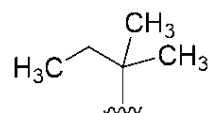
20



30



、または



40

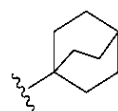
である。

【0541】

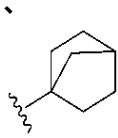
一部の実施形態では、 R^6 は任意選択的に置換された $C_3 - C_{10}$ ポリシクロアルキルである。

【0542】

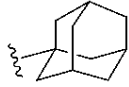
一部の実施形態では、 R^6 は、



50



、または



10

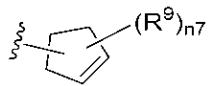
である。

【0543】

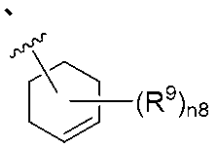
一部の実施形態では、 R^6 は任意選択的に置換された $C_3 - C_{10}$ シクロアルケニルである。

【0544】

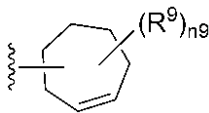
一部の実施形態では、 R^6 は、



20



、または



30

であり、式中、

n_7 は0、1、2、3、4、5、6、または7であり、

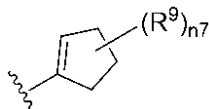
n_8 は0、1、2、3、4、5、6、7、8、または9であり、

n_9 は0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または11であり、

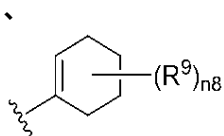
それぞれの R^9 は独立して、ハロまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルである。

【0545】

一部の実施形態では、 R^6 は、

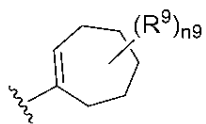


40



50

、または



である。

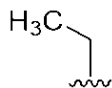
【 0 5 4 6 】

一部の実施形態では、それぞれの R^9 は独立して、

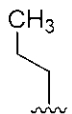


10

、

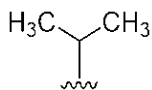


、

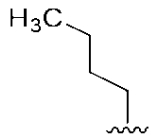


20

、

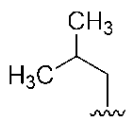


、

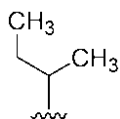


30

、

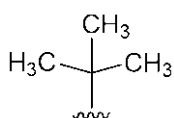


、

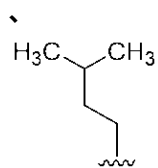
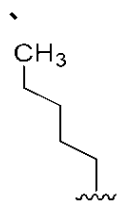


40

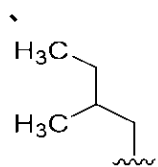
、



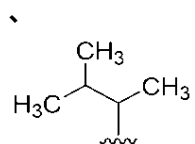
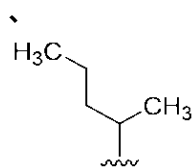
50



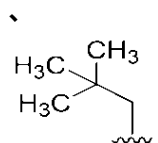
10



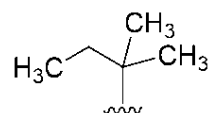
20



30



、または



40

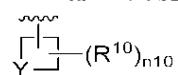
である。

【 0 5 4 7 】

一部の実施形態では、 R^6 は任意選択的に置換された $C_2 - C_9$ ヘテロシクリルである。

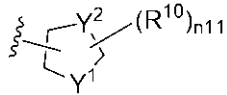
【 0 5 4 8 】

一部の実施形態では、 R^6 は、

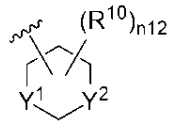


、

50

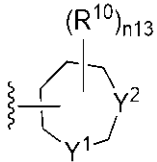


、



10

、または



であり、式中、

n_{10} は0、1、2、3、4、または5であり、

n_{11} は0、1、2、3、4、または5であり、

20

n_{12} は0、1、2、3、4、5、6、または7であり、

n_{13} は0、1、2、3、4、5、6、7、8、または9であり、

それぞれの R^{10} は独立して、ハロまたは任意選択的に置換された C_1-C_6 アルキルであり、

Y^1 及び Y^2 のそれぞれは独立して、O、S、 NR^B 、または $CR^{11a}R^{11b}$ であり、

式中、 R^B はHまたは任意選択的に置換された C_1-C_6 アルキルであり、

R^{11a} 及び R^{11b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された C_1-C_6 アルキルであり、

Y^2 が $CR^{11a}R^{11b}$ である場合、 Y^1 は、O、S、または NR^B である。

【0549】

30

一部の実施形態では、 Y^1 はOである。

【0550】

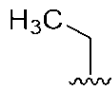
一部の実施形態では、 Y^2 はOである。一部の実施形態では、 Y^2 は $CR^{11a}R^{11b}$ である。

【0551】

一部の実施形態では、それぞれの R^{10} は独立して、

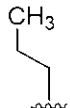


、



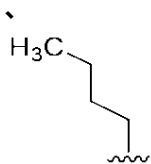
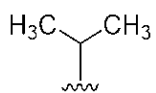
40

、

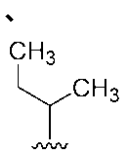
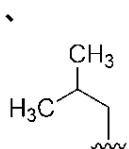


、

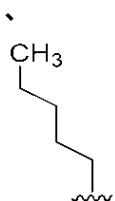
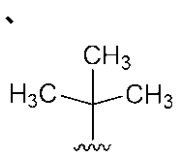
50



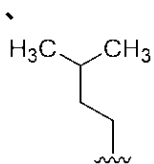
10



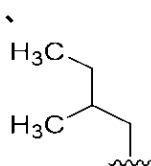
20



30

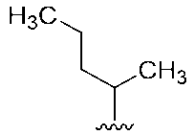


40

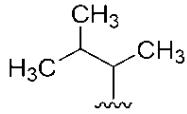


、

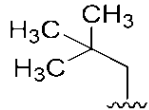
50



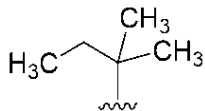
、



、



、または



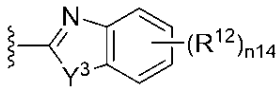
である。

【0552】

一部の実施形態では、 R^6 は任意選択的に置換された $C_2 - C_9$ ヘテロアリールである。

【0553】

一部の実施形態では、 R^6 は



であり、式中、

Y^3 は、 NR^C 、 O 、または S であり、

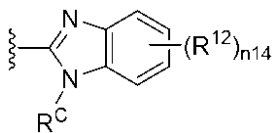
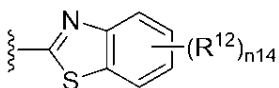
n_{14} は0、1、2、3、または4であり、

R^C は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

それぞれの R^{12} は独立して、ハロまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルである。

【0554】

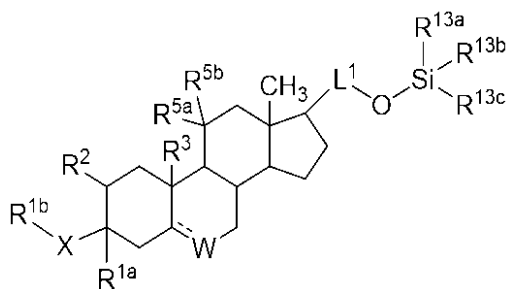
一部の実施形態では、 R^6 は

である。一部の実施形態では、 R^6 は

である。

【0555】

一態様では、本発明の構造脂質は、式SIIの構造を有する化合物、



式 S I I、

またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

式中、

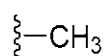
R^{1a} は、H、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、または任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルキニルであり、

X は O または S であり、

R^{1b} は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^2 は H または OR^A であり、式中、 R^A は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^3 は H または



であり、

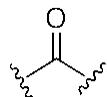


は単結合または二重結合を表し、

W は CR^{4a} または $CR^{4a}R^{4b}$ であり、式中、W と隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、W は CR^{4a} であり、W と隣接炭素の間に単結合が存在する場合、W は $CR^{4a}R^{4b}$ であり、

R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、H または OR^A であり、または、 R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



を形成し、

L^1 は任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキレンであり、

R^{13a} 、 R^{13b} 、及び R^{13c} のそれぞれは独立して、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルまたは任意選択的に置換された $C_6 - C_{10}$ アリールである。

【0556】

一部の実施形態では、化合物は、式 S I I a の構造、

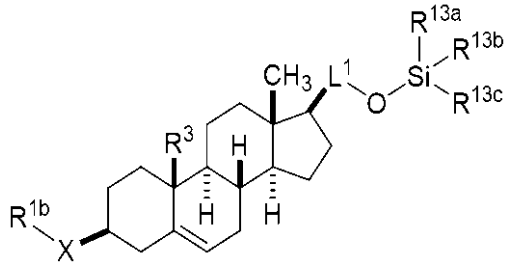
10

20

30

40

50

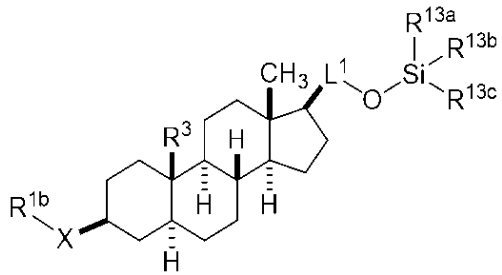


式 **S I I a**、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

【 0 5 5 7 】

一部の実施形態では、化合物は、式 **S I I b** の構造、

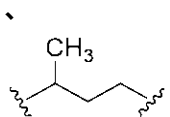
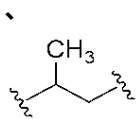
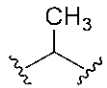


式 **S I I b**、

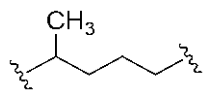
またはその薬学的に許容される塩を有する。

【 0 5 5 8 】

一部の実施形態では、 L^1 は、



、または

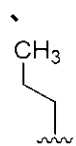
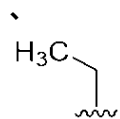


である。

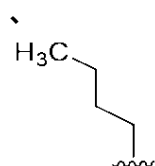
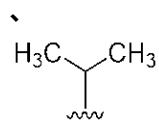
【 0 5 5 9 】

一部の実施形態では、 R^{13a} 、 R^{13b} 、及び R^{13c} のそれぞれは独立して、

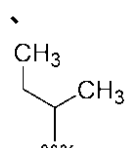
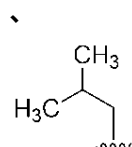




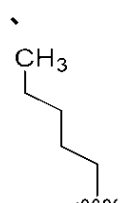
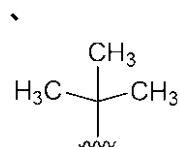
10



20



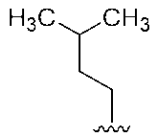
30



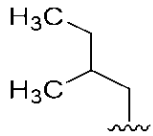
40



50

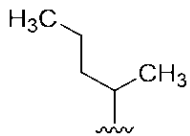


、

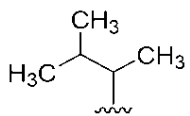


10

、

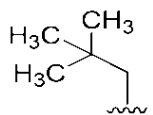


、

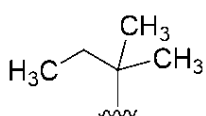


20

、



、または

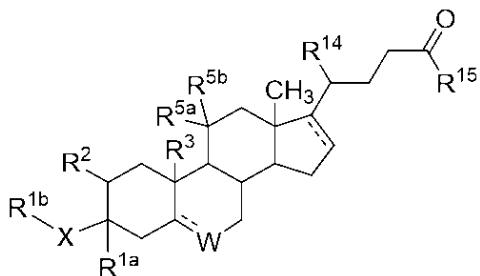


30

である。

【 0 5 6 0 】

一態様では、本発明の構造脂質は、式 S I I I の構造を有する化合物、



40

式 S I I I、

またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

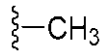
式中、

R^{1a} は、H、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、または任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルキニルであり、

X は O または S であり、

50

R^{1b} は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、
 R^2 は H または OR^A であり、式中、 R^A は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、
 R^3 は H または



であり、
 それぞれの



10

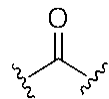
は独立して、単結合または二重結合を表し、

W は CR^{4a} または $CR^{4a}R^{4b}$ であり、式中、 W と隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、 W は CR^{4a} であり、 W と隣接炭素の間に単結合が存在する場合、 W は $CR^{4a}R^{4b}$ であり、

R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、ヒドロキシル、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、 $-OS(O)_2R^{4c}$ であり、式中、 R^{4c} は任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルまたは任意選択的に置換された $C_6 - C_{10}$ アリールであり、

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、H または OR^A であり、または、 R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、

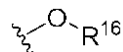
20



を形成し、

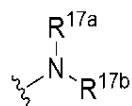
R^{14} は H または $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{15} は、

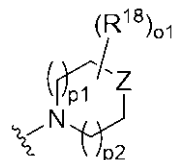


30

、



、または



40

であり、式中、

R^{16} は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{17b} は、H、 OR^{17c} 、任意選択的に置換された $C_6 - C_{10}$ アリール、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{17c} は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

$o1$ は 0、1、2、3、4、5、6、7、または 8 であり、

$p1$ は 0、1、または 2 であり、

50

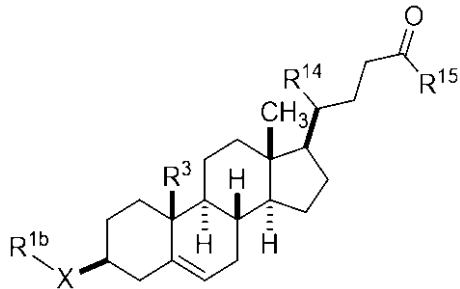
p 2 は 0、1、または 2 であり、

Z は、CH₂、O、S、または NR^D であり、式中、R^D は H または任意選択的に置換された C₁ - C₆ アルキルであり、

それぞれの R¹⁸ は独立して、ハロまたは任意選択的に置換された C₁ - C₆ アルキルである。

【0561】

一部の実施形態では、化合物は、式 S I I I a の構造、



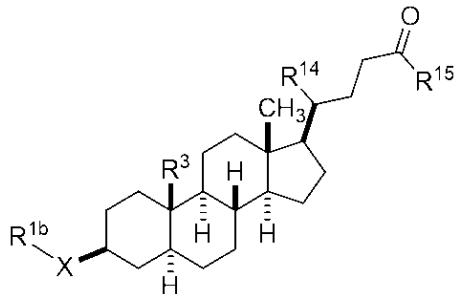
10

式 S I I I a、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0562】

一部の実施形態では、化合物は、式 S I I I b の構造、



20

式 S I I I b、

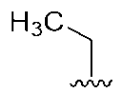
またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0563】

一部の実施形態では、R¹⁴ は、H、

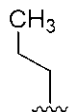


、

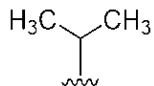


40

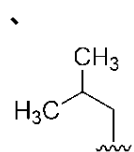
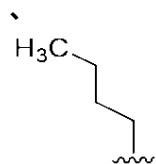
、



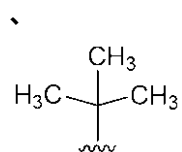
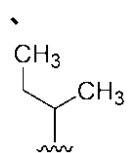
、



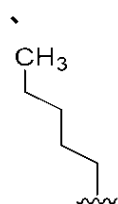
50



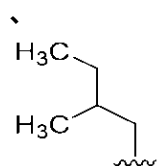
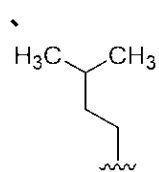
10



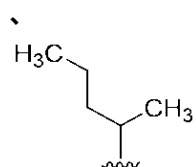
20



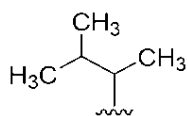
30



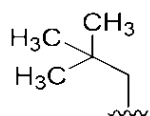
40



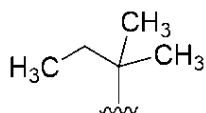
50



、



、または



10

である。

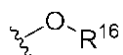
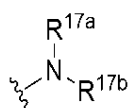
【 0 5 6 4 】

一部の実施形態では、 R^{14} は

20

である。

【 0 5 6 5 】

一部の実施形態では、 R^{15} はである。一部の実施形態では、 R^{15} は

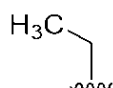
30

である。

【 0 5 6 6 】

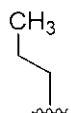
一部の実施形態では、 R^{16} はHである。一部の実施形態では、 R^{16} は、

、



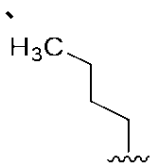
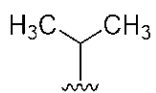
40

、

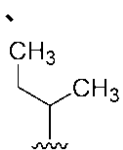
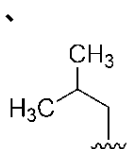


、

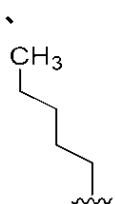
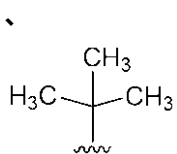
50



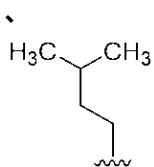
10



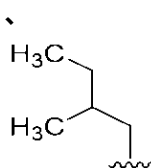
20



30

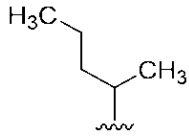


40

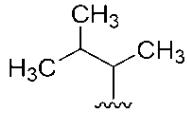


、

50

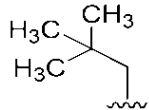


、

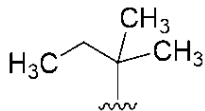


10

、



、または



20

である。

【0567】

一部の実施形態では、 R^{17a} はHである。一部の実施形態では、 R^{17a} は任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルである。

【0568】

一部の実施形態では、 R^{17b} はHである。一部の実施形態では、 R^{17b} は任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルである。一部の実施形態では、 R^{17b} は OR^{17c} である。

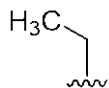
【0569】

一部の実施形態では、 R^{17c} は、H、

30



、または



である。一部の実施形態では、 R^{17c} はHである。一部の実施形態では、 R^{17c} は

40

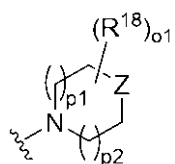


である。

【0570】

一部の実施形態では、 R^{15} は

50



である。

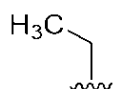
【 0 5 7 1 】

一部の実施形態では、それぞれの R^{18} は独立して、

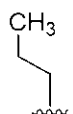


10

、

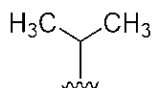


、

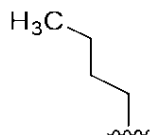


20

、

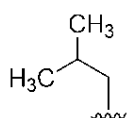


、

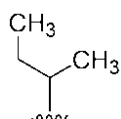


30

、

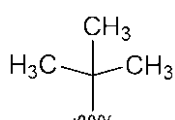


、

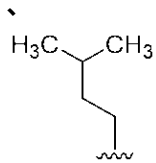
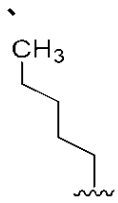


40

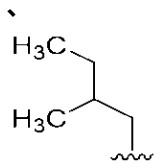
、



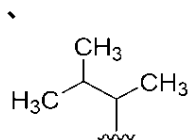
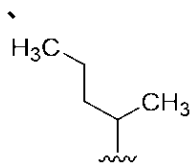
50



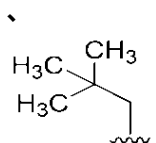
10



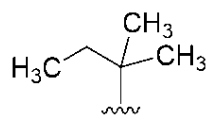
20



30



、または



40

である。

【0572】

一部の実施形態では、ZはCH₂である。一部の実施形態では、ZはOである。一部の実施形態では、ZはNR^Dである。

【0573】

一部の実施形態では、o1は、0、1、2、3、4、5、または6である。

【0574】

一部の実施形態では、o1は0である。一部の実施形態では、o1は1である。一部の実施形態では、o1は2である。一部の実施形態では、o1は3である。一部の実施形態では、o1は4である。一部の実施形態では、o1は5である。一部の実施形態では、o

50

1 は 6 である。

【 0 5 7 5 】

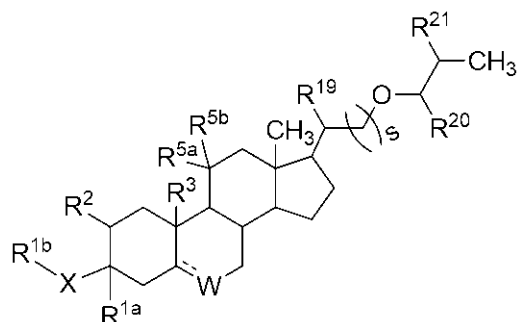
一部の実施形態では、 p_1 は 0 または 1 である。一部の実施形態では、 p_1 は 0 である。
一部の実施形態では、 p_1 は 1 である。

【 0 5 7 6 】

一部の実施形態では、 p_2 は 0 または 1 である。一部の実施形態では、 p_2 は 0 である。
一部の実施形態では、 p_2 は 1 である。

【 0 5 7 7 】

一態様では、本発明の構造脂質は、式 S I V の構造を有する化合物、



10

式 S I V、

またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

式中、

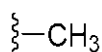
R^{1a} は、H、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、または任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルキニルであり、

X は O または S であり、

R^{1b} は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^2 は H または OR^A であり、式中、 R^A は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^3 は H または



30

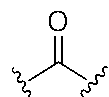
であり、

は単結合または二重結合を表し、

W は CR^{4a} または $CR^{4a}R^{4b}$ であり、式中、 W と隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、 W は CR^{4a} であり、 W と隣接炭素の間に単結合が存在する場合、 W は $CR^{4a}R^{4b}$ であり、

R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、H または OR^A であり、または、 R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



40

を形成し、

s は 0 または 1 であり、

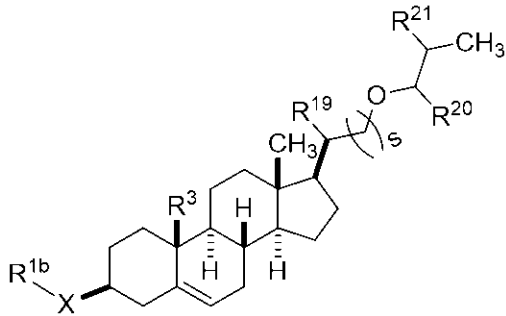
R^{19} は H または $C_1 - C_6$ アルキルであり、

50

R^{20} は $C_1 - C_6$ アルキルであり、
 R^{21} はHまたは $C_1 - C_6$ アルキルである。

【0578】

一部の実施形態では、化合物は、式SIVaの構造、



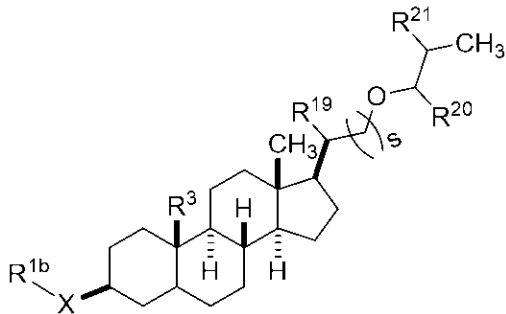
10

式SIVa、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0579】

一部の実施形態では、化合物は、式SIVbの構造、



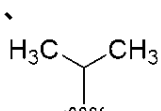
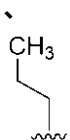
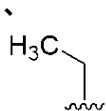
20

式SIVb、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

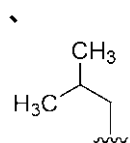
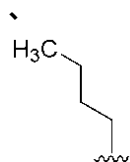
【0580】

一部の実施形態では、 R^{19} は、H、

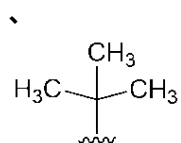
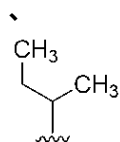


40

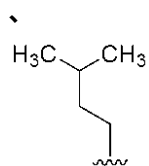
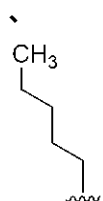
50



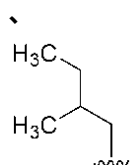
10



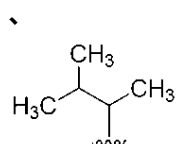
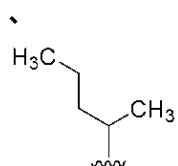
20



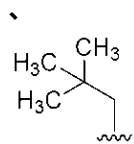
30



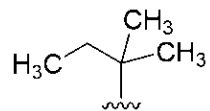
40



50



、または



10

である。

【 0 5 8 1 】

一部の実施形態では、 R^{19} は



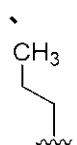
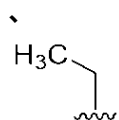
である。

【 0 5 8 2 】

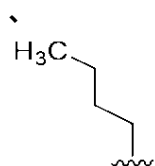
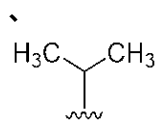
一部の実施形態では、 R^{20} は、



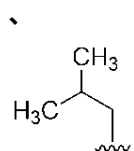
20



30

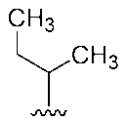


40

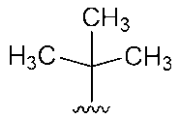


、

50

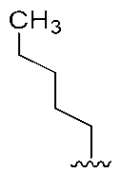


、

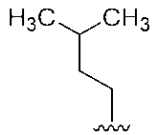


10

、

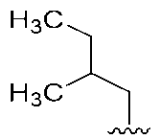


、



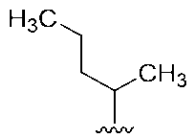
20

、

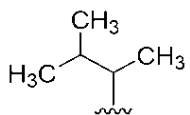


30

、

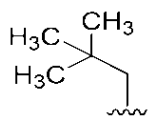


、

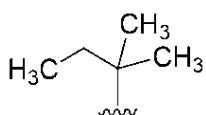


40

、



、または

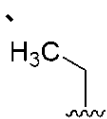


50

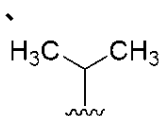
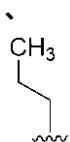
である。

【 0 5 8 3 】

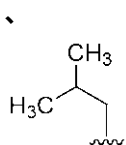
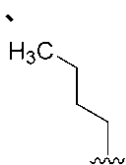
一部の実施形態では、 R^{21} は、H、



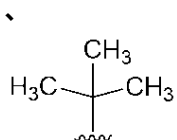
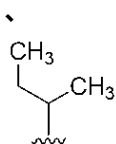
10



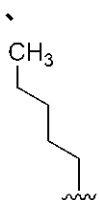
20



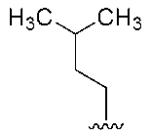
30



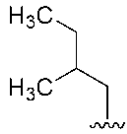
40



50

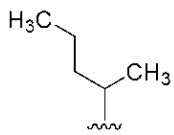


、

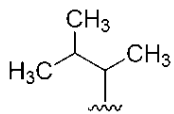


10

、

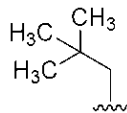


、

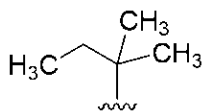


20

、



、または

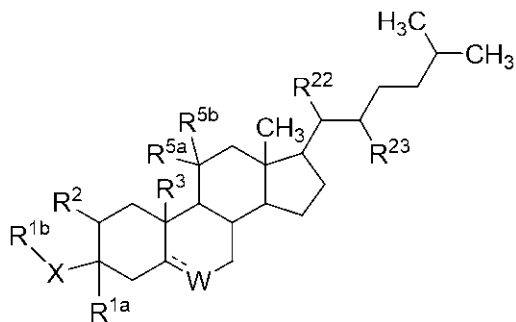


30

である。

【 0 5 8 4 】

一態様では、本発明の構造脂質は、式 S V の構造を有する化合物、



40

式 S V、

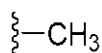
またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

式中、

R^{1a} は、H、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、または任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルキニルであり、

50

XはOまたはSであり、
 R^{1b} はHまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、
 R^2 はHまたは OR^A であり、式中、 R^A はHまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、
 R^3 はHまたは



であり、



10

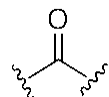
は単結合または二重結合を表し、

Wは CR^{4a} または $CR^{4a}R^{4b}$ であり、式中、Wと隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、Wは CR^{4a} であり、Wと隣接炭素の間に単結合が存在する場合、Wは $CR^{4a}R^{4b}$ であり、

R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、Hまたは OR^A であり、または、 R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、

20



を形成し、

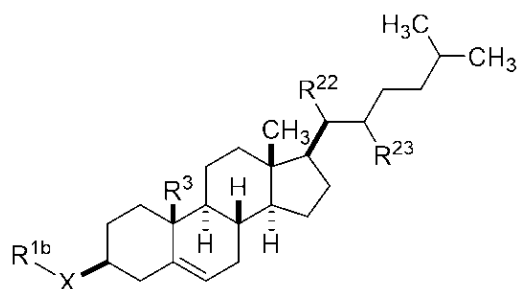
R^{22} はHまたは $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{23} は、ハロ、ヒドロキシル、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ ヘテロアルキルである。

【0585】

一部の実施形態では、化合物は、式SVaの構造、

30



式SVa、

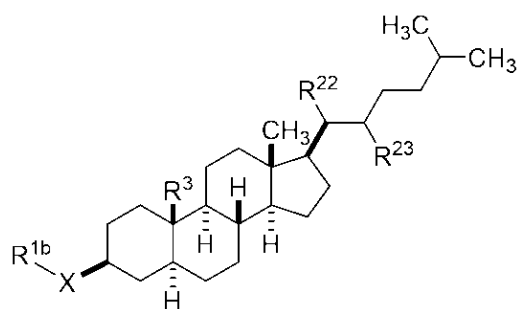
またはその薬学的に許容される塩を有する。

40

【0586】

一部の実施形態では、化合物は、式SVbの構造、

50

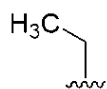


10

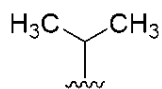
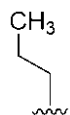
式SVb、
またはその薬学的に許容される塩を有する。

【 0 5 8 7 】

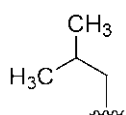
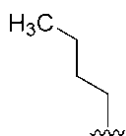
一部の実施形態では、 R^{22} は、H、



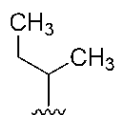
20



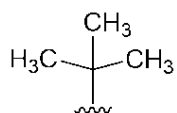
30



40



50

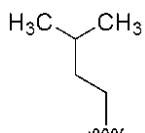


、

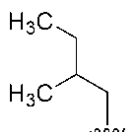


10

、

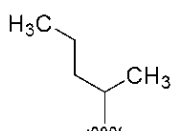


、

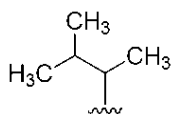


20

、

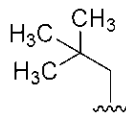


、



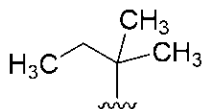
30

、



、または

40



である。

【 0 5 8 8 】

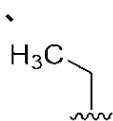
一部の実施形態では、 R^{22} は

50

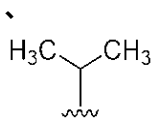
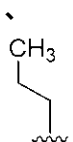
である。

【 0 5 8 9 】

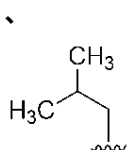
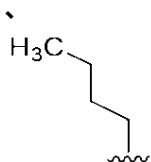
一部の実施形態では、 R^{23} は、



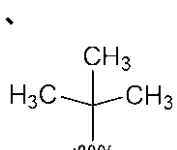
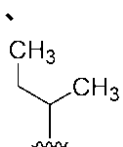
10



20



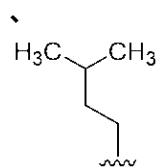
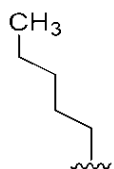
30



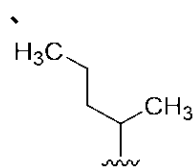
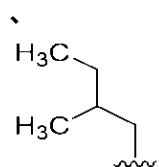
40

、

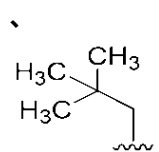
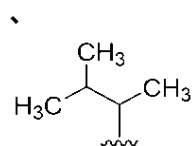
50



10

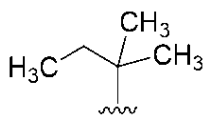


20



30

、または

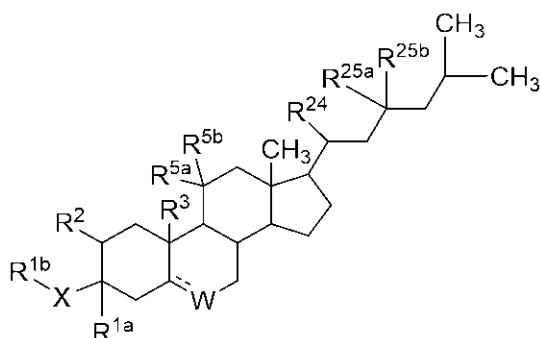


である。

40

【 0 5 9 0 】

一態様では、本発明の構造脂質は、式 S V I の構造を有する化合物、



10

式 S V I、

またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

式中、

R^{1a} は、H、任意選択的に置換された C₁ - C₆ アルキル、任意選択的に置換された C₂ - C₆ アルケニル、または任意選択的に置換された C₂ - C₆ アルキニルであり、

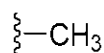
X は O または S であり、

R^{1b} は H または任意選択的に置換された C₁ - C₆ アルキルであり、

R² は H または O R^A であり、式中、R^A は H または任意選択的に置換された C₁ - C₆ アルキルであり、

R³ は H または

20



であり、



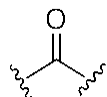
は単結合または二重結合を表し、

W は C R^{4a} または C R^{4a} R^{4b} であり、式中、W と隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、W は C R^{4a} であり、W と隣接炭素の間に単結合が存在する場合、W は C R^{4a} R^{4b} であり、

30

R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された C₁ - C₆ アルキルであり、

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、H または O R^A であり、または、R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



を形成し、

R²⁴ は H または C₁ - C₆ アルキルであり、

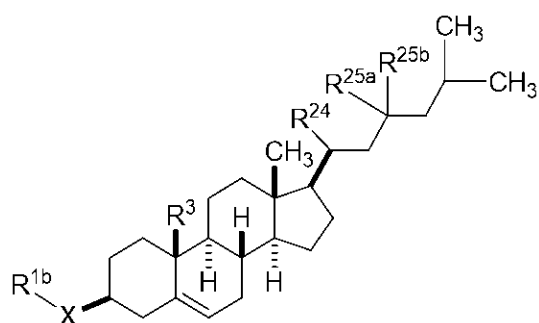
40

R^{25a} 及び R^{25b} のそれぞれは C₁ - C₆ アルキルである。

【0591】

一部の実施形態では、化合物は、式 S V I a の構造、

50

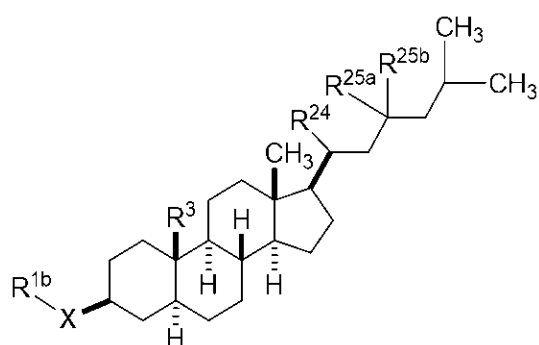


10

式 S V I a、
またはその薬学的に許容される塩を有する。

【 0 5 9 2 】

一部の実施形態では、化合物は、式 S V I b の構造、



20

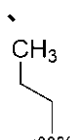
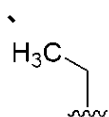
式 S V I b、
またはその薬学的に許容される塩を有する。

【 0 5 9 3 】

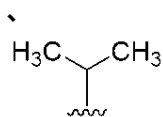
一部の実施形態では、R²⁴は、H、



30

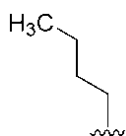


40

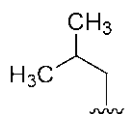


、

50

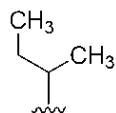


、

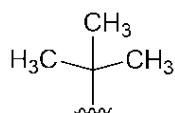


10

、

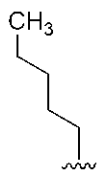


、

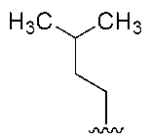


20

、

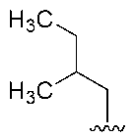


、

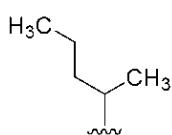


30

、

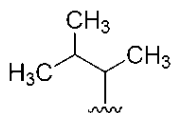


、

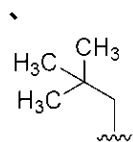


40

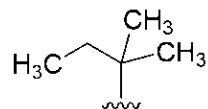
、



50



、または



10

である。

【 0 5 9 4 】

一部の実施形態では、 R^{24} は



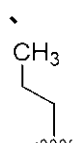
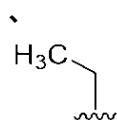
である。

【 0 5 9 5 】

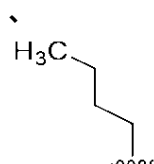
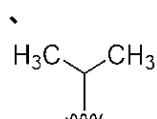
一部の実施形態では、 R^{25a} 及び R^{25b} のそれぞれは独立して、



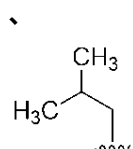
20



30

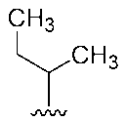


40

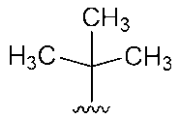


、

50

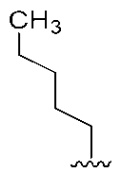


、

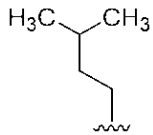


10

、

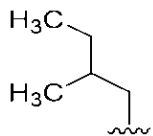


、



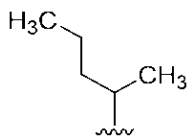
20

、

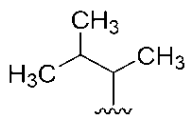


30

、

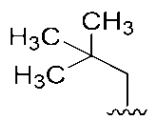


、

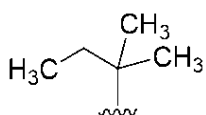


40

、



、または

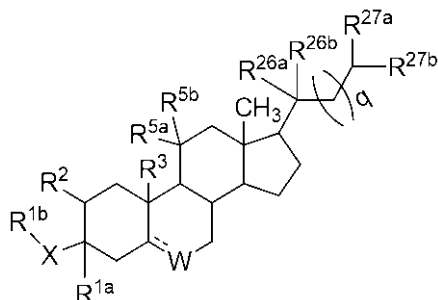


50

である。

【0596】

一態様では、本発明の構造脂質は、式SVIIの構造を有する化合物、



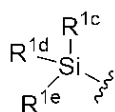
10

式SVII、

またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

式中、

R^{1a} は、H、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルキニル、または



20

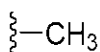
であり、式中、 R^{1c} 、 R^{1d} 、及び R^{1e} のそれぞれは独立して、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルまたは任意選択的に置換された $C_6 - C_{10}$ アリールであり、

XはOまたはSであり、

R^{1b} はHまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^2 はHまたは OR^A であり、式中、 R^A はHまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^3 はHまたは



30

であり、



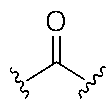
は単結合または二重結合を表し、

Wは CR^{4a} または $CR^{4a}R^{4b}$ であり、式中、Wと隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、Wは CR^{4a} であり、Wと隣接炭素の間に単結合が存在する場合、Wは $CR^{4a}R^{4b}$ であり、

R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

40

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、Hまたは OR^A であり、または、 R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



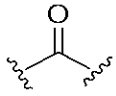
を形成し、

qは0または1であり、

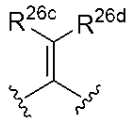
R^{26a} 及び R^{26b} のそれぞれは独立して、Hまたは任意選択的に置換された $C_1 - C$

50

6 アルキルであり、または、 R^{26a} 及び R^{26b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



または



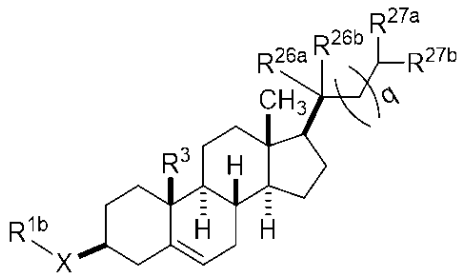
10

を形成し、式中、 R^{26c} 及び R^{26b} のそれぞれは独立して、H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{27a} 及び R^{27b} のそれぞれは、H、ヒドロキシル、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルである。

【0597】

一部の実施形態では、化合物は、式 S V I I a の構造、



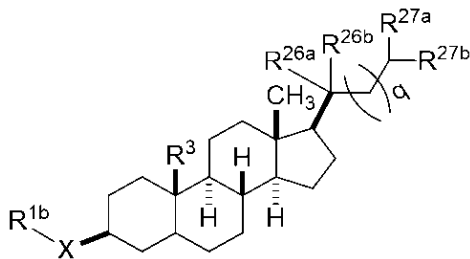
20

式 S V I I a、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0598】

一部の実施形態では、化合物は、式 S V I I b の構造、



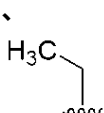
30

式 S V I I b、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

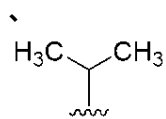
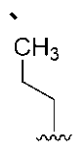
【0599】

一部の実施形態では、 R^{26a} 及び R^{26b} は独立して、H、

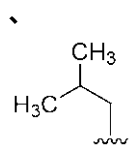
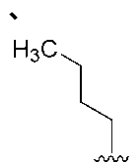


40

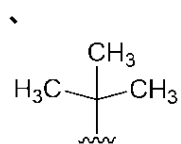
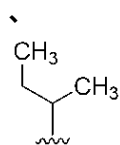
50



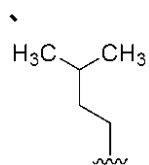
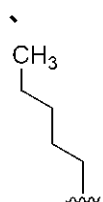
10



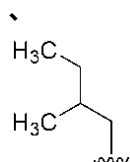
20



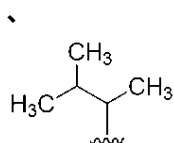
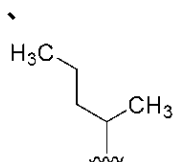
30



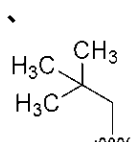
40



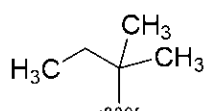
50



10



、または

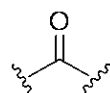


20

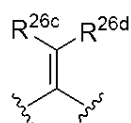
である。

【0600】

一部の実施形態では、R^{26a}及びR^{26b}は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



または

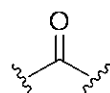


30

を形成する。

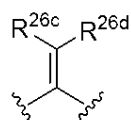
【0601】

一部の実施形態では、R^{26a}及びR^{26b}は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



40

を形成する。一部の実施形態では、R^{26a}及びR^{26b}は、それぞれが結合している原子と共に結合して、

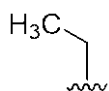


50

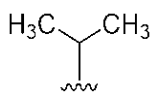
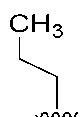
を形成する。

【 0 6 0 2 】

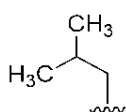
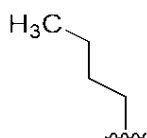
一部の実施形態では、式中、 R^{26c} 及び R^{26} のそれぞれは独立して、H、



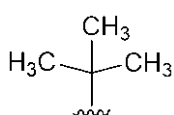
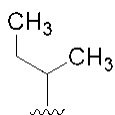
10



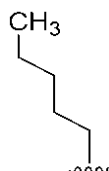
20



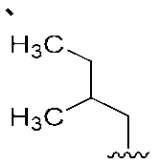
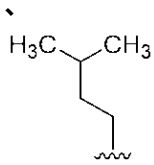
30



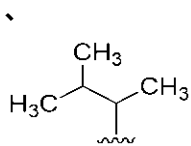
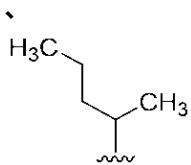
40



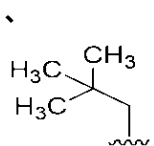
50



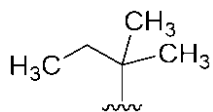
10



20



、または



30

である。

【0603】

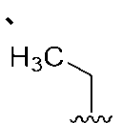
一部の実施形態では、 R^{27a} 及び R^{27b} のそれぞれは、H、ヒドロキシル、または任意選択的に置換された $C_1 - C_3$ アルキルである。

【0604】

一部の実施形態では、 R^{27a} 及び R^{27b} のそれぞれは独立して、H、ヒドロキシル、

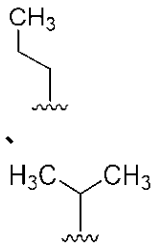


40



、

50

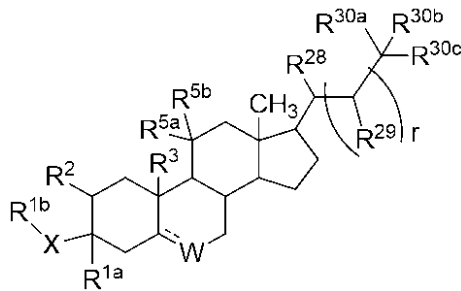


である。

10

【0605】

一態様では、本発明の構造脂質は、式SVIIIの構造を有する化合物、



20

式SVIII、

またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

式中、

R^{1a}は、H、任意選択的に置換されたC₁–C₆アルキル、任意選択的に置換されたC₂–C₆アルケニル、または任意選択的に置換されたC₂–C₆アルキニルであり、

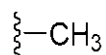
XはOまたはSであり、

R^{1b}はHまたは任意選択的に置換されたC₁–C₆アルキルであり、

R²はHまたはOR^Aであり、式中、R^AはHまたは任意選択的に置換されたC₁–C₆アルキルであり、

30

R³はHまたは



であり、

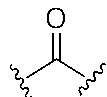
は単結合または二重結合を表し、

WはCR^{4a}またはCR^{4a}R^{4b}であり、式中、Wと隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、WはCR^{4a}であり、Wと隣接炭素の間に単結合が存在する場合、WはCR^{4a}R^{4b}であり、

40

R^{4a}及びR^{4b}のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換されたC₁–C₆アルキルであり、

R^{5a}及びR^{5b}のそれぞれは独立して、HまたはOR^Aであり、または、R^{5a}及びR^{5b}は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



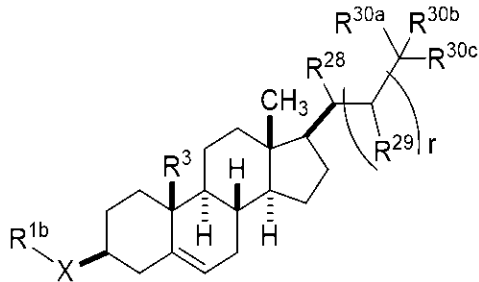
を形成し、

50

R^{28} は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、
 r は 1、2、または 3 であり、
 それぞれの R^{29} は独立して、H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、
 R^{30a} 、 R^{30b} 、及び R^{30c} のそれぞれは $C_1 - C_6$ アルキルである。

【0606】

一部の実施形態では、化合物は、式 S V I I I a の構造、

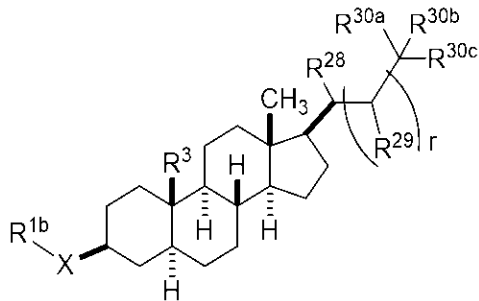


10

式 S V I I I a、
 またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0607】

一部の実施形態では、化合物は、式 S V I I I b の構造、

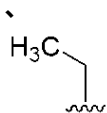


20

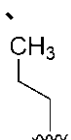
式 S V I I I b、
 またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0608】

一部の実施形態では、 R^{28} は、H、



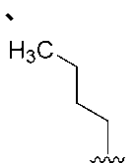
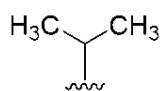
30



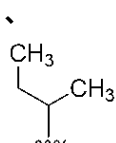
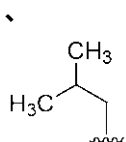
40

,

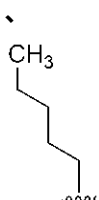
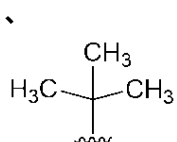
50



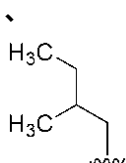
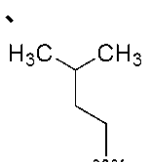
10



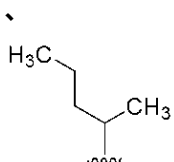
20



30

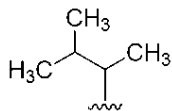


40

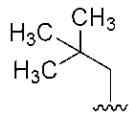


50

、

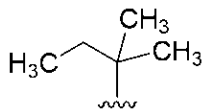


、



10

、または



である。

【0609】

一部の実施形態では、 R^{28} は

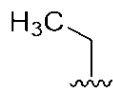
20

である。

【0610】

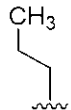
一部の実施形態では、 R^{30a} 、 R^{30b} 、及び R^{30c} のそれぞれは独立して、

、

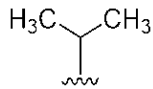


30

、

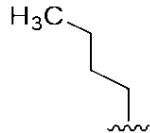


、



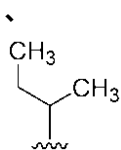
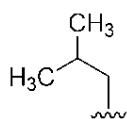
40

、

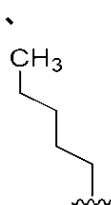
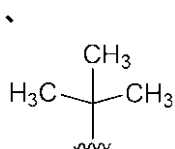


、

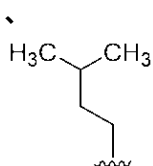
50



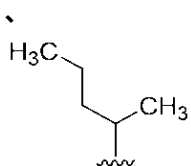
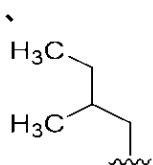
10



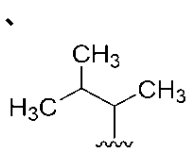
20



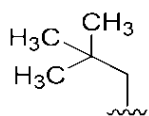
30



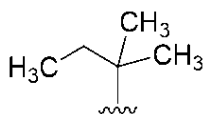
40



50



、または



である。

10

【0611】

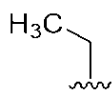
一部の実施形態では、 r は 1 である。一部の実施形態では、 r は 2 である。一部の実施形態では、 r は 3 である。

【0612】

一部の実施形態では、それぞれの R^{29} は独立して、H、

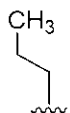


、

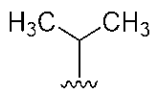


20

、

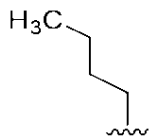


、

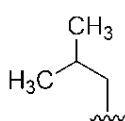


30

、

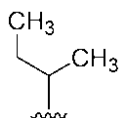


、



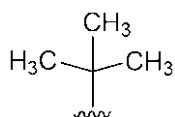
40

、

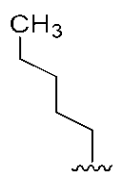


50

、

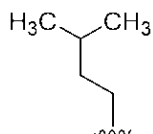


、



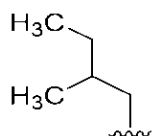
10

、

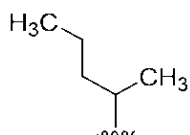


20

、

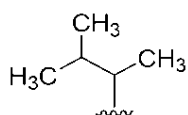


、

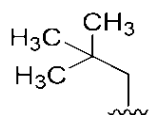


30

、

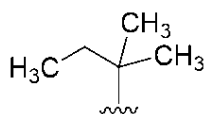


、



40

、または



である。

【 0 6 1 3 】

一部の実施形態では、それぞれの R²⁹ は独立して、Hまたは

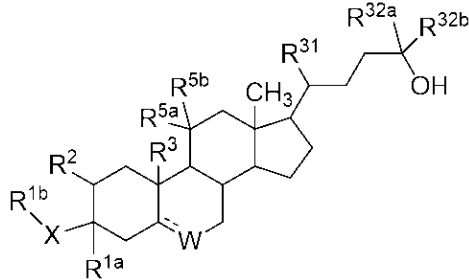
50



である。

【0614】

一態様では、本発明の構造脂質は、式SIXの構造を有する化合物、



10

式SIX、

またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

式中、

R^{1a} は、H、任意選択的に置換された C_1-C_6 アルキル、任意選択的に置換された C_2-C_6 アルケニル、または任意選択的に置換された C_2-C_6 アルキニルであり、

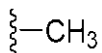
20

XはOまたはSであり、

R^{1b} はHまたは任意選択的に置換された C_1-C_6 アルキルであり、

R^2 はHまたは OR^A であり、式中、 R^A はHまたは任意選択的に置換された C_1-C_6 アルキルであり、

R^3 はHまたは



であり、



30

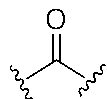
は単結合または二重結合を表し、

Wは CR^{4a} または $CR^{4a}R^{4b}$ であり、式中、Wと隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、Wは CR^{4a} であり、Wと隣接炭素の間に単結合が存在する場合、Wは $CR^{4a}R^{4b}$ であり、

R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された C_1-C_6 アルキルであり、

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、Hまたは OR^A であり、または、 R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、

40



を形成し、

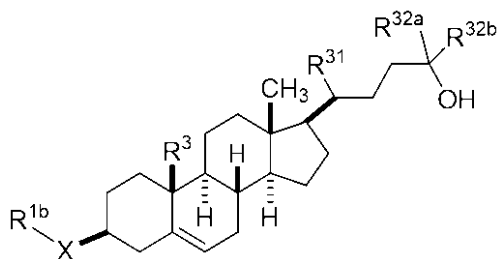
R^{31} はHまたは C_1-C_6 アルキルであり、

R^{32a} 及び R^{32b} のそれぞれは C_1-C_6 アルキルである。

【0615】

一部の実施形態では、化合物は、式SIXaの構造、

50



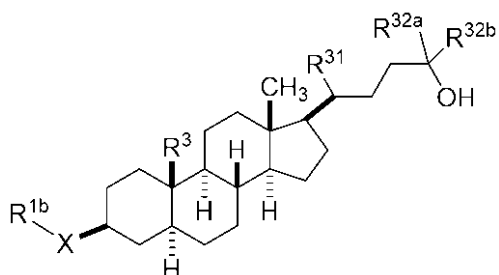
式 S I X a、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

10

【 0 6 1 6 】

一部の実施形態では、化合物は、式 S I X b の構造、



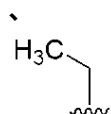
20

式 S I X b、

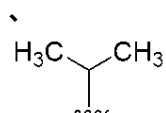
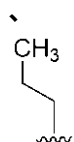
またはその薬学的に許容される塩を有する。

【 0 6 1 7 】

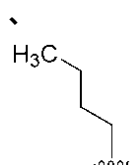
一部の実施形態では、R³¹は、H、



30

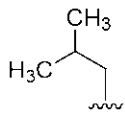


40

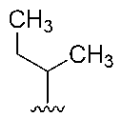


、

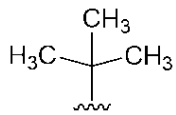
50



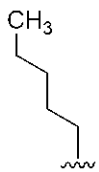
、



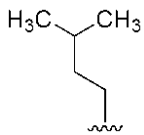
、



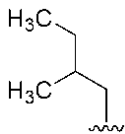
、



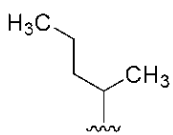
、



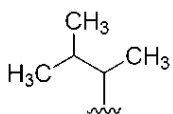
、



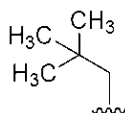
、



、



、



、または

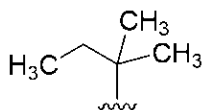
10

20

30

40

50



である。

【 0 6 1 8 】

一部の実施形態では、 R^{31} は



10

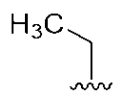
である。

【 0 6 1 9 】

一部の実施形態では、 R^{32a} 及び R^{32b} のそれぞれは独立して、

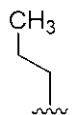


、

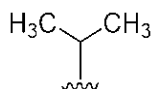


20

、

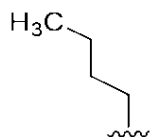


、

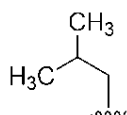


30

、

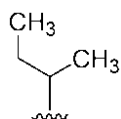


、



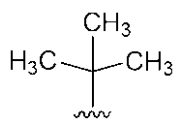
40

、

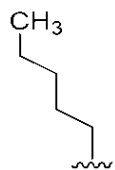


、

50

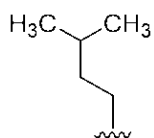


、

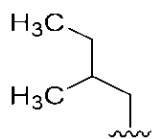


10

、

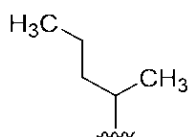


、



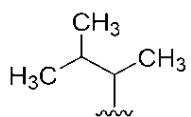
20

、

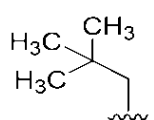


30

、

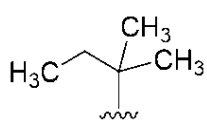


、



40

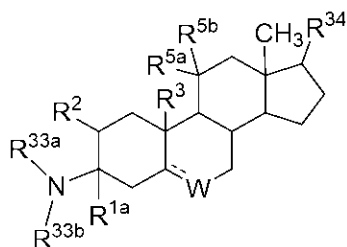
、または



である。

【 0 6 2 0 】

一態様では、本発明の構造脂質は、式 S X の構造を有する化合物、



式 S X、

またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

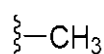
式中、

R^{1a} は、H、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、または任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルキニルであり、

X は O または S であり、

R^2 は H または OR^A であり、式中、 R^A は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^3 は H または



であり、

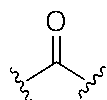


は単結合または二重結合を表し、

W は CR^{4a} または $CR^{4a}R^{4b}$ であり、式中、W と隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、W は CR^{4a} であり、W と隣接炭素の間に単結合が存在する場合、W は $CR^{4a}R^{4b}$ であり、

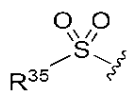
R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、H または OR^A であり、または、 R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



を形成し、

R^{33a} は任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルまたは



であり、式中、 R^{35} は任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルまたは任意選択的に置換された $C_6 - C_{10}$ アリールであり、

R^{33b} は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、または、

R^{35} 及び R^{33b} は、それぞれが結合している原子と共に、任意選択的に置換された $C_3 - C_9$ ヘテロシクリルを形成し、

R^{34} は、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ ヘテロアルキルである。

【0621】

一部の実施形態では、化合物は、式 S X a の構造、

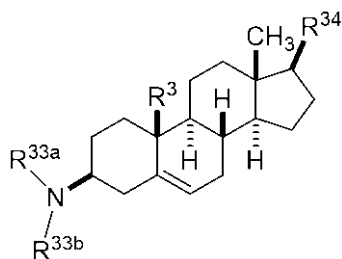
10

20

30

40

50



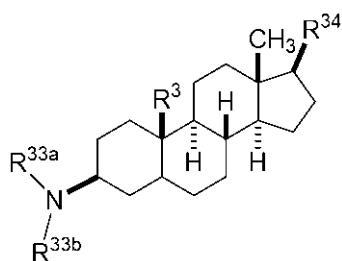
式 SX a、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

10

【 0 6 2 2 】

一部の実施形態では、化合物は、式 SX b の構造、



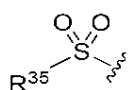
20

式 SX b、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

【 0 6 2 3 】

一部の実施形態では、 R^{33a} は



である。

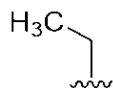
【 0 6 2 4 】

30

一部の実施形態では、 R^{35} は、

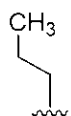


、



、または

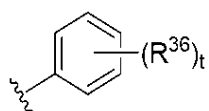
40



である。

【 0 6 2 5 】

一部の実施形態では、 R^{35} は



50

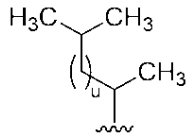
であり、式中、

t は 0、1、2、3、4、または 5 であり、

それぞれの R^{36} は独立して、ハロ、ヒドロキシル、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ ヘテロアルキルである。

【0626】

一部の実施形態では、 R^{34} は



10

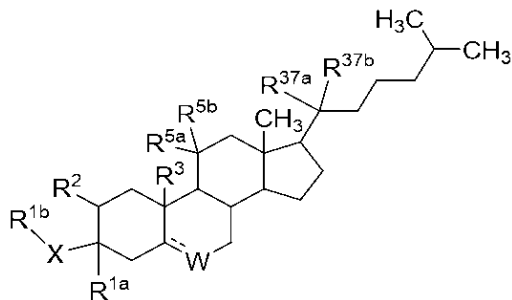
であり、式中、u は、0、1、2、3、または 4 である。

【0627】

一部の実施形態では、u は 3 または 4 である。

【0628】

一態様では、本発明の構造脂質は、式 S X I の構造を有する化合物、



20

式 S X I、

またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

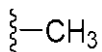
式中、

R^{1a} は、H、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、または任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルキニルであり、

X は O または S であり、

R^2 は H または OR^A であり、式中、 R^A は H または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^3 は H または



30

であり、



40

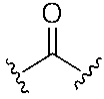
は単結合または二重結合を表し、

W は CR^{4a} または $CR^{4a}R^{4b}$ であり、式中、W と隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、W は CR^{4a} であり、W と隣接炭素の間に単結合が存在する場合、W は $CR^{4a}R^{4b}$ であり、

R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、H または OR^A であり、または、 R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、

50



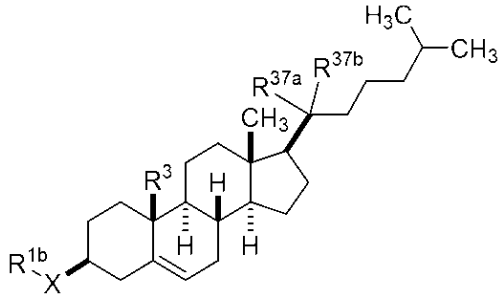
を形成し、

R^{37a} 及び R^{37b} のそれぞれは独立して、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ ヘテロアルキル、ハロ、またはヒドロキシルである。

【0629】

一部の実施形態では、化合物は、式 S X I a の構造、

10



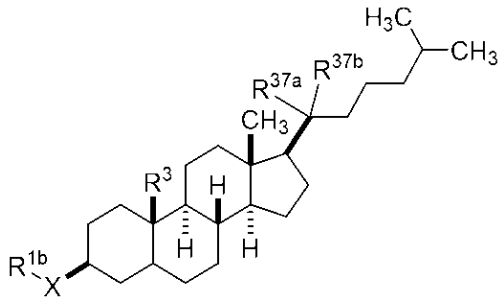
式 S X I a、

20

またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0630】

一部の実施形態では、化合物は、式 S X I b の構造、



30

式 S X I b、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0631】

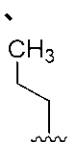
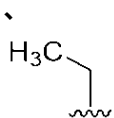
一部の実施形態では、 R^{37a} はヒドロキシルである。

【0632】

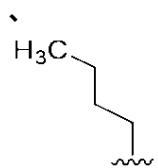
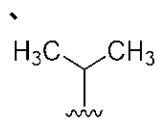
一部の実施形態では、 R^{37b} は、



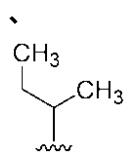
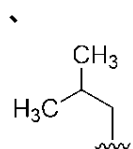
40



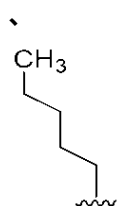
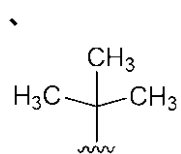
50



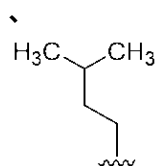
10



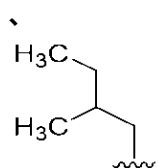
20



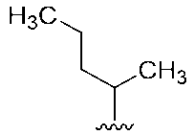
30



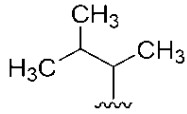
40



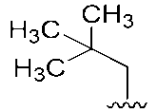
50



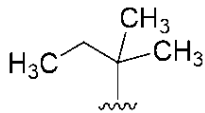
、



、



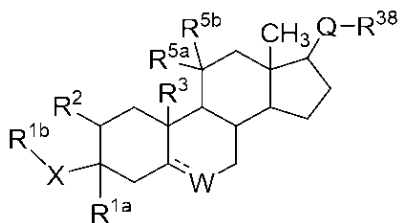
、または



である。

【 0 6 3 3 】

一態様では、本発明の構造脂質は、式 S X I I の構造を有する化合物、



式 S X I I 、

またはその薬学的に許容される塩を特徴とし、

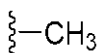
式中、

R^{1a} は、H、任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、または任意選択的に置換された $C_2 - C_6$ アルキニルであり、

X はOまたはSであり、

R^2 はHまたは OR^A であり、式中、 R^A はHまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R^3 はHまたは



であり、



は単結合または二重結合を表し、

W は CR^{4a} または $CR^{4a}R^{4b}$ であり、式中、 W と隣接炭素の間に二重結合が存在する場合、 W は CR^{4a} であり、 W と隣接炭素の間に単結合が存在する場合、 W は $CR^{4a}R^{4b}$ であり、

R^{4a} 及び R^{4b} のそれぞれは独立して、H、ハロ、または任意選択的に置換された C_1

10

20

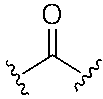
30

40

50

— C_6 アルキルであり、

R^{5a} 及び R^{5b} のそれぞれは独立して、H または OR^A であり、または、 R^{5a} 及び R^{5b} は、それぞれが結合している原子と共に結合して、



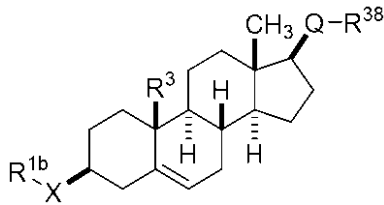
を形成し、

Q は、O、S、または NR^E であり、式中、 R^E は H または任意選択的に置換された C_1 — C_6 アルキルであり、

R^{38} は任意選択的に置換された C_1 — C_6 アルキルである。

【0634】

一部の実施形態では、化合物は、式 SXII a の構造、

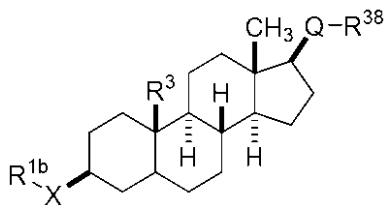


式 SXII a、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0635】

一部の実施形態では、化合物は、式 SXII b の構造、



式 SXII b、

またはその薬学的に許容される塩を有する。

【0636】

一部の実施形態では、Q は NR^E である。

【0637】

一部の実施形態では、 R^E は H または



である。

【0638】

一部の実施形態では、 R^E は H である。一部の実施形態では、 R^E は



である。

【0639】

一部の実施形態では、 R^{38} は

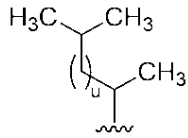
10

20

30

40

50



であり、式中、 u は、0、1、2、3、または4である。

【0640】

一部の実施形態では、 X はOである。

【0641】

一部の実施形態では、 R^{1a} はHまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルである。

10

【0642】

一部の実施形態では、 R^{1a} はHである。

【0643】

一部の実施形態では、 R^{1b} はHまたは任意選択的に置換された $C_1 - C_6$ アルキルである。

【0644】

一部の実施形態では、 R^{1b} はHである。

【0645】

一部の実施形態では、 R^2 はHである。

20

【0646】

一部の実施形態では、 R^{4a} はHである。

【0647】

一部の実施形態では、 R^{4b} はHである。

【0648】

一部の実施形態では、

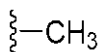
≡

は二重結合を表す。

【0649】

一部の実施形態では、 R^3 はHである。一部の実施形態では、 R^3 は

30



である。

【0650】

一部の実施形態では、 R^{5a} はHである。

【0651】

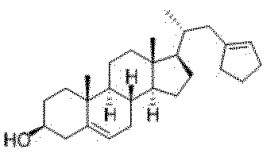
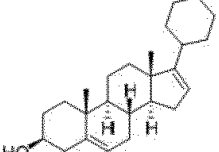
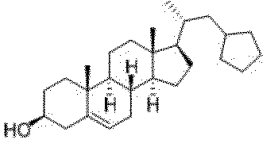
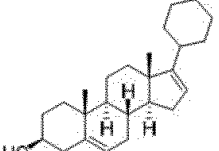
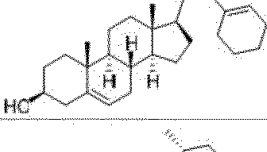
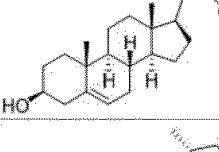
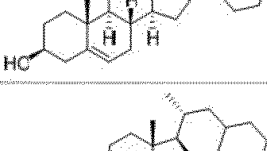
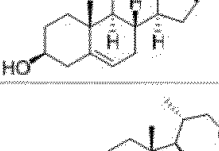
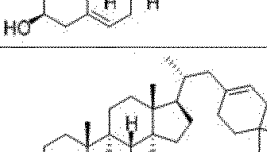
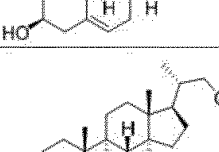
一部の実施形態では、 R^{5b} はHである。

【0652】

一態様では、本発明は、表1中の化合物S-1~42、S-150、S-154、S-162~165、S-169~172、及びS-184のうちのいずれか1つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。本明細書で使用する場合、「COMP D」とは「化合物」のことを意味する。

40

表1. 式SIの化合物

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
1		22	
2		23	
3		24	
4		25	
5		26	
6		27	

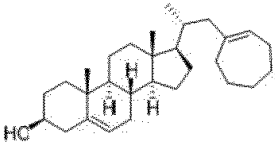
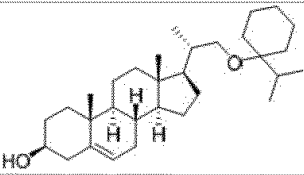
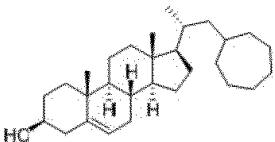
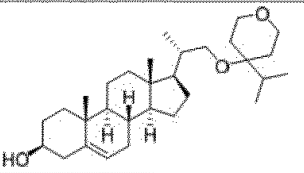
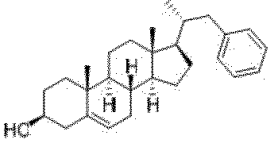
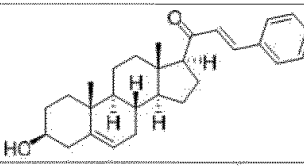
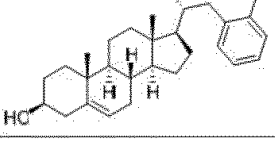
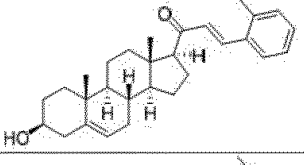
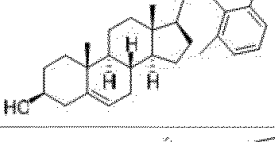
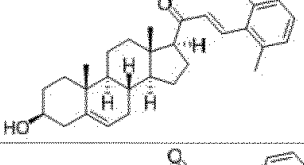
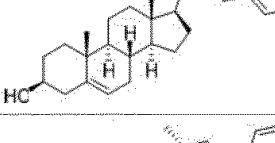
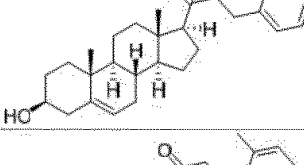
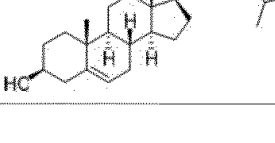
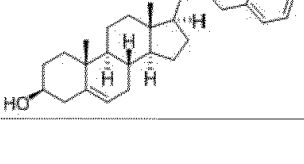
10

20

30

40

50

CMPD 番号 S~	構造	CMPD 番号 S~	構造
7		28	
8		29	
9		30	
10		31	
11		32	
12		33	
13		34	

10

20

30

40

50

CMPD 番号 S~	構造	CMPD 番号 S~	構造
14		35	
15		36	
16		37	
17		38	
18		39	
19		40	
20		41	

10

20

30

40

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
21		42	
150		165	
154		169	
162		170	
163		171	
164		172	
184			

【 0 6 5 3 】

一態様では、本発明は、表 2 中の化合物 S - 4 3 ~ 5 0 及び S - 1 7 5 ~ 1 7 8 のうちのいずれか 1 つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表 2 . 式 S I I の化合物

10

20

30

40

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
43		47	
44		48	
45		49	
46		50	
175		177	
176		178	

【0654】

一態様では、本発明は、表3中の化合物S-51～67、S-149、及びS-153のうちのいずれか1つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表3．式SIIIIの化合物

10

20

30

40

50

CMPD. 番号 S-	構造	CMPD. 番号 S-	構造
51		60	
52		61	
53		62	
54		63	
55		64	
56		65	
57		66	

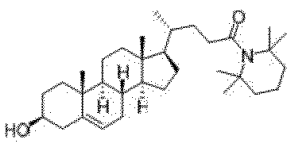
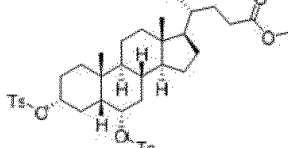
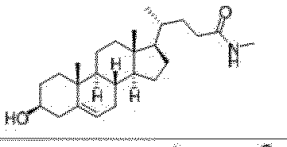
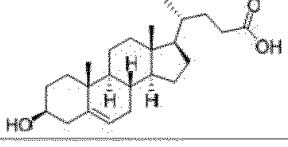
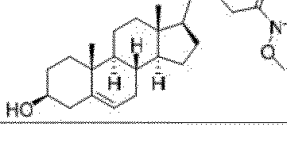
10

20

30

40

50

化合物 番号 S-	構造	化合物 番号 S-	構造
58		67	
59		149	
153			

【 0 6 5 5 】

一態様では、本発明は、表 4 中の化合物 S - 6 8 ~ 7 3 のうちのいずれか 1 つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表 4 . 式 S I V の化合物

10

20

30

40

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
68		71	
69		72	
70		73	

10

20

30

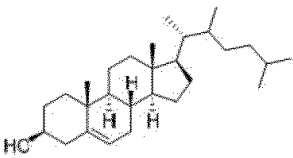
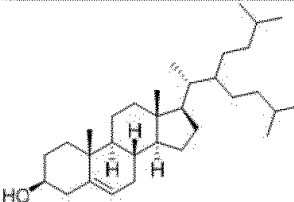
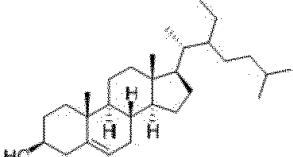
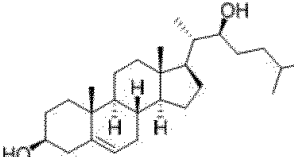
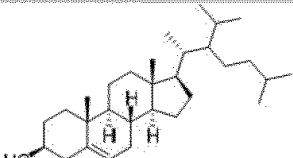
40

【 0 6 5 6 】

一態様では、本発明は、表 5 中の化合物 S - 7 4 ~ 7 8 のうちのいずれか 1 つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表 5 . 式 S V の化合物

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
74		77	
75		78	
76			

10

20

30

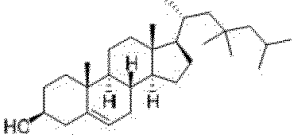
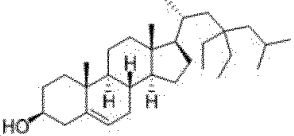
40

【0657】

一態様では、本発明は、表6中の化合物S-79またはS-80のうちのいずれか1つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表6．式S V Iの化合物

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
79		80	

10

20

30

40

【0658】

一態様では、本発明は、表7中の化合物S-81～87、S-152、及びS-157のうちのいずれか1つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表7．式S-VIIの化合物

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
81		85	
82		86	
83		87	
84		152	
157			

【0659】

一態様では、本発明は、表8中の化合物S-88～97のうちのいずれか1つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表8．式SVIIIの化合物

10

20

30

40

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
88		93	
89		94	
90		95	
91		96	
92		97	

【 0 6 6 0 】

一態様では、本発明は、表 9 中の化合物 S - 9 8 ~ 1 0 5 及び S - 1 8 0 ~ 1 8 2 のうちのいずれか 1 つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表 9 . 式 S I X の化合物

10

20

30

40

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
98		102	
99		103	
100		104	
101		105	
180		182	
181			

【0661】

一態様では、本発明は、表10中の化合物S-106の構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表10．式SXの化合物

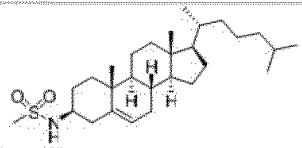
10

20

30

40

50

CPD 番号 S-	構造
106	

10

20

30

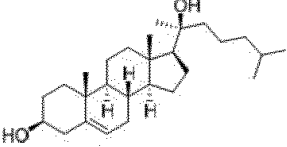
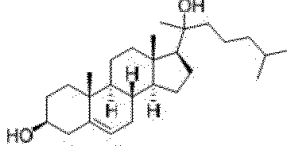
40

【 0 6 6 2 】

一態様では、本発明は、表 1 1 中の化合物 S - 1 0 7 または S - 1 0 8 の構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表 1 1 . 式 S X I の化合物

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
107		108	

10

20

30

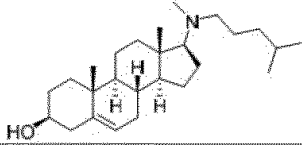
40

【 0 6 6 3 】

一態様では、本発明は、表 1 2 中の化合物 S - 1 0 9 の構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表 1 2 . 式 S X I I の化合物

50

CMPD. 番号 S-	構造
109	

10

20

30

40

【0664】

一態様では、本発明は、表13中の化合物S-110～130、S-155、S-156、S-158、S-160、S-161、S-166～168、S-173、S-174、及びS-179のうちのいずれか1つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表13．本発明の化合物

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
110		121	
111		122	
112		123	
113		124	
114		125	
115		126	
116		127	

10

20

30

40

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号-S-	構造
117		128	
118		129	
119		130	
120		155	
156		167	
158		168	
160		173	

10

20

30

40

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
161		174	
166		179	

10

20

30

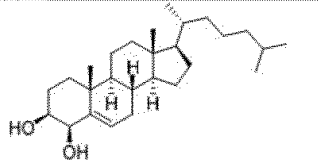
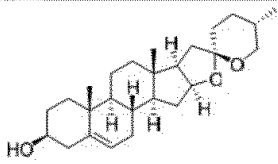
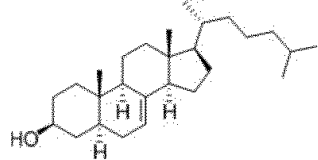
40

【0665】

一態様では、本発明は、表14中の化合物S-131～133のうちのいずれか1つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表14．本発明の化合物

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
131		133	
132			

10

20

30

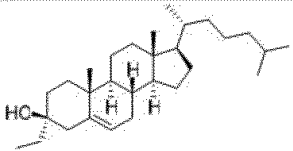
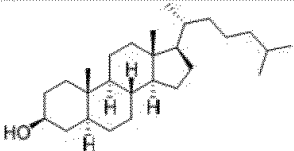
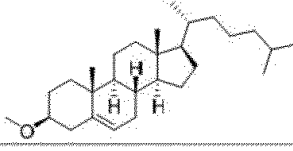
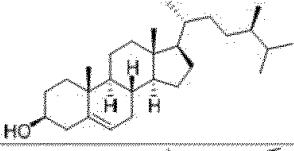
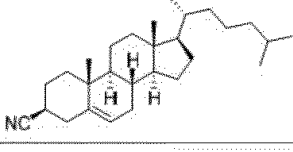
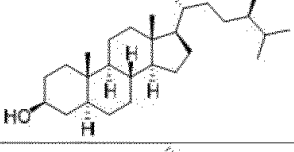
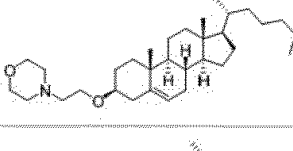
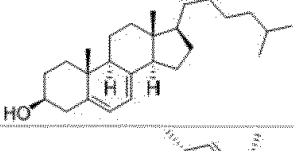
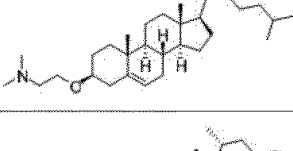
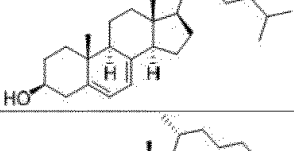
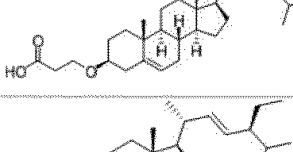
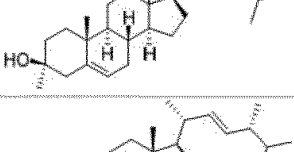
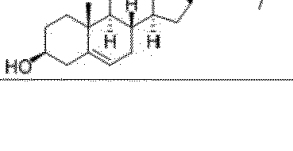
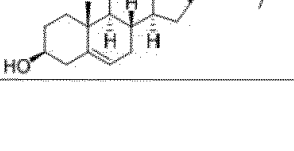
40

【 0 6 6 6 】

一態様では、本発明は、表 1 5 中の化合物 S - 1 3 4 ~ 1 4 8、S - 1 5 1、及び S - 1 5 9 のうちのいずれか 1 つの構造を有する化合物または任意のその薬学的に許容される塩を特徴とする。

表 1 5 . 本発明の化合物

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
134		142	
135		143	
136		144	
137		145	
138		146	
139		147	
140		148	

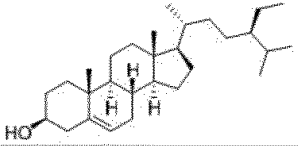
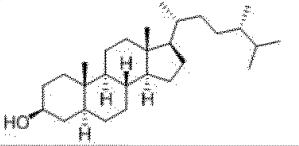
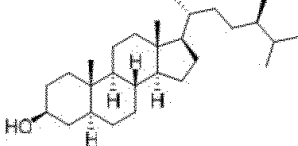
10

20

30

40

50

CMPD 番号 S-	構造	CMPD 番号 S-	構造
141		151	
159			

10

20

30

40

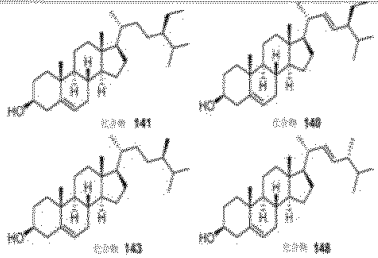
【0667】

本発明の脂質ナノ粒子の1種または複数種の構造脂質は、構造脂質の組成物（例えば、2種またはそれ以上の構造脂質の混合物、3種またはそれ以上の構造脂質の混合物、4種またはそれ以上の構造脂質の混合物、または5種またはそれ以上の構造脂質の混合物）であってもよい。構造脂質の組成物としては、ステロール（例えば、コレステロール、 β -シトステロール、フェコステロール、エルゴステロール、シトステロール、カンペステロール、スティグマステロール、ブラシカステロール、エルゴステロール、トマチジン、トマチン、ウルソール酸、 α トコフェロール、または、表15中の化合物134～148、151、及び159のうちのいずれか1つ）の任意の組み合わせを挙げることができるが

50

これらに限定されない。例えば、本発明の脂質ナノ粒子の１種または複数種の構造脂質は、表１６中の組成物１８３であってもよい。

表１６．構造脂質組成物

組成物 S-番号	構造
183	 化合物 S-141 化合物 S-140 化合物 S-143 化合物 S-148

10

20

30

40

【０６６８】

組成物 S-183 は、化合物 S-141、S-140、S-143、及び S-148 の混合物である。一部の実施形態では、組成物 S-183 は、約 35%～約 45% の化合物 S-141、約 20%～約 30% の化合物 S-140、約 20%～約 30% の化合物 S-143、及び約 5%～約 15% の化合物 S-148 を含む。一部の実施形態では、組成物 183 は、約 40% の化合物 S-141、約 25% の化合物 S-140、約 25% の化合

50

物 S-143、及び約 10% の化合物 S-148 を含む。

【0669】

一部の実施形態では、構造脂質はフィトステロールである。一部の実施形態では、フィトステロールは、単独または組み合わせの、シトステロール、ステイグマステロール、カンペステロール、シトスタノール、カンペスタノール、ブラシカステロール、フコステロール、 β -シトステロール、ステイグマスタノール、 β -シトスタノール、エルゴステロール、ルペオール、シクロアルテノール、 $\Delta 5$ -アベナステロール、 $\Delta 7$ -アベナステロール、または $\Delta 7$ -ステイグマステロール（その類似体、塩、またはエステルを含む）である。一部の実施形態では、本開示の LNP のフィトステロール構成成分は、単一のフィトステロールである。一部の実施形態では、本開示の LNP のフィトステロール構成成分は、異なるフィトステロール（例えば、2、3、4、5、または 6 種の異なるフィトステロール）の混合物である。一部の実施形態では、本開示の LNP のフィトステロール構成成分は、1 種または複数種のフィトステロール及び 1 種または複数種のズステロールのブレンド、例えば、フィトステロール（例えば、シトステロール、例えば、 β -シトステロールなど）及びコレステロールのブレンドなどである。

10

【0670】

化合物の比率

本発明の脂質ナノ粒子は本明細書に記載の構造構成成分を含んでいてもよい。脂質ナノ粒子の構造構成成分は、化合物 S-1~148 のうちのいずれか 1 つ、本発明の 1 種または複数種の構造化合物の混合物、及び／または、コレステロール及び／またはフィトステロールと組み合わせた化合物 S-1~148 のうちのいずれか 1 つであってもよい。

20

【0671】

例えば、脂質ナノ粒子の構造構成成分は、コレステロールを含む本発明の 1 種または複数種の構造化合物（例えば、化合物 S-1~148 のいずれか）の混合物であってもよい。コレステロールに対する、脂質ナノ粒子中に含まれる構造化合物の mol% は、0~99 mol% であってもよい。コレステロールに対する、脂質ナノ粒子中に含まれる構造化合物の mol% は、約 10 mol%、20 mol%、30 mol%、40 mol%、50 mol%、60 mol%、70 mol%、80 mol%、または 90 mol% であってもよい。

【0672】

一態様では、本発明は、2 種またはそれ以上のステロールを含む組成物を特徴とし、2 種またはそれ以上のステロールは、 β -シトステロール、シトスタノール、カンペステロール、ステイグマステロール、及びブラシカステロールのうち少なくとも 2 種を含む。組成物はコレステロールを追加的に含んでいてもよい。一実施形態では、 β -シトステロールは、組成物中における非コレステロールステロールのうちの約 35~99%、例えば、約 40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上を含む。

30

【0673】

別の態様では、本発明は、2 種またはそれ以上のステロールを含む組成物を特徴とし、2 種またはそれ以上のステロールは β -シトステロール及びカンペステロールを含み、 β -シトステロールは、組成物中におけるステロールのうちの 95~99.9% を含み、カンペステロールは、組成物中におけるステロールのうちの 0.1~5% を含む。

40

【0674】

一部の実施形態では、組成物はシトスタノールを更に含む。一部の実施形態では、 β -シトステロールは組成物中におけるステロールのうちの 95~99.9% を含み、カンペステロールは組成物中におけるステロールのうちの 0.05~4.95% を含み、シトスタノールは組成物中におけるステロールのうちの 0.05~4.95% を含む。

【0675】

別の態様では、本発明は、2 種またはそれ以上のステロールを含む組成物を特徴とし、2 種またはそれ以上のステロールは β -シトステロール及びシトスタノールを含み、 β -シトステロールは、組成物中におけるステロールのうちの 95~99.9% を含み、シト

50

スタノールは、組成物中におけるステロールのうちの0.1～5%を含む。

【0676】

一部の実施形態では、組成物はカンペステロールを更に含む。一部の実施形態では、 β -シトステロールは組成物中におけるステロールのうちの95～99.9%を含み、カンペステロールは組成物中におけるステロールのうちの0.05～4.95%を含み、シトスタノールは組成物中におけるステロールのうちの0.05～4.95%を含む。

【0677】

一部の実施形態では、組成物はカンペステロールを更に含む。一部の実施形態では、 β -シトステロールは組成物中におけるステロールのうちの75～80%を含み、カンペステロールは組成物中におけるステロールのうちの5～10%を含み、シトスタノールは組成物中におけるステロールのうちの10～15%を含む。

【0678】

一部の実施形態では、組成物は別のステロールを更に含む。一部の実施形態では、 β -シトステロールは組成物中におけるステロールのうちの35～45%を含み、ステイグマステロールは組成物中におけるステロールのうちの20～30%を含み、カンペステロールは組成物中におけるステロールのうちの20～30%を含み、ブラシカステロールは組成物中におけるステロールのうちの1～5%を含む。

【0679】

別の態様では、本発明は、複数種の脂質ナノ粒子を含む組成物を特徴とし、複数種の脂質ナノ粒子はイオン性脂質及び2種またはそれ以上のステロールを含み、2種またはそれ以上のステロールは β -シトステロール及びカンペステロールを含み、 β -シトステロールは、組成物中におけるステロールのうちの95～99.9%を含み、カンペステロールは、組成物中におけるステロールのうちの0.1～5%を含む。

【0680】

一部の実施形態では、2種またはそれ以上のステロールはシトスタノールを更に含む。一部の実施形態では、 β -シトステロールは組成物中におけるステロールのうちの95～99.9%を含み、カンペステロールは組成物中におけるステロールのうちの0.05～4.95%を含み、シトスタノールは組成物中におけるステロールのうちの0.05～4.95%を含む。

【0681】

別の態様では、本発明は、複数種の脂質ナノ粒子を含む組成物を特徴とし、複数種の脂質ナノ粒子はイオン性脂質及び2種またはそれ以上のステロールを含み、2種またはそれ以上のステロールは β -シトステロール及びシトスタノールを含み、 β -シトステロールは、組成物中におけるステロールのうちの95～99.9%を含み、シトスタノールは、組成物中におけるステロールのうちの0.1～5%を含む。

【0682】

一部の実施形態では、2種またはそれ以上のステロールはカンペステロールを更に含む。一部の実施形態では、 β -シトステロールは組成物中におけるステロールのうちの95～99.9%を含み、カンペステロールは組成物中におけるステロールのうちの0.05～4.95%を含み、シトスタノールは組成物中におけるステロールのうちの0.05～4.95%を含む。

【0683】

(iii) 非カチオン性ヘルパー脂質／リン脂質

一部の実施形態では、本明細書に記載の脂質性組成物（例えば、LNP）は、1種または複数種の非カチオン性ヘルパー脂質を含む。一部の実施形態では、非カチオン性ヘルパー脂質はリン脂質である。一部の実施形態では、非カチオン性ヘルパー脂質は、リン脂質代用品または代替品である。

【0684】

本明細書で使用する場合、用語「非カチオン性ヘルパー脂質」とは、少なくとも8炭素長の少なくとも1つの脂肪酸鎖及び少なくとも1つの極性先端基部分を含む脂質のことを

10

20

30

40

50

意味する。一実施形態では、ヘルパー脂質はホスファチジルコリン（PC）ではない。一実施形態では、非カチオン性ヘルパー脂質は、リン脂質またはリン脂質代用品である。一部の実施形態では、リン脂質またはリン脂質代用品は、例えば、1つまたは複数の飽和もしくは（ポリ）不飽和リン脂質もしくはリン脂質代用品、またはこれらの組み合わせであってもよい。一般的に、リン脂質は、リン脂質部分及び1つまたは複数の脂肪酸部分を含む。

【0685】

リン脂質部分は、例えば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、2-リゾホスファチジルコリン、及びスフィンゴミエリンからなる非限定群から選択することができる。

10

【0686】

脂肪酸部分は、例えば、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノレン酸、 α リノレン酸、エルカ酸、フィタン酸、アラキジン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ベヘン酸、ドコサペンタエン酸、及びドコサヘキサエン酸からなる非限定群から選択することができる。

【0687】

リン脂質としては、グリセロリン脂質、例えば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジリンイノシトール、ホスファチジルグリセロール、及びホスファチジン酸などが挙げられるがこれらに限定されない。リン脂質としてはまた、スフィンゴリン脂質、例えば、スフィンゴミエリンなどが挙げられる。

20

【0688】

一部の実施形態では、非カチオン性ヘルパー脂質は、DSPC類似体、DSPC代用品、オレイン酸、またはオレイン酸類似体である。

【0689】

一部の実施形態では、非カチオン性ヘルパー脂質は、非ホスファチジルコリン（PC）両性イオン脂質、DSPC類似体、オレイン酸、オレイン酸類似体、または1,2-ジステアロイル-1,3-ビス(2-スフィンゴイル)-2-スフィンゴイル-3-ホスホコリン（DSPC）代用品である。

【0690】

リン脂質

30

本明細書で開示する医薬組成物の脂質組成物は、1種または複数種の非カチオン性ヘルパー脂質を含んでもよい。一部の実施形態では、非カチオン性ヘルパー脂質は、リン脂質、例えば、1種または複数種の飽和もしくは（ポリ）不飽和リン脂質またはこれらの組み合わせである。一般的に、リン脂質は、リン脂質部分及び1つまたは複数の脂肪酸部分を含む。本明細書で使用する場合、「リン脂質」は、リン酸エステル部分及び1つまたは複数の炭素鎖、例えば、不飽和脂肪酸鎖などを含む脂質である。リン脂質は、1つまたは複数の多重（例えば、二重または三重）結合（例えば、1つまたは複数の不飽和結合）を含んでもよい。リン脂質またはその類似体もしくは誘導体はコリンを含んでもよい。リン脂質またはその類似体もしくは誘導体はコリンを含んでいなくてもよい。特定のリン脂質は膜への融合を促進し得る。例えば、カチオン性リン脂質は、膜（例えば、細胞膜または細胞内膜）の1つまたは複数の負に荷電したリン脂質と相互作用し得る。リン脂質が膜に融合することにより、脂質含有組成物の1種または複数種の要素が膜を通過することが可能となり得、それにより、例えば、1種または複数種の要素の細胞への送達が可能となる。

40

【0691】

リン脂質部分は、例えば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、2-リゾホスファチジルコリン、及びスフィンゴミエリンからなる非限定群から選択することができる。

【0692】

脂肪酸部分は、例えば、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミチン酸

50

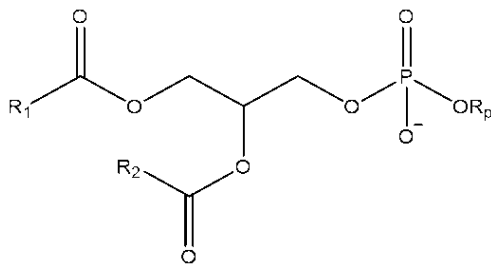
、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノレン酸、 α リノレン酸、エルカ酸、フィタン酸、アラキジン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ベヘン酸、ドコサペンタエン酸、及びドコサヘキサエン酸からなる非限定群から選択することができる。

【0693】

特定のリン脂質は膜への融合を促進し得る。例えば、カチオン性リン脂質は、膜（例えば、細胞膜または細胞内膜）の1つまたは複数の負に荷電したリン脂質と相互作用し得る。リン脂質が膜に融合することにより、脂質含有組成物（例えば、LNP）の1種または複数種の要素（例えば、治療薬）が膜を通過することが可能となり得、それにより、例えば、1種または複数種の要素の標的組織への送達が可能となる。

【0694】

本開示の脂質ナノ粒子の脂質構成成分は、1種または複数種のリン脂質、例えば、1種または複数種の（ポリ）不飽和脂質などを含んでいてもよい。リン脂質は1つまたは複数の脂質二重層へと自己組織化し得る。一般的に、リン脂質は、リン脂質部分及び1つまたは複数の脂肪酸部分を含んでいてもよい。例えば、リン脂質は、式（H I I I）の脂質、



（H I I I）、

であってもよく、

式中、 R_p はリン脂質部分を表し、 R_1 及び R_2 は、同一でも異なってもよい不飽和結合を含有するまたは含有しない脂肪酸部分を表す。リン脂質部分は、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、2-リゾホスファチジルコリン、及びスフィンゴミエリンからなる非限定群から選択してもよい。脂肪酸部分は、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノレン酸、 α リノレン酸、エルカ酸、フィタン酸、アラキジン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ベヘン酸、ドコサペンタエン酸、及びドコサヘキサエン酸からなる非限定群から選択してもよい。分枝化、酸化、環化、及びアルキンを含む修飾及び置換を有する天然化学種を含む非天然化学種もまた検討される。例えば、リン脂質を、1つまたは複数のアルキン（例えば、1つまたは複数の二重結合が三重結合で置換されたアルケニル基）で官能化してもよく、または、1つまたは複数のアルキン（例えば、1つまたは複数の二重結合が三重結合で置換されたアルケニル基）に架橋してもよい。適切な反応条件下、アルキン基は、アジドに曝露されると、銅触媒付加環化を受け得る。このような反応は、LNPの脂質二重層を官能化して膜浸透または細胞認識を促進するのに、または、有用な構成成分、例えば、標的化部分またはイメージング部分（例えば、染料）などにLNPをコンジュゲートするのに有用であり得る。それぞれの可能性は本発明の別の実施形態を表す。

【0695】

本明細書に記載の組成物及び方法に有用なリン脂質は、1, 2-ジステアロイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（DSPC）、1, 2-ジオレオイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン（DOPE）、1, 2-ジリノレオイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（DLP C）、1, 2-ジミリストイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（DMPC）、1, 2-ジオレオイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（DOPC）、1, 2-ジパルミトイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（DPPC）、1, 2-ジウンデカノイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（DUPC）、1-パルミトイル-2-オレオイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（POPC）、1, 2-ジオ-オ-オ

クタデセニル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリン (18:0 ジエテル PC)、1-オレオイル-2-コレステリルヘミサクシノイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリン (O Ch em s PC)、1-ヘキサデシル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリン (C16 L y s o PC)、1,2-ジリノレノイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリン (18:3 (シス) PC)、1,2-ジアラキドノイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリン (D A PC)、1,2-ジドコサヘキサエノイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリン (22:6 (シス) PC)、1,2-ジフィタノイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (4 M E 16.0 P E)、1,2-ジステアロイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (D S P E)、1,2-ジリノレオイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (P E (18:2 / 18:2))、1,2-ジリノレノイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (P E 18:3 (9 Z, 12 Z, 15 Z))、1,2-ジアラキドノイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (D A P E 18:3 (9 Z, 12 Z, 15 Z))、1,2-ジドコサヘキサエノイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (22:6 (シス) P E)、1,2-ジオレオイル-*s n*-グリセロ-3-ホスホ-*r a c*-(1-グリセロール)ナトリウム塩 (D O P G)、及びスフィンゴミエリンからなる非限定群から選択してもよい。それぞれの可能性は本発明の別の実施形態を表す。

【0696】

一部の実施形態では、LNPはDSPCを含む。特定の実施形態では、LNPはDOPEを含む。一部の実施形態では、LNPはDMPEを含む。一部の実施形態では、LNPはDSPCとDOPEの両方を含む。

【0697】

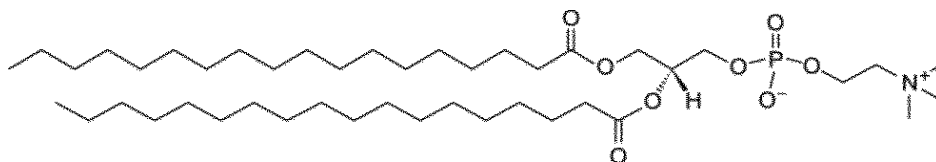
一実施形態では、LNPに用いる非カチオン性ヘルパー脂質は、DSPC、DMPE、及びDOPC、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0698】

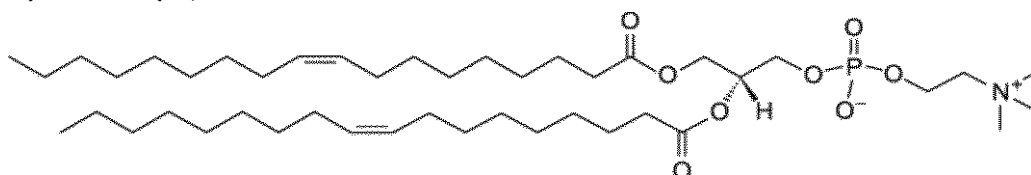
リン脂質としては、グリセリン脂質、例えば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルグリセロール、及びホスファチジン酸などが挙げられるがこれらに限定されない。リン脂質としてはまた、スフィンゴリン脂質、例えば、スフィンゴミエリンなどが挙げられる。

【0699】

リン脂質の例としては、以下、



、
(DSPC)、



、
(DOPC)、

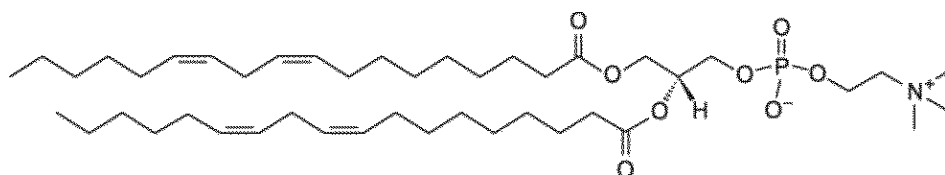
10

20

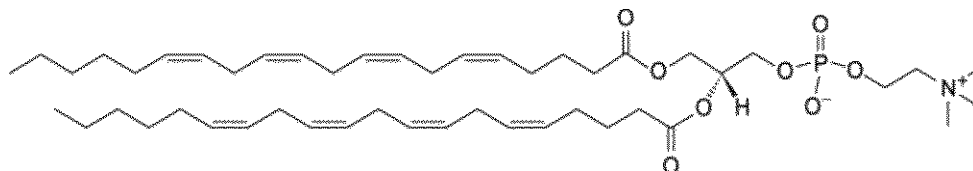
30

40

50

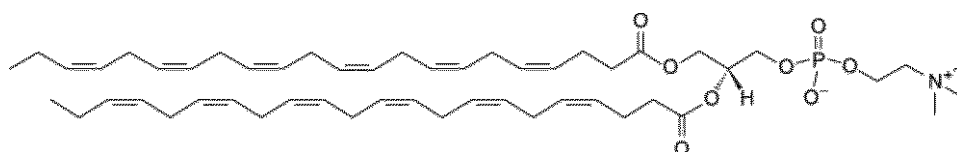


、
(PC (18:2 (9,12)) / 18:2 (9,12))、



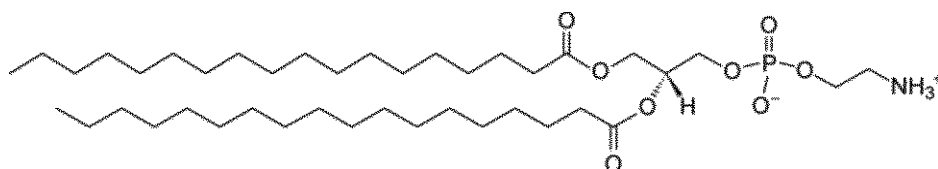
10

、
(DAPC)、



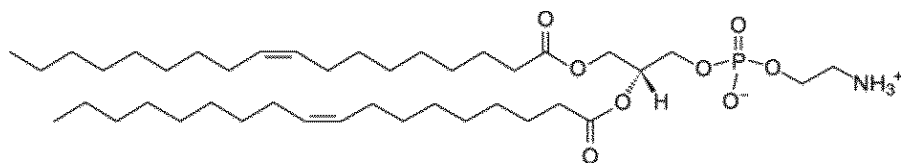
20

、
(22:6 (シス) PC)、



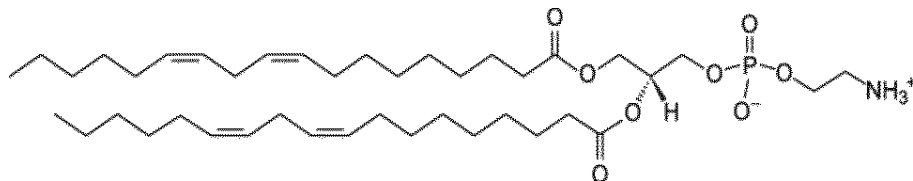
30

、
(DSPE)、



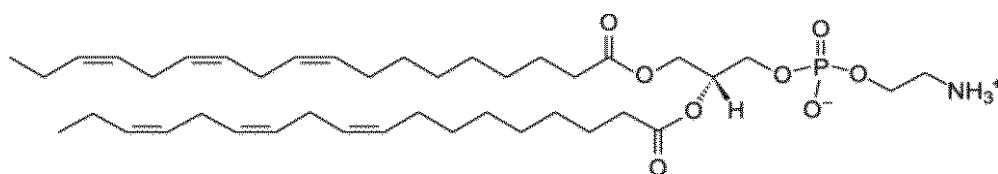
40

、
(DOPE)、

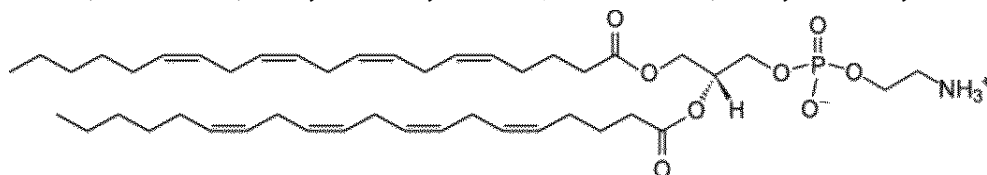


、
PE 18:2 / 18:2、

50

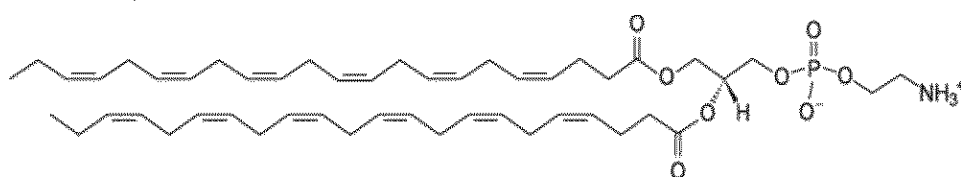


、
P E (1 8 : 3 (9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z / 1 8 : 3 (9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z)) 、



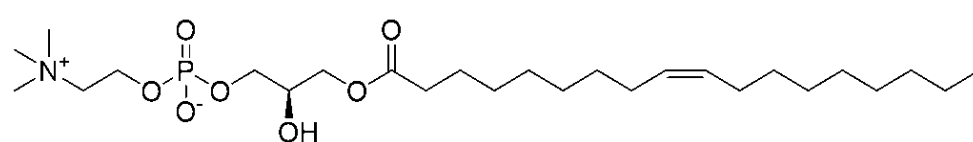
10

、
D A P E 、



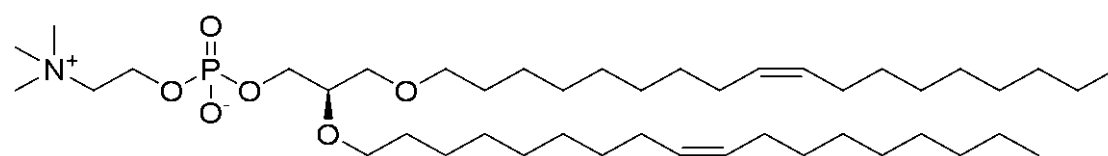
20

、
2 2 : 6 P E 、

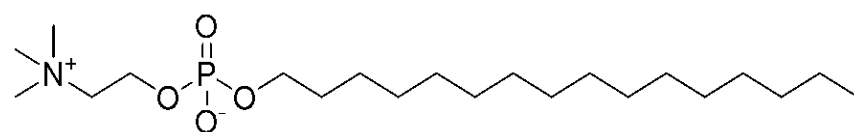


30

、
(L y s o P C 1 8 : 1) 、

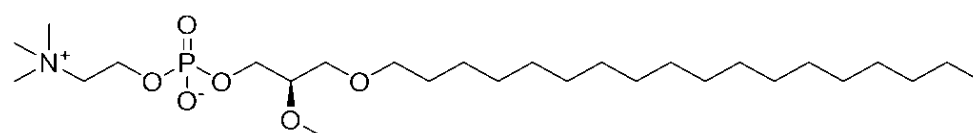


、
C m p d H 4 1 6



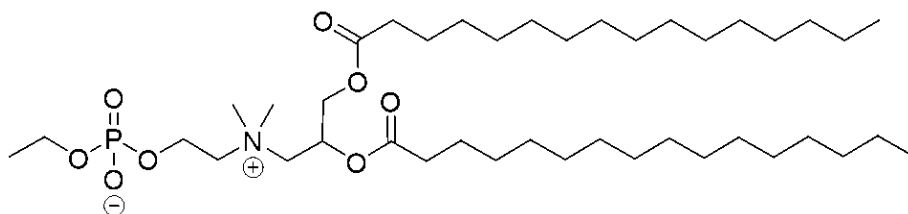
40

、
M A P C H O - 1 6 、



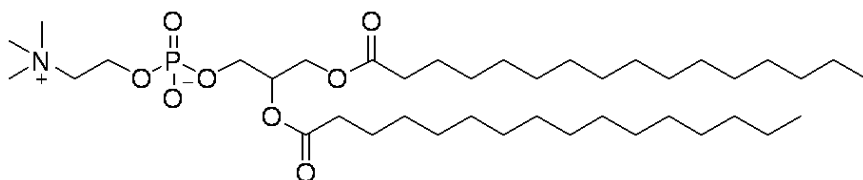
50

、
エデルトシン、及び



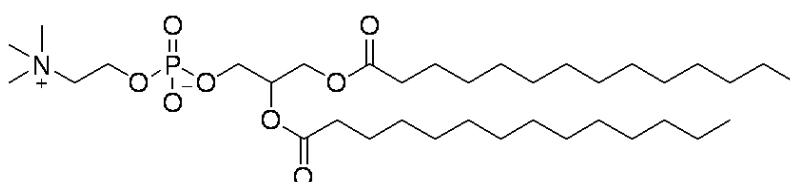
Cmp d H 4 1 7

10



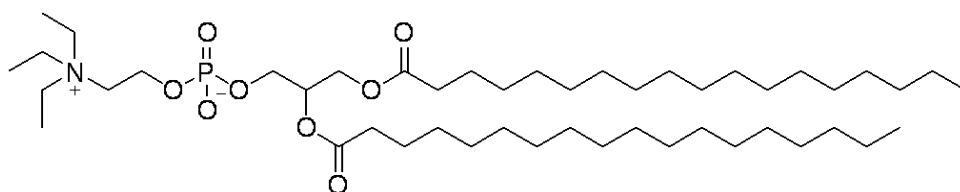
D P P C

20

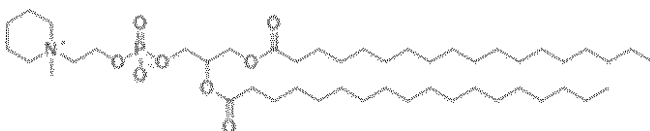


D M P C

30

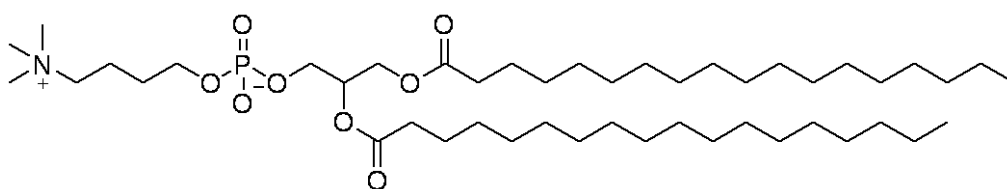


Cmp d H 4 1 8

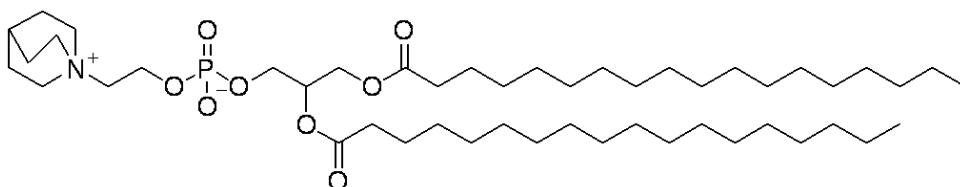


Cmp d H 4 1 9

40

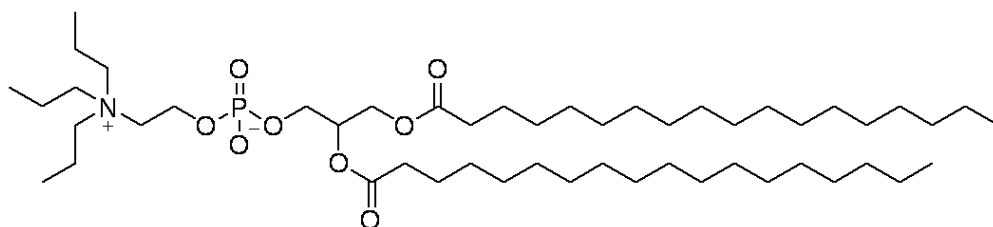


Cmp d H 4 2 0



50

C m p d H 4 2 1



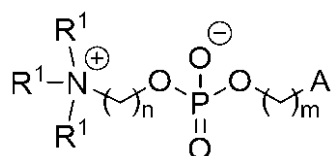
C m p d H 4 2 2

が挙げられるがこれらに限定されない。

10

【 0 7 0 0 】

特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、D S P C (1, 2-ジオクタデカノイル-s n-グリセロール-3-ホスホコリン)の類似体またはバリエーションである。特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、式 (H I X) の化合物



20

(H I X)、

またはその塩であり、

式中、

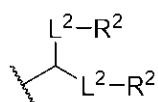
それぞれの R^1 は独立して、任意選択的に置換されたアルキルであり、または任意選択的に、2つの R^1 は、介在原子と共に連結して、任意選択的に置換された単環式カルボシクリルまたは任意選択的に置換された単環式ヘテロシクリルを形成し、または任意選択的に、3つの R^1 は、介在原子と共に連結して、任意選択的に置換された二環式カルボシクリルまたは任意選択的に置換された二環式ヘテロシクリルを形成し、

n は 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 であり、

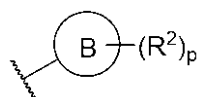
30

m は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 であり、

A は式



または



40

であり、

L^2 のそれぞれの例は独立して、結合または任意選択的に置換された C_{1-6} アルキレンであり、式中、任意選択的に置換された C_{1-6} アルキレンの 1 つのメチレンユニットは、 $-O-$ 、 $-N(R^N)-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^N C(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^N C(O)O-$ 、または $-NR^N C(O)N(R^N)-$ で任意選択的に置換されており、

R^2 のそれぞれの例は独立して、任意選択的に置換された C_{1-30} アルキル、任意選択的に置換された C_{1-30} アルケニル、または任意選択的に置換された C_{1-30} アルキニ

50

ルであり、任意選択的に、式中、 R^2 の1つまたは複数のメチレンユニットは独立して、任意選択的に置換されたカルボシクリレン、任意選択的に置換されたヘテロシクリレン、任意選択的に置換されたアリーレン、任意選択的に置換されたヘテロアリーレン、 $-N(R^N)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(O)-$ 、 $-NR^NC(O)N(R^N)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(O)O-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-C(=NR^N)-$ 、 $-C(=NR^N)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(=NR^N)-$ 、 $-NR^NC(=NR^N)N(R^N)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(S)-$ 、 $-NR^NC(S)N(R^N)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-OS(O)-$ 、 $-S(O)O-$ 、 $-OS(O)O-$ 、 $-OS(O)_2-$ 、 $-S(O)_2O-$ 、 $-OS(O)_2O-$ 、 $-N(R^N)S(O)-$ 、 $-S(O)N(R^N)-$ 、 $-N(R^N)S(O)N(R^N)-$ 、 $-OS(O)N(R^N)-$ 、 $-N(R^N)S(O)O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-N(R^N)S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R^N)-$ 、 $-N(R^N)S(O)_2N(R^N)-$ 、 $-OS(O)_2N(R^N)-$ 、または $-N(R^N)S(O)_2O-$ で置換されており、

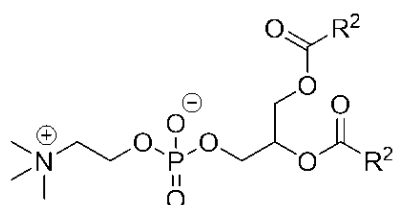
10

R^N のそれぞれの例は独立して、水素、任意選択的に置換されたアルキル、または窒素保護基であり、

環Bは、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアリールであり、

化合物が式の化合物、

20



、

ではない場合、

pは1または2であり、

30

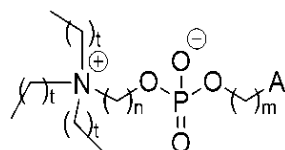
式中、 R^2 のそれぞれの例は独立して、非置換アルキル、非置換アルケニル、または非置換アルキニルである。

【0701】

i) リン脂質先端部の修飾

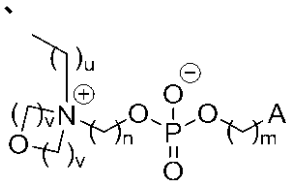
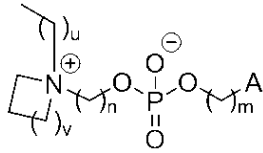
特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、修飾リン脂質先端部（例えば、修飾コリン基）を含む。特定の実施形態では、修飾先端部を有するリン脂質は、修飾第四級アミンを有するDSPCまたはその類似体である。例えば、式(I X)の実施形態では、 R^1 のうちの少なくとも1つはメチルではない。特定の実施形態では、 R^1 のうちの少なくとも1つは水素またはメチルではない。特定の実施形態では、式(I X)の化合物は、以下の式、

40

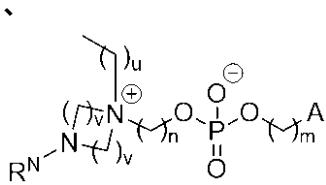


、

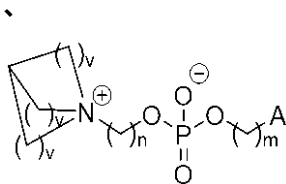
50



10



20



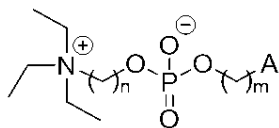
、
 のうちの1つの化合物またはその塩であり、
 式中、

30

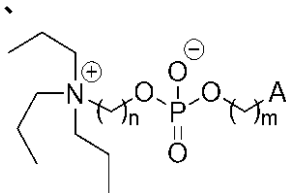
それぞれの n は独立して、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10であり、
 それぞれの u は独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10であ
 り、
 それぞれの v は独立して、1、2、または3である。

【0702】

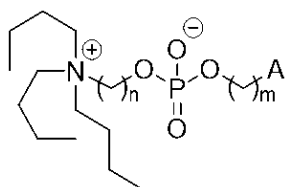
特定の実施形態では、式(HIX)の化合物は、以下の式、



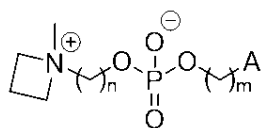
40



50

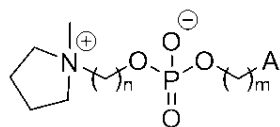


、

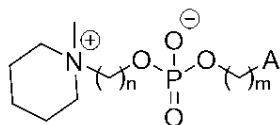


10

、

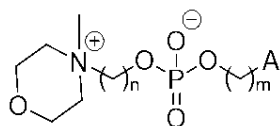


、



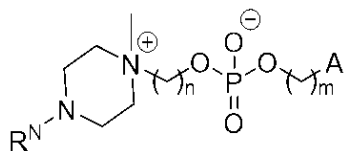
20

、

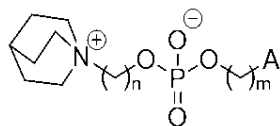


30

、



、



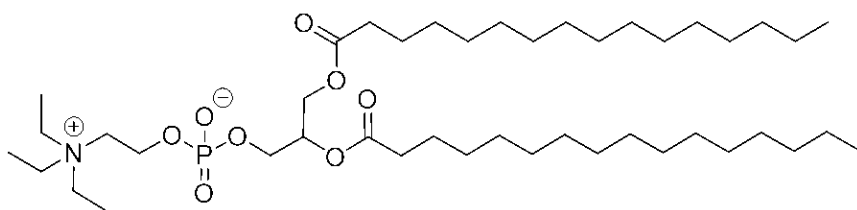
40

、

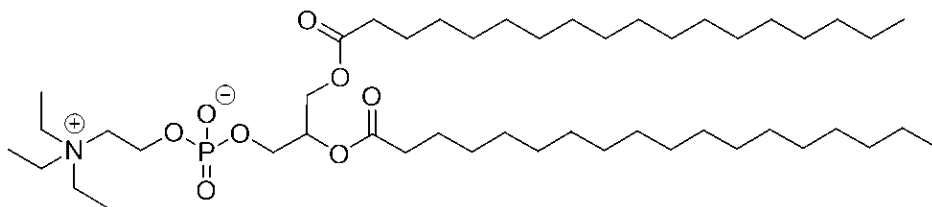
のうちの1つの化合物またはその塩である。

【0703】

特定の実施形態では、式 (H I X) の化合物は、以下、

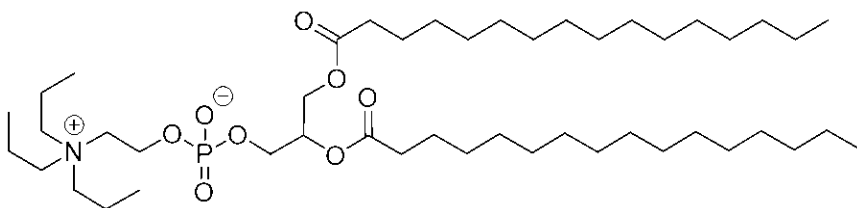


(化合物 H - 4 0 0) 、



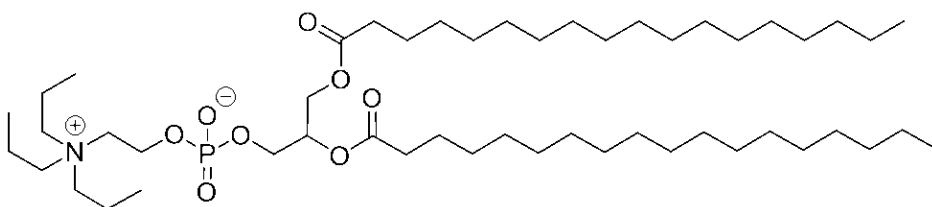
10

(化合物 H - 4 0 1) 、



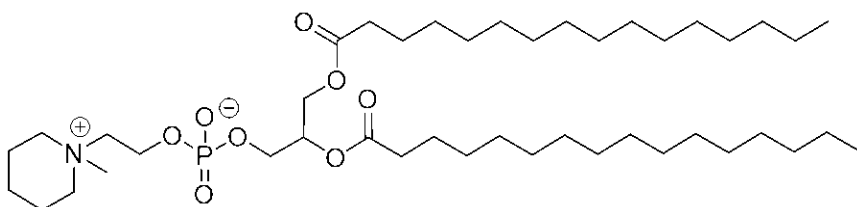
20

(化合物 H - 4 0 2) 、



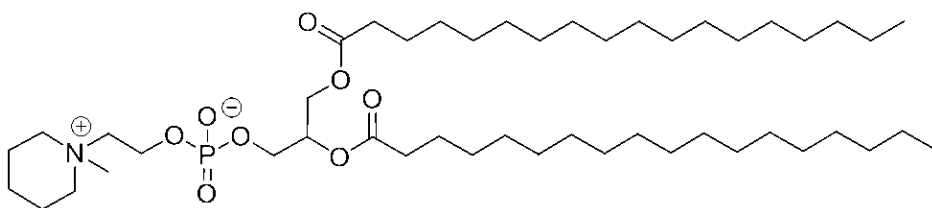
30

(化合物 H - 4 0 3) 、



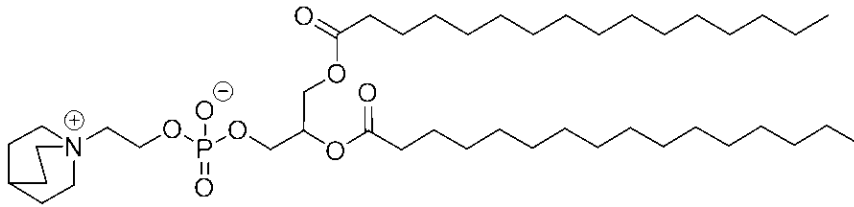
(化合物 H - 4 0 4) 、

40

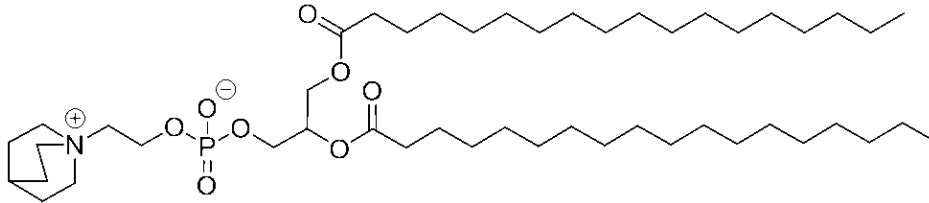


(化合物 H - 4 0 5) 、

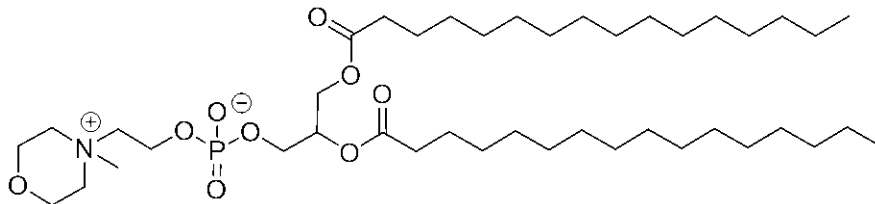
50



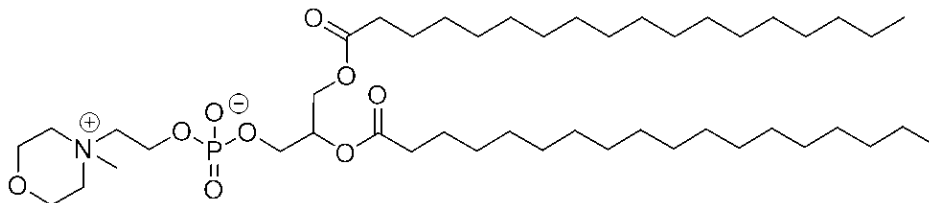
(化合物 H-406)、



(化合物 H-407)、



(化合物 H-408)、



(化合物 H-409)、

のうちの1つまたはその塩である。

【0704】

一実施形態では、LNPは、非カチオン性ヘルパー脂質として化合物H-409を含む。

【0705】

(ii) リン脂質尾部の修飾

特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、修飾尾部を含む。特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、修飾尾部を有するDSPC (1,2-ジオクタデカノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン) またはその類似体である。本明細書に記載するとおり、「修飾尾部」は、より短いまたはより長い脂肪族鎖、分枝が導入された脂肪族鎖、置換基が導入された脂肪族鎖、1つまたは複数のメチレンが環式基またはヘテロ原子基で置換された脂肪族鎖、またはこれらの任意の組み合わせを有する尾部であってもよい。例えば、特定の実施形態では、(HIX)の化合物は、式(HIX-a)の化合物またはその塩であり、式中、 R^2 の少なくとも1つの例、 R^2 のそれぞれの例は、任意選択的に置換された C_{1-30} アルキルであり、式中、 R^2 の1つまたは複数のメチレンユニットは独立して、任意選択的に置換されたカルボシクリレン、任意選択的に置換されたヘテロシクリレン、任意選択的に置換されたアリーレン、任意選択的に置換されたヘテロアリーレン、 $-N(R^N)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(O)-$ 、 $-NR^NC(O)N$

10

20

30

40

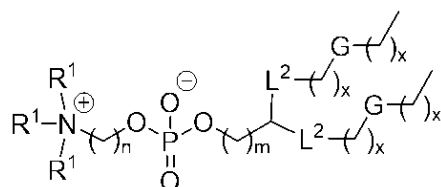
50

(R^N) -, -C(O)O-, -OC(O)-, -OC(O)O-, -OC(O)N(R^N) -, -NR^NC(O)O-, -C(O)S-, -SC(O)-, -C(=NR^N)-, -C(=NR^N)N(R^N)-, -NR^NC(=NR^N)-, -NR^NC(=NR^N)N(R^N)-, -C(S)-, -C(S)N(R^N)-, -NR^NC(S)-, -NR^NC(S)N(R^N)-, -S(O)-, -OS(O)-, -S(O)O-, -OS(O)O-, -OS(O)₂-, -S(O)₂O-, -OS(O)₂O-, -N(R^N)S(O)-, -S(O)N(R^N)-, -N(R^N)S(O)N(R^N)-, -OS(O)N(R^N)-, -N(R^N)S(O)O-, -S(O)₂-, -N(R^N)S(O)₂-, -S(O)₂N(R^N)-, -N(R^N)S(O)₂N(R^N)-, -OS(O)₂N(R^N)-, または -N(R^N)S(O)₂O-で置換されている。

10

【0706】

特定の実施形態では、式(H IX)の化合物は、式(H IX-c)の化合物、



(H IX-c)、

またはその塩であり、

20

式中、

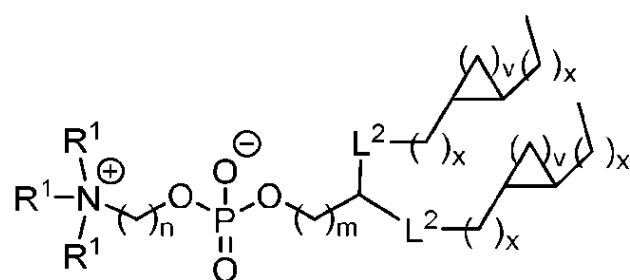
それぞれのxは独立して、0~30の整数(0及び30を含む)であり、

Gのそれぞれの例は、任意選択的に置換されたカルボシクリレン、任意選択的に置換されたヘテロシクリレン、任意選択的に置換されたアリーレン、任意選択的に置換されたヘテロアリーレン、-N(R^N)-, -O-, -S-, -C(O)-, -C(O)N(R^N)-, -NR^NC(O)-, -NR^NC(O)N(R^N)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -OC(O)O-, -OC(O)N(R^N)-, -NR^NC(O)O-, -C(O)S-, -SC(O)-, -C(=NR^N)-, -C(=NR^N)N(R^N)-, -NR^NC(=NR^N)-, -NR^NC(=NR^N)N(R^N)-, -C(S)-, -C(S)N(R^N)-, -NR^NC(S)-, -NR^NC(S)N(R^N)-, -S(O)-, -OS(O)-, -S(O)O-, -OS(O)O-, -OS(O)₂-, -S(O)₂O-, -OS(O)₂O-, -N(R^N)S(O)-, -S(O)N(R^N)-, -N(R^N)S(O)N(R^N)-, -OS(O)N(R^N)-, -N(R^N)S(O)O-, -S(O)₂-, -N(R^N)S(O)₂-, -S(O)₂N(R^N)-, -N(R^N)S(O)₂N(R^N)-, -OS(O)₂N(R^N)-, または-N(R^N)S(O)₂O-からなる群から独立して選択される。それぞれの可能性は本発明の別の実施形態を表す。

30

【0707】

特定の実施形態では、式(H IX-c)の化合物は、式(H IX-c-1)の化合物、



40

(H IX-c-1)、

またはその塩であり、

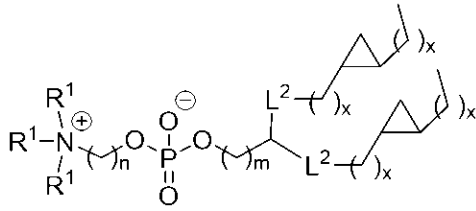
式中、

50

vのそれぞれの例は独立して、1、2、または3である。

【0708】

特定の実施形態では、式(HIX-c)の化合物は、式(HIX-c-2)の化合物、

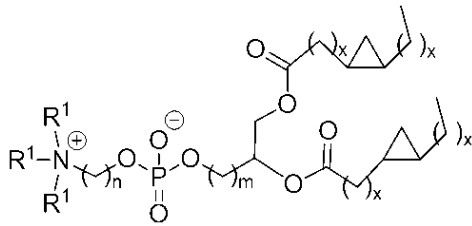


10

(HIX-c-2)、
またはその塩である。

【0709】

特定の実施形態では、式(IX-c)の化合物は、以下の式の化合物、

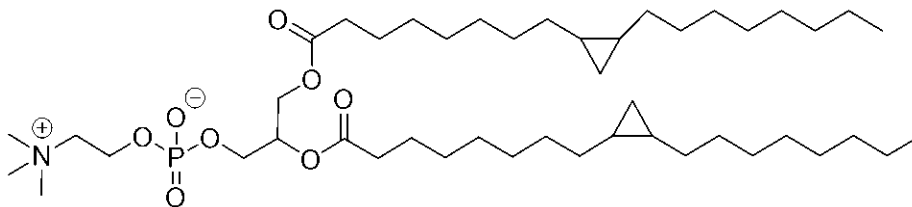


20

、
またはその塩である。

【0710】

特定の実施形態では、式(HIX-c)の化合物は、以下、

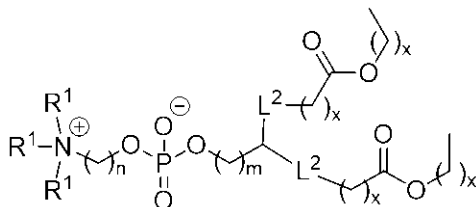


30

、
またはその塩である。

【0711】

特定の実施形態では、式(HIX-c)の化合物は、式(HIX-c-3)の化合物、



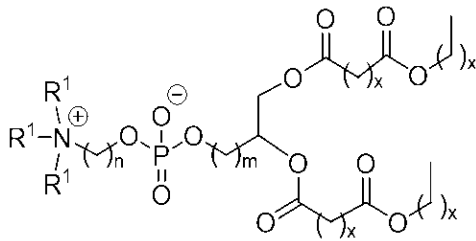
40

(HIX-c-3)、
またはその塩である。

【0712】

特定の実施形態では、式(HIX-c)の化合物は、以下の式の化合物、

50

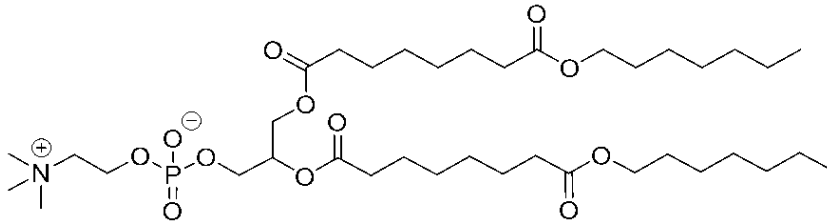


、
またはその塩である。

10

【0713】

特定の実施形態では、式（H IX-c）の化合物は、以下、

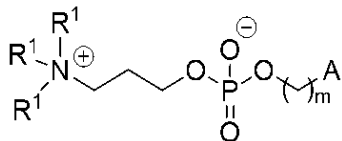


、
またはその塩である。

20

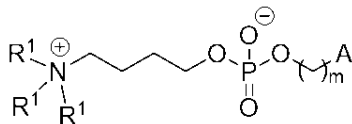
【0714】

特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、修飾ホスホコリン部分を含み、式中、第四級アミンをホスホリル基に連結させているアルキル鎖はエチレンではない（例えば、nは2ではない）。それゆえ、特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、式（H IX）の化合物であり、式中、nは1、3、4、5、6、7、8、9、または10である。例えば、特定の実施形態では、式（H IX）の化合物は、以下の式、



30

、



、

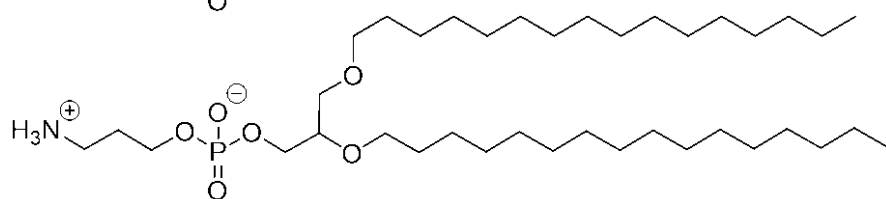
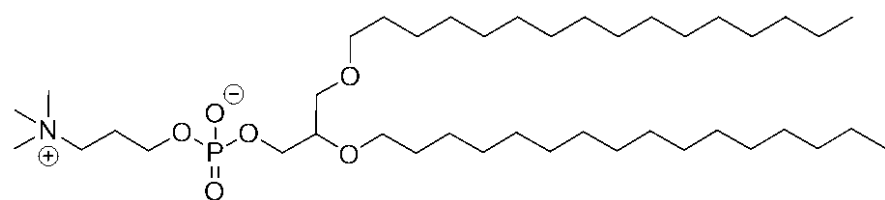
のうちの1つの化合物またはその塩である。

40

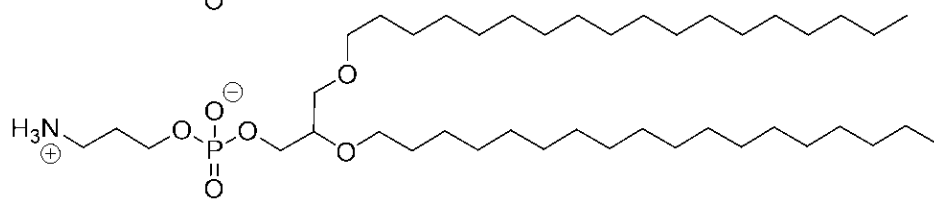
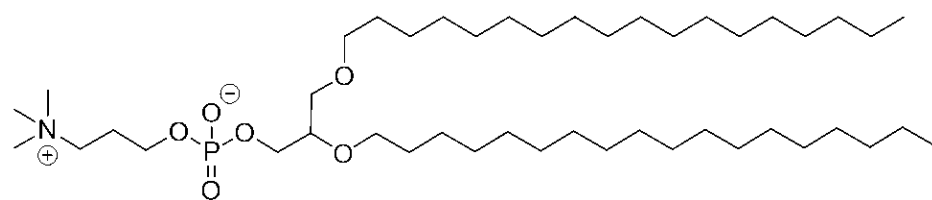
【0715】

特定の実施形態では、式（H IX）の化合物は、以下、

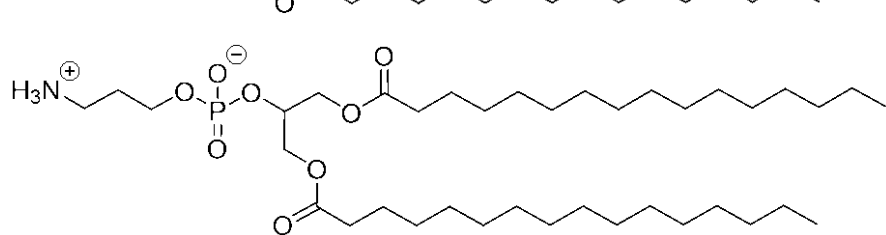
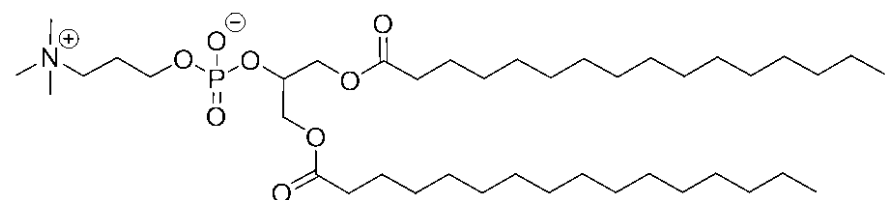
50



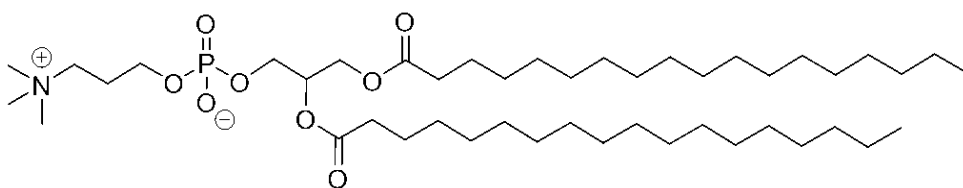
10



20



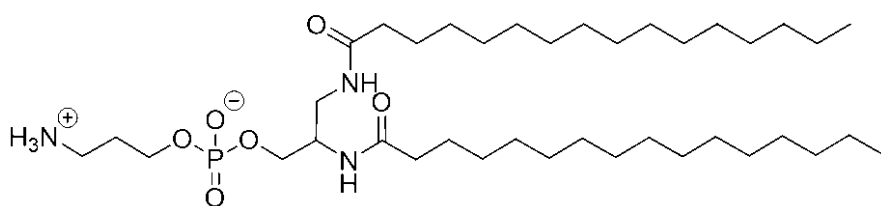
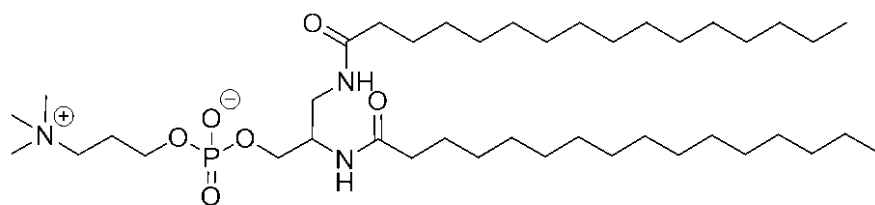
30



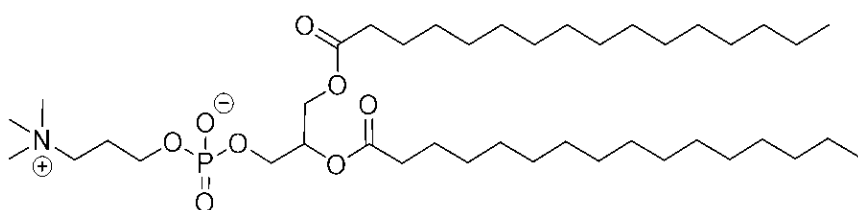
40

(化合物 H - 4 1 1)

50

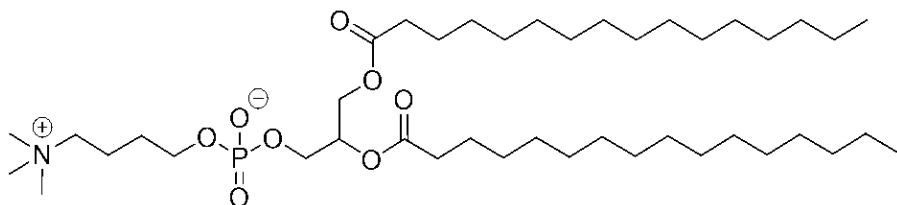


10

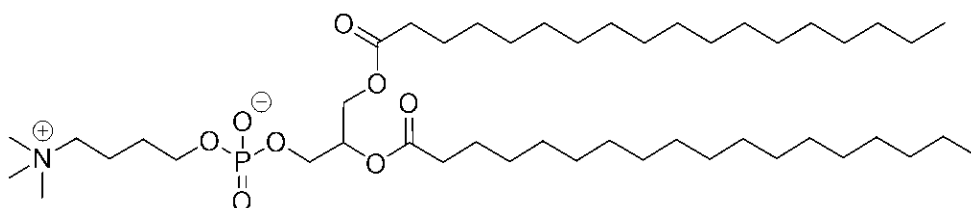


20

(化合物 H - 4 1 2)、



(化合物 H - 4 1 3)、



30

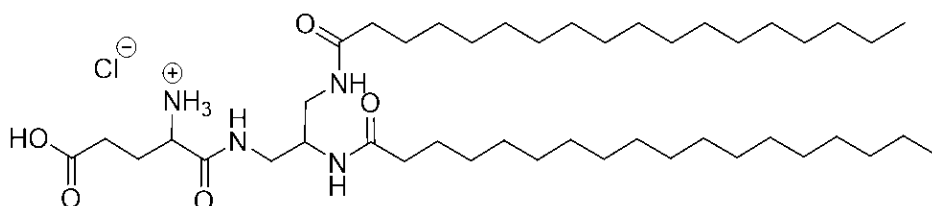
(化合物 H - 4 1 4)、

のうちの 1 つまたはその塩である。

【 0 7 1 6 】

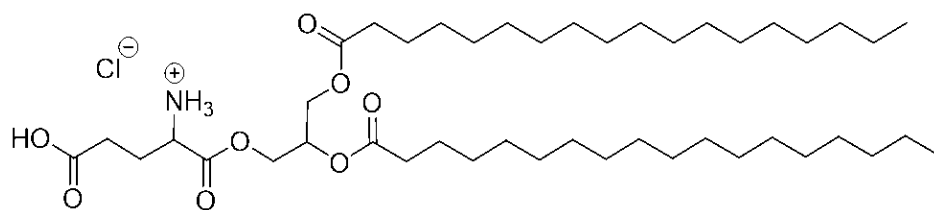
特定の実施形態では、本発明のリン脂質の代わりに代替脂質を使用する。このような代替脂質の非限定例としては、以下、

40

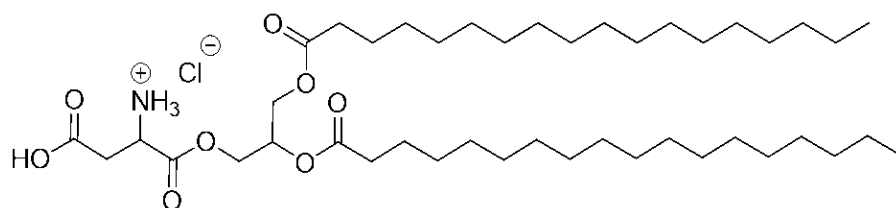


、

50

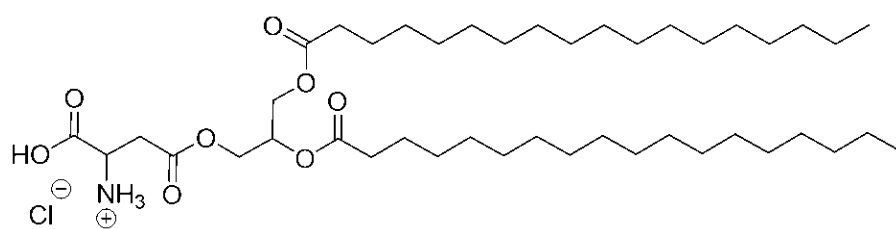


、



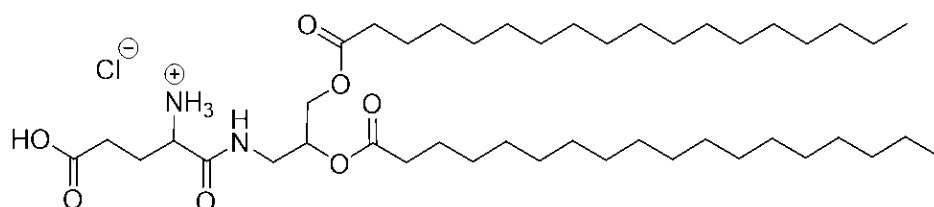
10

、



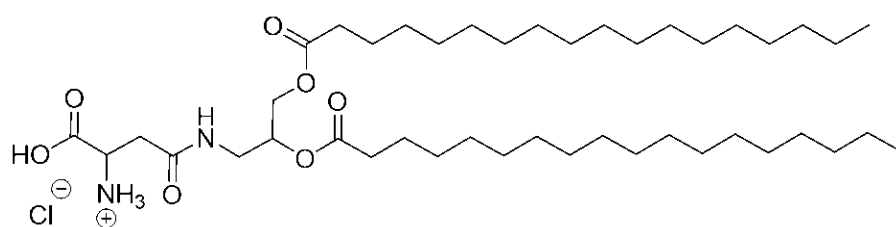
20

、



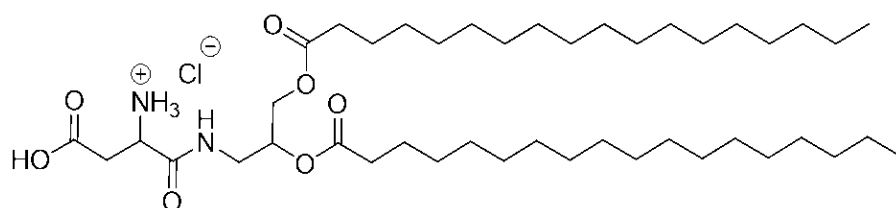
30

、



、及び、

40



が挙げられる。

【 0 7 1 7 】

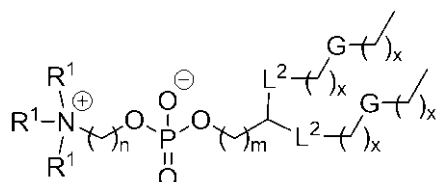
リン脂質尾部の修飾

50

特定の実施形態では、本発明において有用なリン脂質は修飾尾部を含む。特定の実施形態では、本発明において有用なリン脂質は、修飾尾部を有するDSPCまたはその類似体である。本明細書に記載するとおり、「修飾尾部」は、より短いまたはより長い脂肪族鎖、分枝が導入された脂肪族鎖、置換基が導入された脂肪族鎖、1つまたは複数のメチレンが環式基またはヘテロ原子基で置換された脂肪族鎖、またはこれらの任意の組み合わせを有する尾部であってもよい。例えば、特定の実施形態では、(H I)の化合物は、式(H I-a)の化合物またはその塩であり、式中、 R^2 の少なくとも1つの例、 R^2 のそれぞれの例は、任意選択的に置換された C_{1-30} アルキルであり、式中、 R^2 の1つまたは複数のメチレンユニットは独立して、任意選択的に置換されたカルボシクリレン、任意選択的に置換されたヘテロシクリレン、任意選択的に置換されたアリーレン、任意選択的に置換されたヘテロアリーレン、 $-N(R^N)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(O)-$ 、 $-NR^NC(O)N(R^N)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(O)O-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-C(=NR^N)-$ 、 $-C(=NR^N)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(=NR^N)-$ 、 $-NR^NC(=NR^N)N(R^N)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(S)-$ 、 $-NR^NC(S)N(R^N)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-OS(O)-$ 、 $-S(O)O-$ 、 $-OS(O)O-$ 、 $-OS(O)_2-$ 、 $-S(O)_2O-$ 、 $-OS(O)_2O-$ 、 $-N(R^N)S(O)-$ 、 $-S(O)N(R^N)-$ 、 $-N(R^N)S(O)N(R^N)-$ 、 $-OS(O)N(R^N)-$ 、 $-N(R^N)S(O)O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-N(R^N)S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R^N)-$ 、 $-N(R^N)S(O)_2N(R^N)-$ 、 $-OS(O)_2N(R^N)-$ 、または $-N(R^N)S(O)_2O-$ で置換されている。

【0718】

特定の実施形態では、式(H I-a)の化合物は、式(H I-c)の化合物、



(H I-c)、

またはその塩であり、

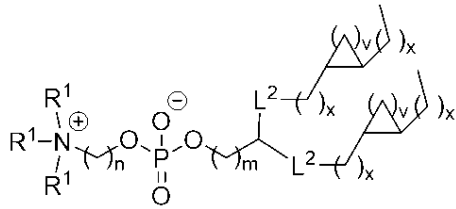
式中、

それぞれのxは独立して、0~30の整数(0及び30を含む)であり、

Gのそれぞれの例は、任意選択的に置換されたカルボシクリレン、任意選択的に置換されたヘテロシクリレン、任意選択的に置換されたアリーレン、任意選択的に置換されたヘテロアリーレン、 $-N(R^N)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(O)-$ 、 $-NR^NC(O)N(R^N)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(O)O-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-C(=NR^N)-$ 、 $-C(=NR^N)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(=NR^N)-$ 、 $-NR^NC(=NR^N)N(R^N)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(S)-$ 、 $-NR^NC(S)N(R^N)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-OS(O)-$ 、 $-S(O)O-$ 、 $-OS(O)O-$ 、 $-OS(O)_2-$ 、 $-S(O)_2O-$ 、 $-OS(O)_2O-$ 、 $-N(R^N)S(O)-$ 、 $-S(O)N(R^N)-$ 、 $-N(R^N)S(O)N(R^N)-$ 、 $-OS(O)N(R^N)-$ 、 $-N(R^N)S(O)O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-N(R^N)S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R^N)-$ 、 $-N(R^N)S(O)_2N(R^N)-$ 、 $-OS(O)_2N(R^N)-$ 、または $-N(R^N)S(O)_2O-$ からなる群から独立して選択される。それぞれの可能性は本発明の別の実施形態を表す。

【0719】

特定の実施形態では、式(H I-c)の化合物は、式(H I-c-1)の化合物、

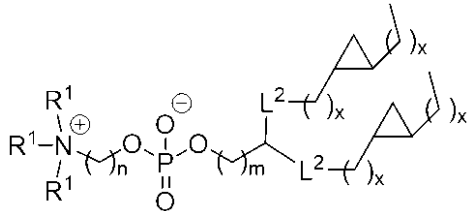


(H I-c-1)、
 またはその塩であり、
 式中、

v のそれぞれの例は独立して、1、2、または3である。

【0720】

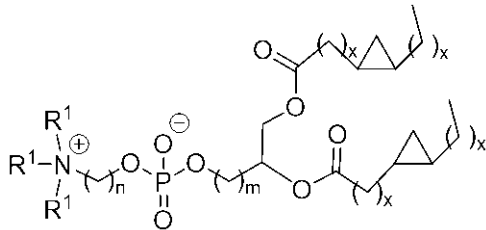
特定の実施形態では、式 (H I-c) の化合物は、式 (H I-c-2) の化合物、



(H I-c-2)、
 またはその塩である。

【0721】

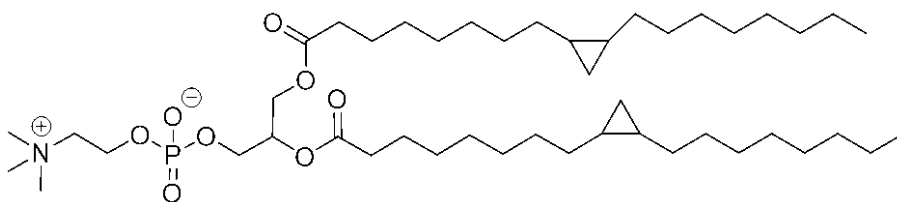
特定の実施形態では、式 (I-c) の化合物は、以下の式の化合物、



、
 またはその塩である。

【0722】

特定の実施形態では、式 (H I-c) の化合物は、以下、



、
 またはその塩である。

【0723】

特定の実施形態では、式 (H I-c) の化合物は、式 (H I-c-3) の化合物、

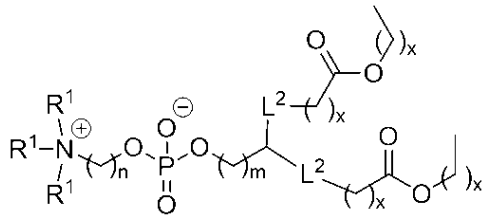
10

20

30

40

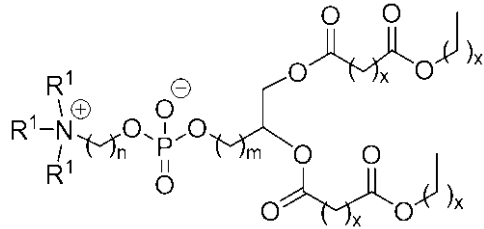
50



(H I-c-3)、
またはその塩である。

【0724】

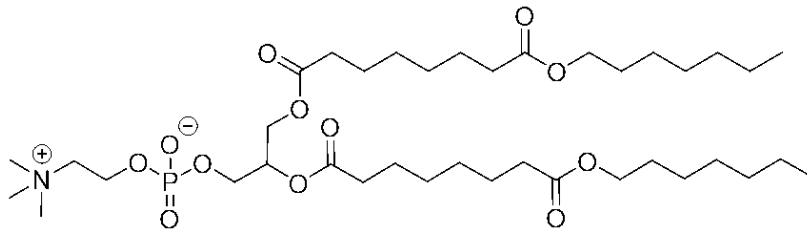
特定の実施形態では、式 (H I-c) の化合物は、以下の式の化合物、



、
またはその塩である。

【0725】

特定の実施形態では、式 (H I-c) の化合物は、以下、

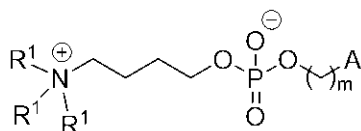
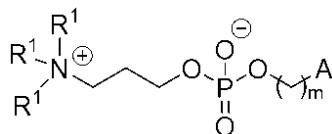


、
またはその塩である。

【0726】

ホスホコリンリンカーの修飾

特定の実施形態では、本発明において有用なリン脂質は、修飾ホスホコリン部分を含み、式中、第四級アミンをホスホリル基に連結させているアルキル鎖はエチレンではない（例えば、nは2ではない）。それゆえ、特定の実施形態では、本発明において有用なリン脂質は、式 (H I) の化合物であり、式中、nは1、3、4、5、6、7、8、9、または10である。例えば、特定の実施形態では、式 (H I) の化合物は、以下の式、



10

20

30

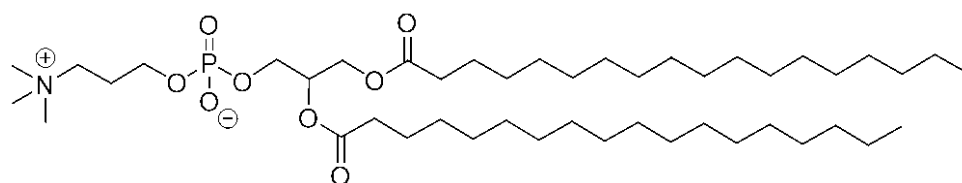
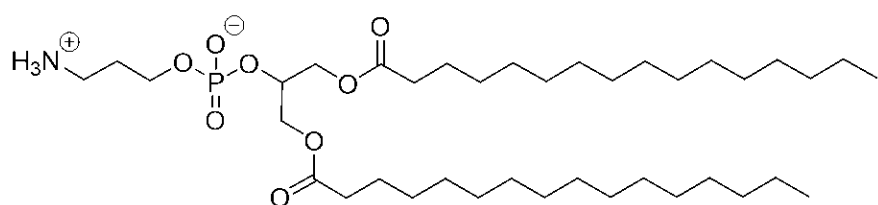
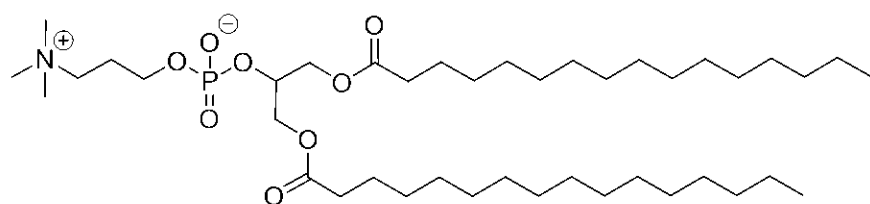
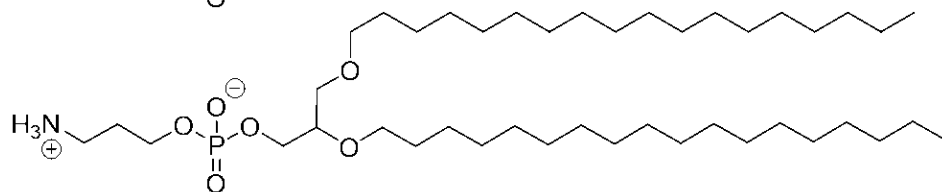
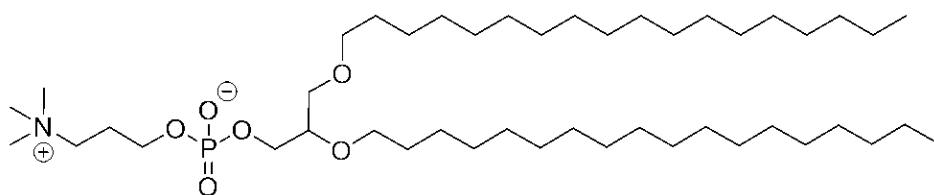
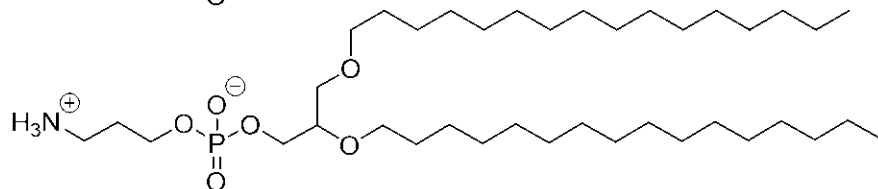
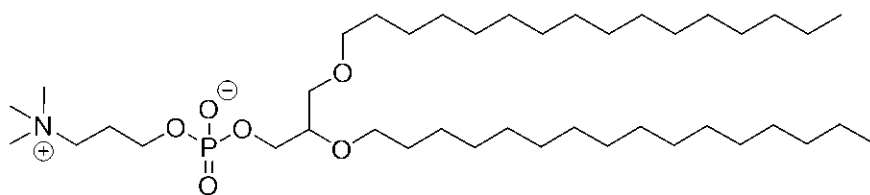
40

50

、
 のうちの1つの化合物またはその塩である。

【0727】

特定の実施形態では、式（H I）の化合物は、以下、



(Cmpd H 162)

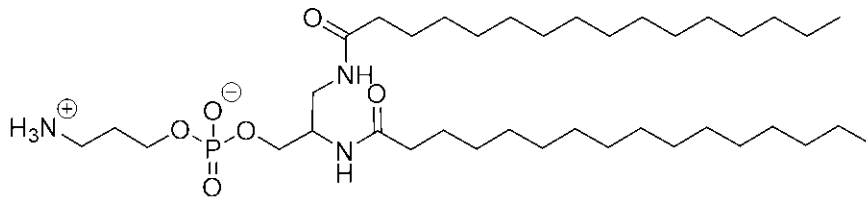
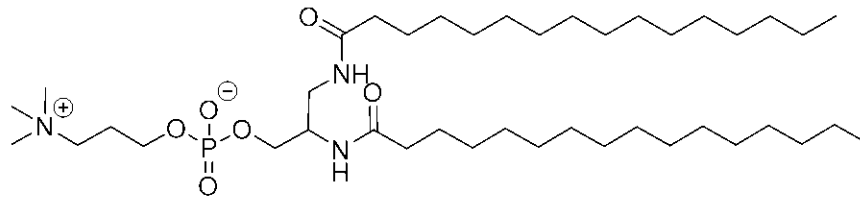
10

20

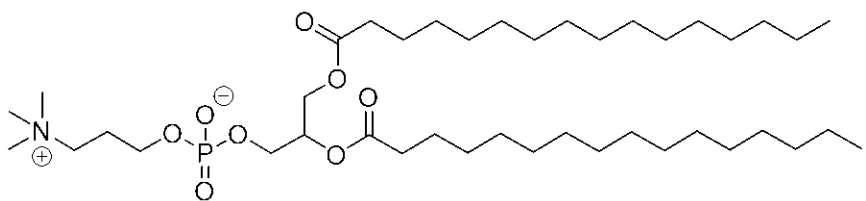
30

40

50

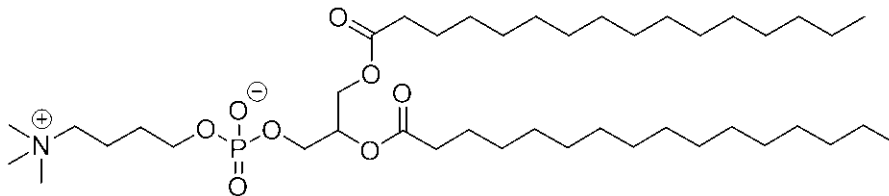


10

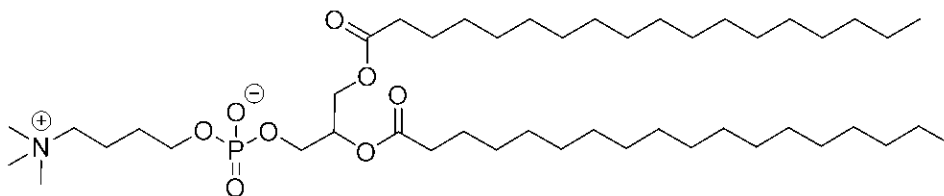


20

(Cmpd H 154)



(Cmpd H 156)



30

(Cmpd H 163)、

のうちの1つまたはその塩である。

【0728】

以下の実施例において示すとおり、DSPC以外のリン脂質を有する多数のLNP製剤を調製し、活性についての試験を行った。

40

【0729】

リン脂質代用品または代替品

一部の実施形態では、脂質性組成物（例えば、脂質ナノ粒子）は、リン脂質の代わりにオレイン酸またはオレイン酸類似体を含む。一部の実施形態では、オレイン酸類似体は、修飾オレイン酸尾部、修飾カルボン酸部分、またはその両方を含む。一部の実施形態では、オレイン酸類似体は、オレイン酸のカルボン酸部分が異なる基で置換された化合物である。

【0730】

一部の実施形態では、脂質性組成物（例えば、脂質ナノ粒子）は、リン脂質の代わりに

50

異なる両性イオン基を含む。

【0731】

例示的なリン脂質代用品及び／または代替品は、公開PCT出願WO2017/099823（参照により本明細書に組み込まれる）において提供されている。

【0732】

例示的なリン脂質代用品及び／または代替品は、公開PCT出願WO2017/099823（参照により本明細書に組み込まれる）において提供されている。

【0733】

(iv) PEG脂質

PEG脂質の非限定例としては、PEG-修飾ホスファチジルエタノールアミン及びホスファチジン酸、PEG-セラミドコンジュゲート（例えば、PEG-CerC14またはPEG-CerC20）、PEG-修飾ジアルキルアミン、ならびにPEG修飾1,2-ジアシルオキシプロパン-3-アミンが挙げられる。このような脂質はまた、PEG化脂質とも呼ばれる。例えば、PEG脂質は、PEG-c-DOMG脂質、PEG-DMG脂質、PEG-DLPE脂質、PEG-DMPE脂質、PEG-DPPC脂質、またはPEG-DSPE脂質であってもよい。

【0734】

一部の実施形態では、PEG脂質としては、1,2-ジミリスチル-sn-グリセロールメトキシポリエチレングリコール（PEG-DMG）、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン-N-[アミノ（ポリエチレングリコール）]（PEG-DSPE）、PEG-ジステリルグリセロール（PEG-DSG）、PEG-ジパルメトレイル、PEG-ジオレイル、PEG-ジステアシル、PEG-ジアシルグリカミド（PEG-DAG）、PEG-ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン（PEG-DPPE）、またはPEG-1,2-ジミリスチルオキシプロピル-3-アミン（PEG-c-DMA）が挙げられるがこれらに限定されない。

【0735】

一実施形態では、PEG脂質は、PEG-修飾ホスファチジルエタノールアミン、PEG-修飾ホスファチジン酸、PEG-修飾セラミド、PEG-修飾ジアルキルアミン、PEG-修飾ジアシルグリセロール、PEG-修飾ジアルキルグリセロール、及びこれらの混合物からなる群から選択される。

【0736】

一部の実施形態では、PEG脂質の脂質部分は、約C₁₄～約C₂₂、好ましくは約C₁₄～約C₁₆の長さを有する脂質部分を含む。一部の実施形態では、PEG部分、例えば、mPEG-NH₂は、約1000、2000、5000、10,000、15,000、または20,000ダルトンのサイズを有する。一実施形態では、PEG脂質はPEG_{2k}-DMGである。

【0737】

一実施形態では、本明細書に記載の脂質ナノ粒子は、非拡散性PEGであるPEG脂質を含んでいてもよい。非拡散性PEGの非限定例としてはPEG-DSG及びPEG-DSPEが挙げられる。

【0738】

PEG脂質は当該技術分野において周知であり、例えば、米国特許第8158601号及び国際公開第WO2015/130584A2号（その全体は参照により本明細書に組み込まれる）に記載されているPEG脂質などである。

【0739】

一般的に、本明細書に記載の、様々な式のその他の脂質構成成分（例えば、PEG脂質）の一部は、2016年12月10日出願、表題「Compositions and Methods for Delivery of Therapeutic Agents」の国際特許出願第PCT/US2016/000129号（その全体は参照により組み込まれる）に記載されているとおりに合成することができる。

10

20

30

40

50

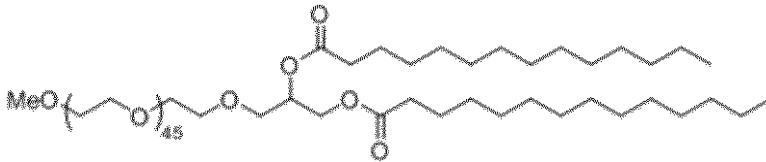
【0740】

脂質ナノ粒子組成物の脂質構成成分は、ポリエチレングリコールを含む1種または複数の分子、例えば、PEG脂質またはPEG修飾脂質などを含んでいてもよい。このような化学種を、代替的に、PEG化脂質と呼んでもよい。PEG脂質は、ポリエチレングリコールで修飾された脂質である。PEG脂質は、PEG-修飾ホスファチジルエタノールアミン、PEG-修飾ホスファチジン酸、PEG-修飾セラミド、PEG-修飾ジアルキルアミン、PEG-修飾ジアシルグリセロール、PEG-修飾ジアルキルグリセロール、及びこれらの混合物を含む非限定群から選択してもよい。例えば、PEG脂質は、PEG-c-DOMG脂質、PEG-DMG脂質、PEG-DLPE脂質、PEG-DMPE脂質、PEG-DPPC脂質、またはPEG-DSPE脂質であってもよい。

10

【0741】

一部の実施形態では、PEG修飾脂質は、PEG DMGの修飾形態である。PEG-DMGは、以下の構造、



を有する。

20

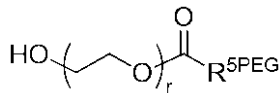
【0742】

一実施形態では、本発明において有用なPEG脂質は、国際公開第WO2012099755号（その内容全体は参照により本明細書に組み込まれる）に記載されているPEG化脂質であってもよい。本明細書に記載のこれらの例示的なPEG脂質のいずれかを修飾して、PEG鎖上にヒドロキシル基を含ませてもよい。特定の実施形態では、PEG脂質はPEG-OH脂質である。本明細書において一般的に定義しているとおり、「PEG-OH脂質」（本明細書ではまた、「ヒドロキシーPEG化脂質」と呼ぶ）は、脂質上に1つまたは複数のヒドロキシル（-OH）基を有するPEG化脂質である。特定の実施形態では、PEG-OH脂質は、PEG鎖上に1つまたは複数のヒドロキシル基を含む。特定の実施形態では、PEG-OH脂質またはヒドロキシーPEG化脂質は、PEG鎖の末端に-OH基を含む。それぞれの可能性は本発明の別の実施形態を表す。

30

【0743】

一部の実施形態では、PEG脂質は、式（PI）の化合物、



（PI）、

またはその塩もしくは異性体であり、

式中、

40

rは、1～100の整数であり、

R^{5PEG} は、 C_{10-40} アルキル、 C_{10-40} アルケニル、または C_{10-40} アルキニルであり、任意選択的に、 R^{5PEG} の1つまたは複数のメチレン基は独立して、 C_3-10 カルボシクリレン、4～10員環ヘテロシクリレン、 C_6-10 アリーレン、4～10員環ヘテロアリーレン、 $-N(R^N)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(O)-$ 、 $-NR^NC(O)N(R^N)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(O)O-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-C(=NR^N)-$ 、 $-C(=NR^N)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(=NR^N)-$ 、 $-NR^NC(=NR^N)N(R^N)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)N(R^N)-$ 、 $-NR^NC(S)-$ 、 $-NR^NC(S)N(R^N)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-$

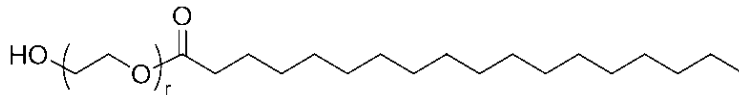
50

OS(O)−、−S(O)O−、−OS(O)O−、−OS(O)₂−、−S(O)₂O−、−OS(O)₂O−、−N(R^N)S(O)−、−S(O)N(R^N)−、−N(R^N)S(O)N(R^N)−、−OS(O)N(R^N)−、−N(R^N)S(O)O−、−S(O)₂−、−N(R^N)S(O)₂−、−S(O)₂N(R^N)−、−N(R^N)S(O)₂N(R^N)−、−OS(O)₂N(R^N)−、または−N(R^N)S(O)₂O−で置換されており、

R^Nのそれぞれの例は独立して、水素、C₁−6アルキル、または窒素保護基である。

【0744】

例えば、R^{5PEG}はC₁₇アルキルである。例えば、PEG脂質は、式(P I − a)の化合物、

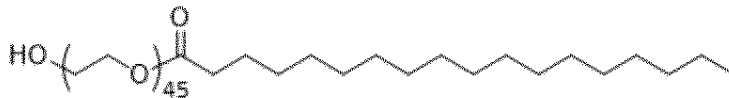


(P I − a)、

またはその塩もしくは異性体であり、式中、rは、1〜100の整数である。

【0745】

例えば、PEG脂質は、以下の式の化合物

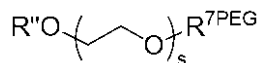


(PEG 1、以下の化合物428または化合物Iとも呼ばれる)、

またはその塩もしくは異性体である。

【0746】

PEG脂質は、式(P I I)の化合物



(P I I)、

またはその塩もしくは異性体であってもよく、

式中、

sは、1〜100の整数であり、

R''は、水素、C₁−10アルキル、または酸素保護基であり、

R^{7PEG}は、C₁₀−40アルキル、C₁₀−40アルケニル、またはC₁₀−40アルキニルであり、任意選択的に、R^{5PEG}の1つまたは複数のメチレン基は独立して、C₃−10カルボシクリレン、4〜10員環ヘテロシクリレン、C₆−10アリーレン、4〜10員環ヘテロアリーレン、−N(R^N)−、−O−、−S−、−C(O)−、−C(O)N(R^N)−、−NR^NC(O)−、−NR^NC(O)N(R^N)−、−C(O)O−、−OC(O)−、−OC(O)O−、−OC(O)N(R^N)−、−NR^NC(O)O−、−C(O)S−、−SC(O)−、−C(=NR^N)−、−C(=NR^N)N(R^N)−、−NR^NC(=NR^N)−、−NR^NC(=NR^N)N(R^N)−、−C(S)−、−C(S)N(R^N)−、−NR^NC(S)−、−NR^NC(S)N(R^N)−、−S(O)−、−OS(O)−、−S(O)O−、−OS(O)O−、−OS(O)₂−、−S(O)₂O−、−OS(O)₂O−、−N(R^N)S(O)−、−S(O)N(R^N)−、−N(R^N)S(O)N(R^N)−、−OS(O)N(R^N)−、−N(R^N)S(O)O−、−S(O)₂−、−N(R^N)S(O)₂−、−S(O)₂N(R^N)−、−N(R^N)S(O)₂N(R^N)−、−OS(O)₂N(R^N)−、または−N(R^N)S(O)₂O−で置換されており、

10

20

30

40

50

R^N のそれぞれの例は独立して、水素、 C_{1-6} アルキル、または窒素保護基である。

【0747】

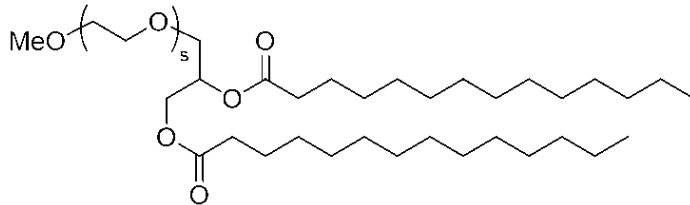
一部の実施形態では、 R^{PEG} は C_{10-60} アルキルであり、 R^{PEG} のメチレン基のうちの1つまたは複数は $-C(O)-$ で置換されている。例えば、 R^{PEG} は C_{31} アルキルであり、 R^{PEG} のメチレン基のうちの2つは $-C(O)-$ で置換されている。

【0748】

一部の実施形態では、 R'' はメチルである。

【0749】

一部の実施形態では、PEG脂質は、式(P II-a)の化合物、



10

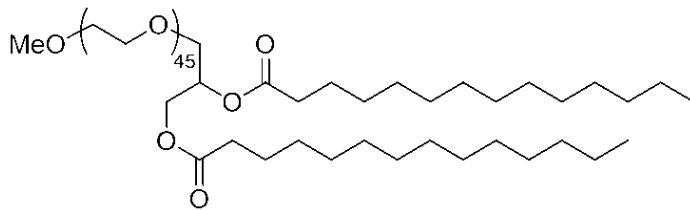
(P II-a)、

またはその塩もしくは異性体であり、式中、 s は、1~100の整数である。

【0750】

例えば、PEG脂質は、以下の式の化合物

20



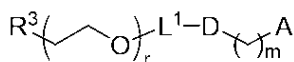
(PEG-2)、

またはその塩もしくは異性体である。

【0751】

特定の実施形態では、本発明において有用なPEG脂質は式(P III)の化合物である。本明細書では、式(P III)の化合物

30



(P III)、

またはその塩を提供し、

式中、

R^3 は $-OR^0$ であり、

R^0 は、水素、任意選択的に置換されたアルキル、または酸素保護基であり、

40

r は、1~100の整数(1及び100を含む)であり、

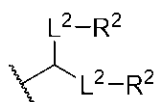
L^1 は任意選択的に置換された C_{1-10} アルキレンであり、式中、任意選択的に置換された C_{1-10} アルキレンの少なくとも1つのメチレンは独立して、任意選択的に置換されたカルボシクリレン、任意選択的に置換されたヘテロシクリレン、任意選択的に置換されたアリーレン、任意選択的に置換されたヘテロアリーレン、O、N(R^N)、S、C(O)、C(O)N(R^N)、NR^NC(O)、C(O)O、OC(O)、OC(O)O、OC(O)N(R^N)、NR^NC(O)O、またはNR^NC(O)N(R^N)で置換されており、

Dは、クリックケミストリーにより得られた部分または生理学的条件下で開裂可能な部分であり、

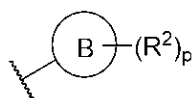
50

mは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10であり、

Aは式



または



10

であり、

L²のそれぞれの例は独立して、結合または任意選択的に置換されたC₁–6アルキレンであり、式中、任意選択的に置換されたC₁–6アルキレンの1つのメチレンユニットは、O、N(R^N)、S、C(O)、C(O)N(R^N)、NR^NC(O)、C(O)O、OC(O)、OC(O)O、OC(O)N(R^N)、NR^NC(O)O、またはNR^NC(O)N(R^N)で任意選択的に置換されており、

R²のそれぞれの例は独立して、任意選択的に置換されたC₁–30アルキル、任意選択的に置換されたC₁–30アルケニル、または任意選択的に置換されたC₁–30アルキニルであり、任意選択的に、式中、R²の1つまたは複数のメチレンユニットは独立して、任意選択的に置換されたカルボシクリレン、任意選択的に置換されたヘテロシクリレン、任意選択的に置換されたアリーレン、任意選択的に置換されたヘテロアリーレン、N(R^N)、O、S、C(O)、C(O)N(R^N)、NR^NC(O)、NR^NC(O)N(R^N)、C(O)O、OC(O)、OC(O)O、OC(O)N(R^N)、NR^NC(O)O、C(O)S、SC(O)、C(=NR^N)、C(=NR^N)N(R^N)、NR^NC(=NR^N)、NR^NC(=NR^N)N(R^N)、C(S)、C(S)N(R^N)、NR^NC(S)、NR^NC(S)N(R^N)、S(O)、OS(O)、S(O)O、OS(O)O、OS(O)₂、S(O)₂O、OS(O)₂O、N(R^N)S(O)、S(O)N(R^N)、N(R^N)S(O)N(R^N)、OS(O)N(R^N)、N(R^N)S(O)O、S(O)₂、N(R^N)S(O)₂、S(O)₂N(R^N)、N(R^N)S(O)₂N(R^N)、OS(O)₂N(R^N)、またはN(R^N)S(O)₂Oで置換されており、

20

30

R^Nのそれぞれの例は独立して、水素、任意選択的に置換されたアルキル、または窒素保護基であり、

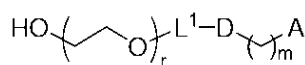
環Bは、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアリールであり、

pは1または2である。

【0752】

特定の実施形態では、式(P I I I)の化合物はPEG–OH脂質（すなわち、R³は–OR^Oであり、R^Oは水素である）である。特定の実施形態では、式(P I I I)の化合物は、式(P I I I–OH)の化合物

40



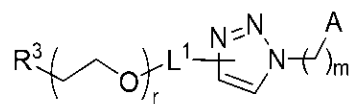
(P I I I–OH)、

またはその塩である。

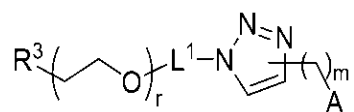
【0753】

特定の実施形態では、Dはクリックケミストリーにより得られた部分（例えば、トリアゾール）である。特定の実施形態では、式(P I I I)の化合物は、式(P I I I–a–1)または(P I I I–a–2)の化合物

50



または

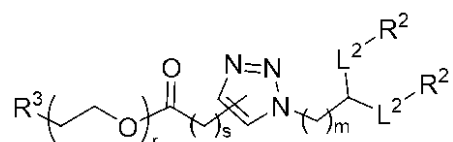


(PIII-a-1) (PIII-a-2)、
またはその塩である。

10

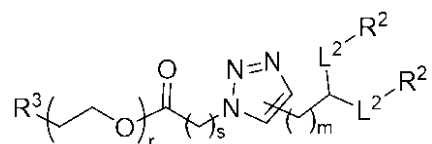
【0754】

特定の実施形態では、式(PIII)の化合物は、以下の式、

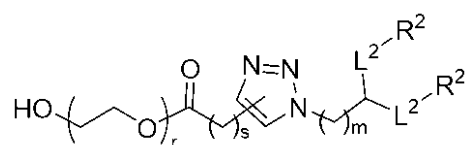


、

20

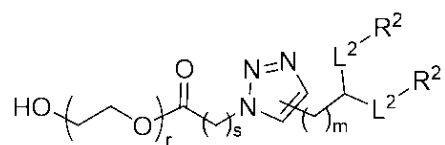


、



30

、



40

のうちの1つの化合物またはその塩であり、

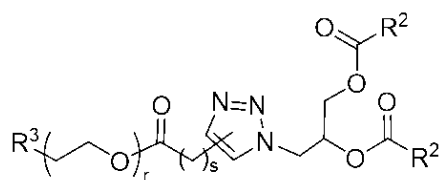
式中、

sは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である。

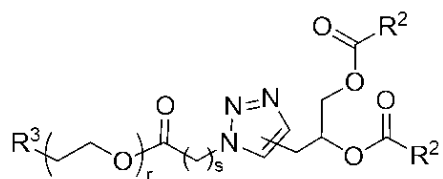
【0755】

特定の実施形態では、式(PIII)の化合物は、以下の式、

50

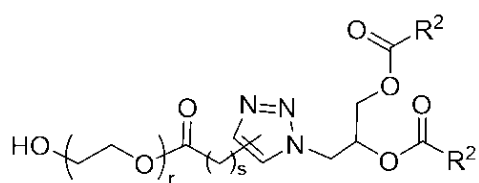


、



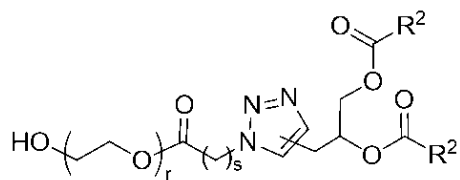
10

、



20

、



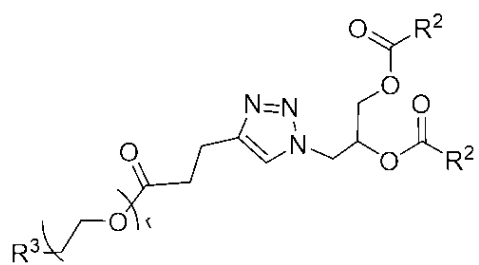
、

のうちの1つの化合物またはその塩である。

【0756】

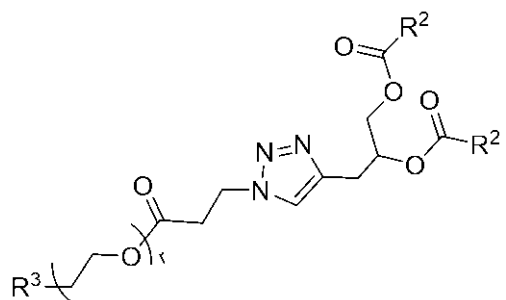
30

特定の実施形態では、式 (PIII) の化合物は、以下の式、



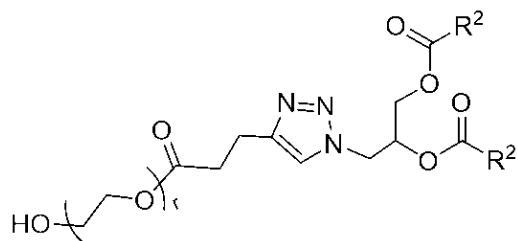
、

40

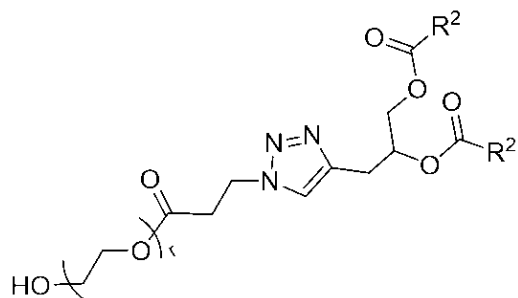


50

、



、



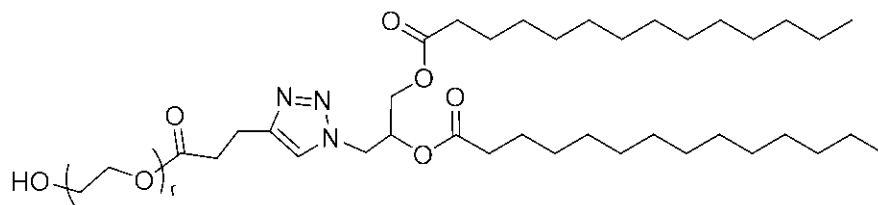
10

、

のうちの1つの化合物またはその塩である。

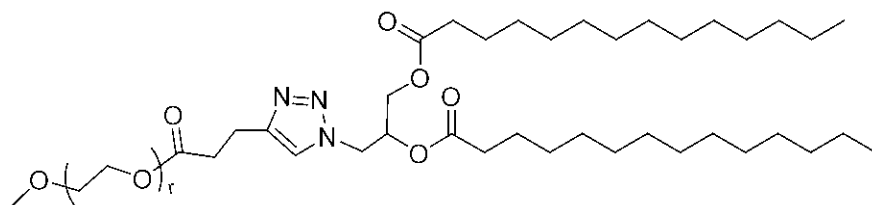
【0757】

特定の実施形態では、式 (P I I I) の化合物は、以下の式、



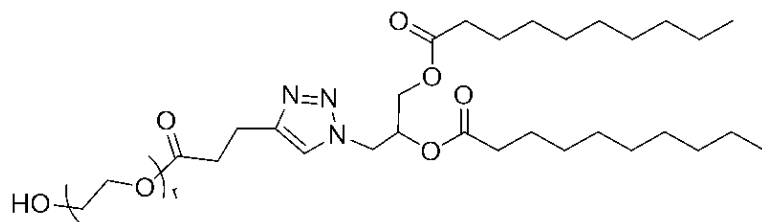
30

(化合物 P - 4 1 5 A)、



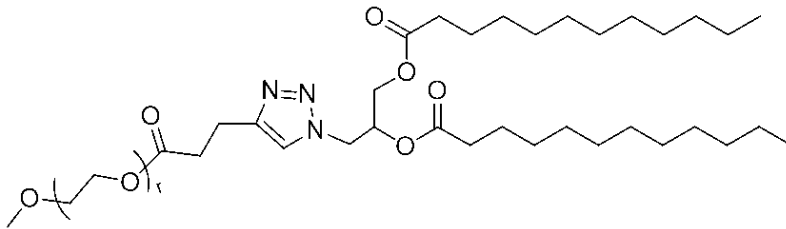
(化合物 P - 4 1 5)

40

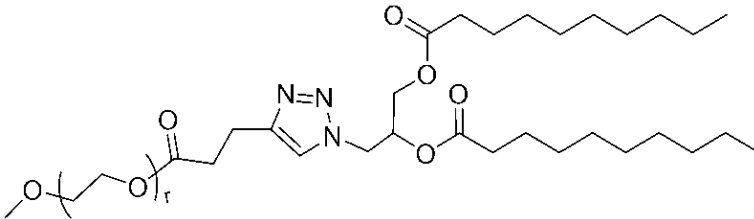


(化合物 P - 4 1 6 A)、

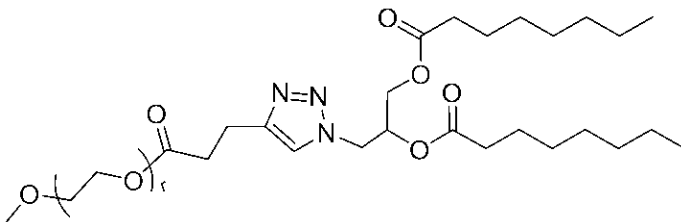
50



(化合物 P - 4 1 6)



(化合物 P - 4 1 7) 、

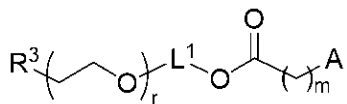
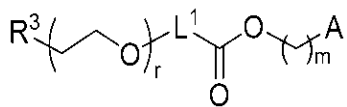


(化合物 P - 4 1 8) 、

のうちの 1 つの化合物またはその塩である。

【 0 7 5 8 】

特定の実施形態では、D は生理学的条件下で開裂可能な部分（例えば、エステル、アミド、カーボネート、カルバメート、ウレア）である。特定の実施形態では、式 (P I I I I) の化合物は、式 (P I I I I - b - 1) または (P I I I I - b - 2) の化合物

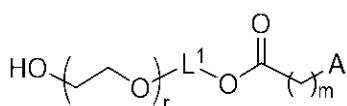
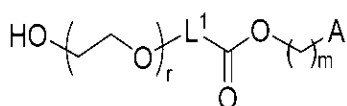


(P I I I I - b - 1) (P I I I I - b - 2) 、

またはその塩である。

【 0 7 5 9 】

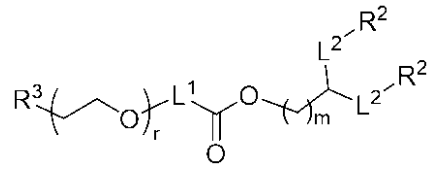
特定の実施形態では、式 (P I I I I) の化合物は、式 (P I I I I - b - 1 - OH) または (P I I I I - b - 2 - OH) の化合物



(PIII-b-1-OH) (PIII-b-2-OH)、
またはその塩である。

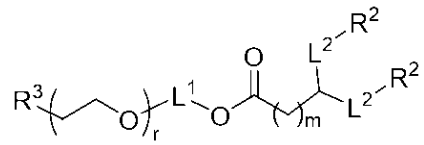
【0760】

特定の実施形態では、式(PIII)の化合物は、以下の式、

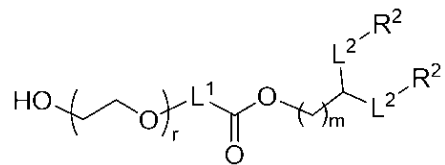


10

、

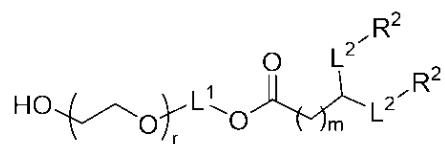


、



20

、



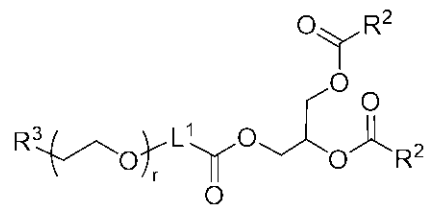
30

、

のうちの1つの化合物またはその塩である。

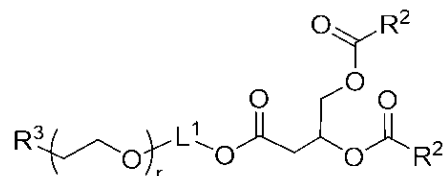
【0761】

特定の実施形態では、式(PIII)の化合物は、以下の式、



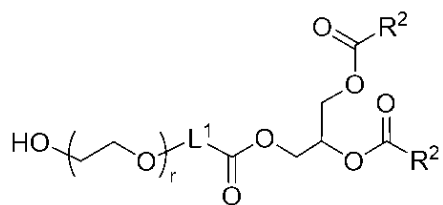
40

、

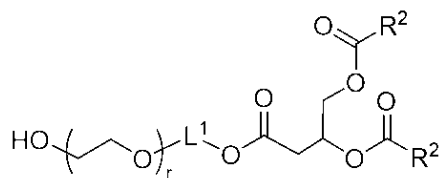


、

50



、



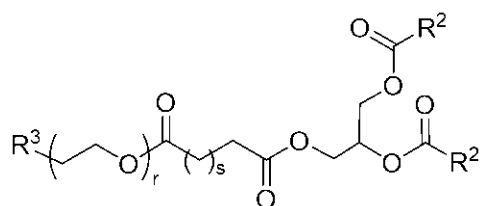
10

、

のうちの1つの化合物またはその塩である。

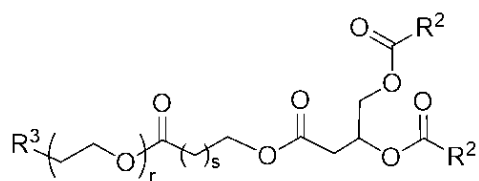
【0762】

特定の実施形態では、式（PIII）の化合物は、以下の式、



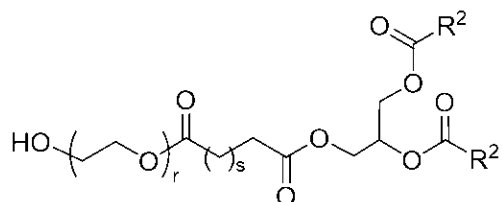
20

、



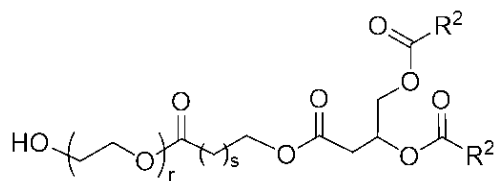
30

、



40

、

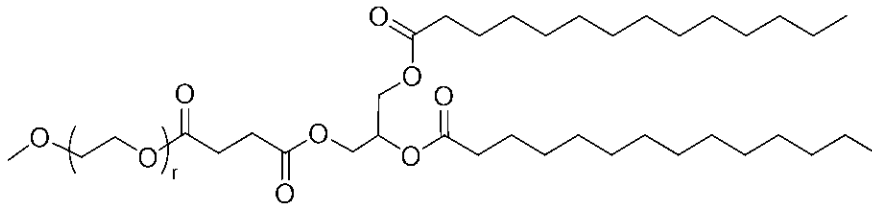


のうちの1つの化合物またはその塩である。

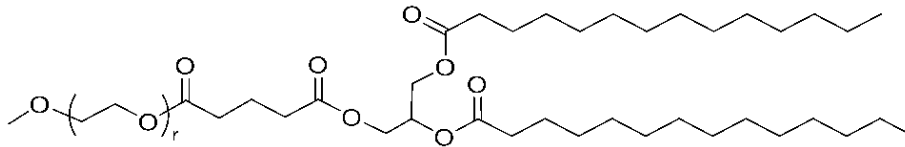
【0763】

50

特定の実施形態では、式 (P I I I) の化合物は、以下の式、



、

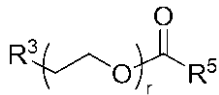


、

のうちの1つの化合物またはその塩である。

【0764】

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



(P I V)、

またはその塩を提供し、

式中、

R^3 は $-OR^0$ であり、

R^0 は、水素、任意選択的に置換されたアルキル、または酸素保護基であり、

r は、1～100の整数（1及び100を含む）であり、

R^5 は、任意選択的に置換された C_{10-40} アルキル、任意選択的に置換された C_{10-40} アルケニル、または任意選択的に置換された C_{10-40} アルキニルであり、任意選択的に、 R^5 の1つまたは複数のメチレン基は、任意選択的に置換されたカルボシクリレン、任意選択的に置換されたヘテロシクリレン、任意選択的に置換されたアリーレン、任意選択的に置換されたヘテロアリーレン、 $N(R^N)$ 、 O 、 S 、 $C(O)$ 、 $C(O)N(R^N)$ 、 $NR^N C(O)$ 、 $NR^N C(O)N(R^N)$ 、 $C(O)O$ 、 $OC(O)$ 、 $OC(O)O$ 、 $OC(O)N(R^N)$ 、 $NR^N C(O)O$ 、 $C(O)S$ 、 $SC(O)$ 、 $C(=NR^N)$ 、 $C(=NR^N)N(R^N)$ 、 $NR^N C(=NR^N)$ 、 $NR^N C(=NR^N)N(R^N)$ 、 $C(S)$ 、 $C(S)N(R^N)$ 、 $NR^N C(S)$ 、 $NR^N C(S)N(R^N)$ 、 $S(O)$ 、 $OS(O)$ 、 $S(O)O$ 、 $OS(O)O$ 、 $OS(O)_2$ 、 $S(O)_2O$ 、 $OS(O)_2O$ 、 $N(R^N)S(O)$ 、 $S(O)N(R^N)$ 、 $N(R^N)S(O)N(R^N)$ 、 $OS(O)N(R^N)$ 、 $N(R^N)S(O)O$ 、 $S(O)_2$ 、 $N(R^N)S(O)_2$ 、 $S(O)_2N(R^N)$ 、 $N(R^N)S(O)_2N(R^N)$ 、 $OS(O)_2N(R^N)$ 、または $N(R^N)S(O)_2O$ で置換されており、

R^N のそれぞれの例は独立して、水素、任意選択的に置換されたアルキル、または窒素保護基である。

【0765】

特定の実施形態では、式 (P I V) の化合物は、式 (P I V-OH) の化合物、

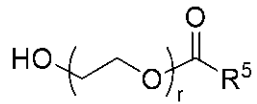
10

20

30

40

50

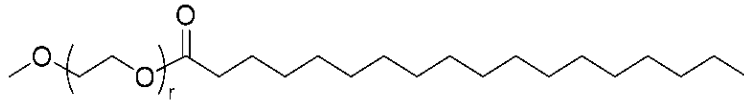


(P I V - O H)、

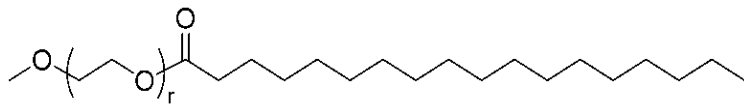
またはその塩である。一部の実施形態では、 r は 40 ~ 50 である。一部の実施形態では、 r は 45 である。

【0766】

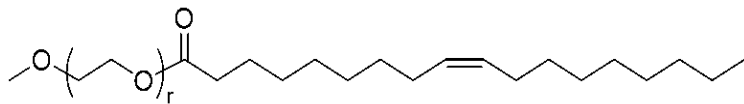
特定の実施形態では、式 (P I V) の化合物は、以下の式、



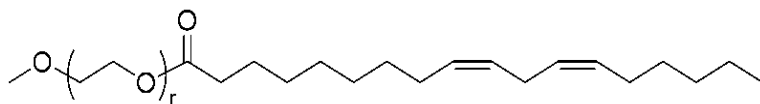
(化合物 P - 419)、



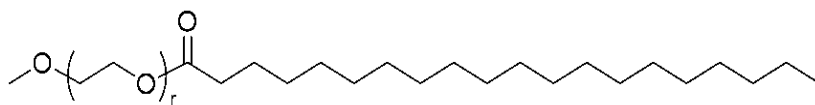
(化合物 P - 420)、



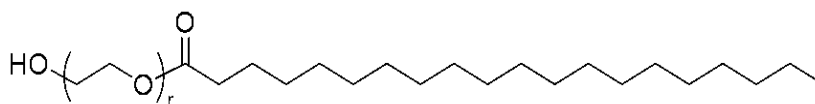
(化合物 P - 421)、



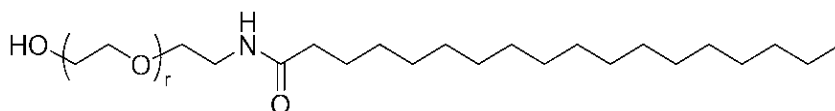
(化合物 P - 422)、



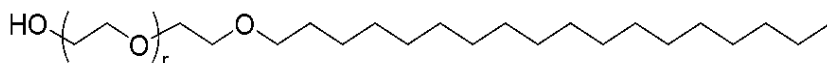
(化合物 P - 423)、



(化合物 P - 424)、



(化合物 P - 425)、



(化合物 P - 426)、

うちの 1 つの化合物またはその塩である。一部の実施形態では、 r は 40 ~ 50 である。一部の実施形態では、 r は 45 である。

10

20

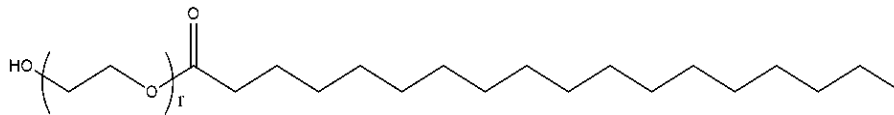
30

40

50

【0767】

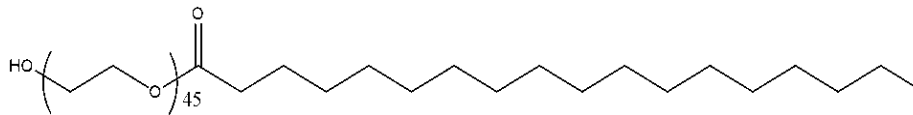
更にその他の実施形態では、式（P I V）の化合物は、



（化合物 P - 4 2 7）、
またはその塩である。

【0768】

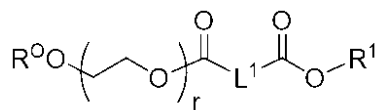
一実施形態では、式（P I V）の化合物は、



（化合物 P - 4 2 8）
である。

【0769】

一態様において、本明細書では、式（P V）の P E G 脂質、



（P V）、

またはその薬学的に許容される塩を含む脂質ナノ粒子（L N P）を提供し、
式中、

L^1 は、結合、任意選択的に置換された C_{1-3} アルキレン、任意選択的に置換された C_{1-3} ヘテロアルキレン、任意選択的に置換された C_{2-3} アルケニレン、任意選択的に置換された C_{2-3} アルキニレンであり、

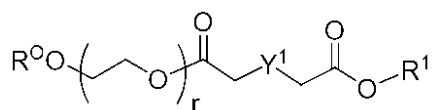
R^1 は、任意選択的に置換された C_{5-30} アルキル、任意選択的に置換された C_{5-30} アルケニル、または任意選択的に置換された C_{5-30} アルキニルであり、

R^O は、水素、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアシル、または酸素保護基であり、

r は、2～100の整数（2及び100を含む）である。

【0770】

特定の実施形態では、式（P V）の P E G 脂質は、以下の式の P E G 脂質、



、
またはその薬学的に許容される塩であり、
式中、

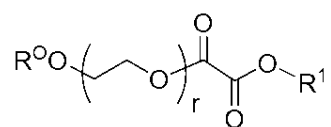
Y^1 は、結合、 $-C R_2-$ 、 $-O-$ 、 $-N R^N-$ 、または $-S-$ であり、

R のそれぞれの例は独立して、水素、ハロゲン、または任意選択的に置換されたアルキルであり、

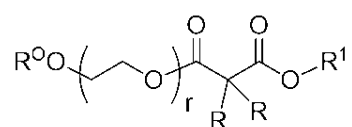
R^N は、水素、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアシル、または窒素保護基である。

【0771】

特定の実施形態では、式（P V）のPEG脂質は、以下の式、

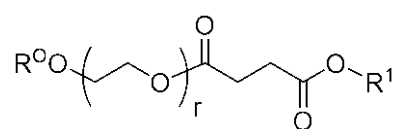


、

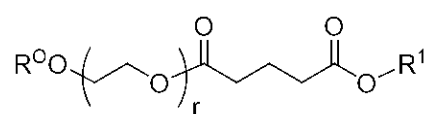


10

、

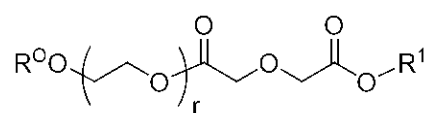


、



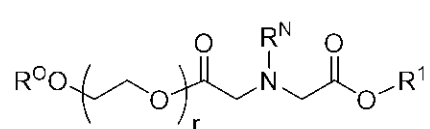
20

、

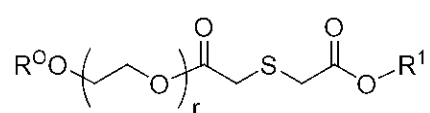


30

、

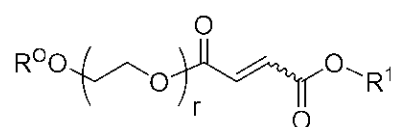


、



40

、または、



、

のうちの1つのPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩であり、

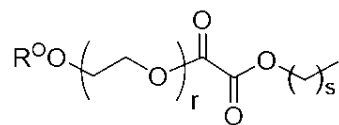
50

式中、

Rのそれぞれの例は独立して、水素、ハロゲン、または任意選択的に置換されたアルキルである。

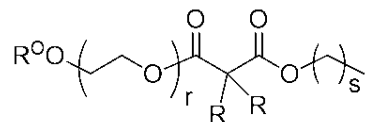
【0772】

特定の実施形態では、式(PV)のPEG脂質は、以下の式、

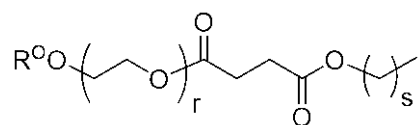


10

、

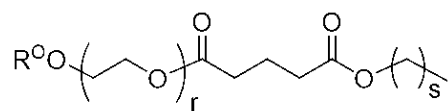


、

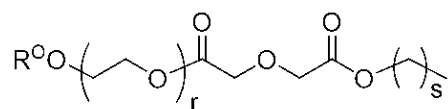


20

、

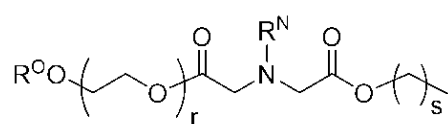


、



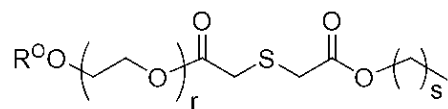
30

、



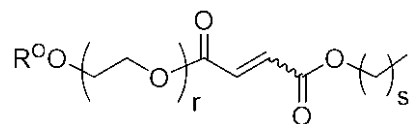
40

、



、または、

50

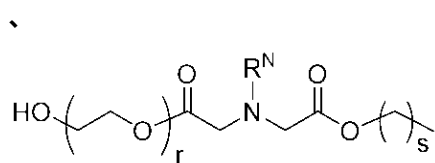
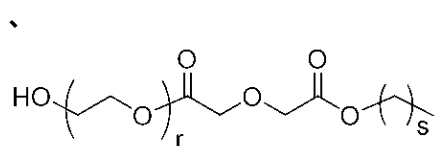
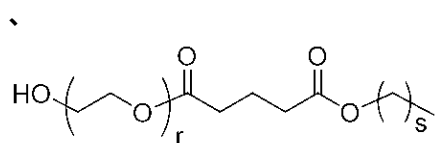
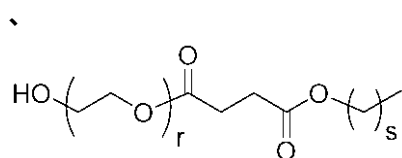
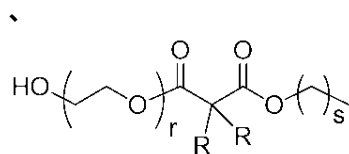
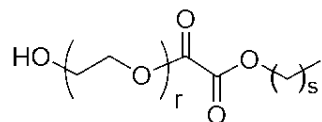


、
 のうちの 1 つの P E G 脂質、またはその薬学的に許容される塩であり、
 式中、

s は、5 ～ 25 の整数（5 及び 25 を含む）である。

【 0 7 7 3 】

特定の実施形態では、式（P V）の P E G 脂質は、以下の式、



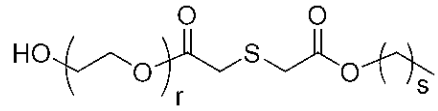
10

20

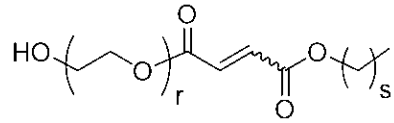
30

40

50



、または、

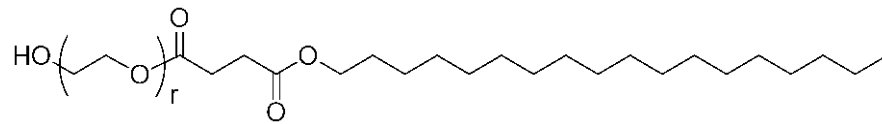


10

、
 のうちの1つのPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩である。

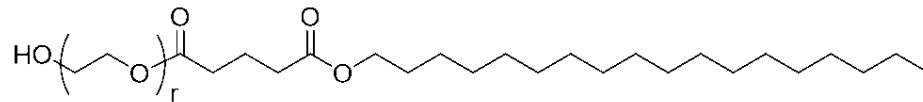
【0774】

特定の実施形態では、式(PV)のPEG脂質は、

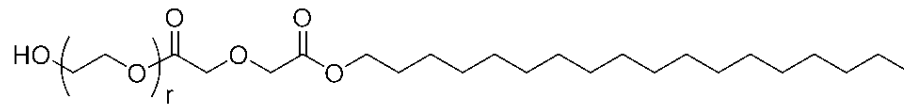


20

(PL1)、

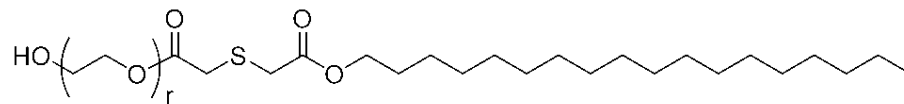


(PL2)、

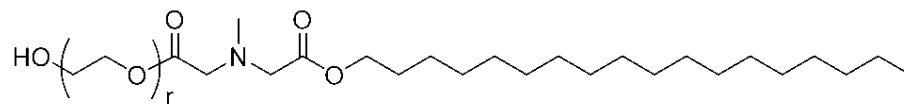


30

(PL3)、

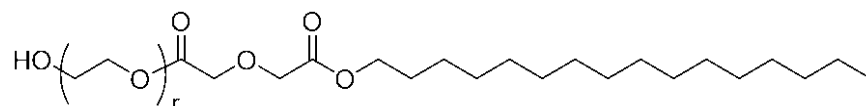


(PL4)、



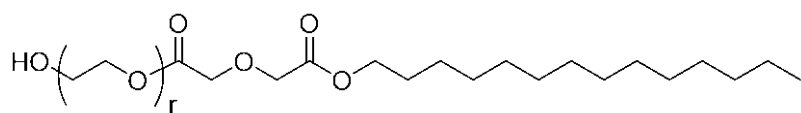
40

(PL5)、

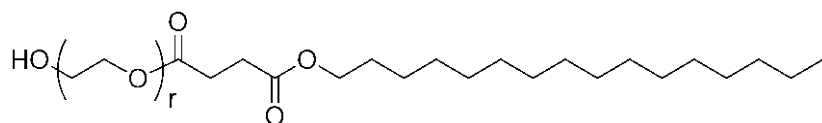


(PL6)、

50

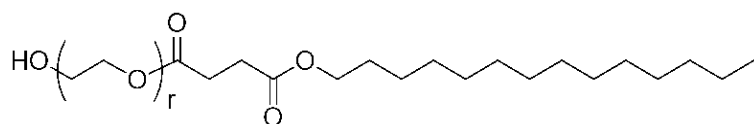


(P L 7)、

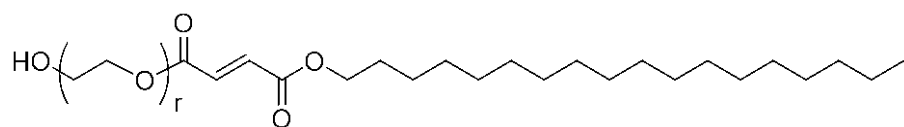


10

(P L 8)、

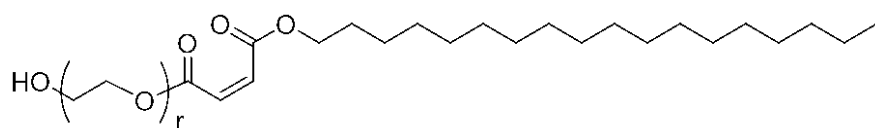


(P L 9)、

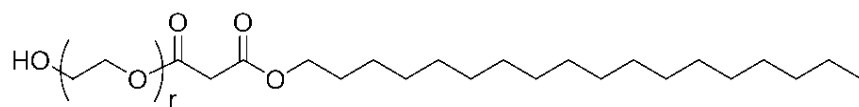


20

(P L 10)、

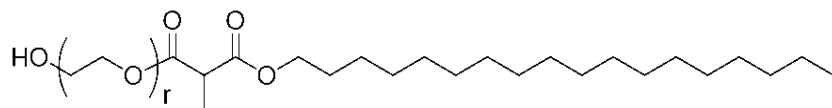


(P L 11)、

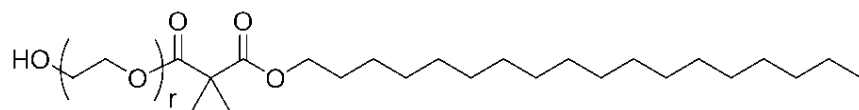


30

(P L 12)、

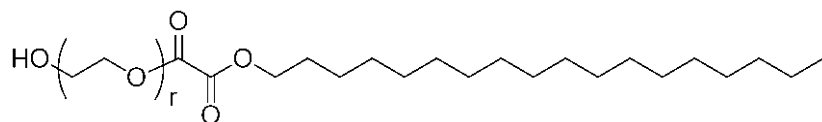


(P L 13)、



40

(P L 14)、及び、

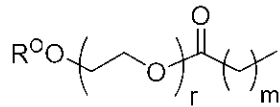


50

(P L 1 5)、
及びその薬学的に許容される塩
からなる群から選択される。

【0775】

別の態様において、本明細書では、式(P V I)のPEG脂質、



10

(P V I)、
またはその薬学的に許容される塩を含む脂質ナノ粒子(L N P)を提供し、
式中、

R^Oは、水素、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアシル、または酸素保護基であり、

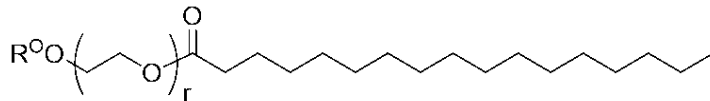
rは、2～100の整数(2及び100を含む)であり、

mは、5～15の整数(5及び15を含む)、または19～30の整数(19及び30を含む)である。

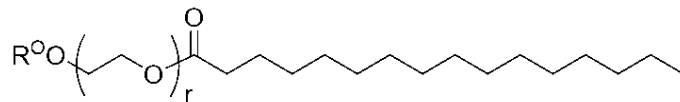
【0776】

特定の実施形態では、式(P V I)のPEG脂質は、以下の式、

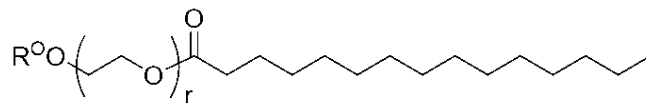
20



、

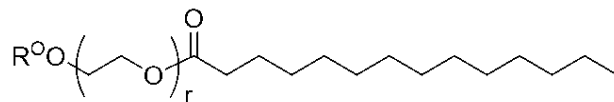


、



30

、または、



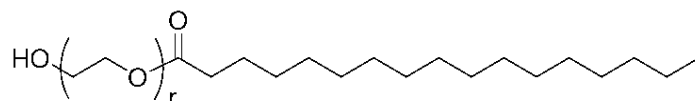
、

のうちの1つのPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩である。

40

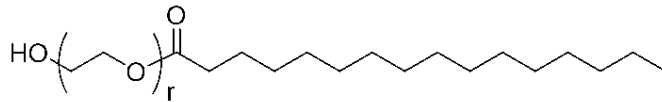
【0777】

特定の実施形態では、式(P V I)のPEG脂質は、以下の式、

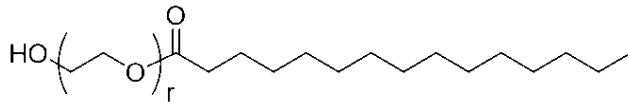


(P L 1 6)、

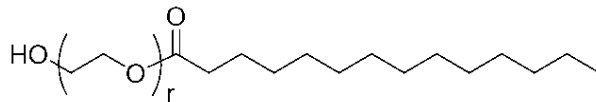
50



(P L 1 7)、



(P L 1 8)、または、

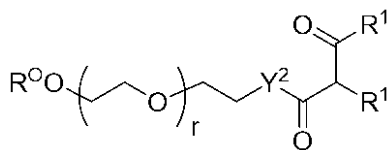


(P L 1 9)、

のうちの1つのPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩である。

【0778】

別の態様において、本明細書では、式(P V I I)のPEG脂質、



(P V I I)、

またはその薬学的に許容される塩を含む脂質ナノ粒子(L N P)を提供し、

式中、

Y^2 は、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}^N-$ 、または $-\text{S}-$ であり、

R^1 のそれぞれの例は独立して、任意選択的に置換された C_5-30 アルキル、任意選択的に置換された C_5-30 アルケニル、または任意選択的に置換された C_5-30 アルキニルであり、

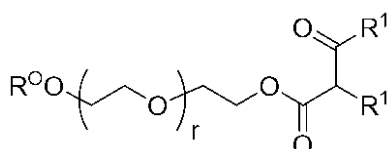
R^0 は、水素、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアシル、または酸素保護基であり、

R^N は、水素、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアシル、または窒素保護基であり、

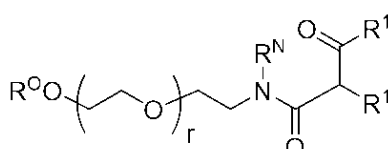
r は、2~100の整数(2及び100を含む)である。

【0779】

特定の実施形態では、式(P V I I)のPEG脂質は、以下の式、



、または、



10

20

30

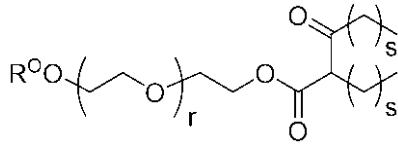
40

50

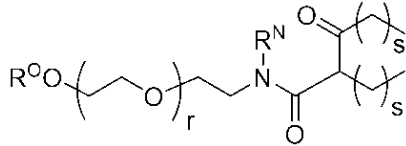
、
 のうちの1つのPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩である。

【0780】

特定の実施形態では、式（P V I I）のPEG脂質は、以下の式、



、または、

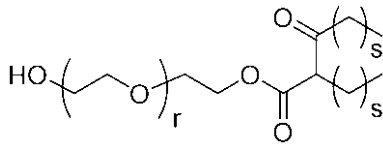


10

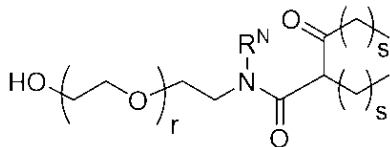
、
 のうちの1つのPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩であり、
 式中、
 sのそれぞれの例は独立して、5～25の整数（5及び25を含む）である。

【0781】

特定の実施形態では、式（P V I I）のPEG脂質は、以下の式、



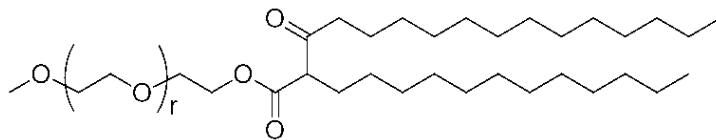
、または、



30

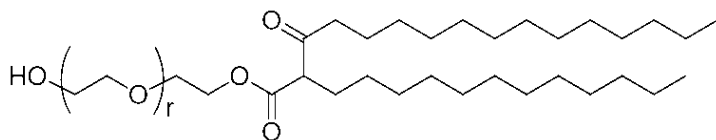
、
 のうちの1つのPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩である。
 【0782】

特定の実施形態では、式（P V I I）のPEG脂質は、



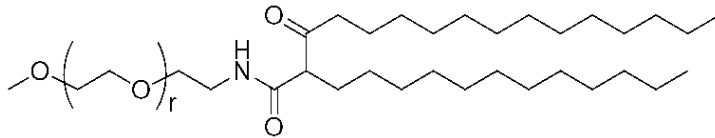
40

（P L 2 0）、

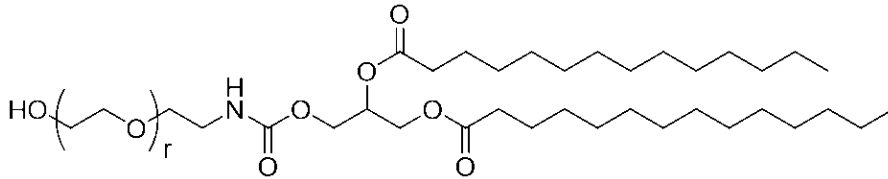


（P L 2 1）、

50

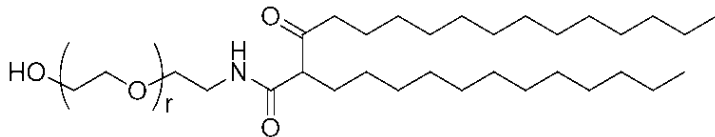


(P L 2 2 A)、及び、



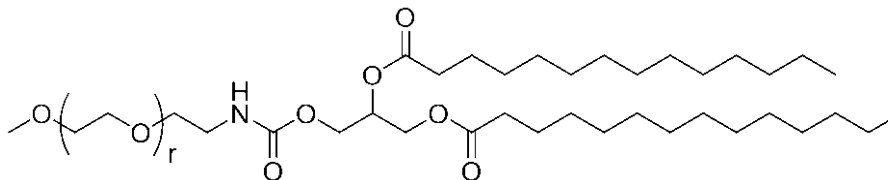
10

(P L 2 2)



(P L 2 3 A)、

20



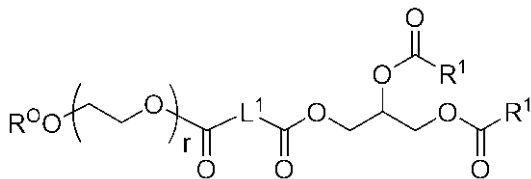
(P L 2 3)

ならびにその薬学的に許容される塩
からなる群から選択される。

【0783】

別の態様において、本明細書では、式 (P V I I I) の P E G 脂質、

30



(P V I I I)、

またはその薬学的に許容される塩を含む脂質ナノ粒子 (L N P) を提供し、
式中、

L^1 は、結合、任意選択的に置換された C_{1-3} アルキレン、任意選択的に置換された C_{1-3} ヘテロアルキレン、任意選択的に置換された C_{2-3} アルケニレン、任意選択的に置換された C_{2-3} アルキニレンであり、

40

R^1 のそれぞれの例は独立して、任意選択的に置換された C_{5-30} アルキル、任意選択的に置換された C_{3-30} アルケニル、または任意選択的に置換された C_{5-30} アルキニルであり、

R^O は、水素、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアシル、または酸素保護基であり、

r は、2 ~ 100 の整数 (2 及び 100 を含む) であり、

L^1 が $-CH_2CH_2-$ または $-CH_2CH_2CH_2-$ である場合、 R^O はメチルではない。

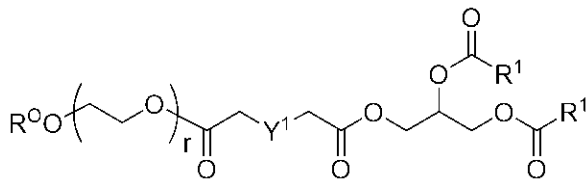
50

【0784】

特定の実施形態では、 L^1 が任意選択的に置換された C_2 または C_3 アルキレンである場合、 R^O は任意選択的に置換されたアルキルではない。特定の実施形態では、 L^1 が任意選択的に置換された C_2 または C_3 アルキレンである場合、 R^O は水素である。特定の実施形態では、 L^1 が $-CH_2CH_2-$ または $-CH_2CH_2CH_2-$ である場合、 R^O は任意選択的に置換されたアルキルではない。特定の実施形態では、 L^1 が $-CH_2CH_2-$ または $-CH_2CH_2CH_2-$ である場合、 R^O は水素である。

【0785】

特定の実施形態では、式(PVII I)のPEG脂質は、式、



10

、
のPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩であり、

式中、

Y^1 は、結合、 $-CR_2-$ 、 $-O-$ 、 $-NR^N-$ 、または $-S-$ であり、

R のそれぞれの例は独立して、水素、ハロゲン、または任意選択的に置換されたアルキルであり、

20

R^N は、水素、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアシル、または窒素保護基であり、

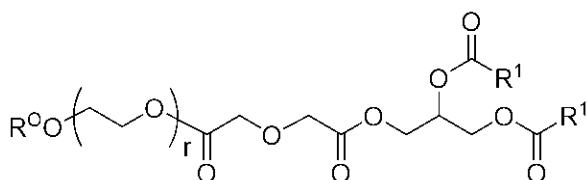
Y^1 が結合または $-CH_2-$ である場合、 R^O はメチルではない。

【0786】

特定の実施形態では、 L^1 が $-CR_2-$ である場合、 R^O は任意選択的に置換されたアルキルではない。特定の実施形態では、 L^1 が $-CR_2-$ である場合、 R^O は水素である。特定の実施形態では、 L^1 が $-CH_2-$ である場合、 R^O は任意選択的に置換されたアルキルではない。特定の実施形態では、 L^1 が $-CH_2-$ である場合、 R^O は水素である。

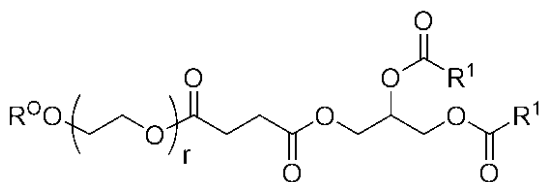
【0787】

特定の実施形態では、式(PVII I)のPEG脂質は、以下の式、



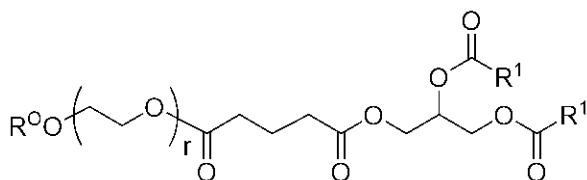
30

、



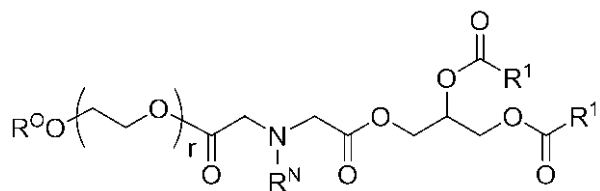
40

、

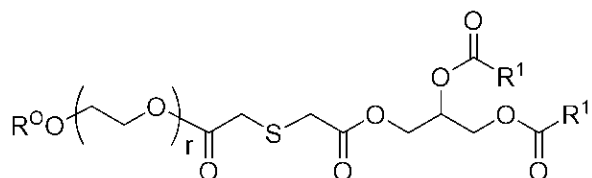


50

、

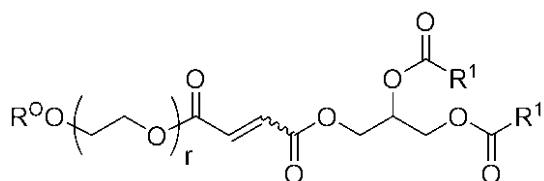


、



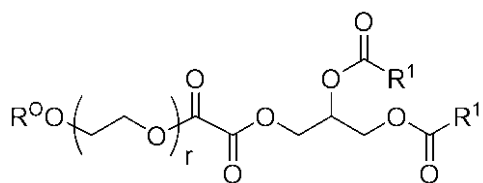
10

、

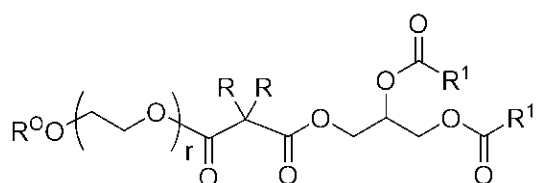


20

、



、



30

、

のうちの1つのPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩であり、

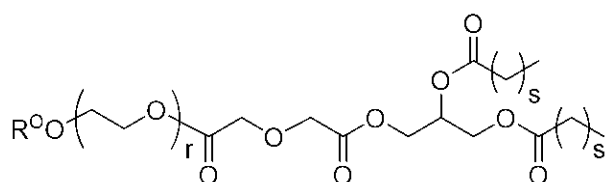
式中、

Rのそれぞれの例は独立して、水素、ハロゲン、または任意選択的に置換されたアルキルである。

40

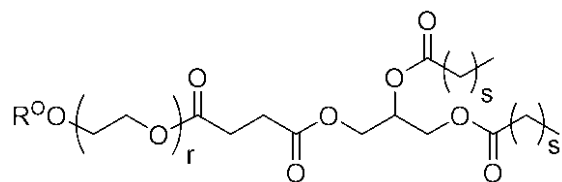
【0788】

特定の実施形態では、式(PVII I)のPEG脂質は、以下の式、

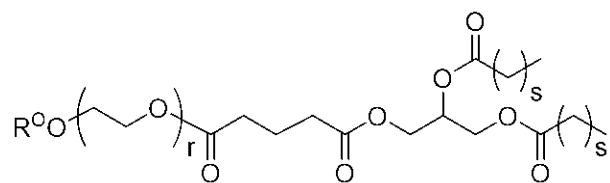


、

50

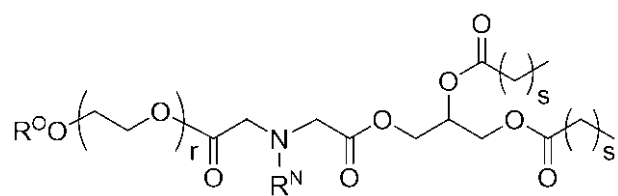


、



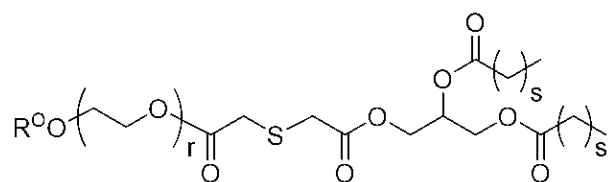
10

、

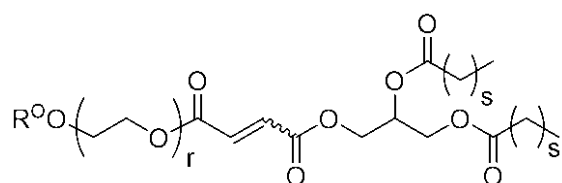


20

、

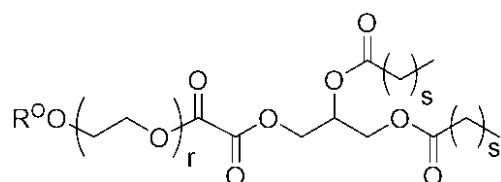


、



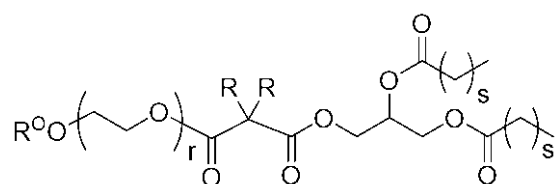
30

、



40

、



、

50

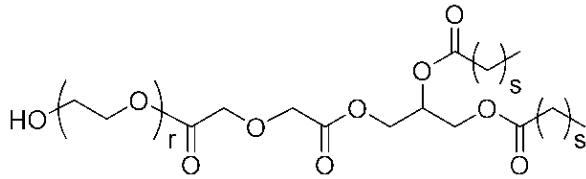
のうちの１つのPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩であり、
式中、

Rのそれぞれの例は独立して、水素、ハロゲン、または任意選択的に置換されたアルキルであり、

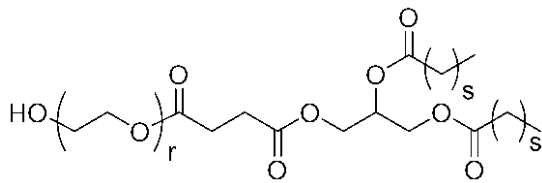
それぞれのsは独立して、5～25の整数（5及び25を含む）である。

【0789】

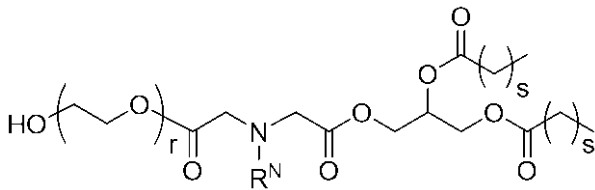
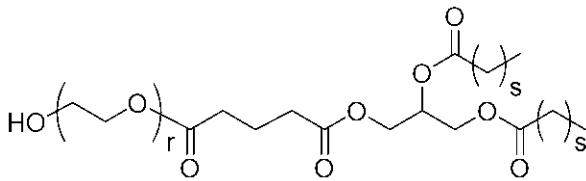
特定の実施形態では、式（P V I I I）のPEG脂質は、以下の式、



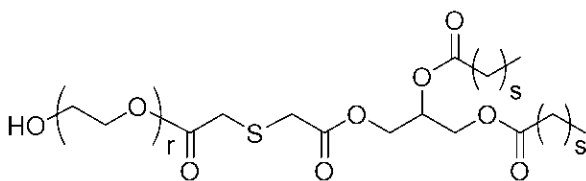
10



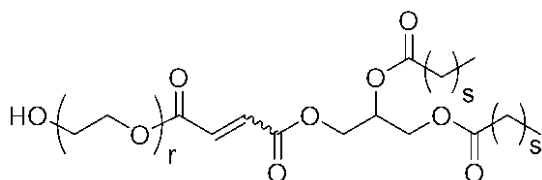
20



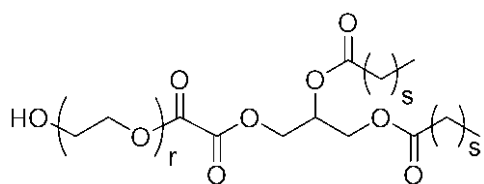
30



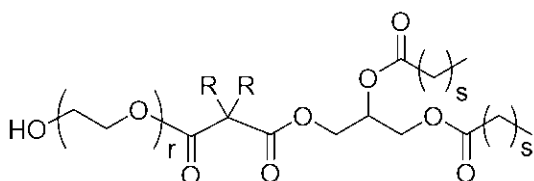
40



50



、



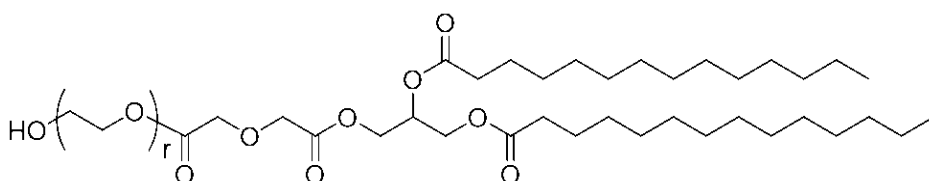
10

、

のうちの1つのPEG脂質、またはその薬学的に許容される塩である。

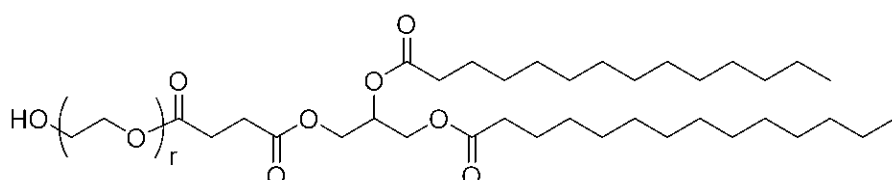
【0790】

特定の実施形態では、式（P V I I I）のPEG脂質は、



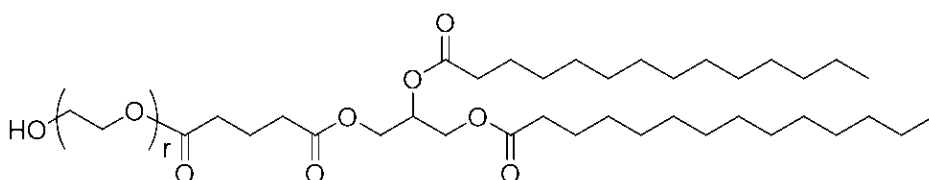
20

（P L 2 4）、

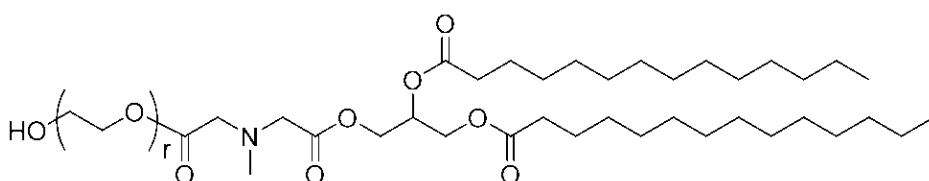


30

（P L 2 5）、

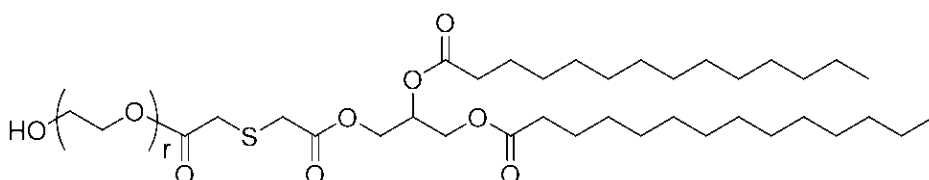


（P L 2 6）、



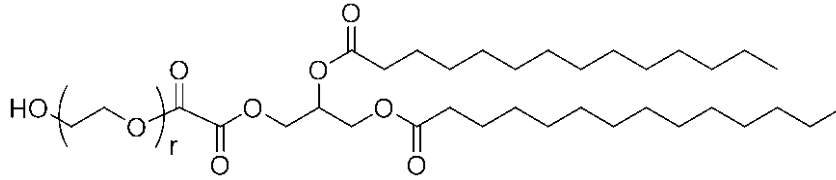
40

（P L 2 7）、

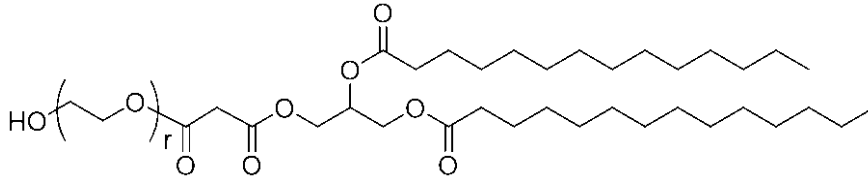


50

(P L 2 8)、

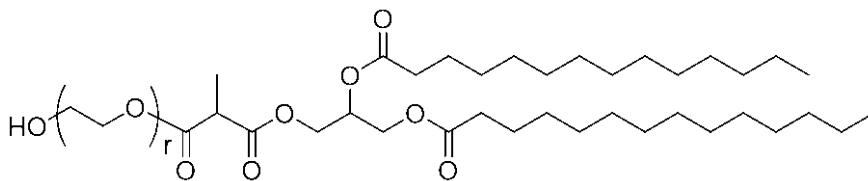


(P L 2 9)、



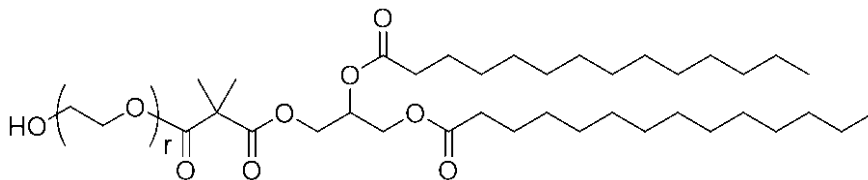
10

(P L 3 0)、

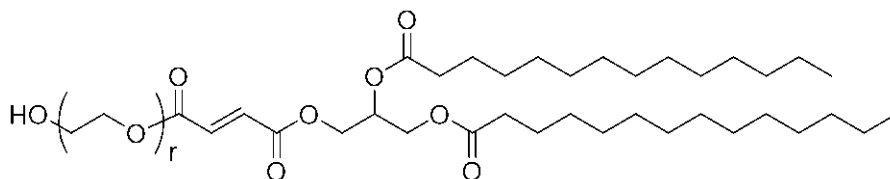


20

(P L 3 1)、

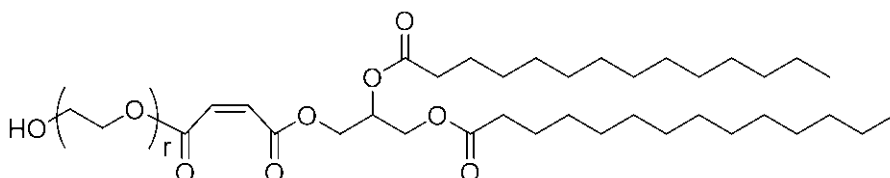


(P L 3 2)、



30

(P L 3 3)、



40

(P L 3 4)、

及びその薬学的に許容される塩
からなる群から選択される。

【0791】

上記または関連する態様のいずれかでは、本発明のPEG脂質は主要部分であり、式中、 r は40～50である。

【0792】

本明細書で提供するLNPは、特定の実施形態では、PEG脂質を含む既存LNP製剤

50

と比較して、高いPEG分断を示す。「PEG分断」とは、本明細書で使用する場合、PEG脂質からのPEG基の開裂のことを意味する。多くの場合、PEG脂質からのPEG基の開裂は、血清が促進するエステラーゼ開裂または加水分解によって生じる。特定の実施形態では、本明細書で提供するPEG脂質は、PEG分断の比率を制御するように設計されている。特定の実施形態では、本明細書で提供するLNPは、ヒト血清中において、約6時間後、5%超、10%超、15%超、20%超、25%超、30%超、35%超、40%超、45%超、50%超、55%超、60%超、65%超、70%超、75%超、80%超、85%超、90%超、95%超、または98%超のPEG分断を示す。特定の実施形態では、本明細書で提供するLNPは、ヒト血清中において、約6時間後、50%超のPEG分断を示す。特定の実施形態では、本明細書で提供するLNPは、ヒト血清中において、約6時間後、60%超のPEG分断を示す。特定の実施形態では、本明細書で提供するLNPは、ヒト血清中において、約6時間後、70%超のPEG分断を示す。特定の実施形態では、LNPは、ヒト血清中において、約6時間後、80%超のPEG分断を示す。特定の実施形態では、LNPは、ヒト血清中において、約6時間後、90%超のPEG分断を示す。特定の実施形態では、本明細書で提供するLNPは、ヒト血清中において、約6時間後、90%超のPEG分断を示す。

10

【0793】

その他の実施形態では、本明細書で提供するLNPは、ヒト血清中において、約6時間後、5%未満、10%未満、15%未満、20%未満、25%未満、30%未満、35%未満、40%未満、45%未満、50%未満、55%未満、60%未満、65%未満、70%未満、75%未満、80%未満、85%未満、90%未満、95%未満、または98%未満のPEG分断を示す。特定の実施形態では、本明細書で提供するLNPは、ヒト血清中において、約6時間後、60%未満のPEG分断を示す。特定の実施形態では、本明細書で提供するLNPは、ヒト血清中において、約6時間後、70%未満のPEG分断を示す。特定の実施形態では、本明細書で提供するLNPは、ヒト血清中において、約6時間後、80%未満のPEG分断を示す。

20

【0794】

本明細書で提供するPEG脂質に加えて、LNPは、1種または複数種の別の脂質構成成分を含んでもよい。特定の実施形態では、PEG脂質は、その他の脂質に対して0.15~15%のモル比率でLNP中に含まれる。特定の実施形態では、PEG脂質は、その他の脂質に対して0.15~5%のモル比率で含まれる。特定の実施形態では、PEG脂質は、その他の脂質に対して1~5%のモル比率で含まれる。特定の実施形態では、PEG脂質は、その他の脂質に対して0.15~2%のモル比率で含まれる。特定の実施形態では、PEG脂質は、その他の脂質に対して1~2%のモル比率で含まれる。特定の実施形態では、PEG脂質は、その他の脂質に対して約1%、1.1%、1.2%、1.3%、1.4%、1.5%、1.6%、1.7%、1.8%、1.9%、または2%のモル比率で含まれる。特定の実施形態では、PEG脂質は、その他の脂質に対して約1.5%のモル比率で含まれる。

30

【0795】

一実施形態では、本明細書で開示する医薬組成物の脂質組成物中におけるPEG脂質の量は、約0.1mol%~約5mol%、約0.5mol%~約5mol%、約1mol%~約5mol%、約1.5mol%~約5mol%、約2mol%~約5mol%、約0.1mol%~約4mol%、約0.5mol%~約4mol%、約1mol%~約4mol%、約1.5mol%~約4mol%、約2mol%~約4mol%、約0.1mol%~約3mol%、約0.5mol%~約3mol%、約1mol%~約3mol%、約1.5mol%~約3mol%、約2mol%~約3mol%、約0.1mol%~約2mol%、約0.5mol%~約2mol%、約1mol%~約2mol%、約1.5mol%~約2mol%、約0.1mol%~約1.5mol%、約0.5mol%~約1.5mol%、または約1mol%~約1.5mol%の範囲である。

40

【0796】

50

一実施形態では、本明細書で開示する脂質組成物におけるPEG脂質の量は約2mol%である。一実施形態では、本明細書で開示する脂質組成物におけるPEG脂質の量は約1.5mol%である。

【0797】

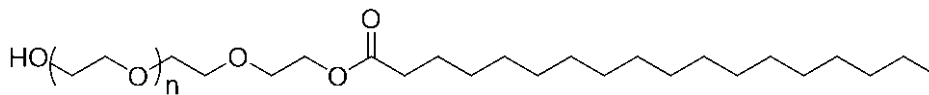
一実施形態では、本明細書で開示する脂質組成物におけるPEG脂質の量は、少なくとも約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、または5mol%である。

10

【0798】

例示的な合成：

化合物：HO-PEG2000-エステル-C18



パラジウム炭素（10重量%、74mg、0.070mmol）を入れた窒素充填フラスコに、ベンジル-PEG2000-エステル-C18（822mg、0.35mmol）及びMeOH（20mL）を加えた。そのフラスコにおいて真空引き及びH₂充填を3回行い、室温及び1気圧 H₂で12時間攪拌した。混合液をセライトに通して濾過し、DCMですすいでから、濾液を減圧下で濃縮して所望の生成物（692mg、88%）を得た。この方法を使用すると、n=40～50である。一実施形態では、得られる多分散混合物のnは平均45を示す。

20

【0799】

例えば、rの値は、PEG脂質内のPEG部分の分子量に基づいて決定することができる。例えば、2,000の分子量（例えば、PEG2000）は、約45のnの値に対応している。ポリマーが多くの場合異なるポリマー鎖長の分布で存在していることから、任意の組成物におけるnの値は、技術分野において許容される範囲内における値の分布を含み得る。例えば、このようなポリマー組成物の多分散性を了解している当業者は、実際のPEG含有組成物、例えば、DMG-PEG200-peg脂質組成物における45のn値（例えば、構造式中の）が40～50の間の値の分布を示し得るということを理解するであろう。

30

【0800】

一部の態様では、本明細書で開示する医薬組成物のLNPは、PEG脂質を含まない。

【0801】

一実施形態では、本開示のLNPはPEG脂質を含む。一実施形態では、PEG脂質はPEG-DMGではない。一部の態様では、PEG脂質は、PEG-修飾ホスファチジルエタノールアミン、PEG-修飾ホスファチジン酸、PEG-修飾セラミド、PEG-修飾ジアルキルアミン、PEG-修飾ジアシルグリセロール、PEG-修飾ジアルキルグリセロール、及びこれらの混合物からなる群から選択される。一部の態様では、PEG脂質は、PEG-c-DMG脂質、PEG-DMG脂質、PEG-DLPE脂質、PEG-DMPE脂質、PEG-DPPC脂質、及びPEG-DSPE脂質からなる群から選択される。その他の態様では、PEG脂質はPEG-DMGである。

40

【0802】

一実施形態では、本開示のLNPは、分枝鎖である場合、約14よりも長いまたは約10よりも長い鎖長を有するPEG脂質を含む。

【0803】

一実施形態では、PEG脂質は、化合物番号P415、P416、P417、P41

50

9、P 420、P 423、P 424、P 428、P L1、P L2、P L16、P L17、P L18、P L19、P L22、及びP L23のいずれかからなる群から選択される化合物である。一実施形態では、PEG脂質は、化合物番号P 415、P 417、P 420、P 423、P 424、P 428、P L1、P L2、P L16、P L17、P L18、P L19、P L22、及びP L23のいずれかからなる群から選択される化合物である。

【0804】

一実施形態では、PEG脂質は、Cmpd 428、PL16、PL17、PL 18、PL19、PL 1、及びPL 2からなる群から選択される。

【0805】

例示的なLNP脂質

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPのイオン性脂質（Iで示す）は、任意の化合物、例えば、式（I I）、（I IA）、（I IB）、（I II）、（I I Ia）、（I I Ib）、（I I Ic）、（I I Id）、（I I Ie）、（I I If）、（I I Ig）、（I I II）、（I VI）、（I VI-a）、（I V II）、（I V III）、（I V IIa）、（I V IIIa）、（I V IIIb）、（I V IIb-1）、（I V IIb-2）、（I V IIb-3）、（I V IIc）、（I V IId）、（I V IIIc）、（I V IIId）、（I IX）、（I IXa1）、（I IXa2）、（I IXa3）、（I IXa4）、（I IXa5）、（I IXa6）、（I IXa7）、または（I IXa8）のいずれかを有する化合物中、及び／または、化合物X、Y、I 48、I 50、I 109、I 111、I 113、I 181、I 182、I 244、I 292、I 301、I 321、I 322、I 326、I 328、I 330、I 331、I 332、またはI Mのいずれかの中に含まれている化合物を含む。

【0806】

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPのイオン性脂質は、化合物X、化合物Y、化合物I-321、化合物I-292、化合物I-326、化合物I-182、化合物I-301、化合物I-48、化合物I-50、化合物I-328、化合物I-330、化合物I-109、化合物I-111、または化合物I-181として本明細書に記載されている化合物を含む。

【0807】

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPのイオン性脂質は、化合物番号I 18（化合物Xとも呼ばれる）、I 25（化合物Yとも呼ばれる）、I 48、I 50、I 109、I 111、I 113、I 181、I 182、I 244、I 292、I 301、I 309、I 317、I 321、I 322、I 326、I 328、I 330、I 331、I 332、I 347、I 348、I 349、I 350、I 351、及びI 352からなる群から選択される少なくとも1種の化合物を含む。別の実施形態では、本開示のLNPのイオン性脂質は、化合物番号I 18（化合物Xとも呼ばれる）、I 25（化合物Yとも呼ばれる）、I 48、I 50、I 109、I 111、I 181、I 182、I 292、I 301、I 321、I 326、I 328、I 330からなる群から選択される化合物を含む。別の実施形態では、本開示のLNPのイオン性脂質は、化合物番号I 182、I 301、I 321、及びI 326からなる群から選択される化合物を含む。

【0808】

一実施形態では、イオン性脂質のブレンドを採用してもよい。

【0809】

一実施形態では、LNPはステロールを含む。別の実施形態では、LNPは天然ステロールを含む。別の実施形態では、LNPは修飾ステロールを含む。一実施形態では、LNPは1種または複数種のフィトステロールを含む。一実施形態では、LNPはフィトステロール／コレステロールブレンドを含む。

10

20

30

40

50

【0810】

用語「フィトステロール」とは、フィトステロイド（その塩またはエステルを含む）である植物性ステロール及びスタノールのグループのことを意味する。

【0811】

用語「ステロール」とは、ステロイドアルコールとしても周知のステロイドのサブグループのことを意味する。ステロールは一般的に、2つの部類、（１）「フィトステロール」としても周知の植物ステロール、及び（２）コレステロールなどの「ズーステロール」としても周知の動物ステロールに分類される。用語「スタノール」とは、ステロール環構造中に二重結合を有していない飽和ステロールの部類のことを意味する。

【0812】

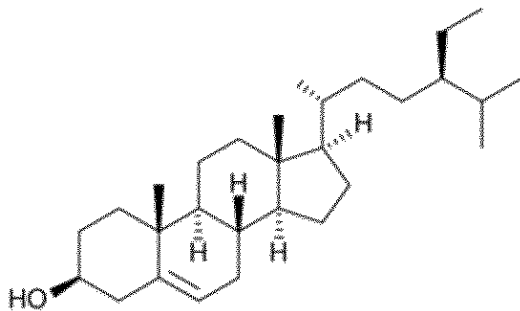
一部の実施形態では、フィトステロールは、単独または組み合わせの、シトステロール、スティグマステロール、カンペステロール、シトスタノール、カンペスタノール、ブラシカステロール、フコステロール、 β -シトステロール、スティグマスタノール、 β -シトスタノール、エルゴステロール、ルペオール、シクロアルテノール、 Δ^5 -アベナステロール、 Δ^7 -アベナステロール、または Δ^7 -スティグマステロール（その類似体、塩、またはエステルを含む）である。一部の実施形態では、本開示のLNPのフィトステロール構成成分は、単一のフィトステロールである。一部の実施形態では、本開示のLNPのフィトステロール構成成分は、異なるフィトステロール（例えば、2、3、4、5、または6種の異なるフィトステロール）の混合物である。一部の実施形態では、本開示のLNPのフィトステロール構成成分は、1種または複数種のフィトステロール及び1種または複数種のズーステロールのブレンド、例えば、フィトステロール（例えば、シトステロール、例えば、 β -シトステロールなど）及びコレステロールのブレンドなどである。

【0813】

一部の実施形態では、シトステロールは β -シトステロールである。

【0814】

一部の実施形態では、 β -シトステロールは、式、



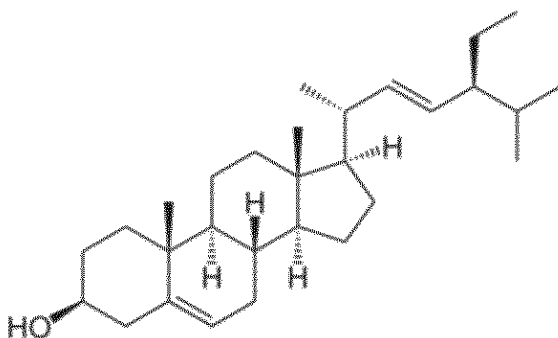
、（その類似体、塩、またはエステルを含む）を有する。

【0815】

一部の実施形態では、シトステロールはスティグマステロールである。

【0816】

一部の実施形態では、スティグマステロールは、式、



10

20

30

40

50

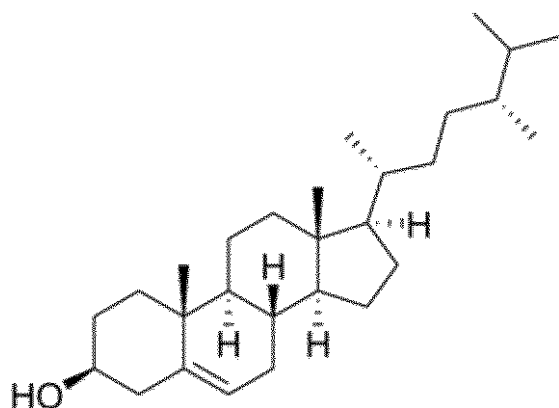
、（その類似体、塩、またはエステルを含む）を有する。

【 0 8 1 7 】

一部の実施形態では、シトステロールはカンペステロールである。

【 0 8 1 8 】

一部の実施形態では、カンペステロールは、式、



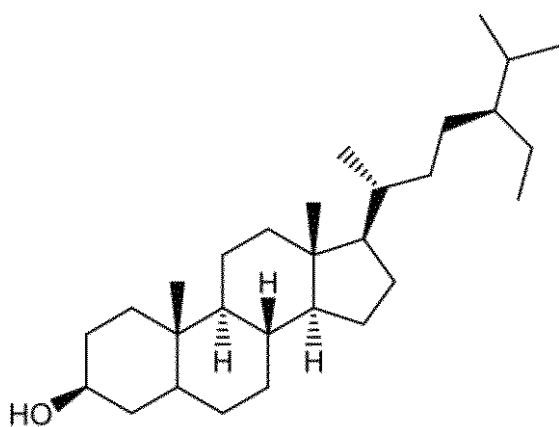
、（その類似体、塩、またはエステルを含む）を有する。

【 0 8 1 9 】

一部の実施形態では、シトステロールはシトスタノールである。

【 0 8 2 0 】

一部の実施形態では、シトスタノールは、式、



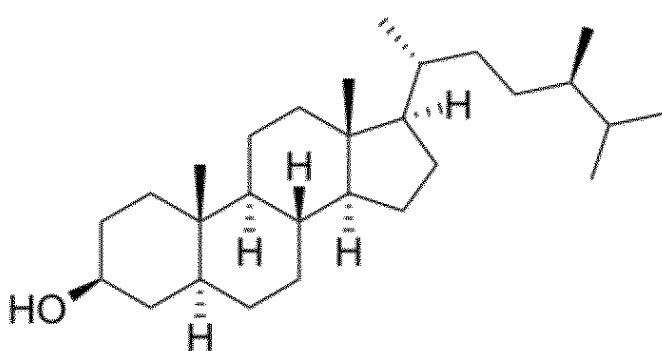
、（その類似体、塩、またはエステルを含む）を有する。

【 0 8 2 1 】

一部の実施形態では、シトステロールはカンペスタノールである。

【 0 8 2 2 】

一部の実施形態では、カンペスタノールは、式、



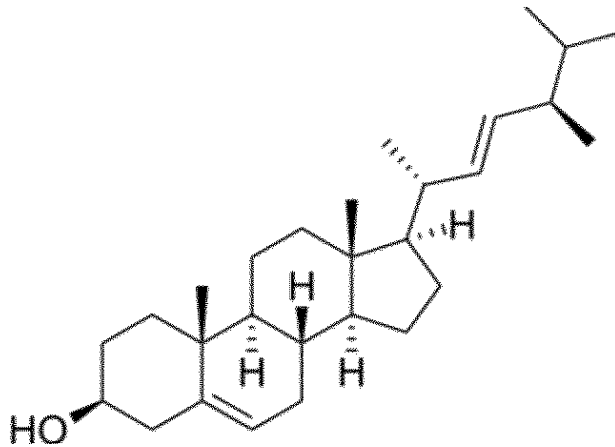
、（その類似体、塩、またはエステルを含む）を有する。

【0823】

一部の実施形態では、シトステロールはブラシカステロールである。

【0824】

一部の実施形態では、ブラシカステロールは、式、



10

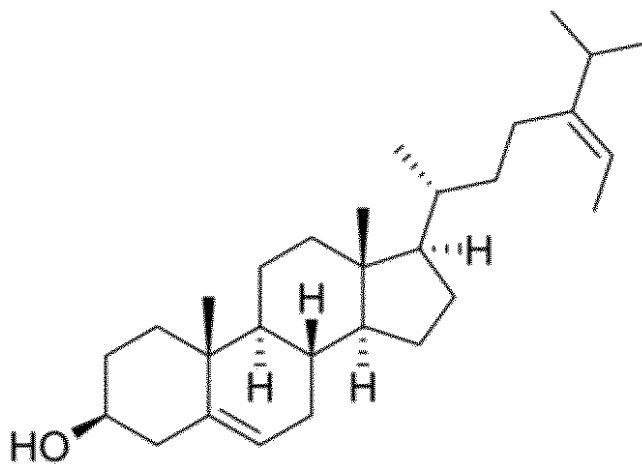
、（その類似体、塩、またはエステルを含む）を有する。

【0825】

一部の実施形態では、シトステロールはフコステロールである。

【0826】

一部の実施形態では、フコステロールは、式、



30

、（その類似体、塩、またはエステルを含む）を有する。

【0827】

一部の実施形態では、フィトステロール（例えば、 β -シトステロール）は70%超の純度を有する。一部の実施形態では、フィトステロール（例えば、 β -シトステロール）は80%超の純度を有する。一部の実施形態では、フィトステロール（例えば、 β -シトステロール）は90%超の純度を有する。一部の実施形態では、フィトステロール（例えば、 β -シトステロール）は95%超の純度を有する。一部の実施形態では、フィトステロール（例えば、 β -シトステロール）は、97%超、98%超、または99%超の純度を有する。

40

【0828】

一実施形態では、LNPは、2種以上の構造脂質を含む。

【0829】

例えば、一実施形態では、LNPはフィトステロールを含む。一実施形態では、フィト

50

ステロールは、LNP中に含まれる唯一の構造脂質である。別の実施形態では、LNPは構造脂質のブレンドを含む。

【0830】

一実施形態では、本明細書で開示する医薬組成物の脂質組成物中におけるフィトステロール及び構造脂質（例えば、 β -シトステロール及びコレステロール）の総量は、約20mol%～約60mol%、約25mol%～約55mol%、約30mol%～約50mol%、または約35mol%～約45mol%の範囲である。

【0831】

一実施形態では、本明細書で開示する脂質組成物中におけるフィトステロール及び構造脂質（例えば、 β -シトステロール及びコレステロール）の総量は、約25mol%～約30mol%、約30mol%～約35mol%、または約35mol%～約40mol%の範囲である。

10

【0832】

一実施形態では、本明細書で開示する脂質組成物中におけるフィトステロール及び構造脂質（例えば、 β -シトステロール及びコレステロール）の量は、約24mol%、約29mol%、約34mol%、または約39mol%である。

【0833】

一部の実施形態では、本明細書で開示する脂質組成物中におけるフィトステロール及び構造脂質（例えば、 β -シトステロール及びコレステロール）の総量は、少なくとも約20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、または60mol%である。

20

【0834】

一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、1種または複数種のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）及び1種または複数種の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、構造脂質のmol%は、脂質ナノ粒子中に含まれるフィトステロールのmol%の約1%～50%である。一部の実施形態では、構造脂質のmol%は、脂質性組成物（例えば、LNP）中に含まれるフィトステロールのmol%の約10%～40%である。一部の実施形態では、構造脂質のmol%は、脂質性組成物（例えば、LNP）中に含まれるフィトステロールのmol%の約20%～30%である。一部の実施形態では、構造脂質のmol%は、脂質性組成物（例えば、脂質ナノ粒子）中に含まれるフィトステロールのmol%の約30%である。

30

【0835】

一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は15～40mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、約15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、または40mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）、及び0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25mol%の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、フィトステロール及び構造脂質の総mol%が30～40mol%となるように、20mol%超のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）及び20mol%未満の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子はそれぞれ、約20mol%、約21mol%、約22mol%、約23mol%、約24mol%、約25mol%、約26mol%、約27mol%、約28mol%、約29mol%、約30mol%、約31mol%、約32mol%、約33mol%、約34mol%、約35mol%、約37mol%、約38mol%、約39mol%、または約40mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）、及び約19mol%、約18mol%、約17mol%、約16mol%

40

50

%、約15mol%、約14mol%、約13mol%、約12mol%、約11mol%、約10mol%、約9mol%、約8mol%、約7mol%、約6mol%、約5mol%、約4mol%、約3mol%、約2mol%、約1mol%、または約0mol%の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、約28mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）及び約10mol%の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、38.5%の総mol%のフィトステロール及び構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、28.5mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）及び10mol%の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、18.5mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）及び20mol%の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。

10

【0836】

特定の実施形態では、LNPは、50%のイオン性脂質、10%のヘルパー脂質（例えば、リン脂質）、38.5%の構造脂質、及び1.5%のPEG脂質を含む。特定の実施形態では、LNPは、50%のイオン性脂質、10%のヘルパー脂質（例えば、リン脂質）、38%の構造脂質、及び2%のPEG脂質を含む。特定の実施形態では、LNPは、50%のイオン性脂質、20%のヘルパー脂質（例えば、リン脂質）、28.5%の構造脂質、及び1.5%のPEG脂質を含む。特定の実施形態では、LNPは、50%のイオン性脂質、20%のヘルパー脂質（例えば、リン脂質）、28%の構造脂質、及び2%のPEG脂質を含む。特定の実施形態では、LNPは、40%のイオン性脂質、30%のヘルパー脂質（例えば、リン脂質）、28.5%の構造脂質、及び1.5%のPEG脂質を含む。特定の実施形態では、LNPは、40%のイオン性脂質、30%のヘルパー脂質（例えば、リン脂質）、28%の構造脂質、及び2%のPEG脂質を含む。特定の実施形態では、LNPは、45%のイオン性脂質、20%のヘルパー脂質（例えば、リン脂質）、33.5%の構造脂質、及び1.5%のPEG脂質を含む。特定の実施形態では、LNPは、45%のイオン性脂質、20%のヘルパー脂質（例えば、リン脂質）、33%の構造脂質、及び2%のPEG脂質を含む。

20

【0837】

一態様では、LNPはフィトステロールを含み、LNPは別の構造脂質を含まない。それゆえ、LNPの構造脂質（ステロール）構成成分はフィトステロールで構成される。別の態様では、LNPは、フィトステロール及び別の構造脂質を含む。それゆえ、LNPのステロール構成成分は、フィトステロール及び1種または複数種の別のステロールまたは構造脂質を含む。

30

【0838】

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPの構造脂質（例えば、ステロール、例えば、フィトステロールまたはフィトステロール／コレステロールブレンドなど）は、コレステロール、 β -シトステロール（本明細書ではまた、Cmpd S 141と呼ぶ）、カンペステロール（本明細書ではまた、Cmpd S 143と呼ぶ）、 β -シトスタノール（本明細書ではまた、Cmpd S 144と呼ぶ）、ブラシカステロール、もしくはスティグマステロール、またはこれらの組み合わせもしくはブレンドとして、本明細書に記載の化合物を含む。別の実施形態では、本開示のLNPの構造脂質（例えば、ステロール、例えば、フィトステロールまたはフィトステロール／コレステロールブレンドなど）は、コレステロール、 β -シトステロール、カンペステロール、 β -シトスタノール、ブラシカステロール、スティグマステロール、 β -シトステロール-d7、化合物S-30、化合物S-31、化合物S-32、またはこれらの組み合わせもしくはブレンドから選択される化合物を含む。別の実施形態では、本開示のLNPの構造脂質（例えば、ステロール、例えば、フィトステロールまたはフィトステロール／コレステロールブレンドなど）は、コレステロール、 β -シトステロール（本明細書ではまた、Cmpd S 141と呼ぶ）、カンペステロール（本明細書ではまた、Cmpd S 143と呼ぶ）、 β

40

50

ーシトスタノール（本明細書ではまた、Cmpd S 144と呼ぶ）、化合物S-140、化合物S-144、ブラシカステロール（本明細書ではまた、Cmpd S 148と呼ぶ）、または組成物S-183（約40%の化合物S-141、約25%の化合物S-140、約25%の化合物S-143、及び約10%のブラシカステロール）として、本明細書に記載の化合物を含む。一部の実施形態では、本開示のLNPの構造脂質は、化合物S-159、化合物S-160、化合物S-164、化合物S-165、化合物S-167、化合物S-170、化合物S-173、または化合物S-175として、本明細書に記載の化合物を含む。

【0839】

一実施形態では、LNPは、非カチオン性ヘルパー脂質、例えば、リン脂質を含む。上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPの非カチオン性ヘルパー脂質（例えば、リン脂質）は、DSPC、DMPE、DOPC、またはH-409として、本明細書に記載の化合物を含む。一実施形態では、非カチオン性ヘルパー脂質、例えば、リン脂質は、DSPCである。その他の実施形態では、本開示のLNPの非カチオン性ヘルパー脂質（例えば、リン脂質）は、DSPC、DMPE、DOPC、DPPC、PMPC、H-409、H-418、H-420、H-421、またはH-422として、本明細書に記載の化合物を含む。

【0840】

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPのPEG脂質は、PEG-修飾ホスファチジルエタノールアミン、PEG-修飾ホスファチジン酸、PEG-修飾セラミド、PEG-修飾ジアルキルアミン、PEG-修飾ジアシルグリセロール、PEG-修飾ジアルキルグリセロール、及びこれらの混合物からなる群から選択され得る本明細書に記載の化合物を含む。別の実施形態では、PEG脂質は、化合物番号P415、P416、P417、P419、P420、P423、P424、P428、PL5、PL1、PL2、PL16、PL17、PL18、PL19、PL22、PL23、DMG、DPG、及びDSGからなる群から選択される。別の実施形態では、PEG脂質は、Cmpd 428、PL16、PL17、PL18、PL19、PL5、PL1、及びPL2からなる群から選択される。

【0841】

その他の実施形態では、本開示は、イオン性脂質としての化合物X、リン脂質としてのDSPC、構造脂質としてのコレステロールまたはコレステロール/β-シトステロールブレンド、及び、PEG脂質としての化合物428、を含む脂質ナノ粒子を提供する。これらの化合物X含有組成物の様々な実施形態では、イオン性脂質：リン脂質：構造脂質：PEG脂質の比率は、例えば、以下のとおり、(i) 50:10:38:2、(ii) 50:20:28:2、(iii) 40:20:38:2、(iv) 40:30:28:2であってもよい。構造脂質構成成分用に、一実施形態では、構造脂質は専ら、38%または28%のコレステロールである。別の実施形態では、構造脂質は、38%または28%の総パーセンテージのコレステロール/β-シトステロールであり、ブレンドは、例えば、(i) 20%のコレステロール及び18%のβ-シトステロール、(ii) 10%のコレステロール及び18%のβ-シトステロール、または(iii) 10%のコレステロール及び28%のβ-シトステロールを含んでいてもよい。別の実施形態では、構造脂質は、38.5%の総パーセンテージのコレステロール/β-シトステロールであり、ブレンドは、例えば、(i) 20%のコレステロール及び18.5%のβ-シトステロール、または(ii) 10%のコレステロール及び28.5%のβ-シトステロールを含んでいてもよい。

【0842】

その他の実施形態では、本開示は、イオン性脂質としての、化合物X、Y、I-321、I-292、I-326、I-182、I-301、I-48、I-50、I-328、I-330、I-109、I-111、またはI-181のいずれか、リン脂質としてのDSPC、構造脂質としての、コレステロール、コレステロール/β-シトステロール

10

20

30

40

50

ブレンド、 β -シトステロール/ β -シトスタノールブレンド、 β -シトステロール/
カンペステロールブレンド、 β -シトステロール/ β -シトスタノール/
カンペステロールブレンド、コレステロール/
カンペステロールブレンド、コレステロール/ β -シトスタ
ノールブレンド、コレステロール/ β -シトスタノール/
カンペステロールブレンド、またはコレステロール/
 β -シトステロール/ β -シトスタノール/
カンペステロールブレンド、及び、PEG脂質としての化合物428、を含む脂質ナノ粒子を提供する。これらの
組成物の様々な実施形態では、イオン性脂質：リン脂質：構造脂質：PEG脂質の比率
は、例えば、以下のとおり、(i) 50：10：38：2、(ii) 50：20：28：
2、(iii) 40：20：38：2、(iv) 40：30：28：2、(v) 40：1
8.5：40：1.5、または(vi) 45：20：33.5：1.5であってもよい。
一実施形態では、構造脂質構成成分用に、LNPは、例えば、(i) 10%のコレステ
ロール及び30%の β -シトステロール、(ii) 10%のコレステロール及び30%のカ
ンペステロール、(iii) 10%のコレステロール及び30%の β -シトスタノール、
(iv) 10%のコレステロール、20%の β -シトステロール、及び10%のカンペ
ステロール、(v) 10%のコレステロール、20%の β -シトステロール、及び10%の
 β -シトスタノール、(vi) 10%のコレステロール、10%の β -シトステロール、
及び20%のカンペステロール、(vii) 10%のコレステロール、10%の β -シト
ステロール、及び20%のカンペステロール、(viii) 10%のコレステロール、2
0%のカンペステロール、及び10%の β -シトスタノール、(ix) 10%のコレステ
ロール、10%のカンペステロール、及び20%の β -シトスタノール、または(x) 1
0%のコレステロール、10%の β -シトステロール、10%のカンペステロール、及び
10%の β -シトスタノールで構成される40%の構造脂質を含んでいてもよい。別の実
施形態では、構造脂質構成成分用に、LNPは、例えば、(i) 33.5%のコレステ
ロール、(ii) 18.5%のコレステロール、15%の β -シトステロール、(iii) 1
8.5%のコレステロール、15%のカンペステロール、または(iv) 18.5%の
コレステロール、15%のカンペステロールで構成される33.5%の構造脂質を含んで
いてもよい。

【0843】

その他の実施形態では、本開示は、構造脂質としての、カンペステロール、 β -シトス
タノール、またはスティグマステロール、を含む脂質ナノ粒子を提供する。LNPのその
他の構成成分は、本明細書で開示する構成成分、例えば、イオン性脂質としての、化合物
X、化合物I-109、化合物I-111、化合物I-181、化合物I-182、または
化合物I-244、リン脂質としてのDSPC、及び、PEG脂質としての化合物42
8から選択してもよい。

【0844】

例示的な別のLNP構成成分

界面活性剤

特定の実施形態では、本開示の脂質ナノ粒子は、1種または複数種の界面活性剤を任意
選択的に含む。

【0845】

特定の実施形態では、界面活性剤は両親媒性ポリマーである。本明細書で使用する場合
、両親媒性「ポリマー」は、オリゴマーまたはポリマーを含む両親媒性化合物である。例
えば、両親媒性ポリマーは、オリゴマーフラグメント、例えば、2つまたはそれ以上のP
EGモノマーユニットなどを含んでいてもよい。例えば、本明細書に記載の両親媒性ポリ
マーはPS 20であってもよい。

【0846】

例えば、両親媒性ポリマーはブロックコポリマーである。

【0847】

例えば、両親媒性ポリマーは凍結乾燥保護剤である。

【0848】

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

【0849】

例えば、両親媒性ポリマーは、約 30℃ 及び大気圧の水中において、約 0.1×10^{-4} M ~ 約 1.3×10^{-4} M の範囲の臨界ミセル濃度 (CMC) を有する。

【0850】

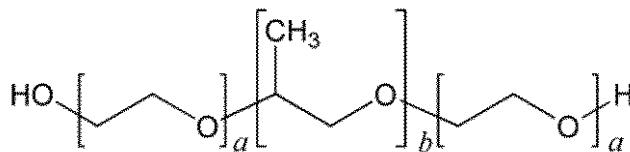
例えば、製剤中における両親媒性ポリマーの濃度は、例えば、凍結または凍結乾燥の前において、その CMC あたりから CMC の約 30 倍 (例えば、その CMC の最大約 25 倍、約 20 倍、約 15 倍、約 10 倍、約 5 倍、または約 3 倍) の間の範囲である。

【0851】

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

【0852】

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



、

であり、

式中、a は 10 ~ 150 の整数であり、b は 20 ~ 60 の整数である。例えば、a は約 12 であり b は約 20 である、または a は約 80 であり b は約 27 である、または a は約 64 であり b は約 37 である、または a は約 141 であり b は約 44 である、または a は約 101 であり b は約 56 である。

【0853】

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

【0854】

例えば、両親媒性ポリマーは P188 (例えば、ポロキサマー 188、CAS 番号 9003-11-6、コリフォール P188 としても周知) である。

【0855】

例えば、両親媒性ポリマーは、ポロキサミン、例えば、テトロニック 304 または テトロニック 904 である。

【0856】

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

【0857】

例えば、両親媒性ポリマーは、ポリソルベート、例えば、PS 20 などである。

【0858】

特定の実施形態では、界面活性剤は非イオン性界面活性剤である。

【0859】

一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は界面活性剤を含む。一部の実施形態では、界面活性剤は両親媒性ポリマーである。一部の実施形態では、界面活性剤は非イオン性界面活性剤である。

【0860】

例えば、非イオン性界面活性剤は、ポリエチレングリコールエーテル (Brij)、ポ

10

20

30

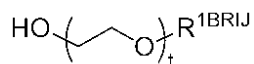
40

50

ロキサマー、ポリソルベート、ソルビタン、及びその誘導体からなる群から選択される。

【0861】

例えば、ポリエチレングリコールエーテルは、式（V I I I）の化合物、



（V I I I）、

またはその塩もしくは異性体であり、

式中、

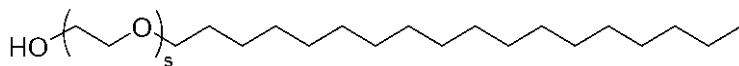
tは、1～100の整数であり、

R^{1BRIJ}は独立して、C₁₀–40アルキル、C₁₀–40アルケニル、またはC₁₀–40アルキニルであり、任意選択的に、R^{5PEG}の1つまたは複数のメチレン基は独立して、C₃–10カルボシクリレン、4～10員環ヘテロシクリレン、C₆–10アリーレン、4～10員環ヘテロアリーレン、–N(R^N)–、–O–、–S–、–C(O)–、–C(O)N(R^N)–、–NR^NC(O)–、–NR^NC(O)N(R^N)–、–C(O)O–、–OC(O)–、–OC(O)O–、–OC(O)N(R^N)–、–NR^NC(O)O–、–C(O)S–、–SC(O)–、–C(=NR^N)–、–C(=NR^N)N(R^N)–、–NR^NC(=NR^N)–、–NR^NC(=NR^N)N(R^N)–、–C(S)–、–C(S)N(R^N)–、–NR^NC(S)–、–NR^NC(S)N(R^N)–、–S(O)–、–OS(O)–、–S(O)O–、–OS(O)O–、–OS(O)₂–、–S(O)₂O–、–OS(O)₂O–、–N(R^N)S(O)–、–S(O)N(R^N)–、–N(R^N)S(O)N(R^N)–、–OS(O)N(R^N)–、–N(R^N)S(O)O–、–S(O)₂–、–N(R^N)S(O)₂–、–S(O)₂N(R^N)–、–N(R^N)S(O)₂N(R^N)–、–OS(O)₂N(R^N)–、または–N(R^N)S(O)₂O–で置換されており、

R^Nのそれぞれの例は独立して、水素、C₁–6アルキル、または窒素保護基である。

【0862】

一部の実施形態では、R^{1BRIJ}はC₁₈アルキルである。例えば、ポリエチレングリコールエーテルは、式（V I I I – a）の化合物、

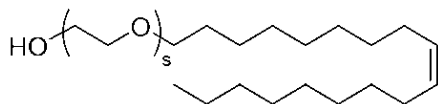


（V I I I – a）、

またはその塩もしくは異性体である。

【0863】

一部の実施形態では、R^{1BRIJ}はC₁₈アルケニルである。例えば、ポリエチレングリコールエーテルは、式（V I I I – b）の化合物、



（V I I I – b）、

またはその塩もしくは異性体である。

【0864】

一部の実施形態では、ポロキサマーは、ポロキサマー101、ポロキサマー105、ポロキサマー108、ポロキサマー122、ポロキサマー123、ポロキサマー124、ポロキサマー181、ポロキサマー182、ポロキサマー183、ポロキサマー184、ポロキサマー185、ポロキサマー188、ポロキサマー212、ポロキサマー215、ポロキサマー217、ポロキサマー231、ポロキサマー234、ポロキサマー235、ポロキサマー237、ポロキサマー238、ポロキサマー282、ポロキサマー284、ポ

ロキサマー 288、ポロキサマー 331、ポロキサマー 333、ポロキサマー 334、ポロキサマー 335、ポロキサマー 338、ポロキサマー 401、ポロキサマー 402、ポロキサマー 403、及びポロキサマー 407 からなる群から選択される。

【0865】

一部の実施形態では、ポリソルベートは、Tween（登録商標）20、Tween（登録商標）40、Tween（登録商標）60、または Tween（登録商標）80 である。

【0866】

一部の実施形態では、ソルビタンの誘導体は、スパン（登録商標）20、スパン（登録商標）60、スパン（登録商標）65、スパン（登録商標）80、またはスパン（登録商標）85 である。

【0867】

一部の実施形態では、脂質ナノ粒子中における非イオン性界面活性剤の濃度は、約 0.00001%（重量／体積）～約 1%（重量／体積）、例えば、約 0.00005%（重量／体積）～約 0.5%（重量／体積）、または約 0.0001%（重量／体積）～約 0.1%（重量／体積）の範囲である。

【0868】

一部の実施形態では、脂質ナノ粒子中における非イオン性界面活性剤の濃度は、約 0.000001 重量%～約 1 重量%、例えば、約 0.000002 重量%～約 0.8 重量%、または約 0.000005 重量%～約 0.5 重量%の範囲である。

【0869】

一部の実施形態では、脂質ナノ粒子中における PEG 脂質の濃度は、約 0.01 モル%～約 50 モル%、例えば、約 0.05 モル%～約 20 モル%、約 0.07 モル%～約 10 モル%、約 0.1 モル%～約 8 モル%、約 0.2 モル%～約 5 モル%、または約 0.25 モル%～約 3 モル%の範囲である。

【0870】

アジュバント

一部の実施形態では、本発明の LNP は、1 種または複数種のアジュバント、例えば、グルコピラノシル脂質アジュバント（GLA）、CpG オリゴデオキシヌクレオチド（例えば、クラス A または B）、ポリ（I：C）、水酸化アルミニウム、及び Pam3CSK4 を任意選択的に含む。

【0871】

その他の構成成分

本発明の LNP は、上記のセクションに記載の構成成分に加えて、1 種または複数種の構成成分を任意選択的に含んでもよい。例えば、脂質ナノ粒子は、1 種または複数種の小さな疎水性分子、例えば、ビタミン（例えば、ビタミン A またはビタミン E）またはステロールなどを含んでもよい。

【0872】

脂質ナノ粒子はまた、1 種または複数種の浸透促進分子、糖質、ポリマー、表面改質剤、またはその他の構成成分を含んでもよい。浸透促進分子は、例えば、米国特許出願公開第 2005/0222064 号に記載されている分子であってもよい。糖質としては、単糖（例えば、グルコース）及び多糖（例えば、グリコーゲンならびにその誘導体及び類似体）を挙げることができる。

【0873】

ポリマーは脂質ナノ粒子中に含まれていてもよく、及び／または、脂質ナノ粒子を封入または部分的に封入するのに使用されてもよい。ポリマーは生分解性及び／または生体適合性であってもよい。ポリマーは、ポリアミン、ポリエーテル、ポリアミド、ポリエステル、ポリカルバメート、ポリ尿素、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリイミド、ポリスルホン、ポリウレタン、ポリアセチレン、ポリエチレン、ポリエチレンイミン、ポリイソシアネート、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリアクリロニトリル、及びポ

10

20

30

40

50

リアリレートから選択してもよいがこれらに限定されない。例えば、ポリマーとしては、ポリ(カプロラクトン)(PCL)、エチレンビニルアセテートポリマー(EVA)、ポリ(乳酸)(PLA)、ポリ(L-乳酸)(PLLA)、ポリ(グリコール酸)(PGA)、ポリ(乳酸-グリコール酸コポリマー)(PLGA)、ポリ(L-乳酸-グリコール酸コポリマー)(PLPGA)、ポリ(D, L-ラクチド)(PDLA)、ポリ(L-ラクチド)(PLLA)、ポリ(D, L-ラクチド-カプロラクトンコポリマー)、ポリ(D, L-ラクチド-グリコリドコポリマー)、ポリ(D, L-ラクチド-PEO-D, L-ラクチドコポリマー)、ポリ(D, L-ラクチド-PPO-D, L-ラクチドコポリマー)、ポリアルキルシアノアクリレート、ポリウレタン、ポリ-LL-ジン(PLL)、ヒドロキシプロピルメタクリレート(HPMA)、ポリエチレングリコール、ポリ-L-グルタミン酸、ポリ(ヒドロキシ酸)、ポリ無水物、ポリオルトエステル、ポリ(エステルアミド)、ポリアミド、ポリ(エステルエーテル)、ポリカーボネート、ポリアルキレン、例えば、ポリエチレン及びポリプロピレンなど、ポリアルキレングリコール、例えば、ポリ(エチレン)グリコール(PEG)など、ポリアルキレンオキシド(PEO)、ポリアルキレンテレフタレート、例えば、ポリ(エチレンテレフタレート)など、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリビニルエーテル、ポリビニルエステル、例えば、ポリ(ビニルアセテート)など、ポリビニルハライド、例えば、ポリ(ビニルクロリド)(PVC)など、ポリビニルピロリドン(PVP)、ポリシロキサン、ポリスチレン、ポリウレタン、誘導体化セルロース、例えば、アルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、セルロースエーテル、セルロースエステル、ニトロセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースなど、アクリル酸のポリマー、例えば、ポリ(メチル(メタ)アクリレート)(PMMA)、ポリ(エチル(メタ)アクリレート)、ポリ(ブチル(メタ)アクリレート)、ポリ(イソブチル(メタ)アクリレート)、ポリ(ヘキシル(メタ)アクリレート)、ポリ(イソデシル(メタ)アクリレート)、ポリ(ラウリル(メタ)アクリレート)、ポリ(フェニル(メタ)アクリレート)、ポリ(メチルアクリレート)、ポリ(イソプロピルアクリレート)、ポリ(イソブチルアクリレート)、ポリ(オクタデシルアクリレート)及びコポリマーならびにこれらの混合物など、ポリジオキサノン及びそのコポリマー、ポリヒドロキシアルカノエート、ポリプロピレンフマレート、ポリオキシメチレン、ポロキサマー、ポロキサミン、ポリ(オルト)エステル、ポリ(酪酸)、ポリ(吉草酸)、ポリ(ラクチド-カプロラクトンコポリマー)、トリメチレンカーボネート、ポリ(N-アクリロイルモルホリン)(PACM)、ポリ(2-メチル-2-オキサゾリン)(PMOX)、ポリ(2-エチル-2-オキサゾリン)(PEOZ)、及びポリグリセロールを挙げることができる。

【0874】

表面改質剤としては、アニオン性タンパク質(例えば、ウシ血清アルブミン)、界面活性剤(例えば、カチオン性界面活性剤、例えば、ジメチルジオクタデシルアンモニウムブロミドなど)、糖または糖誘導体(例えば、シクロデキストリン)、核酸、ポリマー(例えば、ヘパリン、ポリエチレングリコール、及びポロキサマー)、粘液溶解剤(例えば、アセチルシステイン、ヨモギ、ブロメライン、パパイン、クレロデンドルム、ブロムヘキシン、カルボシステイン、エブラジノン、メスナ、アンブロキシソール、ソブレロール、ドミオドール、レトステイン、ステプロニン、チオプロニン、ゲルソリン、チモシンβ4ドルナーゼα、ネルテネキシン、及びエルドステイン)、及びDNase(例えば、rhDNase)を挙げることができるがこれらに限定されない。表面改質剤は、ナノ粒子内に配置してもよく、及び／または、LNPの表面上に配置してもよい(例えば、コーティング、吸着、共有結合、またはその他のプロセスにより)。

【0875】

脂質ナノ粒子はまた、1種または複数種の官能化脂質を含んでいてもよい。例えば、脂質は、適切な反応条件下でアジドに曝露すると環化付加反応を受け得るアルキン基で官能化されていてもよい。詳細には、脂質二重層は、膜浸透、細胞認識、またはイメージングを容易とするのに有用な1つまたは複数の基でこのように官能化されていてもよい。LN

10

20

30

40

50

Pの表面はまた、1種または複数種の有用な抗体とコンジュゲートしていてもよい。標的細胞送達、イメージング、及び膜浸透に有用な官能基及びコンジュゲートは当該技術分野において周知である。

【0876】

これらの構成成分に加えて、脂質ナノ粒子は、医薬組成物に有用な任意の物質を含んでもよい。例えば、脂質ナノ粒子は、1種または複数種の薬学的に許容される賦形剤または補助成分を含んでもよく、限定するわけではないが例えば、1種または複数種の溶媒、分散媒、希釈剤、分散助剤、懸濁助剤、造粒助剤、崩壊剤、充填剤、流動促進剤、液体溶媒、結合剤、界面活性剤、等張化剤、増粘剤または乳化剤、緩衝剤、滑沢剤、油剤、防腐剤、及びその他の種などである。賦形剤、例えば、ワックス、バター、着色剤、コーティング剤、香味剤、及び着香剤などもまた含まれていてもよい。薬学的に許容される賦形剤は当該技術分野において周知である（例えば、Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, A. R. Gennaro; Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006を参照のこと）。

【0877】

希釈剤の例としては、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸ナトリウム、ラクトース、スクロース、セルロース、微結晶セルロース、カオリン、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、塩化ナトリウム、乾燥デンプン、コーンスターチ、粉糖、及び／またはこれらの組み合わせを挙げることができるがこれらに限定されない。造粒剤及び分散剤は、ポテトスターチ、コーンスターチ、タピオカスターチ、デンプングリコール酸ナトリウム、クレイ、アルギン酸、グアーガム、柑橘類の果肉、寒天、ベントナイト、セルロース及び木材、天然スポンジ、陽イオン交換樹脂、炭酸カルシウム、シリケート、炭酸ナトリウム、架橋ポリ（ビニルピロリドン）（クロスボビドン）、カルボキシメチルデンプンナトリウム（デンプングリコール酸ナトリウム）、カルボキシメチルセルロース、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム（クロスカルメロース）、メチルセルロース、アルファ化デンプン（デンプン1500）、微結晶デンプン、非水溶性デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ケイ酸アルミニウムマグネシウム（ビーガム（登録商標））、ラウリル硫酸ナトリウム、第四級アンモニア化合物、及び／またはこれらの組み合わせからなる非限定リストから選択してもよい。

【0878】

界面活性剤及び／または乳化剤としては、天然乳化剤（例えば、アカシア、寒天、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、トラガカント、コンドラックス、コレステロール、キサンタン、ペクチン、ゼラチン、卵黄、カゼイン、羊毛脂、コレステロール、ワックス、及びレシチン）、コロイド状のクレイ（例えば、ベントナイト〔ケイ酸アルミニウム〕及びビーガム（登録商標）〔ケイ酸アルミニウムマグネシウム〕）、長鎖アミノ酸誘導体、高分子量アルコール（例えば、ステアリルアルコール、セチルアルコール、オレイルアルコール、トリアセチンモノステアレート、エチレングリコールジステアレート、グリセリルモノステアレート、及びプロピレングリコールモノステアレート、ポリビニルアルコール）、カルボマー（例えば、カルボキシポリメチレン、ポリアクリル酸、アクリル酸ポリマー、及びカルボキシビニルポリマー）、カラギーナン、セルロース誘導体（例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、粉末セルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース）、ソルビタン脂肪酸エステル（例えば、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート〔TWEEN（登録商標）20〕、ポリオキシエチレンソルビタン〔TWEEN（登録商標）60〕、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート〔TWEEN（登録商標）80〕、ソルビタンモノパルミテート〔スパン（登録商標）40〕、ソルビタンモノステアレート〔スパン（登録商標）60〕、ソルビタントリスステアレート〔スパン（登録商標）65〕、グリセリルモノオレエート、ソルビタンモノオレエート〔スパン（登録商標）8

0])、ポリオキシエチレンエステル（例えば、ポリオキシエチレンモノステアレート [MYRJ (登録商標) 45]、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリエトキシレート化ヒマシ油、ポリオキシメチレンステアレート、及びソルトール (登録商標))、スクロース脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル（例えば、クレモフォア (登録商標))、ポリオキシエチレンエーテル（例えば、ポリオキシエチレンラウリルエーテル [BRIJ (登録商標) 30])、ポリ (ビニル-ピロリドン)、ジエチレングリコールモノラウレート、オレイン酸トリエタノールアミン、オレイン酸ナトリウム、オレイン酸カリウム、オレイン酸エチル、オレイン酸、ラウリン酸エチル、ラウリル硫酸ナトリウム、プルロニック (登録商標) F 68、ポロキサマー (登録商標) 188、臭化セトリモニウム、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンザルコニウム、ドクサートナトリウム、及び／またはこれらの組み合わせを挙げることができるがこれらに限定されない。

10

【0879】

結合剤は、デンプン（例えば、コーンスターチ及びデンプンペースト）、ゼラチン、糖（例えば、スクロース、グルコース、デキストロース、デキストリン、糖蜜、ラクトース、ラクチトール、マンニトール）、天然ゴム及び合成ゴム（例えば、アカシア、アルギン酸ナトリウム、アイルランドゴケの抽出物、パンワ-ゴム、ガティゴム、イサポールハスクの粘液）、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、微結晶セルロース、酢酸セルロース、ポリ (ビニル-ピロリドン)、ケイ酸アルミニウムマグネシウム (ビーガム (登録商標))、及びカラマツアラボガラクタン、アルギン酸塩、ポリエチレンオキシド、ポリエチレングリコール、無機カルシウム塩、ケイ酸、ポリメタクリレート、ワックス、水、アルコール、ならびにこれらの組み合わせ、または任意のその他の好適な結合剤であってもよい。

20

【0880】

防腐剤の例としては、酸化防止剤、キレート化剤、抗菌防腐剤、抗真菌防腐剤、アルコール防腐剤、酸性防腐剤、及び／またはその他の防腐剤を挙げることができるがこれらに限定されない。酸化防止剤の例としては、 α トコフェロール、アスコルビン酸、アスコルビン酸パルミテート、ブチルヒドロキシアニソール、ブチルヒドロキシトルエン、モノチオグリセロール、メタ重亜硫酸カリウム、プロピオン酸、没食子酸プロピル、アスコルビン酸ナトリウム、重亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、及び／または亜硫酸ナトリウムが挙げられるがこれらに限定されない。キレート化剤の例としては、エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)、クエン酸一水和物、エデト酸二ナトリウム、エデト酸二カリウム、エデト酸、フマル酸、リンゴ酸、リン酸、エデト酸ナトリウム、酒石酸、及び／またはエデト酸三ナトリウムが挙げられる。抗菌防腐剤の例としては、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、ベンジルアルコール、プロノポール、セトリミド、塩化セチルピリジニウム、クロルヘキシジン、クロロブタノール、クロロクレゾール、クロロキシレノール、クレゾール、エチルアルコール、グリセリン、ヘキセチジン、イミド尿素、フェノール、フェノキシエタノール、フェニルエチルアルコール、硝酸フェニル水銀、プロピレングリコール、及び／またはチメロサールが挙げられるがこれらに限定されない。抗真菌防腐剤の例としては、ブチルパラベン、メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸、ヒドロキシ安息香酸、安息香酸カリウム、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、及び／またはソルビン酸が挙げられるがこれらに限定されない。アルコール防腐剤の例としては、エタノール、ポリエチレングリコール、ベンジルアルコール、フェノール、フェノール系化合物、ビスフェノール、クロロブタノール、ヒドロキシベンゾエート、及び／またはフェニルエチルアルコールが挙げられるがこれらに限定されない。酸性防腐剤の例としては、ビタミンA、ビタミンC、ビタミンE、 β カロテン、クエン酸、酢酸、デヒドロアスコルビン酸、アスコルビン酸、ソルビン酸、及び／またはフィチン酸が挙げられるがこれらに限定されない。その他の防腐剤としては、トコフェロール、酢酸トコフェロール、メシル酸デテロキシム、セトリミド、ブチルヒドロキシアニソール (BHA)、ブチルヒドロキシトルエン (BHT)、エチレン

30

40

50

ジアミン、ラウリル硫酸ナトリウム（SLS）、ラウリルエーテル硫酸ナトリウム（SLES）、重亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸カリウム、メタ重亜硫酸カリウム、GLYDANT PLUS（登録商標）、フェノニップ（登録商標）、メチルパラベン、GERMALL（登録商標）115、GERMABEN（登録商標）II、NEOLONE（商標）、KATHON（商標）、及び／またはEUXYL（登録商標）が挙げられるがこれらに限定されない。

【0881】

緩衝剤の例としては、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、リン酸緩衝液、塩化アンモニウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム、クエン酸カルシウム、グルビオン酸カルシウム、グルセプト酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、d-グルコン酸、グリセロリン酸カルシウム、乳酸カルシウム、ラクトビオン酸カルシウム、プロパン酸、レブリン酸カルシウム、ペンタン酸、第二リン酸カルシウム、リン酸、第三リン酸カルシウム、リン酸水酸化カルシウム、酢酸カリウム、塩化カリウム、グルコン酸カリウム、カリウム混合物、第二リン酸カリウム、第一リン酸カリウム、リン酸カリウム混合物、酢酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、第二リン酸ナトリウム、第一リン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム混合物、トロメタミン、アミノスルホネート緩衝剤（例えば、HEPES）、水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウム、アルギン酸、発熱物質を含まない水、等張生理食塩水、リンゲル液、エチルアルコール、及び／またはこれらの組み合わせが挙げられるがこれらに限定されない。滑沢剤は、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、シリカ、タルク、麦芽、ベヘン酸グリセリル、鉱化植物油、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ロイシン、ラウリル硫酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、及びこれらの組み合わせからなる非限定群から選択してもよい。

【0882】

油剤の例としては、アーモンド、杏仁、アボカド、ババス、ベルガモット、クロフサスグリ種子、ルリチサ、杜松、カミツレ、キャノーラ、ヒメウイキョウ、カルナバ、トウゴマ、桂皮、カカオバター、ココナッツ、タラ肝臓、コーヒー、トウモロコシ、綿実、エミュー、ユーカリ、マツヨイグサ、魚、亜麻仁、ゲラニオール、ヒョウタン、ブドウ種子、ヘーゼルナッツ、ヒソップ、イソプロピルミリスレート、ホホバ、ククイナッツ、ラバンジン、ラベンダー、レモン、リツエアクベバ、マカデミアナッツ、ゼニアオイ、マンゴー種子、メドウフォーム種子、ミンク、ニクズク、オリーブ、オレンジ、オレンジラフィー、ヤシ、パーム核、桃仁、ピーナッツ、けしの実、カボチャ種子、菜種、コメヌカ、ローズマリー、ベニバナ、ビャクダン、サスクアナ、セイボリー、シーバックソーン、ゴマ、シアバター、シリコーン、ダイズ、ヒマワリ、ナガバクコ、アザミ、ツバキ、ベチベル、クルミ、及び小麦粉芽油に加えて、ステアリン酸ブチル、カプリル酸トリグリセリド、カプリン酸トリグリセリド、シクロメチコン、セバシン酸ジエチル、ジメチコン360、シメチコン、イソプロピルミリスレート、鉱油、オクチルドデカノール、オレイルアルコール、シリコーンオイル、及び／またはこれらの組み合わせが挙げられるがこれらに限定されない。

【0883】

LNP組成物

1つまたは複数の特定の用途または標的用に、本明細書に記載の脂質ナノ粒子を設計してもよい。脂質ナノ粒子の要素及びその相対量は、特定の用途または標的に基づいて、及び／または、1種または複数種の要素の効果、毒性、費用、使いやすさ、利用能、またはその他の特徴に基づいて、選択してもよい。同様に、例えば、特定の要素の組み合わせの効果及び毒性に応じて、特定の用途または標的用に、脂質ナノ粒子の詳細な配合を選択してもよい。脂質ナノ粒子製剤の安定性は、製剤の効果及び忍容性に影響を及ぼし得る。

【0884】

様々な構成要素の要素を特定の分率、例えば、モルパーセント分率で提供してもよい。

【0885】

例えば、上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPは構造脂質またはその塩を含む。一部の態様では、構造脂質はコレステロールまたはその塩である。更なる態様では、コレステロールのmol%は、LNP中に含まれるフィトステロールのmol%の約1%~50%である。その他の態様では、コレステロールのmol%は、LNP中に含まれるフィトステロールのmol%の約10%~40%である。一部の態様では、コレステロールのmol%は、LNP中に含まれるフィトステロールのmol%の約20%~30%である。更なる態様では、コレステロールのmol%は、LNP中に含まれるフィトステロールのmol%の約30%である。

【0886】

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPは、約30mol%~約60mol%のイオン性脂質、約0mol%~約30mol%のリン脂質、約18.5mol%~約48.5mol%のステロール、及び約0mol%~約10mol%のPEG脂質を含む。

10

【0887】

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPは、約35mol%~約55mol%のイオン性脂質、約5mol%~約25mol%のリン脂質、約30mol%~約40mol%のステロール、及び約0mol%~約10mol%のPEG脂質を含む。

【0888】

上記または関連する態様のいずれかでは、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約10mol%のリン脂質、約38.5mol%のステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。

20

【0889】

特定の実施形態では、脂質ナノ粒子のイオン性脂質構成成分は、総mol%が100%を超えない場合、約30mol%~約60mol%のイオン性脂質、約0mol%~約30mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、1種または複数種の構造脂質を任意選択的に含む約18.5mol%~約48.5mol%のフィトステロール、及び約0mol%~約10mol%のPEG脂質を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子のイオン性脂質構成成分は、約35mol%~約55mol%のイオン性脂質、約5mol%~約25mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、1種または複数種の構造脂質を任意選択的に含む約30mol%~約40mol%のフィトステロール、及び約0mol%~約10mol%のPEG脂質を含む。特定の実施形態では、脂質構成成分は、約50mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、1種または複数種の構造脂質を任意選択的に含む約38.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。別の特定の実施形態では、脂質構成成分は、約40mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、1種または複数種の構造脂質を任意選択的に含む約38.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の実施形態では、フィトステロールは β -シトステロールであってもよく、非カチオン性ヘルパー脂質は、DOPE、DSPCなどのリン脂質、または、オレイン酸などのリン脂質代用品であってもよい。その他の実施形態では、PEG脂質はPEG-DMGであってもよく、及び/または、構造脂質はコレステロールであってもよい。

30

40

【0890】

一部の態様では、本開示のLNPは、約30mol%~約60mol%のイオン性脂質、約0mol%~約30mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約18.5mol%~約48.5mol%のフィトステロール、及び約0mol%~約10mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約30mol%~約60mol%のイオン性脂質、約0mol%~約30mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約18.5mol%~約48.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%~約10mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約30mol%~約60mol%のイオン性脂質、約0mol%~約30mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約18.5mol%~約48.5mol%のフィトステロール及びコレステロール

50

、ならびに約0mol%～約10mol%のPEG脂質を含む。

【0891】

一部の態様では、本開示のLNPは、約35mol%～約55mol%のイオン性脂質、約5mol%～約25mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%～約40mol%のフィトステロール、及び約0mol%～約10mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約35mol%～約55mol%のイオン性脂質、約5mol%～約25mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%～約40mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%～約10mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約35mol%～約55mol%のイオン性脂質、約5mol%～約25mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%～約40mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%～約10mol%のPEG脂質を含む。

10

【0892】

一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

20

【0893】

一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

30

【0894】

一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

【0895】

一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約5mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約5mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約5mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約38.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

40

【0896】

一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約5mol%の

50

【 0 8 9 7 】

10

20

30

40

50

ルパー脂質、約43.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

【0902】

一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約33.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約33.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約33.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

10

【0903】

一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約28.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約28.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約28.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

20

【0904】

一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約23.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約23.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約23.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

【0905】

一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約48.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約48.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約48.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

30

【0906】

一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約43.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約43.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約43.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

40

【0907】

一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約33.5mol%のフィトステロール、及び約1.5m

50

【 0 9 0 8 】

10

20

30

40

50

を含む。

【0913】

一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約35mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約35mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約35mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

10

【0914】

一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

【0915】

一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約25mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約25mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約25mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

20

【0916】

一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約20mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約20mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約20mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約20mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

30

【0917】

一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約45mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約45mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約45mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

40

【0918】

一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約40mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質

50

、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約40mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約40mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

【0919】

一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約35mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約35mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約35mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

10

【0920】

一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

20

【0921】

一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約25mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約25mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約15mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約25mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

30

【0922】

一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約50mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約50mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約40mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約50mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

40

【0923】

一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約45mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約45mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約45mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約45mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

50

【0924】

一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約0mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約48.5mol%のフィトステロール、及び約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約0mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約48.5mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約0mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約48.5mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約1.5mol%のPEG脂質を含む。

【0925】

一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約40mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約40mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約50mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約40mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

【0926】

一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約35mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約35mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約55mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約35mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

【0927】

一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%のフィトステロール、及び約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%のフィトステロール及び構造脂質、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。一部の態様では、本開示のLNPは、約60mol%のイオン性脂質、約10mol%の非カチオン性ヘルパー脂質、約30mol%のフィトステロール及びコレステロール、ならびに約0mol%のPEG脂質を含む。

【0928】

本明細書の実施形態に関する一部の態様では、本開示のLNPのフィトステロール及び構造脂質構成成分は、約10:1~1:10のフィトステロール:構造脂質、例えば、約10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、及び1:10のフィトステロール:構造脂質（例えば、 β -シトステロール:コレステロール）などを含む。

【0929】

一部の実施形態では、LNPのフィトステロール構成成分は、フィトステロール及び構造脂質（例えば、コレステロールなど）のブレンドであり、フィトステロール（例えば、 β -シトステロール）及び構造脂質（例えば、コレステロール）はそれぞれ、個々のmol%で含まれている。例えば、一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は15~40mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、約15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、

10

20

30

40

50

26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、または40mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）、及び0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25mol%の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、フィトステロール及び構造脂質の総mol%が30～40mol%となるように、20mol%超のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）及び20mol%未満の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子はそれぞれ、約20mol%、約21mol%、約22mol%、約23mol%、約24mol%、約25mol%、約26mol%、約27mol%、約28mol%、約29mol%、約30mol%、約31mol%、約32mol%、約33mol%、約34mol%、約35mol%、約37mol%、約38mol%、約39mol%、または約40mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）、及び約19mol%、約18mol%、約17mol%、約16mol%、約15mol%、約14mol%、約13mol%、約12mol%、約11mol%、約10mol%、約9mol%、約8mol%、約7mol%、約6mol%、約5mol%、約4mol%、約3mol%、約2mol%、約1mol%、または約0mol%の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、約28mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）及び約10mol%の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、38.5%の総mol%のフィトステロール及び構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、28.5mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）及び10mol%の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、18.5mol%のフィトステロール（例えば、 β -シトステロール）及び20mol%の構造脂質（例えば、コレステロール）を含む。

【0930】

脂質ナノ粒子中における核酸分子の量は、脂質ナノ粒子のサイズ、組成、所望の標的及び／または用途、またはその他の特性に加えて、治療薬及び／または予防薬の特性に依存し得る。例えば、脂質ナノ粒子に有用なRNAの量は、RNAのサイズ、配列、及びその他の特徴に依存し得る。脂質ナノ粒子中における1種または複数種の核酸分子及びその他の要素（例えば、脂質）の相対量はまた変化し得る。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子中におけるイオン性脂質構成成分：1種または複数種の核酸分子の（重量／重量）比率は、約5：1～約60：1、例えば、5：1、6：1、7：1、8：1、9：1、10：1、11：1、12：1、13：1、14：1、15：1、16：1、17：1、18：1、19：1、20：1、25：1、30：1、35：1、40：1、45：1、50：1、及び60：1などであってもよい。例えば、イオン性脂質構成成分：1種または複数種の核酸分子の（重量／重量）比率は、約10：1～約40：1であってもよい。特定の実施形態では、（重量／重量）比率は約20：1である。LNP中における1種または複数種の核酸分子の量は、例えば、吸収分光法（例えば、紫外－可視分光法）を用いて測定することができる。

【0931】

一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、1種または複数種のRNA及び1種または複数種のイオン性脂質を含み、それらの量を選択して特定のN：P比率をもたらしてもよい。組成物のN：P比率とは、1種または複数種の脂質中における窒素原子：RNA中におけるリン酸基の数のモル比率のことを意味する。一般的に、より低いN：P比率が好ましい。1種または複数種のRNA、脂質、及びそれらの量を選択して、約2：1～約30：1、例えば、2：1、3：1、4：1、5：1、6：1、7：1、8：1、9：1、10：1、12：1、14：1、16：1、18：1、20：1、22：1、24：1、26：1、28：1、または30：1などのN：P比率をもたらしてもよい。特定の実施形態では、N：P比率は約2：1～約8：1であってもよい。その他の実施形態では、N：P比

率は約 5 : 1 ~ 約 8 : 1 である。例えば、N : P 比率は、約 5 . 0 : 1、約 5 . 5 : 1、約 5 . 6 7 : 1、約 5 . 7 : 1、約 5 . 8 : 1、約 5 . 9 : 1、約 6 . 0 : 1、約 6 . 5 : 1、または約 7 . 0 : 1 であってもよい。例えば、N : P 比率は約 5 . 6 7 : 1 であってもよい。別の実施形態では、N : P 比率は約 5 . 8 : 1 であってもよい。

【0932】

一部の実施形態では、脂質ナノ粒子を含む製剤は、塩、例えば、塩化物塩などを更に含んでいてもよい。

【0933】

一部の実施形態では、脂質ナノ粒子を含む製剤は、糖、例えば、二糖などを更に含んでいてもよい。一部の実施形態では、製剤は、塩、例えば、塩化物塩などではなく、糖を更に含む。

【0934】

物理的特性

脂質ナノ粒子の特徴はその構成成分に依存し得る。例えば、構造脂質としてコレステロールを含む脂質ナノ粒子は、異なる構造脂質を含む脂質ナノ粒子とは異なる特徴を有し得る。同様に、脂質ナノ粒子の特徴は、その構成成分の絶対量または相対量に依存し得る。例えば、より高いモル分率のリン脂質を含む脂質ナノ粒子は、より低いモル分率のリン脂質を含む脂質ナノ粒子とは異なる特徴を有し得る。特徴はまた、脂質ナノ粒子の調製方法及び調製条件に依存して変化し得る。

【0935】

様々な方法を用いて脂質ナノ粒子を特性決定してもよい。例えば、顕微鏡（例えば、透過型電子顕微鏡または走査型電子顕微鏡）を使用して、脂質ナノ粒子の形態及び粒度分布を確認してもよい。動的光散乱法または電位差測定法（例えば、電位差滴定法）を使用して、ゼータ電位を測定してもよい。動的光散乱法をまた使用して、粒径を測定してもよい。Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, UK) などの機器をまた使用して、脂質ナノ粒子の複数の特徴、例えば、粒径、多分散指数、及びゼータ電位などを測定してもよい。

【0936】

脂質ナノ粒子の平均径は、例えば、動的光散乱法 (DLS) を用いて測定した際に、数十 nm ~ 数百 nm であってもよい。例えば、平均径は、約 40 nm ~ 約 150 nm、例えば、約 40 nm、45 nm、50 nm、55 nm、60 nm、65 nm、70 nm、75 nm、80 nm、85 nm、90 nm、95 nm、100 nm、105 nm、110 nm、115 nm、120 nm、125 nm、130 nm、135 nm、140 nm、145 nm、または 150 nm などであってもよい。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子の平均径は、約 50 nm ~ 約 100 nm、約 50 nm ~ 約 90 nm、約 50 nm ~ 約 80 nm、約 50 nm ~ 約 70 nm、約 50 nm ~ 約 60 nm、約 60 nm ~ 約 100 nm、約 60 nm ~ 約 90 nm、約 60 nm ~ 約 80 nm、約 60 nm ~ 約 70 nm、約 70 nm ~ 約 100 nm、約 70 nm ~ 約 90 nm、約 70 nm ~ 約 80 nm、約 80 nm ~ 約 100 nm、約 80 nm ~ 約 90 nm、または約 90 nm ~ 約 100 nm であってもよい。特定の

【0937】

脂質ナノ粒子は比較的均一であってもよい。多分散指数を使用して、LNP の均一性、例えば、脂質ナノ粒子の粒径分布を示してもよい。本明細書で使用する場合、「多分散指数」は、系の粒径分布の均一性を表す比率である。小さな値、例えば、0.3 未満は、狭い粒径分布を表す。小さな（例えば、0.3 未満）多分散指数は一般的に、狭い粒径分布を表す。脂質ナノ粒子は、約 0 ~ 約 0.25、例えば、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10、0.11、

0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20、0.21、0.22、0.23、0.24、または0.25などの多分散指数を有していてもよい。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子の多分散指数は約0.10～約0.20であってもよい。

【0938】

脂質ナノ粒子のゼータ電位を使用して、組成物の界面動電位を示してもよい。本明細書で使用する場合、「ゼータ電位」は、例えば、粒子組成物中における、脂質の界面動電位である。

【0939】

例えば、ゼータ電位は、脂質ナノ粒子の表面電荷を表し得る。より高荷電種が体内の細胞、組織、及びその他の要素と不所望に相互作用し得ることから、比較的低い電荷（正または負）を有する脂質ナノ粒子が一般的に望ましい。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子のゼータ電位は、約-10mV～約+20mV、約-10mV～約+15mV、約-10mV～約+10mV、約-10mV～約+5mV、約-10mV～約0mV、約-10mV～約-5mV、約-5mV～約+20mV、約-5mV～約+15mV、約-5mV～約+10mV、約-5mV～約+5mV、約-5mV～約0mV、約0mV～約+20mV、約0mV～約+15mV、約0mV～約+10mV、約0mV～約+5mV、約+5mV～約+20mV、約+5mV～約+15mV、または約+5mV～約+10mVであってもよい。

【0940】

核酸分子の封入効率は、準備した初期量を基準とした、調製後に脂質ナノ粒子内に封入されているまたは別様に脂質ナノ粒子に結合している核酸分子の量を表す。封入効率は高いことが望ましい（例えば、100%に近い）。封入効率は、例えば、1種または複数種の有機溶媒または界面活性剤で脂質ナノ粒子を分解する前後における、脂質ナノ粒子を含有する溶液中における核酸分子の量を比較することによって測定することができる。蛍光を使用して、溶液中における遊離核酸分子（例えば、RNA）の量を測定してもよい。本明細書に記載の脂質ナノ粒子における核酸分子の封入効率は、少なくとも50%、例えば、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%であってもよい。一部の実施形態では、封入効率は少なくとも80%であってもよい。特定の実施形態では、封入効率は少なくとも90%であってもよい。

【0941】

脂質ナノ粒子は、1種または複数種のコーティング剤を任意選択的に含んでもよい。例えば、脂質ナノ粒子は、コーティング剤を有するカプセル剤、フィルム剤、または錠剤に製剤化されていてもよい。本明細書に記載の組成物を含むカプセル剤、フィルム剤、または錠剤は、任意の有用なサイズ、引張り強度、硬度、または密度を有していてもよい。

【0942】

医薬組成物

本開示は、1種または複数種の薬学的に許容される賦形剤、担体、または希釈剤と組み合わせ、本明細書に記載のmRNAまたはナノ粒子（例えば、脂質ナノ粒子）を含む医薬組成物を含む。特定の実施形態では、mRNAは、ナノ粒子、例えば、脂質ナノ粒子中に含まれている。特定の実施形態では、mRNAまたはナノ粒子は医薬組成物中に含まれている。様々な実施形態では、医薬組成物中に含まれる1種または複数種のmRNAは、ナノ粒子、例えば、脂質ナノ粒子内に封入されている。特定の実施形態では、第1のmRNA：第2のmRNAのモル比率は、約1：50、約1：25、約1：10、約1：5、約1：4、約1：3、約1：2、約1：1、約2：1、約3：1、約4：1、もしくは約5：1、約10：1、約25：1、または約50：1である。特定の実施形態では、第1のmRNA：第2のmRNAのモル比率は1：1超である。

【0943】

一部の実施形態では、OX40Lをコードする第1のmRNA、テザー型IL-12を

コードする第2のmRNA、及び少なくとも、細胞結合IL-15をコードする第3のmRNAは、様々な重量比率、例えば、当量（重量）のそれぞれのmRNA、またはその他のmRNAの量（重量）の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、75、または100倍で含まれるmRNAのうちのいずれか1種で、共配合されている（例えば、LNP内に）。

【0944】

一部の実施形態では、OX40Lをコードする第1のmRNA、テザー型IL-12をコードする第2のmRNA、及び少なくとも、細胞結合IL-15をコードする第3のmRNAは、様々な質量のそれぞれのmRNA、または製剤中に含まれるmRNAのうちのいずれか1種で、共配合されている（例えば、LNP内に）。例えば、第1のmRNAは、製剤中の第2及び／または第3のmRNAを基準として、第1のmRNAが、第2のmRNA及び／または第3のmRNAの量の10～100%、20～80%、30～70%、または40～50%の質量の量で含まれるように、共配合されている（例えば、LNP内に）。別の実施形態では、第1のmRNA及び第2のmRNAは、製剤中の第3のmRNAを基準として、第1のmRNA及び第2のmRNAが、第3のmRNAの10～100%、20～80%、30～70%、または40～50%の質量の量で含まれるように、共配合されている（例えば、LNP内に）。

【0945】

一部の実施形態では、OX40L mRNA：テザー型IL-12 mRNA：細胞結合IL-15 mRNAは、テザー型IL-12 mRNA及び細胞結合IL-15 mRNAがほぼ当量であり、OX40L mRNAがより少ない重量（質量）量、例えば、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、または5.0倍より少ない重量（質量）量などで含まれるような重量（質量）比率で、共配合されている（例えば、LNP内に）。一部の実施形態では、OX40L mRNA：テザー型IL-12 mRNA：細胞結合IL-15 mRNAは、1：1：1の重量（質量）比率で共配合されている（例えば、LNP内に）。一部の実施形態では、OX40L mRNA：テザー型IL-12 mRNA：細胞結合IL-15 mRNAは、0.1：1：1の重量（質量）比率で共配合されている（例えば、LNP内に）。

【0946】

一部の実施形態では、OX40LをコードするmRNA、テザー型IL-12をコードするmRNA、及び細胞結合IL-15をコードするmRNAのうちのいずれか1種は、その他のmRNAの10%～100%の質量でその他のmRNAと共配合されている（例えば、LNP内に）。一部の実施形態では、OX40L mRNA：テザー型IL-12 mRNA：細胞結合IL-15 mRNAは、0.1～1：0.1～1：0.1～1の重量（質量）比率で共配合されている（例えば、LNP内に）。

【0947】

一部の実施形態では、細胞結合IL-15ポリペプチドをコードするmRNA（複数可）は、1：1のモル比率で共配合された（例えば、LNP内に）IL-15をコードするmRNA及びIL-15R α をコードするmRNAである。一部の実施形態では、細胞結合IL-15ポリペプチドをコードするmRNA（複数可）は、1：1.4の重量（質量）比率で共配合された（例えば、LNP内に）IL-15をコードするmRNA及びIL-15R α をコードするmRNAである。それゆえ、一部の実施形態では、OX40LをコードするmRNA：テザー型IL-12をコードするmRNA：IL-15をコードするmRNA：IL-15R α をコードするmRNAの重量（質量）比率は2.4：2.4：1：1.4である。一実施形態では、本開示は、OX40LをコードするmRNA：テザー型IL-12をコードするmRNA：IL-15をコードするmRNA：IL-15R α をコードするmRNAを2.4：2.4：1：1.4の重量（質量）比率で含むLNPを提供する。

【0948】

一部の実施形態では、OX40Lをコードする第1のmRNA：テザー型IL-12をコードする第2のmRNA：IL-15R α に機能的に連結したIL-15をコードする第3のmRNAの重量（質量）比率は1：1：1である。一実施形態では、本開示は、OX40LをコードするmRNA：テザー型IL-12をコードするmRNA：IL-15をコードするmRNA：IL-15R α をコードするmRNAを1：1：1の重量（質量）比率で含むLNPを提供する。一部の実施形態では、OX40Lをコードする第1のmRNA：テザー型IL-12をコードする第2のmRNA：IL-15R α に機能的に連結したIL-15をコードする第3のmRNAの重量（質量）比率は約0.1：1：1である。一実施形態では、本開示は、OX40LをコードするmRNA：テザー型IL-12をコードするmRNA：IL-15をコードするmRNA：IL-15R α をコードするmRNAを0.1：1：1の重量（質量）比率で含むLNPを提供する。一部の実施形態では、OX40Lをコードする第1のmRNA：テザー型IL-12をコードする第2のmRNA：IL-15をコードする第3のmRNA：IL-15R α をコードする第4のmRNAの重量（質量）比率は2.4：2.4：1：1.4である。一実施形態では、本開示は、OX40LをコードするmRNA：テザー型IL-12をコードするmRNA：IL-15をコードするmRNA：IL-15R α をコードするmRNAを2.4：2.4：1：1.4の重量（質量）比率で含むLNPを提供する。一部の実施形態では、OX40Lをコードする第1のmRNA：テザー型IL-12をコードする第2のmRNA：IL-15をコードする第3のmRNA：IL-15R α をコードする第4のmRNAのモル比率は約0.24：2.4：1：1.4である。一実施形態では、本開示は、OX40LをコードするmRNA：テザー型IL-12をコードするmRNA：IL-15をコードするmRNA：IL-15R α をコードするmRNAを0.24：2.4：1：1.4の重量（質量）比率で含むLNPを提供する。

【0949】

医薬組成物は、1種または複数種の別の活性物質、例えば、治療的及び／または予防的に活性な物質を任意選択的に含んでもよい。本開示の医薬組成物は滅菌及び／または発熱性物質非含有であってもよい。薬剤の配合及び／または製造に関する一般的な検討については、例えば、Remington：The Science and Practice of Pharmacy 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005（その全体は参照により本明細書に組み込まれる）に見出すことができる。特定の実施形態では、医薬組成物は、mRNA及び脂質ナノ粒子またはそれらの複合体を含む。

【0950】

本明細書に記載の医薬組成物の製剤は、薬理学分野において周知または今後開発される任意の方法を用いて調製することができる。一般的に、このような調製方法は、活性成分を賦形剤及び／または1種または複数種のその他補助成分と結合させてから、必要に応じて及び／または望ましい場合、その生成物に対して分離、成形及び／または包装を施して所望の単回用量単位または複数回用量単位とする工程を含む。

【0951】

本開示による医薬組成物中における活性成分、薬学的に許容される賦形剤、及び／または、任意の追加成分の相対量は、治療する対象の個性、サイズ及び症状に応じて変化し、更に、組成物の投与経路に応じて変化する。例として、組成物は、0.1%～100%、例えば、0.5%～70%、1%～30%、5%～80%、または少なくとも80%（重量／重量）の活性成分を含んでもよい。

【0952】

（1）安定性を向上させる、（2）細胞トランスフェクションを向上させる、（3）持続性放出または遅延放出（例えば、mRNAのデポー製剤から）を可能とする、（4）体内分布（例えば、特定の組織または細胞型へとmRNAを向かわせる）を変化させる、（5）mRNAがコードするポリペプチドのin vivo翻訳を増加させる、及び／または（6）mRNAがコードするポリペプチドのin vivo放出特性を変化させるため

の1種または複数種の賦形剤を使用して、本開示のmRNAを製剤化してもよい。全ての溶媒、分散媒、希釈剤またはその他液体溶媒、分散助剤または懸濁助剤、界面活性剤、等張化剤、増粘剤または乳化剤、防腐剤など通常の賦形剤に加えて、本開示の賦形剤としては、リポイド、リポソーム、脂質ナノ粒子（例えば、リポソーム及びミセル）、ポリマー、リポプレックス、コアシェルナノ粒子、ペプチド、タンパク質、糖質、mRNAをトランスフェクションした細胞（例えば、対象への移植用の）、ヒアルロニダーゼ、ナノ粒子模倣薬、及びこれらの組み合わせを挙げることができるがこれらに限定されない。それゆえ、本開示の製剤は、それぞれ共に、mRNAの安定性を向上させる、mRNAによる細胞トランスフェクションを向上させる、mRNAがコードするポリペプチドの発現を増加させる、及び／またはmRNAコードポリペプチドの放出特性を変化させる量で、1種または複数種の賦形剤を含んでいてもよい。更に、本開示のmRNAは、自己組織化核酸ナノ粒子を使用して製剤化されていてもよい。

【0953】

医薬組成物を製剤化するための様々な賦形剤及び組成物を調製するための技術は、当該技術分野において周知である（Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, A. R. Gennaro, Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006（その全体は参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと）。通常の賦形媒体の使用は、任意の通常の賦形媒体が物質またはその誘導体と不適合であり得る場合、例えば、任意の望ましくない生物学的作用を生じさせるまたは別様に医薬組成物の任意のその他の構成成分（複数可）と有害に相互作用する場合を除き、本開示の範囲内において検討され得る。賦形剤としては、例えば、抗付着剤、酸化防止剤、結合剤、コーティング剤、圧縮助剤、崩壊剤、染料（色素）、皮膚軟化剤、乳化剤、充填剤（希釈剤）、被膜形成剤もしくはコーティング剤、流動促進剤（流動強化剤）、滑沢剤、防腐剤、印刷用インク、吸着剤、懸濁剤もしくは分散剤、甘味剤、または水和水を挙げてもよい。例示的な賦形剤としては、ブチルヒドロキシトルエン（BHT）、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム（二塩基性）、ステアリン酸カルシウム、クロスカルメロース、架橋ポリビニルピロリドン、クエン酸、クロスポビドン、システイン、エチルセルロース、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ラクトース、ステアリン酸マグネシウム、マルチトール、マンニトール、メチオニン、メチルセルロース、メチルパラベン、微結晶セルロース、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ポビドン、アルファ化デンプン、プロピルパラベン、レチニルパルミテート、セラック、二酸化ケイ素、カルボキシメチルセルロースナトリウム、クエン酸ナトリウム、グリコール酸ナトリウムデンプン、ソルビトール、デンプン（コーン）、ステアリン酸、スクロース、タルク、二酸化チタン、ビタミンA、ビタミンE、ビタミンC、及びキシリトールが挙げられるがこれらに限定されない。

【0954】

一部の実施形態では、本明細書に記載の製剤は、少なくとも1種の薬学的に許容される塩を含んでいてもよい。本開示の製剤中に含まれていてもよい薬学的に許容される塩の例としては、アミンなどの塩基性残基の酸付加塩、アルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩、無機酸塩または有機酸塩、カルボン酸などの酸性残基のアルカリ塩または有機塩などが挙げられるがこれらに限定されない。代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、酢酸、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、樟脳スルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプトン酸塩、ヘキサノ酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、ラクチン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩

、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。代表的なアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどに加えて、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミンなどを含むがこれらに限定されない非毒性アンモニウム、第四級アンモニウム、及びアミンカチオンが挙げられる。

【0955】

一部の実施形態では、本明細書に記載の製剤は少なくとも1種のmRNAを含有していてもよい。非限定例として、製剤は、本明細書に記載の1、2、3、4、5、または5超のmRNAを含有していてもよい。一部の実施形態では、本明細書に記載の製剤は、ポリペプチドをコードする少なくとも1種のmRNA、及び少なくとも1種の核酸配列、限定するわけではないが例えば、siRNA、shRNA、snoRNA、及びmiRNAなどを含有していてもよい。

【0956】

例えば、非経口投与用の液体剤形としては、薬学的に許容されるエマルション剤、マイクロエマルション剤、ナノエマルション剤、液剤、懸濁剤、シロップ剤、及び／またはエリキシル剤が挙げられるがこれらに限定されない。活性成分に加えて、液体剤形は、当該技術分野において一般的に使用される不活性希釈剤、例えば、水またはその他の溶媒など、可溶化剤及び乳化剤、例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、エチルカーボネート、エチルアセテート、ベンジルアルコール、ベンジルベンゾエート、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油剤（とりわけ、綿実油、落花生油、コーン油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、及びゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコール、及びソルビタンの脂肪酸エステルなど、ならびにこれらの混合物を含んでもよい。不活性希釈剤の他に、経口組成物は、補助剤、例えば、湿潤剤、乳化剤及び／または懸濁剤などを含んでもよい。非経口投与用の特定の実施形態では、組成物は、可溶化剤、例えば、クレモフォア（登録商標）、アルコール、油剤、修飾油剤、グリコール、ポリソルベート、シクロデキストリン、ポリマーなど、及び／またはこれらの組み合わせと混合される。

【0957】

好適な分散剤、湿潤剤、及び／または懸濁剤を使用して、周知の技術に従い、注射用製剤、例えば、滅菌注射用の水性懸濁剤または油性懸濁剤を製剤化してもよい。滅菌注射用製剤は、非毒性で非経口において許容される希釈剤及び／または溶媒中の滅菌注射用の液剤、懸濁剤、及び／またはエマルション剤、例えば、1,3-ブタンジオール中の液剤などであってもよい。使用可能で許容される媒体及び溶媒としては、水、リンゲル液、U.S.P.、及び等張食塩水が挙げられる。滅菌固定油は通常、溶媒または懸濁媒として用いられている。この目的のために、合成モノグリセリドまたは合成ジグリセリドを含む任意の無刺激固定油を用いてもよい。脂肪酸、例えば、オレイン酸などを注射剤の調製に用いてもよい。例えば、細菌保持フィルターを通して濾過することにより、及び／または、使用前に滅菌水またはその他の滅菌注射用媒体中に溶解または分散させることができる滅菌固体組成物の形態の滅菌剤を混合することにより、注射製剤を滅菌してもよい。

【0958】

一部の実施形態では、本明細書に記載の少なくとも1種のmRNAを含む医薬組成物を哺乳動物（例えば、ヒト）に投与する。本明細書で提供する医薬組成物に関する記載は主としてヒトへの投与に好適な医薬組成物を指しているが、このような組成物が通常、任意のその他の動物、例えば、非ヒト哺乳動物への投与に好適であるということは当業者に理解されるであろう。様々な動物への投与に好適な組成物とするために、ヒトへの投与に好適な医薬組成物に変更を加えることはよく知られており、当業者である獣医薬理学者であれば、必要に応じて通常の実験を行うだけで、このような変更を設計及び／または実施す

ることができる。医薬組成物の投与を検討する対象としては、ヒト及び／またはその他の霊長類、商業関連の哺乳動物、例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ、イヌ、マウス、及び／またはラットなどを含む哺乳動物、及び／または、商業関連の鳥類、例えば、家禽、ニワトリ、カモ、ガン、及び／またはシチメンチョウなどを含む鳥類が挙げられるがこれらに限定されない。特定の実施形態では、本明細書に記載の2種またはそれ以上のmRNAを対象に提供する。特定の実施形態では、第1のmRNA及び第2のmRNAを、同時に、または異なる時間、例えば、連続的に、対象に提供する。特定の実施形態では、第1のmRNA及び第2のmRNAを、例えば、同一細胞による両方のmRNAの取り込みを促進させるために、同一の医薬組成物または製剤で、対象に提供する。

【0959】

本開示はまた、免疫応答を増強するポリペプチドをコードするmRNAを含む容器を含むキットを含む。別の実施形態では、キットは、免疫応答を増強するポリペプチドをコードするmRNAに加えて、1種または複数種の目的の抗原をコードする1種または複数種の別のmRNAを含む容器を含む。その他の実施形態では、キットは、免疫応答を増強するポリペプチドをコードするmRNAを含む第1の容器、及び1種または複数種の目的の抗原をコードする1種または複数種のmRNAを含む第2の容器を含む。特定の実施形態では、免疫応答を増強するためのmRNA、及び抗原（複数可）をコードするmRNA（複数可）は、同一のまたは異なるナノ粒子及び／または医薬組成物中に含まれている。特定の実施形態では、mRNAは、凍結乾燥、乾燥、またはフリーズドライされている。

【0960】

使用方法

一部の実施形態では、本開示は、がんの治療を必要とする対象、例えば、ヒト対象においてそれを実施するための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、がんに対する免疫応答を増強するための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、白血病細胞（例えば、AML細胞）に対する免疫応答を増強するための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、固形腫瘍に対する免疫応答を増強するための方法を提供する。一部の実施形態では、免疫応答を増強することは、サイトカイン産生を刺激することを含む。別の実施形態では、免疫応答を増強することは、細胞性免疫（T細胞応答）を増強すること、例えば、T細胞を活性化させることなどを含む。一部の実施形態では、免疫応答を増強することは、NK細胞を活性化させることを含む。対象における免疫応答の増強は、活性化マーカーの細胞内染色によりT細胞活性化及びNK細胞活性化のレベルを測定することを含むがこれらに限定されない、免疫応答を評価するための当該技術分野において確立されている様々な方法を用いて評価することができる。

【0961】

播種性がん

一部の実施形態では、本開示は、播種性がんの治療を必要とする対象、例えば、ヒト対象においてそれを実施するための方法を提供する。一部の実施形態では、播種性がんの治療は、播種性がんに対する免疫応答を増強することを含む。播種性がんとしては、転移性がん及び、通常は固形腫瘍を形成しない、対象の循環、例えば、血液内にあるがんが挙げられる。通常は固形腫瘍を形成しない播種性がんとしては、かなりの骨髓集団を有するがんに加えて、多発性骨髓腫及びB細胞性白血病が挙げられるがこれらに限定されない。

【0962】

一部の実施形態では、播種性がんは血液がんである。本明細書で使用する場合、用語「血液がん」としては、リンパ腫、白血病、骨髓腫、またはリンパ性悪性腫瘍に加えて、脾臓及びリンパ節のがんが挙げられる。例示的なリンパ腫としては、B細胞リンパ腫（B細胞性血液がん）とT細胞リンパ腫の両方が挙げられる。B細胞リンパ腫としては、ホジキンリンパ腫とほとんどの非ホジキンリンパ腫の両方が挙げられる。B細胞リンパ腫の非限定例としては、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、小細胞リンパ球性リンパ腫（慢性リンパ性白血病と重複する）、マンツル細胞リンパ腫（MCL）、バーキットリンパ腫、縦隔大細胞型B細胞リンパ腫、ワルデンシュ

10

20

30

40

50

トレーママクログロブリン血症、結節性辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症が挙げられる。T細胞リンパ腫の非限定例としては、節外性T細胞リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、及び血管免疫芽球性T細胞リンパ腫が挙げられる。血液悪性腫瘍としてはまた、白血病、限定するわけではないが例えば、二次性白血病、慢性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、及び急性リンパ芽球性白血病などが挙げられる。血液悪性腫瘍としては更に、骨髄腫、限定するわけではないが例えば、多発性骨髄腫及びくすぶり型多発性骨髄腫などが挙げられる。その他の血液がん及び／またはB細胞またはT細胞関連がんは用語「血液悪性腫瘍」に包含される。

【0963】

一部の実施形態では、播種性がんは骨髄性悪性腫瘍である。骨髄性悪性腫瘍としては、骨髄異形成症候群(MDS)、骨髄増殖性疾患または腫瘍(MPD)、及び急性骨髄性白血病(AML)が挙げられる。

【0964】

一部の実施形態では、播種性がんは原発性腫瘍の転移である。一部の実施形態では、播種性がんは、原発性腫瘍のこれまでの転移の転移である。一部の実施形態では、播種性がん細胞は、原発性腫瘍または転移部から分離して、循環血液に入っている。このような播種性がん細胞は、細胞が由来する原発性腫瘍または転移部から遠い場所に腫瘍を形成し得る。

【0965】

固形腫瘍

一部の実施形態では、本開示は、固形腫瘍の治療を必要とする対象、例えば、ヒト対象においてそれを実施するための方法を提供する。一部の実施形態では、固形腫瘍の治療は、固形腫瘍に対する免疫応答を増強することを含む。

【0966】

一部の実施形態では、方法は、本明細書で開示する組成物及び／またはmRNAの腫瘍内投与を含む。一部の実施形態では、腫瘍内投与は免疫応答を全身的に増強する。一部の実施形態では、腫瘍内投与は、免疫応答を全身的に増強することにより、未治療腫瘍の縮小または遅延をもたらす。

【0967】

「固形腫瘍」としては、肉腫、黒色腫、癌腫、またはその他の固形腫瘍がんが挙げられるがこれらに限定されない。「肉腫」とは、胎児結合組織のような組織で構成された腫瘍のことを意味し、通常は、筋原線維組織または均質組織内に埋め込まれ密につまった細胞で構成されている。肉腫としては、軟骨肉腫、線維肉腫、リンパ肉腫、黒色肉腫、粘液肉腫、骨肉腫、アバーネシー肉腫、脂肪肉腫(adipose sarcoma)、脂肪肉腫(liposarcoma)、胞状軟部肉腫、エナメル上皮肉腫、ブドウ状肉腫、緑色腫肉腫、絨毛がん、胎児性肉腫、ウィルムス腫瘍肉腫、子宮内膜肉腫、間質肉腫、ユーイング肉腫、筋膜肉腫、線維芽細胞性肉腫、巨細胞肉腫、顆粒球性肉腫、ホジキン肉腫、特発性多発性色素沈着性出血性肉腫、B細胞の免疫芽球性肉腫、リンパ腫、T細胞の免疫芽球性肉腫、イエンセン肉腫、カポジ肉腫、クッパー細胞肉腫、血管肉腫、白血肉腫、悪性間葉肉腫、傍骨性肉腫、細網肉腫、ラウス肉腫、漿液嚢胞性肉腫、滑膜肉腫、または毛細血管拡張性肉腫が挙げられるがこれらに限定されない。

【0968】

用語「黒色腫」とは、皮膚及びその他の器官におけるメラニン細胞系から生じる腫瘍のことを意味する。黒色腫としては、例えば、末端黒子型黒色腫、メラニン欠乏性黒色腫、良性若年性黒色腫、クラウドマン黒色腫、S91黒色腫、ハーディングーパッセー黒色腫、若年性黒色腫、悪性黒子型黒色腫、悪性黒色腫、転移性黒色腫、結節性黒色腫、爪下黒色腫、または表在拡大型黒色腫が挙げられる。

【0969】

用語「癌腫」とは、周囲組織に浸潤して転移を誘発する傾向のある上皮細胞から構成さ

10

20

30

40

50

れる悪性新生物のことを意味する。例示的な癌腫としては、例えば、小葉癌 (acinar carcinoma)、小葉癌 (acinous carcinoma)、腺様嚢胞癌 (adenocystic carcinoma)、腺様嚢胞癌 (adenoid cystic carcinoma)、腺様癌、副腎皮質の癌、肺癌、肺胞細胞癌、基底細胞癌 (basal cell carcinoma)、基底細胞癌 (carcinoma basocellulare)、類基底細胞癌、基底扁平細胞癌、細気管支肺胞上皮癌、細気管支癌、気管支原性癌、脳様癌、胆管細胞癌、絨毛癌、膠様癌、面皰癌、子宮体癌、篩状癌、鑑状癌、皮膚癌、円柱癌、円柱細胞癌、管癌、硬性癌、胎児性癌、髓様癌 (encephaloid carcinoma)、類表皮癌、腺上皮癌、外方発育癌、潰瘍癌、線維癌、ゼラチン状癌 (gelatiniform carcinoma)、ゼラチン状癌 (gelatinous carcinoma)、巨細胞癌、巨大細胞癌、腺癌、顆粒膜細胞癌、毛母癌、血様癌、肝細胞癌、ヒュルトレ細胞癌、硝子状癌、副腎様癌、乳児胎児性癌、上皮内癌 (carcinoma in situ)、表皮内癌、上皮内癌 (intraepithelial carcinoma)、クロムペッヘル癌、クルチツキー細胞癌、大細胞癌、レンズ状癌 (lenticular carcinoma)、レンズ状癌 (carcinoma lenticulare)、脂肪腫様癌、リンパ上皮癌、髓様癌 (carcinoma medullare)、髓様癌 (medullary carcinoma)、黒色癌、軟性癌 (carcinoma molle)、粘液癌 (mucinous carcinoma)、粘液分泌癌、粘液細胞癌、粘液性類表皮癌、粘液癌 (carcinoma mucosum)、粘液癌 (mucous carcinoma)、粘液腫様癌、鼻咽頭癌、燕麦細胞癌、骨化性癌、類骨癌、乳頭状癌、門脈周囲癌、浸潤前癌、有棘細胞癌、軟性癌 (pultaceous carcinoma)、腎臓の腎細胞癌、予備細胞癌、肉腫様癌、シュナイダー癌、スキルス癌、陰嚢癌、印環細胞癌、単純癌、小細胞癌、バレイショ状癌、球状細胞癌、紡錘形細胞癌、海綿様癌、扁平上皮癌、扁平上皮細胞癌、数珠様癌、血管拡張癌、毛細血管拡張癌、移行上皮癌、結節癌 (carcinoma tuberosum)、結節癌 (tuberous carcinoma)、疣贅癌、または絨毛様癌が挙げられる。

【0970】

本発明の方法による治療の対象となるがん及び／または腫瘍としては、直接的な腫瘍内投与及び／または局所投与、すなわち、標的腫瘍の領域における投与を介してアクセス可能ながん及び／または腫瘍が挙げられる。例えば、単純な注射器注射を用いた投与でアクセス可能な腫瘍は、容易に治療の対象となる。注射に何らかのイメージング及び／またはガイド投与が必要となる腫瘍、及び／または、イメージガイド経皮注射、もしくは部位に直接入れたカテーテル／カニューレ、または内視鏡検査を介した注射が可能な腫瘍もまた治療の対象となる。

【0971】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、免疫原性である腫瘍微小環境を含む。一部の実施形態では、免疫原性腫瘍微小環境は、より高いT細胞浸潤及びTh1サイトカイン発現を特徴とする。一部の実施形態では、固形腫瘍は、免疫学的に不毛な腫瘍微小環境を含む。一部の実施形態では、免疫学的に不毛な腫瘍微小環境は散在性のT細胞浸潤を特徴とする。一部の実施形態では、固形腫瘍は、免疫チェックポイント療法に耐性を示す及び／または免疫チェックポイント療法に対して反応を示さない。Mosley et al. は、これらの様々な腫瘍微小環境について記載している (Mosley et al. Rational Selection of Syngenic Preclinical Tumor Models for Immunotherapeutic Drug Discovery, Cancer Immunology Research, doi:10.1158/2326-6066.CIR-16-0114 (2016) (参照により本明細書に組み込まれる))。

【0972】

特定の実施形態では、本明細書に記載のmRNAを使用して腫瘍微小環境を調節しても

よい、及び／または、治療する対象における腫瘍微小環境に基づいた治療用に本明細書に記載のmRNAを選択してもよい。一部の実施形態では、mRNAを使用して、炎症性腫瘍微小環境を有する腫瘍を治療する。一部の実施形態では、mRNAを使用して、免疫抑制性腫瘍微小環境を有する腫瘍を治療する。一部の実施形態では、mRNAを使用して、免疫学的に不毛な腫瘍微小環境を有する腫瘍を治療する。

【0973】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法のいずれかは、

(i) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

(ii) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、

(iii) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(iv) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、

(v) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(vi) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、ヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、または、

(vii) ヒトOX40LポリペプチドをコードするmRNA、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、及びヒトIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したヒトIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

を含む本開示の組成物（またはその脂質ナノ粒子、もしくはその医薬組成物）を対象に投与することを含む。

【0974】

複数種のmRNAを使用する場合、それらのmRNAを、例えば、同一の脂質ナノ粒子内に共配合してもよい、及び／または、それらのmRNAを同時投与してもよい。代替的に、異なるmRNAを異なる時間に対象に投与してもよい。例えば、第2のmRNA組成物（例えば、IL-12ポリペプチド及び／またはIL-15ポリペプチドをコードする）を投与する1～30日前、例えば、3日前、5日前、7日前、10日前、14日前、21日前、28日前に、1種のmRNA組成物（例えば、OX40Lポリペプチドをコードする）を投与してもよい。

【0975】

本開示の組成物は有効量で対象に投与される。一般的に、有効量の組成物は、細胞内におけるコードポリペプチドの効率的な産生を可能とする。効率の測定基準としては、ポリペプチド翻訳（ポリペプチド発現によって示される）、mRNA分解のレベル、及び免疫応答指標を挙げることができる。

【0976】

がん（例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など）を治療するための本開示の方法を様々な臨床用途または治療用途に使用してもよい。例えば、方法を使用して、がんを有する対象における抗がん免疫（例えば、骨髄性悪性腫瘍を有する対象における抗悪性腫瘍免疫）を刺激してもよい。

【0977】

特定の実施形態では、本明細書に記載の少なくとも1種のmRNA組成物を対象に投与する。関連実施形態では、mRNA（複数可）を含むナノ粒子（例えば、脂質ナノ粒子）

を対象に提供するまたは投与する。更なる関連実施形態では、対象用の本開示の医薬組成物を対象に提供するまたは投与する。特定の実施形態では、医薬組成物は本明細書に記載の mRNA（複数可）を含む、または、医薬組成物は mRNA（複数可）を含むナノ粒子を含む。特定の実施形態では、mRNA（複数可）は、ナノ粒子、例えば、脂質ナノ粒子中に含まれている。特定の実施形態では、mRNA（複数可）またはナノ粒子は医薬組成物中に含まれている。

【0978】

一部の実施形態では、mRNA（複数可）、ナノ粒子、または医薬組成物は、非経口で患者に投与される。特定の実施形態では、対象は、哺乳動物、例えば、ヒトである。様々な実施形態では、有効量の mRNA（複数可）を対象に提供する。

【0979】

がんを治療するための方法は、対象における抗腫瘍応答を増強する別の薬剤及び／または腫瘍に対して細胞傷害性である別の薬剤（例えば、化学療法剤）を用いた対象の治療を更に含んでもよい。組み合わせ療法に用いる好適な治療薬としては、タンパク質チロシンキナーゼ阻害剤を含む低分子化学療法剤に加えて、生物学的抗がん剤、例えば、抗がん抗体（以下に更に記載する抗がん抗体を含むがこれらに限定されない）などが挙げられる。組み合わせ療法としては、抗腫瘍免疫を増強させるための免疫チェックポイント阻害剤、例えば、PD-1 阻害剤、PD-L1 阻害剤、及び CTLA-4 阻害剤、ならびにこれらの組み合わせ（例えば、PD-1 阻害剤 + CTLA-4 阻害剤、PD-L1 阻害剤 + CTLA-4 阻害剤、または PD-1 阻害剤 + PD-L1 阻害剤）などを対象に投与することを挙げることができる。一実施形態では、免疫チェックポイントを調節する薬剤は抗体である。別の実施形態では、免疫チェックポイントを調節する薬剤はタンパク質調節因子または低分子調節因子である。別の実施形態では、薬剤（例えば、mRNA など）は、免疫チェックポイントの抗体調節因子をコードしている。組み合わせ療法に用いることができる免疫チェックポイント阻害剤の非限定例としては、ペンブロリズマブ、アレムツズマブ、ニボルマブ、ピディリズマブ、オフアツムマブ、MED10680 及び PDR001、AMP-224、PF-06801591、BGB-A317、REGN2810、SHR-1210、TSR-042、アフィマー、アベルマブ（MSB0010718C）、アテゾリズマブ（MPDL3280A）、デュルバルマブ（MED14736）、BMS936559、イピリムマブ、トレメリムマブ、AGEN1884、MED16469 及び MOXR0916 が挙げられる。

【0980】

一実施形態では、単回用量の本開示の mRNA（複数可）（例えば、ヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA + テザー型 ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA + ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA + ヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA（またはヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA））を、少なくとも 1 種の免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗 CTLA-4、抗 PD-L1、抗 PD-1、またはこれらの組み合わせ）を用いた治療と組み合わせて使用する。別の実施形態では、複数回用量（例えば、Q7D $\times$ 3）の本開示の mRNA（複数可）（例えば、ヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA + テザー型 ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA + ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA + ヒト IL-15 R α ポリペプチドをコードする mRNA（またはヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA））を、少なくとも 1 種の免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗 CTLA-4、抗 PD-L1、抗 PD-1、またはこれらの組み合わせ）を用いた治療と組み合わせて使用する。免疫チェックポイント阻害剤（複数可）を用いた治療は、単回用量のチェックポイント阻害剤（複数可）の投与、または、より一般的には、複数回用量のチェックポイント阻害剤（複数可）の投与を含んでもよい。

【0981】

本開示の1種または複数種のmRNAを含む医薬組成物を任意の好適な経路で対象に投与してもよい。一部の実施形態では、本開示の組成物は、非経口（例えば、皮下、皮内、静脈内、腹腔内、筋肉内、関節内、動脈内、滑液嚢内、胸骨内、硬膜内、病巣内、または頭蓋内の注射に加えて、任意の好適な注入手法）、経口、経皮または皮内、皮膚内、直腸、膣内、局所（例えば、粉末剤、軟膏剤、クリーム剤、ゲル剤、ローション剤、及び／またはドロップ剤による）、粘膜、経鼻、頬側、経腸、硝子体内、腫瘍内、舌下、鼻腔内、経口スプレー剤及び／または経口粉末剤、経鼻スプレー剤及び／または経鼻エアロゾル剤としての気管内注入、気管支注入、及び／または吸入によるもの、及び／または、門脈カテーテルによるものを含む様々な経路のうちの1つまたは複数で投与される。一部の実施形態では、組成物を静脈内、筋肉内、皮内、動脈内、腫瘍内、皮下、または吸入で投与してもよい。一部の実施形態では、組成物を筋肉内投与する。しかしながら、本開示は、薬物送達技術の進歩の可能性を考慮した任意の適切な経路による、本開示の組成物の送達を包含する。一般的に、最も適切な投与経路は、1種または複数種のmRNAを含む医薬組成物の性質（例えば、様々な身体環境、例えば、血流及び胃腸管などにおける医薬組成物の安定性）、及び患者の状態（例えば、患者が特定の投与経路に耐えることができるかどうか）を含む様々な因子によって決まる。

【0982】

特定の実施形態では、任意の用量で、約0.0001mg/kg～約10mg/kg、約0.001mg/kg～約10mg/kg、約0.005mg/kg～約10mg/kg、約0.01mg/kg～約10mg/kg、約0.1mg/kg～約10mg/kg、約1mg/kg～約10mg/kg、約2mg/kg～約10mg/kg、約5mg/kg～約10mg/kg、約0.0001mg/kg～約5mg/kg、約0.001mg/kg～約5mg/kg、約0.005mg/kg～約5mg/kg、約0.01mg/kg～約5mg/kg、約0.1mg/kg～約10mg/kg、約1mg/kg～約5mg/kg、約2mg/kg～約5mg/kg、約0.0001mg/kg～約1mg/kg、約0.001mg/kg～約1mg/kg、約0.005mg/kg～約1mg/kg、約0.01mg/kg～約1mg/kg、または約0.1mg/kg～約1mg/kgを送達するのに十分な用量レベルで本開示の組成物を投与してもよく、1mg/kgの用量は、対象の体重1kgあたり1mgのmRNAまたはナノ粒子をもたらす。特定の実施形態では、約0.005mg/kg～約5mg/kgの用量の本開示のmRNAまたはナノ粒子を投与してもよい。

【0983】

用量を、1日あたり1回または複数回、同一のまたは異なる量で投与して、所望のレベルのmRNA発現及び／または効果（例えば、治療効果）を得てもよい。所望の用量を、例えば、1日3回、1日2回、1日1回、隔日、3日に1回、毎週、2週間に1回、3週間に1回、または4週間に1回、送達してもよい。特定の実施形態では、所望の用量を、単回用量の複数回投与（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、またはそれ以上の回数の投与）を用いて送達するが、それは「分割投与」と呼ばれる。例えば、2mg/kgの単回ボラス用量の代わりに0.67mg/kgを1週間に3回投与することにより、週に2mg/kgの所望の用量を週にわたって対象に投与してもよい。一部の実施形態では、分割投与レジメンは、同一総用量の単回ボラスと比較して高い抗がん効果をもたらす。一部の実施形態では、分割投与レジメンは、同一総用量の単回ボラスと比較してより少ない毒性をもたらす。一部の実施形態では、分割投与レジメンは、単回ボラス用量と比較してより良好に対象に許容される。一部の実施形態では、分割投与の高い効果は、mRNAコードポリペプチドへのより多いまたは高い曝露によるものである。曝露を測定するための方法としては、試料中のmRNAコードポリペプチドの濃度を測定すること、mRNAコードポリペプチドの半減期を測定すること、及び／または、時間に対する試料（例えば、血漿）中の薬物濃度の曲線下面積（AUC）を測定することが挙げられるがこれらに限定されない。

【0984】

一部の実施形態では、例えば、外科的処置の前後、または、急性の疾患、障害、または症状の発生時に、単回用量を投与してもよい。任意の個々の患者における、個々の治療的に有効、予防的に有効、または別様に適切な用量レベルは、治療する障害の重症度及び個性（ある場合）、用いる1種または複数種のmRNA、用いる個々の組成物、患者の年齢、体重、全身健康、性別、及び栄養、用いる個々の医薬組成物の投与期間、投与経路、及び排出速度、治療期間、用いる個々の医薬組成物と組み合わせて用いるまたは同時に用いる薬物、ならびに医学技術分野において周知の類似の因子を含む様々な因子によって決まる。

【0985】

一部の実施形態では、別の薬剤、例えば、別の治療薬、予防薬、及び／または診断薬と組み合わせて、本開示の医薬組成物を投与してもよい。「と組み合わせて」は、薬剤を同時に投与する及び／または共に送達するために製剤化する必要があるということを意味することを意図するものではないが、これらの送達方法は本開示の範囲内である。例えば、1種または複数種の異なるmRNAを含む1種または複数種の組成物を組み合わせて投与してもよい。1種または複数種のその他の所望の治療薬または医学的処置と同時に、その前に、またはその後に、組成物を投与してもよい。一般的に、それぞれの薬剤は、その薬剤用に決められた用量及び／またはタイムスケジュールで投与される。一部の実施形態では、本開示は、本開示の組成物、またはそのイメージング用、診断用、もしくは予防用組成物の生物学的利用能を向上させる、その代謝を低下及び／または変化させる、その排出を抑制する、及び／または体内におけるその分布を変化させる薬剤と組み合わせた、本開示の組成物、またはそのイメージング用、診断用、もしくは予防用組成物の送達を包含する。

【0986】

本開示の組成物と組み合わせて投与してもよい例示的な治療薬としては、細胞傷害剤、化学療法剤、脱メチル化剤、プロアポトーシス剤、低分子／キナーゼ阻害剤、及び、現時点または後日において、がん、例えば、AMLまたはMDS用に承認される治療薬を含むその他の治療薬が挙げられるがこれらに限定されない。細胞傷害剤としては、例えば、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド、ピンクリスチン、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センジオン、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、ピューロマイシン、メイタンシノイド、ラケルマイシン、及びそれらの類似体を挙げてもよい。放射性イオンもまた治療薬として使用することができ、それらとしては、例えば、放射性のヨウ素、ストロンチウム、リン、パラジウム、セシウム、イリジウム、コバルト、イットリウム、サマリウム、及びプラセオジウムを挙げてもよい。その他の治療薬としては、例えば、代謝拮抗薬（例えば、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、及び5-フルオロウラシル、ならびにデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオテパ、クロラムブシル、ラケルマイシン、メルファラン、カルムスチン、ロムスチン、シクロホスファミド、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、及びシス-ジクロロジアミン白金（II）（DDP）、ならびにシスプラチン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン及びドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン、ブレオマイシン、ミトラマイシン、及びアントラマイシン）、及び抗有糸分裂剤（例えば、ピンクリスチン、ビンブラスチン、タキソール、及びメイタンシノイド）を挙げてもよい。

【0987】

組み合わせレジメンに用いるための療法（治療薬または処置）の個々の組み合わせについては、所望の治療薬及び／または処置と得られる所望の治療効果の適合性を考慮に入れる。用いる療法が同一障害用の所望の効果を達成し得る（例えば、がんを治療するのに有用な組成物を化学療法剤と同時に投与してもよい）、または用いる療法が異なる効果（例

10

20

30

40

50

えば、任意の副作用の制御)を達成し得るということもまた理解されるであろう。

【0988】

キット

一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載のmRNAを含むキットを提供する。例えば、一部の実施形態では、脂質ナノ粒子内に共配合された、(i)OX40LポリペプチドをコードするmRNA、(ii)IL-12ポリペプチドをコードするmRNA、(iii)IL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及び(iv)IL-15R α ポリペプチドをコードするmRNAを含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子内に共配合された、(i)OX40LポリペプチドをコードするmRNA、(ii)IL-12ポリペプチドをコードするmRNA、(iii)IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したIL-15をコードするmRNAを含む。それゆえ、一部の実施形態では、キットは、本明細書に記載のmRNAを封入した脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体または医薬組成物を含む容器、及び脂質ナノ粒子または医薬組成物の投与のための取扱説明書を含む添付文書を含む。一部の実施形態では、キットは、本明細書に記載のmRNAを封入した脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体または医薬組成物を含む容器、及び個体におけるがん(例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など)を治療するまたはがん(例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など)の進行を遅らせるための脂質ナノ粒子または医薬組成物の投与のための取扱説明書を含む添付文書を含む。一部の態様では、添付文書は、個体におけるがん(例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など)を治療するまたはがん(例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など)の進行を遅らせるための、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、脂質ナノ粒子または医薬組成物の投与のための取扱説明書を更に含む。

【0989】

一部の実施形態では、キットは、本明細書に記載のmRNAを封入した脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体または医薬組成物を含む薬剤、及び薬剤単独またはチェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた薬剤の投与のための取扱説明書を含む添付文書を含む。一部の実施形態では、キットは、本明細書に記載のmRNAを封入した脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体または医薬組成物を含む薬剤、及び薬剤単独または、個体におけるがん(例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など)を治療するまたはがん(例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など)の進行を遅らせるための、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた薬剤の投与のための取扱説明書を含む添付文書を含む。一部の態様では、キットは、個体におけるがん(例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など)を治療するまたはがん(例えば、固形腫瘍または播種性がん、例えば、骨髄性悪性腫瘍など)の進行を遅らせるための第2の薬剤の投与の前の、それと同時の、またはその後の、第1の薬剤の投与のための取扱説明書を含む添付文書を更に含む。

【0990】

定義

アブスコパル効果：本明細書で使用する場合、「アブスコパル効果」とは、治療薬(例えば、OX40LをコードするmRNA、テザー型IL-12をコードするmRNA、及び細胞結合IL-15をコードするmRNA)の腫瘍への局所投与が治療腫瘍のサイズ縮小だけではなく治療領域の外側の腫瘍のサイズ縮小もまたもたらす、転移性がんを含むがんの治療における現象のことを意味する。一部の実施形態では、アブスコパル効果は、治療腫瘍に対して近接しているまたは近い腫瘍が影響を受ける局所領域性のアブスコパル効果である。一部の実施形態では、アブスコパル効果は、治療腫瘍に対して遠い腫瘍において生じる。一部の実施形態では、治療薬(例えば、OX40LをコードするmRNA、テ

ザー型 I L - 1 2 をコードする m R N A、及び細胞結合 I L - 1 5 をコードする m R N A) は腫瘍内注射により投与され、注射を行った腫瘍及び注射を行っていない近接しているまたは遠い腫瘍における腫瘍サイズの縮小がもたらされる。

【 0 9 9 1 】

投与すること：本明細書で使用する場合、「投与すること」とは、組成物を対象または患者に送達するための方法のことを意味する。投与の方法は、体の特定の領域または系へと標的送達する（例えば、特異的に送達する）ために選択され得る。例えば、投与は、非経口（例えば、皮下、皮内、静脈内、腹腔内、筋肉内、関節内、動脈内、滑液嚢内、胸骨内、硬膜内、病巣内、または頭蓋内の注射に加えて、任意の好適な注入手法）、経口、経皮または皮内、皮膚内、直腸、腔内、局所（例えば、粉末剤、軟膏剤、クリーム剤、ゲル剤、ローション剤、及び／またはドロップ剤による）、粘膜、経鼻、頬側、経腸、硝子体内、腫瘍内、舌下、鼻腔内、経口スプレー剤及び／または経口粉末剤、経鼻スプレー剤及び／または経鼻エアロゾル剤としての気管内注入、気管支注入、及び／または吸入によるもの、及び／または、門脈カテーテルによるものであってもよい。

【 0 9 9 2 】

約 (a p p r o x i m a t e l y)、約 (a b o u t)：本明細書で使用する場合、1 つまたは複数の目的の値に適用する用語「約 (a p p r o x i m a t e l y)」または「約 (a b o u t)」とは、明記した基準値に類似した値のことを意味する。特定の実施形態では、用語「約 (a p p r o x i m a t e l y)」または「約 (a b o u t)」とは、特に明記しない限りまたは文脈から明らかでない限りにおいて、明記した基準値のいずれかの方向（超または未滿）における 2 5 %、2 0 %、1 9 %、1 8 %、1 7 %、1 6 %、1 5 %、1 4 %、1 3 %、1 2 %、1 1 %、1 0 %、9 %、8 %、7 %、6 %、5 %、4 %、3 %、2 %、1 %、またはそれ以下の % 内に含まれる値の範囲のことを意味する（このような数値が可能な値の 1 0 0 % を超え得る場合を除く）。

【 0 9 9 3 】

がん：本明細書で使用する場合、「がん」は、異常及び／または不規則な細胞増殖を伴う症状である。用語「がん」は良性のがん及び悪性のがんを包含する。例示的な非限定のがんとしては、副腎皮質癌、進行癌、肛門癌、再生不良性貧血、胆管癌、膀胱癌、骨癌、骨転移、脳腫瘍、脳癌、乳癌、小児期がん、原発起源不明のがん、キャッスルマン病、子宮頸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、食道癌、ユーイングファミリーの腫瘍、眼球癌、胆嚢癌、胃腸カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、ホジキン病、カポジ肉腫、腎細胞癌、喉頭癌及び下咽頭癌、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、骨髄異形成症候群（不応性貧血及び不応性血球減少症を含む）、骨髄増殖性腫瘍または骨髄増殖性疾患（真性多血症、特発性血小板増加症、及び原発性骨髄線維症を含む）、肝臓癌（例えば、肝細胞癌）、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺カルチノイド腫瘍、皮膚のリンパ腫、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、鼻腔及び副鼻腔癌、上咽頭癌、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、口腔及び口咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、脾臓癌、陰茎癌、下垂体腫瘍、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、成人軟部組織肉腫、基底細胞皮膚癌及び扁平上皮細胞皮膚癌、黒色腫、小腸癌、胃癌、精巣癌、咽喉癌、胸腺癌、甲状腺癌、子宮肉腫、腔癌、外陰癌、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫瘍、ならびに、がん治療により生じた二次性のがんが挙げられる。一部の実施形態では、がんは、肝臓癌（例えば、肝細胞癌）、卵巣癌、または結腸直腸癌である。その他の実施形態では、がんは血液系がんまたは造血系がんである。一部の実施形態では、がんは、骨髄性悪性腫瘍、例えば、A M L などである。

【 0 9 9 4 】

細胞結合：本明細書で使用する場合、用語「細胞結合」とは、天然（例えば、野生型形態）または m R N A コードポリペプチドの改変（例えば、組換え技術による）に起因した設計によるのいずれかにおける、細胞の表面上における m R N A コードポリペプチドの位置のことを意味し、その結果、発現するとポリペプチドは細胞表面に結合する。一部の実

10

20

30

40

50

施形態では、「細胞結合」とは、細胞表面（例えば、膜貫通ドメインを含む）に天然に結合したmRNAコードポリペプチド、または発現すると、細胞表面に結合した、結合する（例えば、複合体を形成する）ポリペプチドをコードするmRNA（複数可）の組み合わせのことを意味する。例えば、IL-15をコードするmRNA及びIL-15R α をコードするmRNAは、発現すると、IL-15が膜結合受容体と結合した複合体を形成することにより、受容体に結合した際にIL-15を細胞の表面に固定する。その他の実施形態では、「細胞結合」とは、ポリペプチドを細胞の表面に固定する、膜ドメイン（例えば、膜貫通ドメイン）を含むように改変された天然に可溶性のポリペプチド（例えば、サイトカイン、例えば、IL-12など）をコードするmRNAのことを意味する。この「細胞結合」はまた、本明細書において、テザー型ポリペプチドまたはテザー型サイトカインのことを意味する。

10

【0995】

開裂可能なリンカー：本明細書で使用する場合、用語「開裂可能なリンカー」とは、リンカー、一般的には、同一mRNAから等モルレベルの複数種の遺伝子を生成することができるマルチシストロン性mRNA構築物に導入可能なペプチドリナー（例えば、約5～30アミノ酸長、一般的には、約10～20アミノ酸長）のことを意味する。開裂可能なリンカーの非限定例としては、mRNA構築物に導入されると（例えば、2つのポリペプチドドメイン間に）、2AエレメントのC末端におけるペプチド結合の合成をリボソームにスキップさせることで2A配列の末端と下流の次のペプチドの間の分離をもたらすことによって機能する、ピコルナウイルスにおいて初めて発見された、F2A、P2A、T2A、及びE2Aを含む2Aファミリーのペプチドが挙げられる。

20

【0996】

コンジュゲートした：本明細書で使用する場合、2つまたはそれ以上の部分に関して使用する場合の用語「コンジュゲートした」とは、それらの部分が、直接的にまたは連結因子として機能する1つまたは複数の別の部分を介してのいずれかで、互いに物理的に結合または連結し、十分に安定な構造物を形成し、その結果、それらの部分が、その構造物を使用する条件下、例えば、生理学的条件下で物理的に結合した状態を保っていることを意味する。一部の実施形態では、2つまたはそれ以上の部分は直接的な共有化学結合によってコンジュゲートされていてもよい。その他の実施形態では、2つまたはそれ以上の部分はイオン結合または水素結合によってコンジュゲートされていてもよい。

30

【0997】

接触させること：本明細書で使用する場合、用語「接触させること」とは、2つまたはそれ以上の要素間における物理的な連結を構築することを意味する。例えば、細胞をmRNAまたは脂質ナノ粒子組成物と接触させることは、それら細胞及びmRNAまたは脂質ナノ粒子に物理的な連結を共有させることを意味する。*in vivo*、*in vitro*と、*ex vivo*の両方で、細胞を外部の要素と接触させるための方法は、生物学的技術分野において周知である。本開示の例示的な実施形態では、哺乳動物細胞を組成物（例えば、本開示の単離したmRNA、ナノ粒子、または医薬組成物）と接触させる工程を*in vivo*で実施する。例えば、脂質ナノ粒子組成物及び生物（例えば、哺乳動物）内に配置可能な細胞（例えば、哺乳動物細胞）を接触させることは、任意の好適な投与経路（例えば、静脈内投与、筋肉内投与、皮内投与、及び皮下投与を含む、生物への非経口投与）によって実施することができる。*in vitro*で存在する細胞においては、組成物（例えば、脂質ナノ粒子または単離mRNA）及び細胞は、例えば、組成物を細胞の培地に加えることによって接触させてもよく、トランスフェクションさせるまたはトランスフェクションをもたらしてもよい。更に、2種以上の細胞をナノ粒子組成物と接触させてもよい。

40

【0998】

播種性がん：本明細書で使用する場合、用語「播種性がん」とは、対象内における血中がん細胞のことを意味する。一部の実施形態では、播種性がん細胞は原発性腫瘍または転移部から分離している。一部の実施形態では、播種性がんとしては、通常は固形腫瘍を形

50

成せず対象の循環中、例えば、対象の血液中に存在する播種性がんが挙げられる。一部の実施形態では、播種性がん細胞は、造血系に由来する播種性がん細胞である。一部の実施形態では、播種性がんとしては、かなりの骨髓集団を有する播種性がん、例えば、骨髓性悪性腫瘍などに加えて、リンパ腫、白血病などが挙げられる。

【0999】

封入する：本明細書で使用する場合、用語「封入する」とは、密閉する、囲む、または包むことを意味する。一部の実施形態では、化合物、mRNA、またはその他の組成物は、完全に封入されていてもよく、部分的に封入されていてもよく、または、実質的に封入されていてもよい。例えば、一部の実施形態では、本開示のmRNAは、脂質ナノ粒子、例えば、リポソーム内に封入されていてもよい。

10

【1000】

有効量：本明細書で使用する場合、用語「有効量」の薬剤は、有利または望ましい結果、例えば、臨床結果をもたらすのに十分な量の薬剤であり、それゆえ、「有効量」はそれが適用される状況によって決まる。例えば、がんを治療する薬剤を投与する状況における薬剤の有効量は、例えば、その薬剤を投与せずに得られる応答と比較して、がんの本明細書で定義する治療を達成するのに十分な量である。一部の実施形態では、治療有効量は、感染症、疾患、障害、及び／または症状を患っているまたはそれらにかかりやすい対象に投与する際に、感染症、疾患、障害、及び／または症状を治療する、それらの症候を改善する、それらを診断する、それらを予防する、及び／またはそれらの発症を遅らせるのに十分な、送達される薬剤（例えば、核酸、薬物、治療薬、診断薬、または予防薬）の量である。

20

【1001】

発現：本明細書で使用する場合、核酸配列の「発現」とは、以下のイベント、（１）DNA配列からのRNA鋳型の生成（例えば、転写による）、（２）RNA転写物のプロセシング（例えば、スプライシング、エディティング、5'キャップ形成、及び／または3'末端プロセシングによる）、（３）RNAのポリペプチドまたはタンパク質への翻訳、及び（４）ポリペプチドまたはタンパク質の翻訳後修飾、のうちの１つまたは複数のことを意味する。

【1002】

分割投与：本明細書で使用する場合、「分割投与」とは、所定用量のmRNA（例えば、総量のmRNA）を採用してそれを特定の期間（投与間隔、例えば、毎週、隔週、隔月）にわたる少なくとも２回の用量に分割することにより、その結果、所定用量または総量のmRNAが所定用量の単回ボラス用量ではなく複数回用量でその期間にわたり対象に投与される、投与レジメンのことを意味する。一部の実施形態では、用量は、２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、または１０回の用量に分割される。一部の実施形態では、分割投与は、用量を経時的に一定でもたらず注入を含む。

30

【1003】

フラグメント：「フラグメント」とは、本明細書で使用する場合、部分のことを意味する。例えば、タンパク質のフラグメントとしては、培養細胞から単離した全長タンパク質を消化することによって得られたポリペプチド、または組換えDNA技術によって得られたポリペプチドを挙げることができる。

40

【1004】

非相同：本明細書で使用する場合、「非相同」は、配列（例えば、アミノ酸配列またはアミノ酸配列をコードする核酸）が、通常は、任意のポリペプチドまたは核酸内に存在していないことを示す。例えば、あるタンパク質のドメインまたはモチーフに対応するアミノ酸配列は、第２のタンパク質に対して非相同であり得る。

【1005】

疎水性アミノ酸：本明細書で使用する場合、「疎水性アミノ酸」は、非荷電の非極性側鎖を有するアミノ酸である。天然疎水性アミノ酸の例は、アラニン（Ala）、バリン（Val）、ロイシン（Leu）、イソロイシン（Ile）、プロリン（Pro）、フェニ

50

ルアラニン (P h e)、メチオニン (M e t)、及びトリプトファン (T r p) である。
【1006】

同一性：本明細書で使用する場合、用語「同一性」とは、ポリマー分子間、例えば、核酸分子（例えば、DNA分子及び／またはRNA分子）間及び／またはポリペプチド分子間における全体の相関性のことを意味する。2つのmRNA配列におけるパーセント同一性の計算は、例えば、最適比較目的で2つの配列をアラインすることにより行うことができる（例えば、最適アライメントのために第1の核酸配列及び第2の核酸配列の一方または両方にギャップを導入してもよく、比較目的で同一でない配列を無視してもよい）。特定の実施形態では、比較目的でアラインした配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%である。それから、対応するヌクレオチド位置におけるヌクレオチドを比較する。第1の配列内の位置に、第2の配列内の対応する位置にあるものと同じヌクレオチドが存在する場合、その分子はその位置において同一である。2つの配列間のパーセント同一性は、ギャップ数及び各ギャップの長さを考慮して、配列により共有される同一位置の数の関数であり、2つの配列の最適なアライメントを導くのに必要である。配列の比較及び2つの配列間のパーセント同一性測定については、数学的アルゴリズムを用いて実施することができる。例えば、2つのヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinj e, G., Academic Press, 1987; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; 及び、Sequence Analysis Primer, Grib skov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; に記載されるような方法を用いて測定することができる（それぞれの内容は参照により本明細書に組み込まれる）。例えば、2つのヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、Meyers and Miller (CABIOS, 1989, 4: 11-17) のアルゴリズムを用いて測定することができ、そのアルゴリズムは、PAM120重み付け残基テーブル、ギャップ長ペナルティ12及びギャップペナルティ4を用いるALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれている。代替的に、2つのヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、NWSgapdna.CM Pマトリックスを用いるGCGソフトウェアパッケージ内のGAPプログラムを用いて測定することができる。配列間のパーセント同一性を測定するために通常用いられる方法としては、Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J Applied Math., 48: 1073 (1988) に開示されている方法が挙げられるがこれらに限定されない（参照により本明細書に組み込まれる）。同一性を測定するための技術は、一般に利用可能なコンピュータプログラムに分類されている。2つの配列間の相同性を測定するための例示的なコンピュータソフトウェアとしては、GCGプログラムパッケージ (Devereux et al., Nucleic Acids Research, 12 (1): 387, 1984)、BLASTP、BLASTN、及びFASTA (Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215, 403, 1990) が挙げられるがこれらに限定されない。

【1007】

免疫チェックポイント阻害剤：「免疫チェックポイント阻害剤」または簡潔に「チェックポイント阻害剤」とは、免疫細胞ががん細胞によって解除されるのを防止する分子のことを意味する。本明細書で使用する場合、用語「チェックポイント阻害剤」とは、抑制性

10

20

30

40

50

チェックポイント分子、例えば、細胞傷害性Ｔリンパ球関連タンパク質４（ＣＴＬＡ－４）、プログラム死１受容体（ＰＤ－１）、またはＰＤ－１リガンド１（ＰＤ－Ｌ１）などを中和または阻害する、ポリペプチド（例えば、抗体）またはこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）のことを意味する。

【１００８】

免疫応答：用語「免疫応答」とは、例えば、侵入病原体、病原体に感染した細胞もしくは組織、がん性細胞、または、自己免疫または病理学的な炎症の場合における正常ヒト細胞もしくは組織への選択的な損傷、それらの破壊、または、人体からのそれらの排除をもたらす、リンパ球、抗原提示細胞、食細胞、顆粒球、及び上記の細胞または肝臓が産生する可溶性巨大分子（抗体、サイトカイン、及び補体を含む）の作用のことを意味する。一部の例では、脂質構成成分及び封入治療薬を含むナノ粒子の投与は免疫応答を誘発し得るが、その免疫応答は、（ｉ）封入治療薬（例えば、ｍＲＮＡ）、（ｉｉ）このような封入治療薬の発現産物（例えば、ｍＲＮＡがコードするポリペプチド）、（ｉｉｉ）ナノ粒子の脂質構成成分、または（ｉｖ）これらの組み合わせ、によって引き起こされ得る。

【１００９】

挿入：本明細書で使用する場合、「挿入」または「付加」とは、参照配列、例えば、天然分子中に存在する配列と比較して１つまたは複数のアミノ酸残基またはヌクレオチドの分子への付加をそれぞれもたらず、アミノ酸またはヌクレオチド配列における変化のことを意味する。例えば、非相同ポリペプチドのアミノ酸配列（例えば、ＢＨ３ドメイン）を、スキヤフォールドポリペプチド（例えば、ＳｔｅＡスキヤフォールドポリペプチド）の挿入に適した部位に挿入してもよい。一部の実施形態では、挿入は、例えば、スキヤフォールドポリペプチドのループ（例えば、ＳｔｅＡまたはＳｔｅＡ誘導体のループ１またはループ２）を形成するアミノ酸配列が非相同ポリペプチドのアミノ酸配列で置換されている場合、置換であってもよい。

【１０１０】

挿入部位：本明細書で使用する場合、「挿入部位」は、非相同ポリペプチドのアミノ酸配列の挿入に適した、スキヤフォールドポリペプチドの位置または領域である。挿入部位はまた、ポリペプチドをコードするｍＲＮＡの位置または領域（例えば、スキヤフォールドポリペプチド内の任意のアミノ酸をコードするｍＲＮＡのコドン）のことを意味し得るということを理解すべきである。一部の実施形態では、非相同ポリペプチドのアミノ酸配列のスキヤフォールドポリペプチドへの挿入は、スキヤフォールドポリペプチドの安定性（例えば、配座安定性）、発現レベル、または全体的な二次構造にほとんど影響を及ぼさない。

【１０１１】

細胞内ドメイン：本明細書で使用する場合、用語「細胞内ドメイン」、「ＩＣ」、及び「ＩＣＤ」とは、細胞の内部に位置する、ポリペプチドの領域のことを意味する。一部の実施形態では、細胞内ドメインは細胞へとシグナルを伝播する。一部の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）がコードするテザー型ＩＬ－１２ポリペプチドは、細胞へとシグナルを伝播する細胞内ドメインを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）がコードするテザー型ＩＬ－１２ポリペプチドは、細胞へとシグナルを伝播しない細胞内ドメインを含む。

【１０１２】

単離：本明細書で使用する場合、用語「単離」とは、物質または要素が結合した構成成分のうちの少なくとも一部から分離された物質または要素（自然であるかまたは実験環境であるかを問わない）のことを意味する。単離物質は、単離物質が結合していた物質を基準とした様々なレベルの純度を示し得る。単離物質及び／または要素は、単離物質及び／または要素が当初結合していた少なくとも約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、またはそれ以上の％のその他の構成成分から分離され得る。一部の実施形態では、単離薬剤は、約８０％超、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９

10

20

30

40

50

8%、約99%、または約99%超の純度である。本明細書で使用する場合、物質がその他の構成成分を実質的に含まない場合、その物質は「純粋」である。

【1013】

リポソーム：本明細書で使用する場合、「リポソーム」とは、水溶性内部を囲む脂質含有膜を含む構造物のことを意味する。リポソームは1つまたは複数の脂質膜を有し得る。リポソームとしては、単層リポソーム（当該技術分野においてはユニラメラリポソームとしてもまた周知）及び多層リポソーム（当該技術分野においてはマルチラメラリポソームとしてもまた周知）が挙げられる。

【1014】

リンカー：本明細書で使用する場合、「リンカー」（本明細書で参照する場合、膜リンカー、サブユニットリンカー、及び非相同ポリペプチドリンカーを含む）とは、原子、例えば、10～1,000原子の基のことを意味し、原子または基、限定するわけではないが例えば、炭素、アミノ、アルキルアミノ、酸素、硫黄、スルホキシド、スルホニル、カルボニル、及びイミンなどで構成され得る。第1の末端の核酸塩基上の修飾ヌクレオシドもしくはヌクレオチドまたは糖部分、及び第2の末端のペイロード、例えば、検出可能薬または治療薬にリンカーを結合することができる。リンカーは、核酸配列への導入を妨げないほどの十分な長さのリンカーであってもよい。任意の有用な目的、例えば、ポリヌクレオチド多量体（例えば、2つまたはそれ以上のキメラポリヌクレオチド分子またはEVTポリヌクレオチドの連結による）またはポリヌクレオチドコンジュゲートを形成することに加えて、本明細書に記載のペイロードを投与することなどのために、リンカーを使用してもよい。リンカーに導入可能な化学基の例としては、本明細書に記載のアルキル、アルケニル、アルキニル、アミド、アミノ、エーテル、チオエーテル、エステル、アルキレン、ヘテロアルキレン、アリール、またはヘテロシクリル（そのそれぞれは任意選択的に置換されていてもよい）が挙げられるがこれらに限定されない。リンカーの例としては、不飽和アルカン、ポリエチレングリコール（例えば、エチレンまたはプロピレングリコールモノマーユニット、例えば、ジエチレングリコール、ジプロピレングリコール、トリエチレングリコール、トリプロピレングリコール、テトラエチレングリコール、またはテトラプロピレングリコール）、及びデキストランポリマー、ならびにその誘導体が挙げられるがこれらに限定されない。その他の例としては、リンカー内の開裂可能な部分、例えば、還元剤または光分解を用いて開裂させることができるジスルフィド結合（ $-S-S-$ ）またはアゾ結合（ $-N=N-$ ）などが挙げられるがこれらに限定されない。選択的に開裂させることができる結合の非限定例としては、例えば、トリス（2-カルボキシエチル）ホスフィン（TCEP）またはその他の還元剤及び／または光分解を用いることにより開裂させることができるアミド結合に加えて、例えば、酸性または塩基性の加水分解により開裂させることができるエステル結合が挙げられる。

【1015】

転移：本明細書で使用する場合、用語「転移」とは、がんが原発性腫瘍として最初に生じた場所から体内の離れた場所へとがんが拡散するプロセスのことを意味する。このプロセスの結果として生じた二次性腫瘍は「転移」と呼ばれることもある。

【1016】

mRNA：本明細書で使用する場合、「mRNA」とはメッセンジャーリボ核酸のことを意味する。mRNAは天然または非天然であってもよい。例えば、mRNAは、修飾及び／または非天然の構成要素、例えば、1つまたは複数の核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド、またはリンカーなどを含んでもよい。mRNAは、キャップ構造、鎖停止ヌクレオシド、ステムループ、ポリA配列、及び／またはポリアデニル化シグナルを含んでもよい。mRNAは、ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を有していてもよい。mRNAの翻訳、例えば、哺乳動物細胞の内部におけるmRNAのin vivo翻訳により、ポリペプチドが生成され得る。従来より、mRNA分子の基本構成要素としては少なくとも、コード領域、5'-非翻訳領域（5'-UTR）、3'-UTR、5'キャップ、及びポリA配列が挙げられる。

10

20

30

40

50

【1017】

マイクロRNA (miRNA) : 本明細書で使用する場合、「マイクロRNA (miRNA)」は、遺伝子発現の転写後制御において機能し得る (例えば、RNAサイレンシングにより、例えば、mRNAの開裂、mRNAのポリA尾部を短縮することによるmRNAの不安定化、及び／または、リボソームによるmRNAのポリペプチドへの翻訳効率を妨げることなどにより) 小さな非コードRNA分子である。成熟miRNAは一般的に約22ヌクレオチド長である。

【1018】

マイクロRNA-122 (miR-122) : 本明細書で使用する場合、「マイクロRNA-122 (miR-122)」とは、特に明記しない限り、例えば、ヒトを含む任意の脊椎動物供給源に由来する任意の天然miR-122のことを意味する。miR-122は一般的に肝臓内において高発現しており、そこで脂肪酸代謝を制御し得る。miR-122レベルは、肝臓癌、例えば、肝細胞癌において低下している。miR-122は肝臓内において最も高発現しているmiRNAのうちの1つであり、そこで、CAT-1、CD320、AldoA、Hjv、Hfe、ADAM10、IGFR1、CCNG1、及びADAM17を含むがこれらに限定されない標的を制御している。成熟ヒトmiR-122は、AACGCCAUUAUCACACUAAUAの配列 (配列番号: 73、hsa-miR-122-3pに相当する) またはUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGの配列 (配列番号: 82、hsa-miR-122-5pに相当する) を有している。

【1019】

マイクロRNA-21 (miR-21) : 本明細書で使用する場合、「マイクロRNA-21 (miR-21)」とは、特に明記しない限り、例えば、ヒトを含む任意の脊椎動物供給源に由来する任意の天然miR-21のことを意味する。miR-21レベルは、正常な肝臓と比較して、肝臓癌、例えば、肝細胞癌において上昇している。成熟ヒトmiR-21は、UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGAの配列 (配列番号: 84、has-miR-21-5pに相当する) または5'-CAACACCAGUCGAUGGCGUGU-3'の配列 (配列番号: 85、has-miR-21-3pに相当する) を有している。

【1020】

マイクロRNA-142 (miR-142) : 本明細書で使用する場合、「マイクロRNA-142 (miR-142)」とは、特に明記しない限り、例えば、ヒトを含む任意の脊椎動物供給源に由来する任意の天然miR-142のことを意味する。miR-142は一般的に骨髓細胞において高発現している。成熟ヒトmiR-142は、UGUAGUGUUUCCUACUUUAUGGAの配列 (配列番号: 127、hsa-miR-142-3pに相当する) またはCAUAAAGUAGAAAGCACUACUの配列 (配列番号: 128、hsa-miR-142-5pに相当する) を有している。

【1021】

マイクロRNA (miRNA) 結合部位 : 本明細書で使用する場合、「マイクロRNA (miRNA) 結合部位」とは、miRNA標的部位もしくはmiRNA認識部位、またはmiRNAが結合または会合する任意のヌクレオチド配列のことを意味する。一部の実施形態では、miRNA結合部位は、miRNAの少なくとも「シード」領域が結合する、mRNAのヌクレオチドの位置または領域に相当する。「結合」は、従来のワトソンクリック型ハイブリダイゼーション法則に従い得る、またはマイクロRNA部位におけるまたはマイクロRNA部位付近におけるmiRNAの標的配列との任意の安定した会合を反映し得ると理解すべきである。

【1022】

miRNAシード : 本明細書で使用する場合、miRNAの「シード」領域とは、成熟miRNAの2~8位の領域内の配列のことを意味し、一般的に、miRNA結合部位に対する完全なワトソンクリック相補性を有する。miRNAシードは成熟miRNAの2

10

20

30

40

50

～8位または2～7位を含んでいてもよい。一部の実施形態では、miRNAシードは7ヌクレオチド（例えば、成熟miRNAのヌクレオチド2～8）を含んでいてもよく、対応するmiRNA結合部位内のシード相補性部位は、miRNAの1位に向かい合うアデニン（A）に隣接している。一部の実施形態では、miRNAシードは6ヌクレオチド（例えば、成熟miRNAのヌクレオチド2～7）を含んでいてもよく、対応するmiRNA結合部位内のシード相補性部位は、miRNAの1位に向かい合うアデニン（A）に隣接している。miRNA結合部位に言及する場合、miRNAシード配列が、miRNA結合部位に結合するmiRNAのシード配列との相補性（例えば、部分的、実質的、または完全な相補性）を有するものと理解すべきである。

【1023】

修飾：本明細書で使用する場合、「修飾」とは、本開示の分子の変化した状態または構造のことを意味する。化学的、構造的、及び機能的を含む様々な方法で分子を修飾してもよい。一実施形態では、例えば、天然リボヌクレオチドA、U、G、及びCに関する場合、本開示のmRNA分子は、非天然ヌクレオチド及び／またはヌクレオチドの導入によって修飾される。非標準ヌクレオチド、例えば、キャップ構造などは、それらがA、C、G、Uリボヌクレオチドの化学構造とは異なるとはいえ、「修飾」されたとはみなされない。

【1024】

骨髄性悪性腫瘍：本明細書で使用する場合、「骨髄性悪性腫瘍」とは、造血前駆細胞における後天性体細胞変異（複数可）を特徴とする慢性クローン病と急性クローン病の両方、例えば、骨髄異形成障害（MDS）及び骨髄増殖性腫瘍（MPN）などのことを意味する。例示的な骨髄性悪性腫瘍としては、急性骨髄性白血病（AML）及び慢性骨髄単球性白血病（CMML）が挙げられるがこれらに限定されない。更に、MPNは、様々な障害、例えば、慢性骨髄性白血病（CML）、ならびに非CML MPN、例えば、真性多血症（PV）、本態性血小板血症（ET）、及び原発性骨髄線維症（PMF）などを含む。

【1025】

ナノ粒子：本明細書で使用する場合、「ナノ粒子」とは、同一原料のバルク試料と比較して新規の特性を示す約1000nm未満規模の任意の1つの構造的特徴を有する粒子のことを意味する。慣例的に、ナノ粒子は、約500nm未満、約200nm未満、または約100nmの規模の任意の1つの構造的特徴を有する。また慣例的に、ナノ粒子は、約50nm～約500nm、約50nm～約200nm、または約70～約120nmの規模の任意の1つの構造的特徴を有する。例示的な実施形態では、ナノ粒子は、約1～1000nmの規模の1つまたは複数の寸法を有する粒子である。その他の例示的な実施形態では、ナノ粒子は、約10～500nmの規模の1つまたは複数の寸法を有する粒子である。その他の例示的な実施形態では、ナノ粒子は、約50～200nmの規模の1つまたは複数の寸法を有する粒子である。球状のナノ粒子は、例えば、約50～100または70～120ナノメートルの直径を有し得る。ナノ粒子はほとんど、その輸送及び特性の観点から、ユニットとして振る舞うことが多い。ナノ粒子を対応するバルク原料と区別する新規の特性は一般的に1000nm未満のサイズ規模または約100nmのサイズで発現するが、ナノ粒子は、より大きなサイズのもの、例えば、楕円形、管状などである粒子用のものであってもよいということに留意されたい。ほとんどの分子のサイズが上の特徴に適合し得るとしても、個々の分子は通常、ナノ粒子とは呼ばれない。

【1026】

核酸：本明細書で使用する場合、用語「核酸」はその最も広い意味で使用され、ヌクレオチドのポリマーを含む任意の化合物及び／または物質を包含する。これらポリマーは多くの場合ポリヌクレオチドと呼ばれる。例示的な本開示の核酸またはポリヌクレオチドとしては、リボ核酸（RNA）、デオキシリボ核酸（DNA）、DNA-RNAハイブリッド、RNAi誘導因子、RNAi因子、siRNA、shRNA、miRNA、アンチセンスRNA、リボザイム、触媒性DNA、三重ヘリックス形成を誘導するRNA、トレオース核酸（TNA）、グリコール核酸（GNA）、ペプチド核酸（PNA）、ロックド核酸（LNA、 β -D-リボ配置を有するLNA、 α -L-リボ配置を有する α -LNA（

10

20

30

40

50

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がこれらに限定されない。

【1027】

機能的に連結した：本明細書で使用する場合、語句「機能的に連結した」とは、2つまたはそれ以上の分子、構築物、転写物、要素、部分などの間における機能的な連結のことを意味する。

【1028】

患者：本明細書で使用する場合、「患者」とは、治療を探し求め得るまたは治療を必要とし得る、治療を要求する、治療を受けている、治療を受ける予定の対象、または熟練した専門家による特定の疾患または症状の治療を受けている対象のことを意味する。特定の実施形態では、患者はヒト患者である。一部の実施形態では、患者は、がん（例えば、肝臓癌または結腸直腸癌）を患う患者である。

【1029】

薬学的に許容される：語句「薬学的に許容される」は、適切な医学的良識の範囲内において、過度の毒性、炎症、アレルギー反応、またはその他の問題もしくは合併症を伴わずに、妥当な利益／リスク比に見合った、ヒト及び動物の組織との接触に用いるのに好適な化合物、物質、組成物及び／または剤形のことを意味するために本明細書で使用する。

【1030】

薬学的に許容される賦形剤：語句「薬学的に許容される賦形剤」とは、本明細書で使用する場合、本明細書に記載の化合物以外の任意の成分（例えば、活性化合物を懸濁または溶解させることができる溶媒）のことを意味し、患者にとって実質的に無毒かつ非炎症性の性質を有するものである。賦形剤としては、例えば、抗付着剤、酸化防止剤、結合剤、コーティング剤、圧縮助剤、崩壊剤、染料（色素）、皮膚軟化剤、乳化剤、充填剤（賦形剤）、被膜形成剤もしくはコーティング剤、風味剤、芳香剤、流動促進剤（流動強化剤）、滑沢剤、防腐剤、印刷用インク、吸着剤、懸濁剤もしくは分散剤、甘味剤、または水和水を挙げてもよい。例示的な賦形剤としては、ブチルヒドロキシトルエン（BHT）、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム（二塩基性）、ステアリン酸カルシウム、クロスカルメロース、架橋ポリビニルピロリドン、クエン酸、クロスポビドン、システイン、エチルセルロース、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ラクトース、ステアリン酸マグネシウム、マルチトール、マンニトール、メチオニン、メチルセルロース、メチルパラベン、微結晶セルロース、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ポビドン、アルファ化デンプン、プロピルパラベン、レチニルパルミテート、セラック、二酸化ケイ素、カルボキシメチルセルロースナトリウム、クエン酸ナトリウム、グリコール酸ナトリウムデンプン、ソルビトール、デンプン（コーン）、ステアリン酸、スクロース、タルク、二酸化チタン、ビタミンA、ビタミンE、ビタミンC、及びキシリトールが挙げられるがこれらに限定されない。

【1031】

薬学的に許容される塩：本明細書で使用する場合、「薬学的に許容される塩」とは、親化合物が、既存の酸または塩基部分をその塩形態に変換することにより改変されている（例えば、遊離塩基を好適な有機酸と反応させることにより）、開示化合物の誘導体のことを意味する。薬学的に許容される塩の例としては、アミンなどの塩基性残基の無機酸塩または有機酸塩、カルボン酸などの酸性残基のアルカリ塩または有機塩などが挙げられるがこれらに限定されない。代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、酢酸、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、樟脳スルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプトン酸塩、ヘキサン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシーエタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸、リンゴ酸塩

10

20

30

40

50

、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。代表的なアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどに加えて、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミンなどを含むがこれらに限定されない非毒性アンモニウム、第四級アンモニウム、及びアミンカチオンが挙げられる。本開示の薬学的に許容される塩としては、例えば、非毒性の無機酸または有機酸から形成された親化合物の通常非毒性塩が挙げられる。本開示の薬学的に許容される塩は、通常の化学的方法により塩基性部分または酸性部分を含有する親化合物から合成することができる。一般的に、このような塩は、これら化合物の遊離酸または塩基形態を、水中もしくは有機溶媒中で、またはこれら2種の混合液中で、化学量論量の好適な塩基または酸と反応させることにより調製することができるが、通常は、エーテル、エチルアセテート、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルなどの非水性媒体が好ましい。好適な塩のリストは、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418, Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. H. Stahl and C. G. Wermuth (eds.), Wiley-VCH, 2008, 及び Berge et al., Journal of Pharmaceutical Science, 66, 1-19 (1977) に記載されており、それぞれの内容全体は参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

【1032】

ポリペプチド：本明細書で使用する場合、用語「ポリペプチド」または「目的のポリペプチド」とは、一般的には、自然（例えば、単離または精製）または合成的に生成可能なペプチド結合によって連結したアミノ酸残基のポリマーのことを意味する。

【1033】

対象：本明細書で使用する場合、用語「対象」とは、例えば、実験、診断、予防、及び／または治療の目的のために、本開示による組成物を投与してもよい任意の生物のことを意味する。標準的な対象としては、動物（例えば、哺乳動物、例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、及びヒトなど）及び／または植物が挙げられる。一部の実施形態では、対象は患者であってもよい。

30

【1034】

実質的に：本明細書で使用する場合、用語「実質的に」とは、完全またはほぼ完全な度合いまたは程度の目的の特徴または特性を示す定性的状態のことを意味する。生物学的技術分野の当業者は、生物学的現象及び化学的現象が、たとえあるとしても、めったに完結しない及び／または完全へと移行しないまたは絶対的な結果に達しない、すなわち絶対的な結果が回避されるということを理解するであろう。それゆえ、用語「実質的に」は本明細書において、多くの生物学的現象及び化学的現象に固有の完全性の潜在的な欠如を表現するために使用される。

40

【1035】

患う：疾患、障害、及び／または症状を「患う」個体は、疾患、障害、及び／または症状を有すると診断されている、または疾患、障害、及び／または症状の1種または複数種の症候を示す。

【1036】

標的化部分：本明細書で使用する場合、「標的化部分」は、特定の細胞種、組織種、及び／または器官種へとナノ粒子を向かわせることができる化合物または薬剤である。

【1037】

50

治療薬：用語「治療薬」とは、対象に投与されると治療効果、診断効果、及び／または予防効果を示す、及び／または、所望の生物学的効果及び／または薬理学的効果を誘発する、任意の薬剤のことを意味する。

【1038】

トランスフェクション：本明細書で使用する場合、用語「トランスフェクション」とは、化学種（例えば、ポリヌクレオチド、例えば、mRNAなど）を細胞に導入するための方法のことを意味する。

【1039】

膜貫通ドメイン：本明細書で使用する場合、用語「膜貫通ドメイン」、「TM」、及び「TMD」とは、細胞の原形質膜を横断する、ポリペプチドの領域のことを意味する。

【1040】

治療すること：本明細書で使用する場合、用語「治療すること」とは、特定の感染症、疾患、障害、及び／または症状を部分的または完全に緩和、改善、向上、軽減すること、それらの発症を遅延させること、それらの進行を阻害すること、それらの重症度を低下させること、及び／またはそれらの1種または複数種の症候または特性の発症率を低下させることを意味する。例えば、がんを「治療すること」とは、腫瘍の生存、増殖、及び／または転移を阻害することを意味し得る。疾患、障害、及び／または症状の徴候を示さない対象及び／または疾患、障害、及び／または症状の初期徴候のみを示す対象に、その疾患、障害、及び／または症状と関連する病状を発症するリスクを低下させる目的で、治療を実施してもよい。

【1041】

腫瘍微小環境：本明細書で使用する場合、「腫瘍微小環境」とは、浸潤性の免疫細胞及び／または炎症性細胞の有無に応じた腫瘍内における細胞組成に加えて、腫瘍内におけるこのような細胞の種類（複数可）のことを意味する。一部の実施形態では、腫瘍微小環境は「炎症性腫瘍微小環境」であり、腫瘍内に浸潤した免疫細胞及び／または炎症性細胞が存在していることを意味し、主な細胞種は顆粒球である。一部の実施形態では、腫瘍微小環境は「免疫抑制性腫瘍微小環境」であり、腫瘍内に浸潤した免疫細胞及び／または炎症性細胞が存在していることを意味し、主な細胞種は単球細胞及びマクロファージである。一部の実施形態では、腫瘍微小環境は「免疫学的に不毛な腫瘍微小環境」であり、免疫細胞及び／または炎症性細胞の腫瘍への有意な浸潤が無いことを意味する。

【1042】

I型内在性膜タンパク質：本明細書で使用する場合、用語「I型内在性膜タンパク質」とは、そのアミノ末端が細胞外空間にあり1つの α ヘリックス膜貫通ドメインを含む内在性膜タンパク質（すなわち、脂質二重層を横断する少なくとも1つの膜貫通ドメインを有するタンパク質）のことを意味する。

【1043】

予防すること：本明細書で使用する場合、用語「予防すること」とは、治療奏効後における再燃または再発を予防することを含む、がんの1種または複数種の症候または特性の発症を部分的または完全に阻害することを意味する。

【1044】

腫瘍：本明細書で使用する場合、「腫瘍」は、良性であるかまたは悪性であるかを問わない組織の異常増殖である。

【1045】

未修飾：本明細書で使用する場合、「未修飾」とは、任意の方法で変更される前の任意の物質、化合物、または分子のことを意味する。しかし、未修飾が常に野生型または天然形態の生体分子を意味するとは限らないこともある。分子が一連の修飾を受けている場合もあり、それにより、それぞれの修飾分子が続く修飾用の「未修飾」出発分子として機能することもある。

【1046】

等価物及び範囲

本明細書に記載の本開示による特定の実施形態に対する多くの等価物について、当業者は理解する、または、通常の実験を行うだけで確認することが可能であろう。本開示の範囲は、以下の記載に限定されることを意図するものではなく、むしろ添付の特許請求の範囲における記載により制限される。

【1047】

特許請求の範囲における「a」、「an」、及び「the」などの冠詞は、反対のことを指し示さない限りまたは文脈から明らかでない限り、1つまたは2つ以上を意味し得る。ある群の1つまたは複数の要素間に「または」を含む請求項または記載は、1つ、2つ以上、または全ての群要素が、任意の生成物またはプロセス中に存在する、採用される、または関連する場合、反対のことを指し示さない限りまたは文脈から明らかでない限り、条件を満たすとみなされる。本開示は、群における厳密な1つの要素が任意の生成物またはプロセス中に存在する、採用される、または関連する実施形態を含む。本開示は、2つ以上または全ての群要素が任意の生成物またはプロセス中に存在する、採用される、または関連する実施形態を含む。

10

【1048】

用語「含む」はオープンであることを意図し、追加の要素または工程の包含を可能とするが、追加の要素または工程の包含を必要としないという点もまた留意されたい。用語「含む」を本明細書で使用する場合、それにより、用語「からなる」はまた包含され開示される。

【1049】

範囲を示す場合、終点は含まれる。更に、特に明記しない限り、または文脈及び当業者の理解から明らかでない限りにおいて、範囲として表される値は、本開示の異なる実施形態において明示した範囲内における任意の特定の値または下位範囲（文脈上特に明確に定めない限り、その範囲の下限値の単位の10分の1まで）とみなされ得ると理解すべきである。

20

【1050】

引用した全ての出典、例えば、本明細書で引用した参考文献、刊行物、データベース、データベースエントリ、及び技術は、引用において明示的に記載されていなかったとしても、参照により本出願に組み込まれる。引用出典及び本出願において記載の矛盾がある場合には、本出願の記載が優先されるものとする。

30

【1051】

その他の実施形態

本開示は以下の実施形態に関する。本セクションの全体にわたり、用語「実施形態」は「E」（序数が続く）と略される。例えば、E1は実施形態1と同等である。

E1. 骨髄性悪性腫瘍の治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法であって、

(i) OX40LポリペプチドをコードするmRNA、

(ii) IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(iii) IL-15ポリペプチドをコードするmRNA及びIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、及び、

40

(iv) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

からなる群から選択される少なくとも2種のメッセンジャーRNA (mRNA) を前記対象に投与することを含む、前記方法。

E2. 前記少なくとも2種のmRNAは、

(i) OX40LポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

(ii) OX40LポリペプチドをコードするmRNA、IL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及びIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、

50

(iii) OX40LポリペプチドをコードするmRNA、及びIL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、

(iv) IL-15ポリペプチドをコードするmRNA、IL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

(v) IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、

(vi) OX40LポリペプチドをコードするmRNA、IL-15ポリペプチドをコードするmRNA、IL-15R α ポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、及び、

(vii) OX40LポリペプチドをコードするmRNA、IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結したIL-15ポリペプチドをコードするmRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したIL-12ポリペプチドをコードするmRNA、からなる群から選択される、実施形態1に記載の方法。

E3. 前記OX40Lポリペプチドは、配列番号：1に記載のアミノ酸配列または配列番号：1に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態1または実施形態2に記載の方法。

E4. 前記OX40Lポリペプチドは、配列番号：11に記載のヌクレオチド配列または配列番号：11に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態3に記載の方法。

E5. 前記IL-12ポリペプチドは、IL-12 p35サブユニット(IL-12A)ポリペプチドに機能的に連結したIL-12 p40サブユニット(IL-12B)ポリペプチドを含む、実施形態1から実施形態4のいずれか1つに記載の方法。

E6. 前記IL-12ポリペプチドは、配列番号：39または配列番号：40に記載のアミノ酸配列または配列番号：39または配列番号：40に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態5に記載の方法。

E7. 前記IL-12ポリペプチドは、配列番号：46に記載のヌクレオチド配列または配列番号：46に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態6に記載の方法。

E8. 前記IL-12Bポリペプチドは、ペプチドリinkerにより、前記IL-12Aポリペプチドに機能的に連結している、実施形態5に記載の方法。

E9. 前記IL-12Bポリペプチドは前記IL-12Aポリペプチドの5'末端または前記ペプチドリinkerの5'末端に位置している、または、前記IL-12Aポリペプチドは前記IL-12Bポリペプチドの5'末端または前記ペプチドリinkerの5'末端に位置している、実施形態8に記載の方法。

E10. 前記IL-12ポリペプチドは、ペプチドリinkerにより、前記膜ドメインに機能的に連結している、実施形態1から実施形態9のいずれか1つに記載の方法。

E11. 前記IL-12ポリペプチドに機能的に連結した前記膜ドメインの前記膜貫通ドメインは、I型内在性膜タンパク質に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態1から実施形態10のいずれか1つに記載の方法。

E12. 前記IL-12ポリペプチドに機能的に連結した前記膜ドメインの前記膜貫通ドメインは、分化抗原群8(CD8)膜貫通ドメイン、血小板由来増殖因子受容体(PDGFR)膜貫通ドメイン、及び分化抗原群80(CD80)膜貫通ドメインからなる群から選択される、実施形態1から実施形態10のいずれか1つに記載の方法。

E13. 前記PDGFR β 膜貫通ドメインは配列番号：42に記載のアミノ酸配列を含み、前記CD8膜貫通ドメインは配列番号：41に記載のアミノ酸配列を含み、前記CD8

10

20

30

40

50

0 膜貫通ドメインは配列番号：43に記載のアミノ酸配列を含む、実施形態12に記載の方法。

E14. 前記IL-12ポリペプチドに機能的に連結した前記膜ドメインは細胞内ドメインを含む、実施形態1から実施形態13のいずれか1つに記載の方法。

E15. 前記細胞内ドメインは前記膜貫通ドメインと同一のポリペプチドに由来している、または前記細胞内ドメインは前記膜貫通ドメインが由来するポリペプチドとは異なるポリペプチドに由来している、実施形態14に記載の方法。

E16. 前記細胞内ドメインは、PDGFR細胞内ドメイン、トランケートPDGFR細胞内ドメイン、及びCD80細胞内ドメインからなる群から選択される、実施形態14に記載の方法。

E17. 前記細胞内ドメインは、配列番号：48に記載のアミノ酸配列を含むPDGFRβ細胞内ドメインを含むPDGFR細胞内ドメインである、実施形態16に記載の方法。

E18. 前記細胞内ドメインは、E570またはG739においてトランケートされたPDGFRβ細胞内ドメインを含むトランケートPDGFR細胞内ドメインである、実施形態16に記載の方法。

E19. 前記E570においてトランケートされたトランケートPDGFRβ細胞内ドメインは配列番号：49に記載のアミノ酸配列を含み、前記G739においてトランケートされたトランケートPDGFRβ膜貫通は配列番号：50に記載のアミノ酸配列を含む、実施形態18に記載の方法。

E20. 前記細胞内ドメインは、配列番号：47に記載のアミノ酸配列を含むCD80細胞内ドメインである、実施形態16に記載の方法。

E21. 前記IL-12ポリペプチドに機能的に連結した前記膜ドメインは、

(i) PDGFRβ膜貫通ドメイン及びPDGFRβ細胞内ドメイン、

(ii) PDGFRβ膜貫通ドメイン及びE570においてトランケートされたトランケートPDGFRβ細胞内ドメイン、

(iii) PDGFRβ膜貫通ドメイン及びG739においてトランケートされたトランケートPDGFRβ細胞内ドメイン、または、

(iv) CD80膜貫通ドメイン及びCD80細胞内ドメイン、を含む、実施形態1から実施形態20のいずれか1つに記載の方法。

E22. 前記膜ドメインはペプチドリinkerにより前記IL-12Aポリペプチドに機能的に連結している、または、前記膜ドメインはペプチドリinkerにより前記IL-12Bポリペプチドに機能的に連結している、実施形態1から実施形態21のいずれか1つに記載の方法。

E23. 前記IL-15Rαポリペプチドはsushiドメインを含む、実施形態1から実施形態22のいずれか1つに記載の方法。

E24. 前記IL-15Rαポリペプチドは細胞内ドメイン及び膜貫通ドメインを更に含む、実施形態23に記載の方法。

E25. 前記細胞内ドメイン及び前記膜貫通ドメインはIL-15Rαに由来している、実施形態24に記載の方法。

E26. 前記細胞内ドメイン及び前記膜貫通ドメインは非相同ポリペプチドに由来している、実施形態24に記載の方法。

E27. 前記IL-15ポリペプチドは、配列番号：17に記載のアミノ酸配列または配列番号：17に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態1から実施形態26のいずれか1つに記載の方法。

E28. 前記IL-15ポリペプチドは、配列番号：122に記載のヌクレオチド配列または配列番号：122に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態27に記載の方法。

E29. 前記IL-15Rαポリペプチドは、配列番号：13に記載のアミノ酸配列または配列番号：13に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミ

10

20

30

40

50

ノ酸配列を含む、実施形態 1 から実施形態 28 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 30. 前記 I L - 1 5 R α ポリペプチドは、配列番号：22 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：22 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 % の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態 29 に記載の方法。

E 31. I L - 1 5 R α ポリペプチドに機能的に連結した前記 I L - 1 5 ポリペプチドは、配列番号：23、27、及び 123 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列または配列番号：23、27、及び 123 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から実施形態 22 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

E 32. I L - 1 5 R α ポリペプチドに機能的に連結した前記 I L - 1 5 ポリペプチドは、配列番号：24 ~ 26、28 ~ 30、及び 124 ~ 126 のうちのいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列または配列番号：24 ~ 26、28 ~ 30、及び 124 ~ 126 のうちのいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 % の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態 31 に記載の方法。

E 33. それぞれの mRNA は 3' 非翻訳領域 (UTR) を含む、先行実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

E 34. 前記 3' UTR は少なくとも 1 つのマイクロ RNA (miR) 結合部位を含む、実施形態 33 に記載の方法。

20

E 35. 前記少なくとも 1 つの miR 結合部位は miR - 122 結合部位である、実施形態 34 に記載の方法。

E 36. 前記 miR - 122 結合部位は miR - 122 - 3 p 結合部位または miR - 122 - 5 p 結合部位である、実施形態 35 に記載の方法。

E 37. 前記 miR - 122 - 5 p 結合部位は配列番号：83 に記載のヌクレオチド配列を含み、前記 miR - 122 - 3 p 結合部位は配列番号：74 に記載のヌクレオチド配列を含む、実施形態 36 に記載の方法。

E 38. それぞれの mRNA は、配列番号：77 または配列番号：121 に記載のヌクレオチド配列を含む 3' UTR を含む、実施形態 1 から実施形態 32 のいずれか 1 つに記載の方法。

30

E 39. それぞれの mRNA は 5' 非翻訳領域 (UTR) を含む、先行実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

E 40. 前記 5' UTR は配列番号：12 または配列番号：76 に記載のヌクレオチド配列を含む、実施形態 39 に記載の方法。

E 41. それぞれの mRNA は少なくとも 1 つの化学修飾を含む、先行実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

E 42. 前記化学修飾は、シュードウリジン、N1-メチルシュードウリジン、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、5-メチルシトシン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、2-チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-シュードウリジン、4-チオ-1-メチル-シュードウリジン、4-チオ-シュードウリジン、5-アザ-ウリジン、ジヒドロシュードウリジン、5-メチルウリジン、5-メチルウリジン、5-メトキシウリジン、及び 2'-O-メチルウリジンからなる群から選択される、実施形態 41 に記載の方法。

40

E 43. それぞれの mRNA 内のウリジンのうちの少なくとも 95 % は N1-メチルシュードウリジンである、実施形態 1 から実施形態 40 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 44. それぞれの mRNA 内のウリジンのうちの少なくとも 99 % は N1-メチルシュードウリジンである、実施形態 43 に記載の方法。

E 45. それぞれの mRNA 内のウリジンのうちの 100 % は N1-メチルシュードウリ

50

ジンである、実施形態 4 3 に記載の方法。

E 4 6 . それぞれの m R N A は同一脂質ナノ粒子内に配合されている、先行実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

E 4 7 . それぞれの m R N A は別々の脂質ナノ粒子内に配合されている、実施形態 1 から実施形態 4 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 4 8 . 前記脂質ナノ粒子は、約 2 0 ~ 6 0 % のモル比率のイオン性アミノ脂質、5 ~ 2 5 % のモル比率のリン脂質、2 5 ~ 5 5 % のモル比率の構造脂質、及び 0 . 5 ~ 1 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含む、実施形態 4 6 または実施形態 4 7 に記載の方法。

E 4 9 . 前記脂質ナノ粒子は、約 5 0 % のモル比率のイオン性脂質、約 1 0 % のモル比率のリン脂質、約 3 8 . 5 % のモル比率のステロール、及び約 1 . 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含む、実施形態 4 6 または実施形態 4 7 に記載の方法。

10

E 5 0 . 前記脂質ナノ粒子は、5 0 : 3 8 . 5 : 1 0 : 1 . 5 のモル比率のイオン性脂質 : コレステロール : D S P C : P E G 修飾脂質を含む、実施形態 4 6 または実施形態 4 7 に記載の方法。

E 5 1 . 前記イオン性脂質は、例えば、2 , 2 - ジリノレイル - 4 - ジメチルアミノエチル - [1 , 3] - ジオキソラン (D L i n - K C 2 - D M A) 、ジリノレイル - メチル - 4 - ジメチルアミノブチレート (D L i n - M C 3 - D M A) 、及びジ ((Z) - ノン - 2 - エン - 1 - イル) 9 - ((4 - (ジメチルアミノ) ブタノイル) オキシ) ヘプタデカンジオエート (L 3 1 9) からなる群から選択される、実施形態 4 8 から実施形態 5 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

E 5 2 . 前記イオン性脂質は化合物 I I を含む、実施形態 4 8 から実施形態 5 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 5 3 . 前記脂質ナノ粒子は、約 2 0 ~ 6 0 % のモル比率の化合物 I I 、5 ~ 2 5 % のモル比率のリン脂質、2 5 ~ 5 5 % のモル比率のコレステロール、及び 0 . 5 ~ 1 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含む、実施形態 4 6 または実施形態 4 7 に記載の方法。

E 5 4 . 前記脂質ナノ粒子は、約 5 0 % のモル比率の化合物 I I 、約 1 0 % のモル比率のリン脂質、約 3 8 . 5 % のモル比率のコレステロール、及び約 1 . 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含む、実施形態 5 3 に記載の方法。

E 5 5 . 前記 P E G 修飾脂質は P E G - D M G または化合物 I である、実施形態 4 8 から実施形態 5 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

30

E 5 6 . 前記脂質ナノ粒子は、5 0 : 3 8 . 5 : 1 0 : 1 . 5 のモル比率の化合物 I I : コレステロール : リン脂質 : 化合物 I または化合物 I I : コレステロール : D S P C : 化合物 I を含む、実施形態 4 6 または実施形態 4 7 に記載の方法。

E 5 7 . 前記脂質ナノ粒子は、4 0 : 3 8 . 5 : 2 0 : 1 . 5 のモル比率の化合物 I I : コレステロール : リン脂質 : 化合物 I または化合物 I I : コレステロール : D S P C : 化合物 I を含む、実施形態 4 6 または実施形態 4 7 に記載の方法。

E 5 8 . 前記骨髓性悪性腫瘍は、骨髓異形成症候群 (M D S) 、骨髓増殖性疾患 (M P D) 、及び急性骨髓性白血病 (A M L) からなる群から選択される、実施形態 1 から実施形態 5 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 5 9 . 前記骨髓性悪性腫瘍は A M L である、実施形態 5 8 に記載の方法。

40

E 6 0 . 前記少なくとも 2 種の m R N A は腫瘍内投与される、実施形態 1 から実施形態 5 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 6 1 . 前記少なくとも 2 種の m R N A は静脈内投与される、実施形態 1 から実施形態 5 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 6 2 . チェックポイント阻害剤ポリペプチドを投与することを含む、実施形態 1 から実施形態 6 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 6 3 . 前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドは P D - 1 、P D - L 1 、C T L A - 4 、またはこれらの組み合わせを阻害する、実施形態 6 2 に記載の方法。

E 6 4 . 前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗体または前記抗体をコードする m R N A である、実施形態 6 3 に記載の方法。

50

E 6 5 . 前記抗体は、C T L A - 4 に特異的に結合する抗 C T L A - 4 抗体またはその抗原結合フラグメント、P D - 1 に特異的に結合する抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント、P D - L 1 に特異的に結合する抗 P D - L 1 抗体またはその抗原結合フラグメント、及びこれらの組み合わせである、実施形態 6 4 に記載の方法。

E 6 6 . 前記抗 P D - L 1 抗体はアテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブであり、前記抗 C T L A - 4 抗体はトレメリムマブまたはイピリムマブであり、前記抗 P D - 1 抗体はニボルマブまたはペンブロリズマブである、実施形態 6 5 に記載の方法。

E 6 7 . 少なくとも 2 種の封入メッセンジャー RNA (mRNA) を含む脂質ナノ粒子であって、前記少なくとも 2 種の mRNA は、

(i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする mRNA、

(i i) I L - 1 5 R α ポリペプチドに機能的に連結した I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA、

(i i i) I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA 及び I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び、

(i v) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする mRNA、

からなる群から選択される、前記脂質ナノ粒子。

E 6 8 . 前記少なくとも 2 種の mRNA は、

(i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする mRNA、

(i i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする mRNA、I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA、及び I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする mRNA、

(i i i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする mRNA、及び I L - 1 5 R α ポリペプチドに機能的に連結した I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA、

(i v) I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA、I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする mRNA、

(v) I L - 1 5 R α ポリペプチドに機能的に連結した I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする mRNA、

(v i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする mRNA、I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA、I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする mRNA、及び、

(v i i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする mRNA、I L - 1 5 R α ポリペプチドに機能的に連結した I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする mRNA、からなる群から選択される、実施形態 6 7 に記載の脂質ナノ粒子。

E 6 9 . O X 4 0 L ポリペプチドをコードする mRNA、I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA、I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする mRNA、を含む、脂質ナノ粒子。

E 7 0 .

(i) ヒト O X 4 0 L ポリペプチドをコードする mRNA であって、前記ヒト O X 4 0 L ポリペプチドは配列番号：1 に記載のアミノ酸配列を含む、前記 mRNA、

(i i) ヒト I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA であって、前記ヒト I L - 1 5 ポリペプチドは配列番号：1 7 に記載のアミノ酸配列を含む、前記 mRNA、

(i i i) ヒト I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする mRNA であって、前記ヒト I L - 1 5 R α ポリペプチドは配列番号：1 3 に記載のアミノ酸配列を含む、前記 mRNA、及び、

10

20

30

40

50

(i v) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト I L - 1 2 ポリペプチドをコードする mRNA であって、前記ヒト I L - 1 2 ポリペプチドは配列番号：61 に記載のアミノ酸配列を含む、前記 mRNA、
を含み、

約 20 ～ 60 % のモル比率のイオン性アミノ脂質、5 ～ 25 % のモル比率のリン脂質、25 ～ 55 % のモル比率の構造脂質、及び 0.5 ～ 15 % のモル比率の PEG 修飾脂質を含む、
脂質ナノ粒子。

E 7 1 .

(i) ヒト O X 4 0 L ポリペプチドをコードする mRNA であって、配列番号：11 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：11 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 % の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、前記 mRNA、

(i i) ヒト I L - 1 5 ポリペプチドをコードする mRNA であって、配列番号：122 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：122 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 % の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、前記 mRNA、

(i i i) ヒト I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする mRNA であって、配列番号：22 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：22 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 % の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、前記 mRNA、及び、

(i v) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト I L - 1 2 ポリペプチドをコードする mRNA であって、配列番号：60 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：60 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 % の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、前記 mRNA、
を含み、

約 20 ～ 60 % のモル比率のイオン性アミノ脂質、5 ～ 25 % のモル比率のリン脂質、25 ～ 55 % のモル比率の構造脂質、及び 0.5 ～ 15 % のモル比率の PEG 修飾脂質を含む、
脂質ナノ粒子。

E 7 2 . 1 : 1 : 1 : 1 の比率の O X 4 0 L : I L - 1 5 : I L - 1 5 R α : I L - 1 2 を含む、実施形態 6 8 から実施形態 7 1 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 7 3 . 腫瘍内送達用に製剤化される、実施形態 6 7 から実施形態 7 2 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 7 4 . 静脈内送達用に製剤化される、実施形態 6 7 から実施形態 7 2 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 7 5 . 約 20 ～ 60 % のモル比率のイオン性アミノ脂質、5 ～ 25 % のモル比率のリン脂質、25 ～ 55 % のモル比率の構造脂質、及び 0.5 ～ 15 % のモル比率の PEG 修飾脂質を含む、実施形態 6 7 から実施形態 6 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 7 6 . 約 50 % のモル比率のイオン性脂質、約 10 % のモル比率のリン脂質、約 38.5 % のモル比率のステロール、及び約 1.5 % のモル比率の PEG 修飾脂質を含む、実施形態 7 0 から実施形態 7 5 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 7 7 . 50 : 38.5 : 10 : 1.5 のモル比率のイオン性脂質：コレステロール：D S P C : PEG 修飾脂質を含む、実施形態 6 7 から実施形態 7 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 7 8 . 前記イオン性脂質は、例えば、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキサラン (D L i n - K C 2 - D M A)、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート (D L i n - M C 3 - D M A)、及びジ((Z)-ノン-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート (L 3 1 9) からなる群から選択される、実施形態 7 0 から実施形態 7 7 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 7 9 . 前記イオン性脂質は化合物 I I を含む、実施形態 7 0 から実施形態 7 8 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

10

20

30

40

50

E 8 0 . 約 2 0 ～ 6 0 % のモル比率の化合物 I I 、 5 ～ 2 5 % のモル比率のリン脂質、 2 5 ～ 5 5 % のモル比率のコレステロール、 及び 0 . 5 ～ 1 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含む、実施形態 6 7 から実施形態 7 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 8 1 . 約 5 0 % のモル比率の化合物 I I 、 約 1 0 % のモル比率のリン脂質、 約 3 8 . 5 % のモル比率のコレステロール、 及び 約 1 . 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含む、実施形態 8 0 に記載の脂質ナノ粒子。

E 8 2 . 前記 P E G 修飾脂質は P E G - D M G または化合物 I である、実施形態 7 0 から実施形態 8 1 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 8 3 . 5 0 : 3 8 . 5 : 1 0 : 1 . 5 のモル比率の化合物 I I : コレステロール : リン脂質 : 化合物 I または化合物 I I : コレステロール : D S P C : 化合物 I を含む、実施形態 6 7 から実施形態 8 2 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 8 4 . 4 0 : 3 8 . 5 : 2 0 : 1 . 5 のモル比率の化合物 I I : コレステロール : リン脂質 : 化合物 I または化合物 I I : コレステロール : D S P C : 化合物 I を含む、実施形態 6 7 から実施形態 8 2 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 8 5 . 骨髄性悪性腫瘍の治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法であって、実施形態 6 7 から実施形態 8 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子を前記対象に投与することを含む、前記方法。

E 8 6 . 免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドを投与することを更に含む、実施形態 8 5 に記載の方法。

E 8 7 . 前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドは P D - 1 、 P D - L 1 、 C T L A - 4 、 またはこれらの組み合わせを阻害する、実施形態 8 6 に記載の方法。

E 8 8 . 前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗体または前記抗体をコードする m R N A である、実施形態 8 7 に記載の方法。

E 8 9 . 前記抗体は、 C T L A - 4 に特異的に結合する抗 C T L A - 4 抗体またはその抗原結合フラグメント、 P D - 1 に特異的に結合する抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント、 P D - L 1 に特異的に結合する抗 P D - L 1 抗体またはその抗原結合フラグメント、 及びこれらの組み合わせである、実施形態 8 8 に記載の方法。

E 9 0 . 前記抗 P D - L 1 抗体はアテゾリズマブ、 アベルマブ、 またはデュルバルマブであり、前記抗 C T L A - 4 抗体はトレメリムマブまたはイピリムマブであり、前記抗 P D - 1 抗体はニボルマブまたはペンブロリズマブである、実施形態 8 9 に記載の方法。

E 9 1 . 個体における骨髄性悪性腫瘍を治療するまたは前記骨髄性悪性腫瘍の進行を遅らせるのに使用する、実施形態 6 7 から実施形態 8 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体であって、前記治療は前記脂質ナノ粒子の投与を含む、前記脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体。

E 9 2 . 個体における骨髄性悪性腫瘍を治療するまたは前記骨髄性悪性腫瘍の進行を遅らせるのに使用する、実施形態 6 7 から実施形態 8 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体であって、前記治療は、免疫チェックポイント阻害性ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、前記脂質ナノ粒子の投与を含む、前記脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体。

E 9 3 . 個体における骨髄性悪性腫瘍を治療するまたは前記骨髄性悪性腫瘍の進行を遅らせるための薬剤の製造における、実施形態 6 7 から実施形態 8 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体の使用であって、前記薬剤は前記脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含み、前記治療は前記薬剤の投与を含む、前記使用。

E 9 4 . 個体における骨髄性悪性腫瘍を治療するまたは前記骨髄性悪性腫瘍の進行を遅らせるための薬剤の製造における、実施形態 6 7 から実施形態 8 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体の使用であって、前記薬剤は前記脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含み、前記治療は、免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と

10

20

30

40

50

組み合わせた、前記薬剤の投与を含む、前記使用。

E 9 5 . 実施形態 6 7 から実施形態 8 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む容器、及び個体における骨髓性悪性腫瘍を治療するまたは前記骨髓性悪性腫瘍の進行を遅らせるための前記脂質ナノ粒子の投与のための取扱説明書を含む添付文書、を含むキット。

E 9 6 . 前記添付文書は、個体における骨髓性悪性腫瘍を治療するまたは前記骨髓性悪性腫瘍の進行を遅らせるための、免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、前記脂質ナノ粒子の投与のための取扱説明書を更に含む、実施形態 9 5 に記載のキット。

E 9 7 . 実施形態 6 7 から実施形態 8 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む容器、及び個体における骨髓性悪性腫瘍を治療するまたは前記骨髓性悪性腫瘍の進行を遅らせるための、薬剤単独または免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた前記薬剤の投与のための取扱説明書を含む添付文書、を含むキット。

E 9 8 . 対象における免疫応答を向上させるための方法であって、実施形態 6 7 から実施形態 8 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子を前記対象に投与することを含む、前記方法。

E 9 9 . 対象における T 細胞活性化を向上させるための方法であって、実施形態 6 7 から実施形態 8 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子を前記対象に投与することを含む、前記方法。

E 1 0 0 . 対象における NK 細胞活性化を向上させるための方法であって、実施形態 6 7 から実施形態 8 4 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子を前記対象に投与することを含む、前記方法。

E 1 0 1 . 前記対象は骨髓性悪性腫瘍を有する、実施形態 9 8 から実施形態 1 0 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 0 2 . 免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドを投与することを更に含む、実施形態 9 8 から実施形態 1 0 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 0 3 . がんの治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法であって、

(i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする m R N A 、

(i i) I L - 1 5 R α ポリペプチドに機能的に連結した I L - 1 5 ポリペプチドをコードする m R N A 、

(i i i) I L - 1 5 ポリペプチドをコードする m R N A 及び I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする m R N A 、及び、

(i v) 膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする m R N A 、

からなる群から選択される少なくとも 2 種のメッセンジャー R N A (m R N A) を前記対象に投与することを含む、前記方法。

E 1 0 4 . 前記少なくとも 2 種の m R N A は、

(i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする m R N A 、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする m R N A 、

(i i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする m R N A 、 I L - 1 5 ポリペプチドをコードする m R N A 、及び I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする m R N A 、

(i i i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする m R N A 、及び I L - 1 5 R α ポリペプチドに機能的に連結した I L - 1 5 ポリペプチドをコードする m R N A 、

(i v) I L - 1 5 ポリペプチドをコードする m R N A 、 I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする m R N A 、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする m R N A 、

(v) I L - 1 5 R α ポリペプチドに機能的に連結した I L - 1 5 ポリペプチドをコードする m R N A 、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする m R N A 、

10

20

30

40

50

(v i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする m R N A、I L - 1 5 ポリペプチドをコードする m R N A、I L - 1 5 R α ポリペプチドをコードする m R N A、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする m R N A、及び、

(v i i) O X 4 0 L ポリペプチドをコードする m R N A、I L - 1 5 R α ポリペプチドに機能的に連結した I L - 1 5 ポリペプチドをコードする m R N A、及び膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結した I L - 1 2 ポリペプチドをコードする m R N A、からなる群から選択される、実施形態 1 0 3 に記載の方法。

E 1 0 5 . 前記 O X 4 0 L ポリペプチドは、配列番号：1 に記載のアミノ酸配列または配列番号：1 に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 1 0 3 または実施形態 1 0 4 に記載の方法。

E 1 0 6 . 前記 O X 4 0 L ポリペプチドは、配列番号：1 1 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：1 1 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 8 0 % の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態 1 0 5 に記載の方法。

E 1 0 7 . 前記 I L - 1 2 ポリペプチドは、I L - 1 2 p 3 5 サブユニット (I L - 1 2 A) ポリペプチドに機能的に連結した I L - 1 2 p 4 0 サブユニット (I L - 1 2 B) ポリペプチドを含む、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 0 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 0 8 . 前記 I L - 1 2 B ポリペプチドは、ペプチドリンカーにより、前記 I L - 1 2 A ポリペプチドに機能的に連結している、実施形態 1 0 7 に記載の方法。

E 1 0 9 . 前記 I L - 1 2 B ポリペプチドは前記 I L - 1 2 A ポリペプチドの 5 ' 末端または前記ペプチドリンカーの 5 ' 末端に位置している、または、前記 I L - 1 2 A ポリペプチドは前記 I L - 1 2 B ポリペプチドの 5 ' 末端または前記ペプチドリンカーの 5 ' 末端に位置している、実施形態 1 0 8 に記載の方法。

E 1 1 0 . 前記 I L - 1 2 ポリペプチド膜貫通ドメインは I 型内在性膜タンパク質に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 0 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 1 1 . 前記 I L - 1 2 ポリペプチド膜貫通ドメインは、分化抗原群 8 (C D 8) 膜貫通ドメイン、血小板由来増殖因子受容体 (P D G F R) 膜貫通ドメイン、及び分化抗原群 8 0 (C D 8 0) 膜貫通ドメインからなる群から選択される、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 0 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 1 2 . 前記 P D G F R β 膜貫通ドメインは配列番号：4 2 に記載のアミノ酸配列を含み、前記 C D 8 膜貫通ドメインは配列番号：4 1 に記載のアミノ酸配列を含み、前記 C D 8 0 膜貫通ドメインは配列番号：4 3 に記載のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 1 1 に記載の方法。

E 1 1 3 . 前記 I L - 1 2 ポリペプチド膜ドメインは細胞内ドメインを含む、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 1 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 1 4 . 前記細胞内ドメインは前記膜貫通ドメインと同一のポリペプチドに由来している、または前記細胞内ドメインは前記膜貫通ドメインが由来するポリペプチドとは異なるポリペプチドに由来している、実施形態 1 1 3 に記載の方法。

E 1 1 5 . 前記細胞内ドメインは、P D G F R 細胞内ドメイン、トランケート P D G F R 細胞内ドメイン、及び C D 8 0 細胞内ドメインからなる群から選択される、実施形態 1 1 3 に記載の方法。

E 1 1 6 . 前記細胞内ドメインは、配列番号：4 8 に記載のアミノ酸配列を含む P D G F R β 細胞内ドメインを含む P D G F R 細胞内ドメインである、実施形態 1 1 5 に記載の方法。

E 1 1 7 . 前記細胞内ドメインは、E 5 7 0 または G 7 3 9 においてトランケートされた P D G F R β 細胞内ドメインを含むトランケート P D G F R 細胞内ドメインである、実施形態 1 1 5 に記載の方法。

E 1 1 8 . 前記 E 5 7 0 においてトランケートされたトランケート P D G F R β 細胞内ド

10

20

30

40

50

メインは配列番号：４９に記載のアミノ酸配列を含み、前記Ｇ７３９においてランケートされたランケートＰＤＧＦＲβ膜貫通は配列番号：５０に記載のアミノ酸配列を含む、実施形態１１７に記載の方法。

Ｅ１１９．前記細胞内ドメインは、配列番号：４７に記載のアミノ酸配列を含むＣＤ８０細胞内ドメインである、実施形態１１５に記載の方法。

Ｅ１２０．前記ＩＬ－１２ポリペプチド膜ドメインは、

（ｉ）ＰＤＧＦＲβ膜貫通ドメイン及びＰＤＧＦＲβ細胞内ドメイン、

（ｉｉ）ＰＤＧＦＲβ膜貫通ドメイン及びＥ５７０においてランケートされたランケートＰＤＧＦＲβ細胞内ドメイン、

（ｉｉｉ）ＰＤＧＦＲβ膜貫通ドメイン及びＧ７３９においてランケートされたランケートＰＤＧＦＲβ細胞内ドメイン、または、

（ｉｖ）ＣＤ８０膜貫通ドメイン及びＣＤ８０細胞内ドメイン、を含む、実施形態１０３から実施形態１１９のいずれか１つに記載の方法。

Ｅ１２１．前記ＩＬ－１２ポリペプチド膜ドメインはペプチドリンカーにより前記ＩＬ－１２Ａポリペプチドに機能的に連結している、または、前記ＩＬ－１２ポリペプチド膜ドメインはペプチドリンカーにより前記ＩＬ－１２Ｂポリペプチドに機能的に連結している、実施形態１０３から実施形態１２０のいずれか１つに記載の方法。

Ｅ１２２．前記ＩＬ－１５Ｒαポリペプチドはｓｕｓｈｉドメインを含む、実施形態１０３から実施形態１２１のいずれか１つに記載の方法。

Ｅ１２３．前記ＩＬ－１５Ｒαポリペプチドは細胞内ドメイン及び膜貫通ドメインを更に含む、実施形態１２２に記載の方法。

Ｅ１２４．前記細胞内ドメイン及び前記膜貫通ドメインはＩＬ－１５Ｒαに由来している、実施形態１２３に記載の方法。

Ｅ１２５．前記細胞内ドメイン及び前記膜貫通ドメインは非相同ポリペプチドに由来している、実施形態１２３に記載の方法。

Ｅ１２６．前記ＩＬ－１５ポリペプチドは、配列番号：１７に記載のアミノ酸配列または配列番号：１７に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態１０３から実施形態１２５のいずれか１つに記載の方法。

Ｅ１２７．前記ＩＬ－１５ポリペプチドは、配列番号：１２２に記載のヌクレオチド配列または配列番号：１２２に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも８０％の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態１２６に記載の方法。

Ｅ１２８．前記ＩＬ－１５Ｒαポリペプチドは、配列番号：１３に記載のアミノ酸配列または配列番号：１３に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態１０３から実施形態１２７のいずれか１つに記載の方法。

Ｅ１２９．前記ＩＬ－１５Ｒαポリペプチドは、配列番号：２２に記載のヌクレオチド配列または配列番号：２２に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも８０％の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態１２８に記載の方法。

Ｅ１３０．ＩＬ－１５Ｒαポリペプチドに機能的に連結した前記ＩＬ－１５ポリペプチドは、配列番号：２３、２７、及び１２３のうちのいずれか１つに記載のアミノ酸配列または配列番号：２３、２７、及び１２３のうちのいずれか１つに記載のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態１０３から実施形態１２１のいずれか１つに記載の方法。

Ｅ１３１．ＩＬ－１５Ｒαポリペプチドに機能的に連結した前記ＩＬ－１５ポリペプチドは、配列番号：２４～２６、２８～３０、及び１２４～１２６のうちのいずれか１つに記載のヌクレオチド配列または配列番号：２４～２６、２８～３０、及び１２４～１２６のうちのいずれか１つに記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも８０％の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態１３０に記載の方法。

10

20

30

40

50

E 1 3 2 . 前記がんは固形腫瘍である、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 3 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 3 3 . 前記固形腫瘍は免疫抑制性腫瘍微小環境を含む、実施形態 1 3 2 に記載の方法。

E 1 3 4 . 前記固形腫瘍は免疫チェックポイント阻害剤療法に対して反応を示さない、実施形態 1 3 2 から実施形態 1 3 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 3 5 . 前記がんは播種性がんである、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 3 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 3 6 . 前記播種性がんは血液がんである、実施形態 1 3 5 に記載の方法。

E 1 3 7 . 前記播種性がんは骨髄性悪性腫瘍である、実施形態 1 3 5 に記載の方法。

E 1 3 8 . 前記骨髄性悪性腫瘍は、骨髄異形成症候群 (MDS)、骨髄増殖性疾患 (MPD)、及び急性骨髄性白血病 (AML) からなる群から選択される、実施形態 1 3 7 に記載の方法。

E 1 3 9 . 前記骨髄性悪性腫瘍はAMLである、実施形態 1 3 8 に記載の方法。

E 1 4 0 . 前記少なくとも 2 種の mRNA は腫瘍内投与される、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 3 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 4 1 . 前記少なくとも 2 種の mRNA は静脈内投与される、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 3 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 4 2 . 前記がんは固形腫瘍であり、前記少なくとも 2 種の mRNA は腫瘍内投与される、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 3 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 4 3 . 前記がんは播種性がんであり、前記少なくとも 2 種の mRNA は静脈内投与される、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 3 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 4 4 . ヒト患者における播種性がんを治療するための方法であって、

(i) ヒト OX40L をコードする第 1 の mRNA、及び、

(ii) 免疫増強因子をコードする少なくとも 1 種の第 2 の mRNA であって、前記免疫増強因子は T 細胞、NK 細胞、または T 細胞と NK 細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである、前記少なくとも 1 種の第 2 の mRNA、
を前記患者に全身投与することを含み、

前記第 1 の mRNA 及び前記第 2 の mRNA は、同一のまたは異なる脂質ナノ粒子内に封入されている、

前記方法。

E 1 4 5 . ヒト患者における播種性がんを治療するための方法であって、脂質ナノ粒子 (LNP) 及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を前記患者に全身投与することを含み、前記 LNP は、

(i) ヒト OX40L をコードする第 1 の mRNA、及び、

(ii) 免疫増強因子をコードする少なくとも 1 種の第 2 の mRNA であって、前記免疫増強因子は T 細胞、NK 細胞、または T 細胞と NK 細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである、前記少なくとも 1 種の第 2 の mRNA、
を含む、前記方法。

E 1 4 6 . ヒト患者における播種性がんを治療するための方法であって、

(i) ヒト OX40L をコードする第 1 の mRNA 及び免疫増強因子をコードする少なくとも 1 種の第 2 の mRNA を含む第 1 の分割用量の医薬組成物であって、前記免疫増強因子は T 細胞、NK 細胞、または T 細胞と NK 細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである、前記第 1 の分割用量の医薬組成物、

(ii) 少なくとも 1 回の第 2 の分割用量の前記医薬組成物、
を含む投与レジメンを前記患者に実施することを含み、

前記第 1 の分割用量及び前記第 2 の分割用量は、同一投与期間中の単回用量の同量の mRNA と比較して、前記患者における前記 mRNA コードポリペプチドへの曝露を増加させることにより、前記患者における前記播種性がんを治療する、
前記方法。

E 1 4 7 . 前記第 1 の分割用量及び前記第 2 の分割用量は、単回用量の同量の mRNA と

10

20

30

40

50

比較して前記治療の抗腫瘍効果を向上させる、実施形態 146 に記載の方法。

E148. 前記第 1 の分割用量及び前記第 2 の分割用量は、毒性を抑制して忍容性をより良好にしつつ抗腫瘍効果を向上させる、実施形態 146 及び実施形態 147 のいずれか 1 つに記載の方法。

E149. 前記 OX40L ポリペプチドは、配列番号：1 に記載のアミノ酸配列または配列番号：1 に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 144 から実施形態 146 のいずれか 1 つに記載の方法。

E150. 前記 OX40L ポリペプチドは、配列番号：11 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：11 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80% の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態 149 に記載の方法。

10

E151. 前記細胞結合サイトカインは、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドである、実施形態 144 から実施形態 150 のいずれか 1 つに記載の方法。

E152. 前記細胞結合サイトカインはトランス提示ヒト IL-15 である、実施形態 144 から実施形態 150 のいずれか 1 つに記載の方法。

E153. 前記トランス提示ヒト IL-15 は、ヒト IL-15 R α ポリペプチドに機能的に連結したヒト IL-15 ポリペプチドである、実施形態 152 に記載の方法。

E154. 前記トランス提示ヒト IL-15 は、ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする第 1 の mRNA 及び IL-15 R α ポリペプチドをコードする第 2 の mRNA によってコードされている、実施形態 152 に記載の方法。

20

E155. 第 2 の免疫増強因子をコードする第 3 の mRNA を投与することを含む、実施形態 150 から実施形態 154 のいずれか 1 つに記載の方法であって、前記免疫増強因子は T 細胞、NK 細胞、または T 細胞と NK 細胞の両方を活性化させる細胞結合サイトカインである、前記方法。

E156. 前記第 2 の免疫増強因子は、膜貫通ドメインを含む膜ドメインに機能的に連結したヒト IL-12 ポリペプチドである、実施形態 155 に記載の方法。

E157. 前記 IL-12 ポリペプチドは、IL-12 p35 サブユニット (IL-12A) ポリペプチドに機能的に連結した IL-12 p40 サブユニット (IL-12B) ポリペプチドを含む、実施形態 150 及び実施形態 156 のいずれか 1 つに記載の方法。

30

E158. 前記 IL-12B ポリペプチドは、ペプチドリンカーにより、前記 IL-12A ポリペプチドに機能的に連結している、実施形態 157 に記載の方法。

E159. 前記 IL-12B ポリペプチドは前記 IL-12A ポリペプチドの 5' 末端または前記ペプチドリンカーの 5' 末端に位置している、または、前記 IL-12A ポリペプチドは前記 IL-12B ポリペプチドの 5' 末端または前記ペプチドリンカーの 5' 末端に位置している、実施形態 158 に記載の方法。

E160. 前記 IL-12 ポリペプチド膜貫通ドメインは I 型内在性膜タンパク質に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 150 及び実施形態 155 から実施形態 159 のいずれか 1 つに記載の方法。

E161. 前記 IL-12 ポリペプチド膜貫通ドメインは、分化抗原群 8 (CD8) 膜貫通ドメイン、血小板由来増殖因子受容体 (PDGFR) 膜貫通ドメイン、及び分化抗原群 80 (CD80) 膜貫通ドメインからなる群から選択される、実施形態 150 及び実施形態 155 から実施形態 159 のいずれか 1 つに記載の方法。

40

E162. 前記 PDGFR β 膜貫通ドメインは配列番号：42 に記載のアミノ酸配列を含み、前記 CD8 膜貫通ドメインは配列番号：41 に記載のアミノ酸配列を含み、前記 CD80 膜貫通ドメインは配列番号：43 に記載のアミノ酸配列を含む、実施形態 161 に記載の方法。

E163. 前記 IL-12 ポリペプチド膜ドメインは細胞内ドメインを含む、実施形態 150 及び実施形態 155 から実施形態 162 のいずれか 1 つに記載の方法。

E164. 前記細胞内ドメインは前記膜貫通ドメインと同一のポリペプチドに由来してい

50

る、または前記細胞内ドメインは前記膜貫通ドメインが由来するポリペプチドとは異なるポリペプチドに由来している、実施形態 163 に記載の方法。

E 165 . 前記細胞内ドメインは、PDGFR 細胞内ドメイン、トランケート PDGFR 細胞内ドメイン、及び CD80 細胞内ドメインからなる群から選択される、実施形態 163 に記載の方法。

E 166 . 前記細胞内ドメインは、配列番号：48 に記載のアミノ酸配列を含む PDGFR β 細胞内ドメインを含む PDGFR 細胞内ドメインである、実施形態 165 に記載の方法。

E 167 . 前記細胞内ドメインは、E 570 または G 739 においてトランケートされた PDGFR β 細胞内ドメインを含むトランケート PDGFR 細胞内ドメインである、実施形態 165 に記載の方法。

E 168 . 前記 E 570 においてトランケートされたトランケート PDGFR β 細胞内ドメインは配列番号：49 に記載のアミノ酸配列を含み、前記 G 739 においてトランケートされたトランケート PDGFR β 膜貫通は配列番号：50 に記載のアミノ酸配列を含む、実施形態 167 に記載の方法。

E 169 . 前記細胞内ドメインは、配列番号：47 に記載のアミノ酸配列を含む CD80 細胞内ドメインである、実施形態 165 に記載の方法。

E 170 . 前記 IL-12 ポリペプチド膜ドメインは、

(i) PDGFR β 膜貫通ドメイン及び PDGFR β 細胞内ドメイン、

(ii) PDGFR β 膜貫通ドメイン及び E 570 においてトランケートされたトランケート PDGFR β 細胞内ドメイン、

(iii) PDGFR β 膜貫通ドメイン及び G 739 においてトランケートされたトランケート PDGFR β 細胞内ドメイン、または、

(iv) CD80 膜貫通ドメイン及び CD80 細胞内ドメイン、

を含む、実施形態 148 及び実施形態 153 から実施形態 159 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 171 . 前記 IL-12 ポリペプチド膜ドメインはペプチドリinkerにより前記 IL-12A ポリペプチドに機能的に連結している、または、前記 IL-12 ポリペプチド膜ドメインはペプチドリinkerにより前記 IL-12B ポリペプチドに機能的に連結している、実施形態 150 及び実施形態 155 から実施形態 170 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 172 . 前記 IL-15 R α ポリペプチドは sushidメインを含む、実施形態 153 から実施形態 171 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 173 . 前記 IL-15 R α ポリペプチドは細胞内ドメイン及び膜貫通ドメインを更に含む、実施形態 172 に記載の方法。

E 174 . 前記細胞内ドメイン及び前記膜貫通ドメインは IL-15 R α に由来している、実施形態 173 に記載の方法。

E 175 . 前記細胞内ドメイン及び前記膜貫通ドメインは非相同ポリペプチドに由来している、実施形態 173 に記載の方法。

E 176 . 前記 IL-15 ポリペプチドは、配列番号：17 に記載のアミノ酸配列または配列番号：17 に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 153 から実施形態 175 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 177 . 前記 IL-15 ポリペプチドは、配列番号：122 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：122 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80% の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態 176 に記載の方法。

E 178 . 前記 IL-15 R α ポリペプチドは、配列番号：13 に記載のアミノ酸配列または配列番号：13 に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 153 から実施形態 177 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 179 . 前記 IL-15 R α ポリペプチドは、配列番号：22 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：22 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80% の同一性を

10

20

30

40

50

有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態 178 に記載の方法。

E180. IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結した前記 IL-15 ポリペプチドは、配列番号：23、27、及び 123 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列または配列番号：23、27、及び 123 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 152 及び実施形態 154 から実施形態 171 のいずれか 1 つに記載の方法。

E181. IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結した前記 IL-15 ポリペプチドは、配列番号：24~26、28~30、及び 124~126 のうちのいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列または配列番号：24~26、28~30、及び 124~126 のうちのいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80% の同一性を有するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってコードされている、実施形態 180 に記載の方法。

E182. それぞれの mRNA は 3' 非翻訳領域 (UTR) を含む、先行実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

E183. 前記 3' UTR は少なくとも 1 つのマイクロ RNA (miR) 結合部位を含む、実施形態 182 に記載の方法。

E184. 前記少なくとも 1 つの miR 結合部位は miR-122 結合部位である、実施形態 183 に記載の方法。

E185. 前記 miR-122 結合部位は miR-122-3p 結合部位または miR-122-5p 結合部位である、実施形態 184 に記載の方法。

E186. 前記 miR-122-5p 結合部位は配列番号：83 に記載のヌクレオチド配列を含み、前記 miR-122-3p 結合部位は配列番号：74 に記載のヌクレオチド配列を含む、実施形態 185 に記載の方法。

E187. それぞれの mRNA は、配列番号：77 または配列番号：121 に記載のヌクレオチド配列を含む 3' UTR を含む、実施形態 103 から実施形態 181 のいずれか 1 つに記載の方法。

E188. それぞれの mRNA は 5' 非翻訳領域 (UTR) を含む、先行実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

E189. 前記 5' UTR は配列番号：12 または配列番号：76 に記載のヌクレオチド配列を含む、実施形態 188 に記載の方法。

E190. それぞれの mRNA は少なくとも 1 つの化学修飾を含む、先行実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

E191. 前記化学修飾は、シュードウリジン、N1-メチルシュードウリジン、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、5-メチルシトシン、2-チオ-1-メチル-1-デアザシュードウリジン、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、2-チオ-5-アザウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシシュードウリジン、4-チオ-1-メチル-シュードウリジン、4-チオ-シュードウリジン、5-アザウリジン、ジヒドロシュードウリジン、5-メチルウリジン、5-メチルウリジン、5-メトキシウリジン、及び 2'-O-メチルウリジンからなる群から選択される、実施形態 190 に記載の方法。

E192. それぞれの mRNA 内のウリジンのうちの少なくとも 95% は N1-メチルシュードウリジンである、実施形態 103 から実施形態 189 のいずれか 1 つに記載の方法。

E193. それぞれの mRNA 内のウリジンのうちの少なくとも 99% は N1-メチルシュードウリジンである、実施形態 192 に記載の方法。

E194. それぞれの mRNA 内のウリジンのうちの 100% は N1-メチルシュードウリジンである、実施形態 192 に記載の方法。

E195. それぞれの mRNA は同一脂質ナノ粒子内に配合されている、先行実施形態のいずれか 1 つに記載の方法。

10

20

30

40

50

E 1 9 6 . それぞれの mRNA は別々の脂質ナノ粒子内に配合されている、実施形態 1 0 3 から実施形態 1 4 4 及び実施形態 1 4 6 から実施形態 1 9 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 9 7 . 前記脂質ナノ粒子は、約 2 0 ～ 6 0 % のモル比率のイオン性アミノ脂質、5 ～ 2 5 % のモル比率のリン脂質、2 5 ～ 5 5 % のモル比率の構造脂質、及び 0 . 5 ～ 1 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含む、実施形態 1 9 5 から実施形態 1 9 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 1 9 8 . 前記脂質ナノ粒子は、約 5 0 % のモル比率のイオン性脂質、約 1 0 % のモル比率のリン脂質、約 3 8 . 5 % のモル比率のステロール、及び約 1 . 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含む、実施形態 1 9 5 から実施形態 1 9 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

E 1 9 9 . 前記脂質ナノ粒子は、5 0 : 3 8 . 5 : 1 0 : 1 . 5 のモル比率のイオン性脂質：コレステロール：D S P C : P E G 修飾脂質を含む、実施形態 1 9 5 から実施形態 1 9 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 2 0 0 . 前記イオン性脂質は、例えば、2 , 2 - ジリノレイル - 4 - ジメチルアミノエチル - [1 , 3] - ジオキソラン (D L i n - K C 2 - D M A) 、ジリノレイル - メチル - 4 - ジメチルアミノブチレート (D L i n - M C 3 - D M A) 、及びジ ((Z) - ノン - 2 - エン - 1 - イル) 9 - ((4 - (ジメチルアミノ) ブタノイル) オキシ) ヘプタデカンジオエート (L 3 1 9) からなる群から選択される、実施形態 1 9 7 から実施形態 1 9 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 2 0 1 . 前記イオン性脂質は化合物 I I を含む、実施形態 1 9 7 から実施形態 1 9 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

E 2 0 2 . 前記脂質ナノ粒子は、約 2 0 ～ 6 0 % のモル比率の化合物 I I 、5 ～ 2 5 % のモル比率のリン脂質、2 5 ～ 5 5 % のモル比率のコレステロール、及び 0 . 5 ～ 1 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含む、実施形態 1 9 5 から実施形態 1 9 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 2 0 3 . 前記脂質ナノ粒子は、約 5 0 % のモル比率の化合物 I I 、約 1 0 % のモル比率のリン脂質、約 3 8 . 5 % のモル比率のコレステロール、及び約 1 . 5 % のモル比率の P E G 修飾脂質を含む、実施形態 2 0 2 に記載の方法。

E 2 0 4 . 前記 P E G 修飾脂質は P E G - D M G または化合物 I である、実施形態 1 9 7 から実施形態 2 0 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

30

E 2 0 5 . 前記脂質ナノ粒子は、5 0 : 3 8 . 5 : 1 0 : 1 . 5 のモル比率の化合物 I I : コレステロール : リン脂質 : 化合物 I または化合物 I I : コレステロール : D S P C : 化合物 I を含む、実施形態 1 9 5 から実施形態 1 9 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 2 0 6 . 前記脂質ナノ粒子は、4 0 : 3 8 . 5 : 2 0 : 1 . 5 のモル比率の化合物 I I : コレステロール : リン脂質 : 化合物 I または化合物 I I : コレステロール : D S P C : 化合物 I を含む、実施形態 1 9 5 から実施形態 1 9 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 2 0 7 . チェックポイント阻害剤ポリペプチドを投与することを含む、実施形態 1 0 3 から実施形態 2 0 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 2 0 8 . 前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドは P D - 1 、 P D - L 1 、 C T L A - 4 、またはこれらの組み合わせを阻害する、実施形態 2 0 7 に記載の方法。

40

E 2 0 9 . 前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗体または前記抗体をコードする mRNA である、実施形態 2 0 8 に記載の方法。

E 2 1 0 . 前記抗体は、C T L A - 4 に特異的に結合する抗 C T L A - 4 抗体またはその抗原結合フラグメント、P D - 1 に特異的に結合する抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント、P D - L 1 に特異的に結合する抗 P D - L 1 抗体またはその抗原結合フラグメント、及びこれらの組み合わせである、実施形態 2 0 9 に記載の方法。

E 2 1 1 . 前記抗 P D - L 1 抗体はアテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブであり、前記抗 C T L A - 4 抗体はトレメリムマブまたはイビリムマブであり、前記抗 P D - 1 抗体はニボルマブまたはペンブロリズマブである、実施形態 2 1 0 に記載の方法。

E 2 1 2 . 少なくとも 2 種の封入メッセンジャー RNA (mRNA) を含む脂質ナノ粒子

50

であって、前記少なくとも 2 種の mRNA は、

(i) OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、

(ii) IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結した IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、

(iii) IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA 及び IL-15R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び、

(iv) IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、

からなる群から選択される、前記脂質ナノ粒子。

E213. 前記少なくとも 2 種の mRNA は、

(i) OX40L ポリペプチドをコードする mRNA 及び IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、

(ii) OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及び IL-15R α ポリペプチドをコードする mRNA、

(iii) OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、及び IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結した IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、

(iv) IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、IL-15R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、

(v) IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結した IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及び IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、

(vi) OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、IL-15R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、及び、

(vii) OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、IL-15R α ポリペプチドに機能的に連結した IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、及び IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、

からなる群から選択される、実施形態 212 に記載の脂質ナノ粒子。

E214. OX40L ポリペプチドをコードする mRNA、IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA、IL-15R α ポリペプチドをコードする mRNA、及び IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA、を含む脂質ナノ粒子。

E215.

(i) ヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA であって、前記ヒト OX40L ポリペプチドは配列番号：1 に記載のアミノ酸配列を含む、前記 mRNA、

(ii) ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA であって、前記ヒト IL-15 ポリペプチドは配列番号：17 に記載のアミノ酸配列を含む、前記 mRNA、

(iii) ヒト IL-15R α ポリペプチドをコードする mRNA であって、前記ヒト IL-15R α ポリペプチドは配列番号：13 に記載のアミノ酸配列を含む、前記 mRNA、及び、

(iv) ヒト IL-12 ポリペプチドをコードする mRNA であって、前記ヒト IL-12 ポリペプチドは配列番号：61 に記載のアミノ酸配列を含む、前記 mRNA、

約 20～60% のモル比率のイオン性アミノ脂質、5～25% のモル比率のリン脂質、25～55% のモル比率の構造脂質、及び 0.5～15% のモル比率の PEG 修飾脂質を含む、

脂質ナノ粒子。

E216.

(i) ヒト OX40L ポリペプチドをコードする mRNA であって、配列番号：11 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：11 に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80% の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、前記 mRNA、

(ii) ヒト IL-15 ポリペプチドをコードする mRNA であって、配列番号：122 に記載のヌクレオチド配列または配列番号：122 に記載のヌクレオチド配列に対して

10

20

30

40

50

少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、前記mRNA、

(iii) ヒトIL-15R α ポリペプチドをコードするmRNAであって、配列番号：22に記載のヌクレオチド配列または配列番号：22に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、前記mRNA、及び、

(iv) ヒトIL-12ポリペプチドをコードするmRNAであって、配列番号：60に記載のヌクレオチド配列または配列番号：60に記載のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、前記mRNA、
を含み、

約20～60%のモル比率のイオン性アミノ脂質、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率の構造脂質、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含む、
脂質ナノ粒子。

E217. 1:1:1:1の比率のOX40L:IL-15:IL-15R α :IL-12を含む、実施形態213から実施形態216のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E218. 腫瘍内送達用に製剤化される、実施形態212から実施形態217のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E219. 静脈内送達用に製剤化される、実施形態212から実施形態217のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E220. 約20～60%のモル比率のイオン性アミノ脂質、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率の構造脂質、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含む、実施形態212から実施形態214のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E221. 約50%のモル比率のイオン性脂質、約10%のモル比率のリン脂質、約38.5%のモル比率のステロール、及び約1.5%のモル比率のPEG修飾脂質を含む、実施形態215から実施形態220のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E222. 50:38.5:10:1.5のモル比率のイオン性脂質:コレステロール:DSPC:PEG修飾脂質を含む、実施形態212から実施形態219のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E223. 前記イオン性脂質は、例えば、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(DLin-KC2-DMA)、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート(DLin-MC3-DMA)、及びジ((Z)-ノン-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート(L319)からなる群から選択される、実施形態215から実施形態222のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E224. 前記イオン性脂質は化合物IIを含む、実施形態215から実施形態223のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E225. 約20～60%のモル比率の化合物II、5～25%のモル比率のリン脂質、25～55%のモル比率のコレステロール、及び0.5～15%のモル比率のPEG修飾脂質を含む、実施形態212から実施形態219のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E226. 約50%のモル比率の化合物II、約10%のモル比率のリン脂質、約38.5%のモル比率のコレステロール、及び約1.5%のモル比率のPEG修飾脂質を含む、実施形態225に記載の脂質ナノ粒子。

E227. 前記PEG修飾脂質はPEG-DMGまたは化合物Iである、実施形態215から実施形態226のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E228. 50:38.5:10:1.5のモル比率の化合物II:コレステロール:リン脂質:化合物Iまたは化合物II:コレステロール:DSPC:化合物Iを含む、実施形態212から実施形態227のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E229. 40:38.5:20:1.5のモル比率の化合物II:コレステロール:リン脂質:化合物Iまたは化合物II:コレステロール:DSPC:化合物Iを含む、実施形態212から実施形態227のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E230. がんの治療を必要とする対象においてそれを実施するための方法であって、実

10

20

30

40

50

実施形態 2 1 2 から実施形態 2 2 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子を前記対象に投与することを含む、前記方法。

E 2 3 1 . 前記がんは播種性がんまたは固形腫瘍である、実施形態 2 3 0 に記載の方法。

E 2 3 2 . 前記播種性がんは骨髄性悪性腫瘍である、実施形態 2 3 1 に記載の方法。

E 2 3 3 . 免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドを投与することを更に含む、実施形態 2 3 0 から実施形態 2 3 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 2 3 4 . 前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドは P D - 1、P D - L 1、C T L A - 4、またはこれらの組み合わせを阻害する、実施形態 2 3 3 に記載の方法。

E 2 3 5 . 前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗体または前記抗体をコードする m R N A である、実施形態 2 3 4 に記載の方法。

E 2 3 6 . 前記抗体は、C T L A - 4 に特異的に結合する抗 C T L A - 4 抗体またはその抗原結合フラグメント、P D - 1 に特異的に結合する抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント、P D - L 1 に特異的に結合する抗 P D - L 1 抗体またはその抗原結合フラグメント、及びこれらの組み合わせである、実施形態 2 3 5 に記載の方法。

E 2 3 7 . 前記抗 P D - L 1 抗体はアテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブであり、前記抗 C T L A - 4 抗体はトレメリムマブまたはイピリムマブであり、前記抗 P D - 1 抗体はニボルマブまたはペンブロリズマブである、実施形態 2 3 6 に記載の方法。

E 2 3 8 . 個体におけるがんを治療するまたは前記がんの進行を遅らせるのに使用する、実施形態 2 1 2 から実施形態 2 2 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体であって、前記治療は前記脂質ナノ粒子の投与を含む、前記脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体。

E 2 3 9 . 個体におけるがんを治療するまたは前記がんの進行を遅らせるのに使用する、実施形態 2 1 2 から実施形態 2 2 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体であって、前記治療は、免疫チェックポイント阻害性ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、前記脂質ナノ粒子の投与を含む、前記脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体。

E 2 4 0 . 前記がんは播種性がんまたは固形腫瘍である、実施形態 2 3 8 から実施形態 2 3 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 2 4 1 . 個体におけるがんを治療するまたは前記がんの進行を遅らせるための薬剤の製造における、実施形態 2 1 2 から実施形態 2 2 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体の使用であって、前記薬剤は前記脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含み、前記治療は前記薬剤の投与を含む、前記使用。

E 2 4 2 . 個体におけるがんを治療するまたは前記がんの進行を遅らせるための薬剤の製造における、実施形態 2 1 2 から実施形態 2 2 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体の使用であって、前記薬剤は前記脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含み、前記治療は、免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、前記薬剤の投与を含む、前記使用。

E 2 4 3 . 前記がんは播種性がんまたは固形腫瘍である、実施形態 2 4 1 から実施形態 2 4 2 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子の使用。

E 2 4 4 . 実施形態 2 1 2 から実施形態 2 2 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む容器、及び個体におけるがんを治療するまたは前記がんの進行を遅らせるための前記脂質ナノ粒子の投与のための取扱説明書を含む添付文書、を含むキット。

E 2 4 5 . 前記添付文書は、個体におけるがんを治療するまたは前記がんの進行を遅らせるための、免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、前記脂質ナノ粒子の投与のための取扱説明書を更に含む、実施形態 2 4 4 に記載のキット。

E 2 4 6 . 実施形態 2 1 2 から実施形態 2 2 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子及び

10

20

30

40

50

任意選択的な薬学的に許容される担体を含む容器、及び個体におけるがんを治療するまたは前記がんの進行を遅らせるための、薬剤単独または免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意選択的な薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた前記薬剤の投与のための取扱説明書を含む添付文書、を含むキット。

E 2 4 7 . 前記がんは播種性がんまたは固形腫瘍である、実施形態 2 4 4 から実施形態 2 4 6 のいずれか 1 つに記載のキット。

E 2 4 8 . 対象における免疫応答を向上させるための方法であって、実施形態 2 1 2 から実施形態 2 2 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子を前記対象に投与することを含む、前記方法。

E 2 4 9 . 対象における T 細胞活性化を向上させるための方法であって、実施形態 2 1 2 から実施形態 2 2 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子を前記対象に投与することを含む、前記方法。

E 2 5 0 . 対象における N K 細胞活性化を向上させるための方法であって、実施形態 2 1 2 から実施形態 2 2 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子を前記対象に投与することを含む、前記方法。

E 2 5 1 . 前記対象はがんを有する、実施形態 2 4 8 から実施形態 2 5 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 2 5 2 . 前記がんは播種性がんまたは固形腫瘍である、実施形態 2 5 1 に記載の方法。

E 2 5 3 . 免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドを投与することを更に含む、実施形態 2 4 8 から実施形態 2 5 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

E 2 5 4 .

(i) イオン性脂質、

(i i) ステロールまたはその他の構造脂質、

(i i i) 請求項 1 から請求項 7 6 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド、

(i v) 任意選択的に、非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、及び、

(v) 任意選択的に、 P E G 脂質、

を含む、実施形態 2 1 2 から実施形態 2 1 4 及び実施形態 2 1 8 から実施形態 2 1 9 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

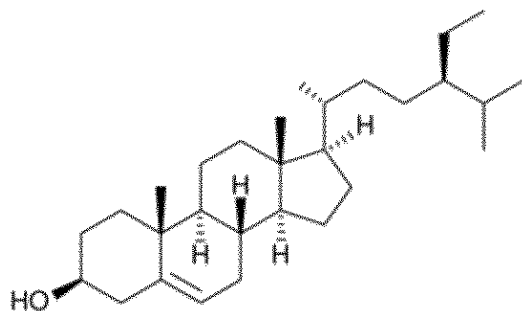
E 2 5 5 . フィトステロールまたはフィトステロール及びコレステロールの組み合わせを含む、実施形態 2 5 4 に記載の脂質ナノ粒子。

E 2 5 6 . 前記フィトステロールは、 β -シトステロール、スティグマステロール、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、実施形態 2 5 5 に記載の脂質ナノ粒子。

E 2 5 7 . 前記フィトステロールはシトステロールまたはその塩もしくはエステルを含む、実施形態 2 5 5 に記載の脂質ナノ粒子。

E 2 5 8 . 前記フィトステロールはスティグマステロールまたはその塩もしくはエステルを含む、実施形態 2 5 5 に記載の脂質ナノ粒子。

E 2 5 9 . 前記フィトステロールは β -シトステロール



またはその塩もしくはエステルである、実施形態 2 5 5 に記載の脂質ナノ粒子。

E 2 6 0 . 前記フィトステロールまたはその塩もしくはエステルは、 β -シトステロール

、 β -シトスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール、化合物S-140、化合物S-151、化合物S-156、化合物S-157、化合物S-159、化合物S-160、化合物S-164、化合物S-165、化合物S-170、化合物S-173、化合物S-175、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、実施形態254に記載の脂質ナノ粒子。

E261. 前記フィトステロールは β -シトステロールである、実施形態260に記載の脂質ナノ粒子。

E262. 前記フィトステロールは β -シトスタノールである、実施形態260に記載の脂質ナノ粒子。

E263. 前記フィトステロールはカンペステロールである、実施形態260に記載の脂質ナノ粒子。

E264. 前記フィトステロールはブラシカステロールである、実施形態260に記載の脂質ナノ粒子。

E265. 前記イオン性脂質は、式(I I)、(I IA)、(I IB)、(I II)、(I I Ia)、(I I Ib)、(I I Ic)、(I I Id)、(I I Ie)、(I I If)、(I I Ig)、(I I II)、(I VI)、(I VI-a)、(I VII)、(I VII I)、(I VII Ia)、(I VII Ia)、(I VII Ib)、(I VII Ib-1)、(I VII Ib-2)、(I VII Ib-3)、(I VII Ic)、(I VII Id)、(I VII Ic)、(I VII Id)、(I IX)、(I IX a1)、(I IX a2)、(I IX a3)、(I IX a4)、(I IX a5)、(I IX a6)、(I IX a7)、または(I IX a8)のいずれかの化合物を含む、実施形態254から実施形態264のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E266. 前記イオン性脂質は、化合物X、化合物Y、化合物I-48、化合物I-50、化合物I-109、化合物I-111、化合物I-113、化合物I-181、化合物I-182、化合物I-244、化合物I-292、化合物I-301、化合物I-309、化合物I-317、化合物I-321、化合物I-322、化合物I-326、化合物I-328、化合物I-330、化合物I-331、化合物I-332、化合物I-347、化合物I-348、化合物I-349、化合物I-350、化合物I-352、及び化合物I-Mからなる群から選択される化合物を含む、実施形態254から実施形態264のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E267. 前記イオン性脂質は、化合物X、化合物Y、化合物I-321、化合物I-292、化合物I-326、化合物I-182、化合物I-301、化合物I-48、化合物I-50、化合物I-328、化合物I-330、化合物I-109、化合物I-111、及び化合物I-181からなる群から選択される化合物を含む、実施形態254から実施形態264のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E268. 前記LNPはリン脂質を含み、前記リン脂質は、DSPC、DMPE、及び化合物H-409からなる群から選択される化合物を含む、実施形態254から実施形態267のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E269. 前記LNPはPEG脂質を含む、実施形態254から実施形態268のいずれか1つに記載の脂質ナノ粒子。

E270. 前記PEG脂質は、PEG-修飾ホスファチジルエタノールアミン、PEG-修飾ホスファチジン酸、PEG-修飾セラミド、PEG-修飾ジアルキルアミン、PEG-修飾ジアシルグリセロール、PEG-修飾ジアルキルグリセロール、及びこれらの混合物からなる群から選択される、実施形態269に記載の脂質ナノ粒子。

E271. 前記PEG脂質は、化合物P-415、化合物P-416、化合物P-417、化合物P-419、化合物P-420、化合物P-423、化合物P-424、化合物P-428、化合物P-L1、化合物P-L2、化合物P-L3、化合物P-L4、化合物P-L6、化合物P-L8、化合物P-L9、化合物P-L16、化合物P-L17、化合物P-L18、化合物P-L19、化合物P-L22、化合物P-L23、及び化合物P-L25からなる群から選択される化合物を含む、実施形態270に記載の脂質ナノ

10

20

30

40

50

粒子。

E 2 7 2 . 前記 P E G 脂質は、化合物 P - 4 2 8、化合物 P L - 1 6、化合物 P L - 1 7、化合物 P L - 1 8、化合物 P L - 1 9、化合物 P L - 1、及び化合物 P L - 2 からなる群から選択される化合物を含む、実施形態 2 7 1 に記載の脂質ナノ粒子。

E 2 7 3 . 約 3 0 m o l % ~ 約 6 0 m o l % のイオン性脂質、約 0 m o l % ~ 約 3 0 m o l % の非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、約 1 8 . 5 m o l % ~ 約 4 8 . 5 m o l % のステロールまたはその他の構造脂質、及び約 0 m o l % ~ 約 1 0 m o l % の P E G 脂質を含む、実施形態 2 5 4 から実施形態 2 7 2 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 2 7 4 . 約 3 5 m o l % ~ 約 5 5 m o l % のイオン性脂質、約 5 m o l % ~ 約 2 5 m o l % の非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、約 3 0 m o l % ~ 約 4 0 m o l % のステロールまたはその他の構造脂質、及び約 0 m o l % ~ 約 1 0 m o l % の P E G 脂質を含む、実施形態 2 5 4 から実施形態 2 7 2 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 2 7 5 . 約 5 0 m o l % のイオン性脂質、約 1 0 m o l % の非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、約 3 8 . 5 m o l % のステロールまたはその他の構造脂質、及び約 1 . 5 m o l % の P E G 脂質を含む、実施形態 2 5 4 から実施形態 2 7 2 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 2 7 6 . 前記ステロールまたはその他の構造脂質の m o l % は 1 8 . 5 % のフィトステロールであり、構造脂質の総 m o l % は 3 8 . 5 % である、実施形態 2 5 4 から実施形態 2 7 5 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

E 2 7 7 . 前記ステロールまたはその他の構造脂質の m o l % は 2 8 . 5 % のフィトステロールであり、構造脂質の総 m o l % は 3 8 . 5 % である、実施形態 2 5 4 から実施形態 2 7 5 のいずれか 1 つに記載の脂質ナノ粒子。

【実施例】

【1 0 5 2】

本開示は、以下の実施例を参照することによって、より完全に理解されるであろう。しかしながら、以下の実施例は、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。本明細書に記載の実施例及び実施形態は、単に例示目的のためであること、それらを鑑みた様々な修正または変更が当業者に想起され、本出願の趣旨及び範囲、ならびに添付の特許請求の範囲の範囲内に含まれるということを理解されたい。

【1 0 5 3】

実施例 1 : A M L 細胞株の L N P トランスフェクション効率

本実施例では、A M L 細胞の *i n v i t r o* トランスフェクション効率を最適化するために、トランスフェクション条件及び L N P 構成成分についての試験を行った。

【1 0 5 4】

第 1 のシリーズの実験では、ヒト血清、マウス血清、ヒト免疫グロブリン (I g M または I g G)、ヒト P B M C、またはヒト補体 (ヒト血清、ヒト I g M、及び / またはヒト I g G と共にまたはそれなしで) の存在下または不在下の条件で、L N P 内の m R N A を A M L 細胞にトランスフェクションした。結果 (データは省略) は、ヒト血清、ヒト P B M C、ヒト補体、またはヒト補体及びヒト免疫グロブリンを加えると、A M L 細胞株の *i n v i t r o* トランスフェクション効率が上昇することを示した。結果は、L N P 内の m R N A の A M L 細胞取り込みには、免疫グロブリン認識と、免疫グロブリン上への補体の付着に続く補体受容体結合の両方が必要であることを示唆している。

【1 0 5 5】

第 2 のシリーズの実験では、異なる P E G 修飾脂質を含有する L N P を用いた、A M L 細胞の *i n v i t r o* トランスフェクションを比較した。5 0 % のイオン性アミノ脂質 (化合物 X)、1 0 % のリン脂質、3 8 . 5 % のコレステロール、及び 1 . 5 % の P E G 修飾脂質を含むように脂質ナノ粒子を配合したが、P E G 修飾脂質は、1 , 2 - ジミリス トイル - s n - グリセロール メトキシポリエチレングリコール (P E G - D M G) または化合物 4 2 8 のいずれかであった。ヒト血清の存在下または不在下において、(i) L N P なし、(i i) 化合物 X / P E G - D M G L N P、または (i i i) 化合物 X / 化

10

20

30

40

50

合物 428 LNP を、Kasumi-1 AML 細胞に *in vitro* でトランスフェクションした。結果を図 1 に示すが、ヒト血清の存在下における、化合物 X / PEG-DMG LNP または化合物 X / 化合物 428 LNP のいずれかの AML 細胞への効率的なトランスフェクションを示している。

【1056】

第 3 のシリーズの実験では、化合物 X / PEG-DMG LNP 及び化合物 X / 化合物 428 LNP を比較したトランスフェクション効果について、一連の AML 細胞株 (ATCC または DSMZ) を試験した。結果を以下の表 17 にまとめる。

表 17：異なる LNP を用いた AML 細胞のトランスフェクション効率の比較

細胞株	性質	PEG DMG		化合物 428	
		-HS*	+HS	-HS	+HS
HEL	赤白血病	90.1	99.9	89.9	99.8
MOLM-13	単球	3.9	69.7	3.5	53.7
Kasumi-1	骨髄芽球	2.88	87.6	1.52	85.7
MV-4-11	骨髄性単球	0	65.5	1.2	60.8
NOMO-1	骨髄芽球	54.8	99.3	4	35
OCI-AML5	単球	0	1.71	0	0.4
MOLM-16	巨核芽球	99.7	99.9	90	99
KG-1	マクロファージ	2.1	6.1	0.3	6.6
HL-60	前骨髄芽球	0	22.7	0.1	2.3
GDM-1	単芽球	0.4	3.1	0.1	13
EOL-1	好酸球	0.04	7.9	0.043	1.6

*HS = ヒト血清

【1057】

更なる実験では、原発性 AML 細胞への LNP のトランスフェクション効率を評価した。具体的には、LNP をヒト血清でオプソニン化した後、化合物 X / PEG-DMG LNP または化合物 X / 化合物 428 LNP を、8 種の異なる原発性 AML 試料にトランスフェクションした。結果を図 2 に示すが、化合物 X / PEG-DMG LNP または化合物 X / 化合物 428 LNP のいずれかの AML 細胞への効率的なトランスフェクションを示している。

【1058】

結果は、化合物 X / PEG-DMG LNP 及び化合物 X / 化合物 428 LNP が、試験した異なる細胞株において同等のトランスフェクション効率を発揮していることを示している。

【1059】

実施例 2：OX40L mRNA、IL-12 mRNA、及び IL-15 mRNA を用いた組み合わせ療法による腫瘍増殖の阻害

本実施例では、急性骨髄性白血病 (AML) のマウス腫瘍モデルを使用して、固形腫瘍及び播種性がんにおける、mOX40L をコードする mRNA、mIL-12 をコードする mRNA、及び hIL-15 / IL-15Rα をコードする mRNA を用いた組み合わせ療法の効果を試験した。

【1060】

DBA / 2 マウスの皮下に AML 腫瘍を樹立した。マウス AML 細胞 P388D1 (ATCC 番号 CCL-46; ATCC, Manassas, VA) を供給業者の取扱説明書に従い培養した。細胞をマウスに皮下接種して皮下腫瘍を生成した。サイズ及び触知性に

ついて腫瘍をモニターした。この株の細胞起源及びマウスにおけるその増殖特性を考慮すると、P388D1細胞は、播種性がんと固形腫瘍の両方のためのモデルとして機能している。

【1061】

腫瘍が樹立されると、動物を3つの群に分けた。群1は、対照mRNA NST (12.5 µg) で治療し、群2は、mOX40LをコードするmRNA (5 µg)、及びhIL-15 Rαのsushidメイン (hIL-15 RLI) に連結したhIL-15をコードするmRNA (5 µg) で治療し、群3は、mOX40LをコードするmRNA (5 µg)、hIL-15 RLIをコードするmRNA (5 µg)、及びmIL-12をコードするmRNA (2.5 µg) で治療した。mOX40LをコードするmRNAは、配列番号：3に記載のアミノ酸配列をコードしている。IL-15 RLIをコードするmRNAは、配列番号：32を含むオープンリーディングフレームを含み、配列番号：31に記載のアミノ酸配列をコードしている。群2においては、動物あたり12.5 µgの総mRNA用量を達成するために、対照mRNA NSTもまた含ませた。50%のイオン性アミノ脂質 (化合物X)、10%のリン脂質、38.5%のコレステロール、及び1.5%のPEG脂質を含む別々の脂質ナノ粒子内にmRNAを配合した。それぞれの群の腫瘍内投与は、腫瘍移植の7日後に開始して、7日に1回 (Q7D) とした。群1及び群2は、3回の用量で治療した。群3は、使用した用量レベルで若干の毒性が認められたことから、単回用量で治療した。

【1062】

結果を図3A (群1)、図3B (群2)、及び図3C (群3) のグラフで示すが、それらは時間の経過に伴う腫瘍容積を示している。

【1063】

mOX40Lのみを用いた治療と比較して、mOX40L及びhIL-15 RLIを用いた二重組み合わせ療法がより緩やかな腫瘍増殖をもたらし、その一方で、mOX40L、hIL-15 RLI、及びmIL-12を用いた三重組み合わせ療法が有意な腫瘍増殖阻害 (1匹については完全寛解が認められた) をもたらしたことを結果が示している。これらの結果は、がんにおけるmRNA組み合わせ療法の効果を示している。

【1064】

実施例3：細胞結合IL-15構築物及びテザー型IL-15構築物のin vitro発現及び生物活性

がんにおける抗腫瘍効果を向上させる潜在能を評価するために、IL-15をトランス提示することができる、細胞結合IL-15構築物をコードするmRNA (複数可) を作製した。

【1065】

具体的には、IL-15ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列及びmiRNA結合部位 (miR-122) を3' UTR内に含むmRNAを調製した。配列は、ヒトIL-15及びIL-15 Rα (sushidメイン及び膜貫通ドメインを含む) をコードするhIL-15+hIL-15 Rα (細胞結合IL-15、それぞれ配列番号：17及び13) (図4A)、全長ヒトIL-15 Rαに連結したヒトIL-15をコードするhIL-15__IL-15 Rα (テザー型IL-15、配列番号：27) (図4B)、及び、リンカーを介してIL-15に連結したIL-15 Rα sushidメインのキメラをコードするhIL-15 RLI (配列番号：31) (図4C)、sushidメインならびにCD80に由来する膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインに連結したヒトIL-15をコードするhIL-15__CD80TID (テザー型IL-15、配列番号：123) (図4D)、であった。mRNAオープンリーディングフレーム配列をそれぞれ、配列番号：122、22、28、32、及び124に示す。それぞれのmRNAは、配列番号：117または配列番号：12に記載の配列を有する5' UTR、及び配列番号：121または配列番号：77に記載の配列を有する3' UTRを含んでいた。

【1066】

細胞結合IL-15構築物は、別々の構成要素をコードする2種の独立したmRNAを含み、IL-15は、IL-15R α sushidメインに高親和性で結合することにより、IL-15をIL-15R α 発現細胞に限定する。テザー型IL-15は、細胞膜上に天然に発現しているIL-15R α に連結したIL-15サイトカインを有する融合タンパク質をもたらすことにより、IL-15R α が発現している細胞にIL-15をテザーする。

【1067】

トランスフェクションの前日に、HeLa細胞を6ウェルプレート(BD Biosciences, San Jose, USA)上に播種した。次に、ウェルあたり150 μ LのOpti-MEM中の2 μ gのmRNA及び4 μ Lのリポフェクタミン2000を使用して、hIL-15+hIL-15R α を含むmRNA、hIL-15__IL-15R α を含むmRNA、hIL-15 RLIを含むmRNA、またはhIL-15__CD80TIDを含むmRNAを個別に、HeLa細胞にトランスフェクションしてから、培養を行った。トランスフェクション試薬に曝露した、mRNAを含まないHeLa細胞は、陰性対照(すなわち、「模擬」)としての役割を果たした。4時間後にトランスフェクション培地を除去して、残りの培養期間用に新鮮な増殖培地に交換した。24時間後、それぞれのウェルから上清を回収し、一定量の溶解バッファーを使用してそれぞれのウェル内の細胞を溶解した。その後、それぞれのウェルの上清中及び溶解物中におけるIL-15の量(ng/ウェル)を標準的なELISAアッセイで定量した。

【1068】

図5Aは、テザー型IL-15(hIL-15__IL-15R α)が溶解物中においてのみ発現し、上清においては発現していないことを示しており、細胞への正常なテザーが暗示されている。それに対し、hIL-15 RLIに加えて、hIL-15及びhIL-15R α をコードする独立したmRNAは、上清と溶解物の両方においてIL-15発現をもたらした。

【1069】

生物活性を評価するために、言及した構築物のうちの1種をトランスフェクションしたHeLa細胞培養液に由来する固定数のマイトマイシンC処理済みHeLa細胞(HeLa細胞培養液に由来する固定希釈率の上清を更に含む)と共に、25,000のCTL-2細胞を培養した。1:1のモル比率で共に混合した組換えヒトIL-15及びヒトIL-15R α (rhIL-15/IL-15R α)をまた、陰性対照培養液の一部に加えた(「模擬+rhIL-15/IL-15R α 」)。72時間の培養後、製造業者の取扱説明書に従いCellTiter-Glo(登録商標)発光細胞生存アッセイキット(Promega Corporation, Madison, WI)を使用して、それぞれの培養液中のCTL-2細胞の増殖を測定した。

【1070】

図5Bは、試験した全てのIL-15構築物がT細胞増殖を誘導していることを示しており、それぞれの構築物の生物活性を暗示している。

【1071】

同一構築物をコードする異なるmRNA型を使用した追加の実験を実施して、IL-15構築物の発現を試験した。方法は上記と同一であった。具体的には、リポフェクタミンを用いたHeLa細胞のトランスフェクションの24時間後に、溶解物及び上清を回収した。R&D SystemsのIL-15/IL-15R α 複合体ELISAキット(DY6924)を使用して発現を測定した。tPA6シグナルペプチドを有するhIL-15__IL-15R α (「tPA6 IL15-IL-15R α 」)は、配列番号:28、29(var2)、または30(var3)によってコードされ、IgEシグナルペプチドを有するhIL-15__IL-15Ra(「IgE IL15-IL15R α 」)は、配列番号:24、25(var2)、または26(var3)によってコードされ、hIL-15__CD80TID(「tPA6 ILRLinker80TID」)は、配列番号:124、125(var2)、または126(var3)によってコードされていた。独

立したmRNAがhIL-15及びhIL-15Raをコードしている(Hs IL15_mod/Hs IL15Ra mod1)。図5Cは、様々なmRNAをトランスフェクションした細胞の上清中及び溶解物中におけるIL-15のタンパク質発現を示している。図5Dは、上清発現/溶解物発現+上清発現として算出した、タンパク質発現のパーセントを示している。これらの結果は、上清中における低発現がひとえに全体的な低発現によるものではなく、上清中において最終的に翻訳された総タンパク質のより低いパーセンテージによるものであるということを暗示した。更に、これらの結果は、CD80の膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインに連結したhIL-15をトランスフェクションした細胞の上清中において発現がほとんどないことを示している。

【1072】

実施例4：テザー型サイトカインmRNA及び細胞結合サイトカインmRNAを用いたAML治療の更なる特性解析

本実施例では、C1498腫瘍モデルを使用して、テザー型サイトカインmRNA構築物及び細胞結合サイトカインmRNA構築物を用いた治療の効果について更に試験を行った。C1498 AML細胞が皮下腫瘍(すなわち、固形腫瘍)を形成するために使用されることから、C1498腫瘍モデルを使用して、播種性がんと固形腫瘍の両方における効果を確認した。実施例3に記載の細胞結合ヒトIL-15構築物をコードするmRNAを使用することに加えて、テザー型マウスIL-12をコードするmRNAもまた使用した。具体的には、リンカーによりマウスPGFRB膜貫通ドメインに連結したマウスIL-12ポリペプチド(mIL-12PTM)をコードするmRNAを調製した。アミノ酸配列は配列番号：45において提供され、オープンリーディングフレームは配列番号：44において提供されている。

【1073】

C57BL/6マウスにC1498同系皮下腫瘍を樹立してから、LNP内の単一mRNA(mOX40Lまたは細胞結合hIL-15/IL-15RαまたはmIL-12TM)構築物、二重mRNA(mOX40L+細胞結合hIL-15/IL-15Rα)構築物、または三重mRNA(mOX40L+細胞結合hIL-15/IL-15Rα+mIL-12TM)構築物を用いて、それらのマウスを腫瘍内治療した。50%のイオン性アミノ脂質(化合物X)、10%のリン脂質、38.5%のコレステロール、及び1.5%のPEG修飾脂質を含むようにLNPを配合したが、PEG修飾脂質は1,2-ジミリスチル-sn-グリセロールメトキシポリエチレングリコール(PEG-DMG)であった。LNP内の合計12.5μgのmRNAでマウスを治療した。mOX40L構築物及びhIL-15/IL-15Rα構築物をそれぞれ5μgのmRNAで使用し、mIL-12TM構築物を、5μgのmRNAで単一の薬剤として使用し、組み合わせで使用する場合、必要に応じてNST対照mRNAを使用して総mRNAが12.5μgとなるように、2.5μgのmRNAを使用した。

【1074】

図6A~図6Fに提供する結果は、単一mRNA薬剤(図6B、図6C、及び図6D)、二重mRNA組み合わせ(図6E)、または三重mRNA組み合わせ(図6F)のいずれかで治療したマウスの65日間にわたる腫瘍容積で測定した腫瘍の増殖を示している。C1498皮下腫瘍モデルにおいて三重組み合わせが非常に効果的(6匹においては完全寛解(CR)が認められた)であることを結果が示している。

【1075】

図7A~図7Cに提供する結果は、様々な単一薬剤(図7A)、様々なmOX40L+hIL-15/IL-15Rα二重(図7B)、及び様々なmOX40L+hIL-15/IL-15Rα+mIL-12TM三重(図7C)で治療したマウスの生存率を示している。テザー型サイトカインを使用したmOX40L+hIL-15/IL-15Rα+mIL-12TM三重組み合わせが、C1498皮下腫瘍モデルにおいて、マウスの生存率を有意に向上させたことを結果が示した。

【1076】

反復実験は類似した腫瘍増殖阻害を示し、三重腫瘍内治療の効果が再現可能であることを示した。第2の試験の結果（ $n=15$ ）及び2つの試験の合算結果（ $n=30$ ）を表18にまとめるが、対照、一重mRNA、または三重mRNA組み合わせのいずれかで治療したマウスの65日間にわたる腫瘍容積で測定した腫瘍の増殖を示している。

表18：C1498腫瘍モデルにおける組み合わせmRNAの効果

mRNA	合算 CR	% CR (n=30)
NST	0	0
mOX40L	5/30	17
hIL-15/15R α	4/30	13
mIL-12TM	5/30	17
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM	14/30	47

【1077】

mOX40L + hIL-15 / IL-15R α + mIL-12TMの組み合わせが47%の完全寛解（CR）率を示した一方で、単一薬剤のCR率は13～17%であり、腫瘍内投与した際に、三重組み合わせが任意の単一薬剤と比較してより効果的であることを示した。更に、全ての応答動物の再誘発が再増殖をもたらさなかったことから、持続的な抗腫瘍免疫応答が示唆された。

【1078】

加えて、mOX40L + hIL-15 / IL-15R α + mIL-12TM三重を用いた単回用量の治療の効果及び、三重を用いた複数回用量の治療（Q7D $\times$ 3）の効果について、合計4回の独立した試験（合計で $n=59$ ）で比較を行った。加えて、三重の単回用量レジメンまたは複数回用量レジメンを、mOX40L + mIL-12TM及びmIL-12TM + hIL-15 / IL-15R α の二重組み合わせと比較した。代表的な試験（ $n=15$ ）の結果（NST対照と比較）を表19にまとめ、三重組み合わせの4回の腫瘍内試験の結果もまたまとめている（表19）。

表19：単回用量及び複数可用量の組み合わせmRNAの効果

mRNA	投与スケジュール	CR	4回の試験の合算 CR, n=59 (% CR)
NST	単回用量及び複数回用量	0	NA
hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM	Q7D $\times$ 3	5/15	NA
mOX40L + mIL-12TM	Q7D $\times$ 3	8/15	NA
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM	単回	4/15	24 (41%)
	Q7D $\times$ 3	7/15	31 (53%)

【1079】

単回用量腫瘍内治療レジメンと複数回用量腫瘍内治療レジメンの両方が腫瘍増殖の阻害に効果的であり、複数回投与に有意な利点が認められないことを結果が示した。結果はまた、二重組み合わせの効果を示し、mOX40L + mIL-12TMの組み合わせは、このモデルにおいて、複数回用量の三重組み合わせと同様に効果的であった。

【1080】

総じて、これらの結果は、テザー型サイトカインまたは細胞結合サイトカイン及び共刺激分子（例えば、OX40L）の組み合わせが、播種性がん及び固形腫瘍を含むがんにお

ける抗腫瘍効果をもたらすことを示している。

【1081】

実施例5：テザー型サイトカインmRNA及び免疫チェックポイント阻害剤を用いたAMLの組み合わせ治療

本実施例では、実施例4に記載のC1498腫瘍モデルを使用して、免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせた、テザー型サイトカインmRNA構築物及び細胞結合サイトカインmRNA構築物を用いた治療の効果について試験を行った。LNP封入三重mOX40L+hIL-15/IIL-15R α +mIL-12TM mRNA構築物を単独で、または、BioXCellの抗mCTLA-4抗体、抗mPD-L1抗体、または抗mPD-L1抗体のいずれかを用いた治療と組み合わせて用いて、マウスを腫瘍内治療した。三重mRNA用の単回用量治療レジメン及び複数回用量治療レジメンを試験した。複数回投与では、2週間にわたり週に1回(Q7D $\times$ 2)または3週間にわたり週に1回(Q7D $\times$ 3)でmRNA構築物を投与した。NST mRNA構築物を、単独でまたは免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて、陰性対照として使用した。

【1082】

第1のシリーズの実験では、抗mCTLA-4抗体治療(10mg/kg、2週間にわたり週に2回、合計4回の用量)と組み合わせた単回用量のmOX40L+hIL-15/IIL-15R α +mIL-12TM三重mRNA組み合わせ(12.5 μ g、腫瘍内)を用いて、マウス(n=12)を治療した。結果を表20に示す。

表20：抗mCTLA-4抗体との組み合わせの効果

mRNA (単回用量)	α mCTAL-4 (10mpk ; BIWx2)	CR
NST	-	0/12
	+	0/12
mOX40L + hIL-15/15R α + mIL-12TM	-	6/12
	+	9/12

【1083】

抗mCTLA-4免疫チェックポイント阻害剤を追加すると、単回用量のmOX40L+hIL-15/IIL-15R α +mIL-12TM三重mRNA構築物における完全寛解(CR)率の向上がもたらされることを結果が示した。より具体的には、単回用量の三重を単独で用いた腫瘍内治療では50%のCR率(6/12)が認められた一方で、単回用量の三重及び抗mCTLA-4治療の組み合わせでは75%のCR率(9/12)がもたらされた。

【1084】

第2のシリーズの実験では、抗mPD-L1抗体治療(10mg/kg、2週間にわたり週に2回、合計4回の用量)と組み合わせた単回用量または複数回用量のいずれか(3週間にわたり週に1回、合計3回の用量)のmOX40L+hIL-15/IIL-15R α +mIL-12TM三重mRNA組み合わせ(12.5 μ g、腫瘍内)を用いて、マウス(n=15)を治療した。単回用量実験では、抗mPD-L1治療を追加した場合、三重mRNAを単独で用いた治療と比較して、CRに有意な向上は認められなかった(データは省略)。複数回用量の三重mRNA治療の結果を表21に示す。

表21：免疫チェックポイント阻害剤との組み合わせmRNAの効果

10

20

30

40

50

	mRNA	投与スケジュール	チェックポイント阻害剤 (10mpk)	CR (% CR)
実験 2	NST	複数回用量 Q7Dx3	–	0
			α mPD-L1	1/15 (7)
	mOX40L + hIL-15/15R α + mIL-12TM	Q7Dx3	–	6/15 (40)
			α mPD-L1	12/15 (80)
実験 3	NST	Q7Dx3	–	0
		Q7Dx2	α mPD-L1	1/15 (7)
			α mPD-1	1/15 (7)
	mOX40L + hIL-15/15R α + mIL-12TM	Q7Dx2	–	5/15 (33)
			α mPD-L1	9/15 (60)
			α mPD-1	14/15 (93)

10

【1085】

抗mPD-L1免疫チェックポイント阻害剤を追加すると、複数回用量レジメンのmOX40L+hIL-15/IIL-15R α +mIL-12TM三重mRNA構築物における完全寛解（CR）率の向上がもたらされることを結果が示した。より具体的には、複数回用量レジメンの三重を単独で用いた腫瘍内治療では40%のCR率（6/15）が認められた一方で、複数回用量の三重及び抗mPD-L1治療の組み合わせでは80%のCR率（12/15）がもたらされた。

20

【1086】

第3のシリーズの実験では、抗mPD-L1抗体治療（10mg/kg、2週間にわたり週に2回、合計4回の用量）または抗mPD-1抗体治療（10mg/kg、2週間にわたり週に2回、合計4回の用量）と組み合わせた複数回用量（2週間にわたり週に1回、合計2回の用量）のmOX40L+hIL-15/IIL-15R α +mIL-12TM三重mRNA構築物（12.5 μ g、腫瘍内）を用いて、マウス（n=15）を治療した。結果を表21に示すが、抗mPD-L1免疫チェックポイント阻害剤または抗mPD-1免疫チェックポイント阻害剤を追加すると、mOX40L+hIL-15/IIL-15R α +mIL-12TM三重mRNA構築物における完全寛解（CR）率の向上がもたらされることを示している。より具体的には、複数回用量レジメンの三重を単独で用いた腫瘍内治療では33%のCR率（5/15）が認められた一方で、三重及び抗mPD-L1治療の組み合わせでは60%のCR率（9/15）がもたらされ、三重及び抗mPD-1治療の組み合わせでは93%のCR率（14/15）がもたらされた。

30

【1087】

これらの実験では、単回用量または複数回用量のいずれかを腫瘍内で用いた三重mRNA構築物単独における抗腫瘍効果が確認され、免疫チェックポイント阻害剤との組み合わせ治療が療法の効果を更に向上させ得ることが示された。

40

【1088】

実施例6：播種性AMLモデル及びmRNAを用いた治療の特性解析

AMLの治療における上記のmRNA構築物の組み合わせの効果を更に評価するために、AMLの播種性モデルを作製して、ヒトにおけるAML疾患の生理学的特性を再現した。AML細胞がGFP及びルシフェラーゼを発現することから、血液中のGFP+細胞の生物発光イメージング（BLI）及びフローサイトメトリー測定による白血病負荷量のモニターが可能となった。このようなAML細胞を尾静脈注射でC57BL/6マウスに静脈内移植した。BLIシグナルが移植後5日目の長骨及び脾臓において明白である一方で、GFP+細胞は移植後15日目の循環血液中においてフローサイトメトリーで検出可能

50

であった（データは省略）。それゆえ、このモデルは、疾患進行の期間にわたり様々な造血組織を増殖させることによりヒト疾患を再現する。

【1089】

OX40LをコードするmRNA、mIL-12TM（マウスPDGFR膜貫通ドメインに連結したマウスIL-12を含むテザー型IL-12構築物）をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15（ヒトIL-15及びヒトIL-15R α をコードする独立したmRNA）をコードするmRNAを上記のとおり調製した。50%のイオン性アミノ脂質（化合物X）、10%のリン脂質、38.5%のコレステロール、及び1.5%のPEG修飾脂質のモル比率を有する別々のLNP内にmRNAを配合したが、PEG修飾脂質は化合物428であった。

【1090】

移植の9日後に、トリス／スクロースを対照として、または2mg/kg（総mRNA）の、mOX40LをコードするmRNA、mIL-12TMをコードするmRNA、hIL-15をコードするmRNA、及びhIL-15R α をコードするmRNAをマウスに静脈内投与した。IVIS in vivoイメージングシステム（Perkin Elmer）でマウスをイメージングする5～10分前にルシフェリンをマウスに腹腔内投与することにより、90日間にわたり、BLIで光の放射量を測定した。図8Aは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを投与した場合に、3/5のマウスが測定可能なAML疾患を有していないことを示している。これらのマウスをAML細胞で再誘発すると、3/3のマウスは、70日目において測定可能なBLIシグナルを有していなかった（データは省略）。更に、再誘発後の21日目に血液を採取し、マウスCD45で共染色した組織試料中のAML細胞からの固有のGFP蛍光を検出してからBD LSRT Fortessaフローサイトメーターで解析することにより、血液1マイクロリットルあたりのGFP+細胞の数をフローサイトメトリーで測定した。図8Bは、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを投与されたマウスが、トリス／スクロースを投与されたマウスと比較して、GFP+細胞を減少させたことを示している。

【1091】

このモデルにおいて、単回用量の2mg/kgのmRNAで効果を得られたが、この用量レベルの毎週の反復用量で毒性イベントが認められたことがこれまでに判明したことから、別の試験を実施して投与レジメンに基づいた効果の変化を評価した。それゆえ、マウスAML細胞をマウスに移植してから、9日目に、移植の7日後に毎秒 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 光子のBLIシグナルを有するマウスに、上記のmOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを封入したLNPを静脈内投与した。3週間にわたり週に1回（Q7D $\times$ 3）で2mg/kgの総mRNA、3週間にわたる合計2mg/kgのmRNA（「分割用量」）、すなわち、3週間にわたる週に3回の0.22mg/kg（TIW $\times$ 3）、すなわち、週に0.67mg/kg、または、3週間にわたる週に1回の0.67mg/kgのいずれかをマウスに投与した。表22は移植後最大49日目までのBLI測定を示し、分割した低用量のmRNAは、ボラスで送達した毎週の同一用量よりも優れた効果、及び、3倍のmRNA総量を送達する高ボラス用量群と等しい効果を誘導した。

表22：分割用量の組み合わせmRNAの効果

10

20

30

40

50

mRNA	mRNA 用量 (m g/kg)	投与スケ ジュール	CR (% CR)
NST	2	QDx1	0
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM	2	Q7Dx3	7/12 (58)
	0.67	Q7Dx3	1/12 (8)
	0.22	TIWx3	5/12 (42)

10

【1092】

加えて、同一マウスの血液中のGFP+細胞の数を上記のとおり測定した。図9は、血液1マイクロリットルあたりのGFP+細胞の総数（左）、及びGFP+CD45+細胞のパーセンテージ（右）を示している。両方の投与レジメンが類似したレベルの血中GFP+細胞をもたらしたが、それは、対照を投与されたマウスと比較してより低いものであった。

【1093】

様々な用量を投与されたマウスの生存率もまた算出した。上記の投与レジメンに加えて、1群のマウスは、mRNAの組み合わせの2mg/kgの1回の用量を投与された。図10は、3週間にわたる週に1回の2mg/kgまたは3週間にわたる週に3回の0.22mg/kgを投与されたマウスにおけるより高い生存率を示す結果を提供する。

20

【1094】

mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせが防御免疫をもたらすかどうかを確認するために、組み合わせ治療に対して完全に応答したマウスを、尾静脈注射のマウスAML細胞で再誘発した。持続的なメモリー応答が再発を予防することから、効果的な免疫療法を開発する上で防御免疫は重要である。図11に示すとおり、全ての再誘発させた完全寛解動物は、再誘発後70日間、白血病を有さなかった。図12及び図13はそれぞれ、全ての再誘発マウスが生存し、血液中のGFP+細胞の数を測定した際に疾患負荷量を有していないことを示している。

30

【1095】

これらの結果は、OX40LをコードするmRNA、テザー型IL-12をコードするmRNA、及び細胞結合IL-15をコードするmRNAの組み合わせが、がん免疫療法における重要な特徴である防御免疫をもたらすことを示している。重要なことに、この効果はmRNAの静脈内投与で認められた。

【1096】

実施例7：播種性AMLモデル及び分割用量のmRNAを用いた治療の更なる特性解析
播種性AMLモデルにおける、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの効果は、実施例6に記載の投与レジメンに基づいて変化することが予想外に判明した。この発見を更に評価するために、2種の異なるLNP配合物を用いてmRNAの体内分布を評価した。

40

【1097】

具体的には、マウスAML細胞をマウスに移植した15日後に、実施例6に記載のLNP（LNP1）または50：10：10：28.5：1.5の比率で化合物X/コレステロール/ β -シトステロール/PEG-DMGを含むLNP（LNP2）内に配合された、mOX40LをコードするmRNAをマウスに投与した。 β -シトステロールを含有するこのような脂質ナノ粒子（LNP）については、2019年1月30日出願のPCT出願第PCT/US19/15913号（その内容全体は参照により明示的に本明細書に組み込まれる）において更に記載されている。

【1098】

50

2 mg/kg、0.67 mg/kg、または0.22 mg/kgの単回用量でmRNAを投与してから、投与の24時間後、フローサイトメトリーでmOX40L発現を解析した。代替的に、1週間にわたり週に3回(TIW)0.22 mg/kgをマウスに投与してから、第3の用量の24時間後、mOX40L発現を測定した。

【1099】

発現解析用に、末梢血、脾臓、及び骨髓から細胞を採取した。mOX40L発現用に、個々の細胞型、すなわち、GFP+AML細胞、CD3+T細胞、CD19+B細胞、CD11b+顆粒球/単球細胞、CD11c+樹状細胞、その他のCD11b+CD11c+骨髓細胞、及びTer119+赤血球系細胞を評価した。図14は、0.22 mg/kgをTIWで投与された両方のLNPの結果を提供しているが、トランスフェクション細胞の数または生成されるタンパク質の量に関し、ボーラス用量と比較して分割用量に明らかな利点がないことを示しており、試験した全ての投与レジメンにおいて一貫していた(データは省略)。AML細胞に加えて様々な正常造血細胞をin vivoでトランスフェクションした。評価した全ての造血組織において、樹状細胞が最もトランスフェクションされた細胞型であった。

【1100】

分割投与の効果を更に評価するために、播種性AML細胞を有するマウスにおける血清サイトカインレベルを評価した。2 mg/kgボーラスのmOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNA、または0.22 mg/kgの組み合わせのいずれかを、1週間にわたり週に3回マウスに投与した。54時間にわたり血清を採取し、Luminexビーズベース多検体イムノアッセイ(ThermoFisher Scientific, Waltham, MA)を使用して、いくつかの時点における、マウスIFN γ 、内在性マウスIL-15/IL-15R、及びマウスIP-10の発現を評価した。図15は結果を提供しているが、ボーラス用量が第1の用量の後に、送達するより多いmRNA用量に対応するより高いサイトカインレベルを誘導したが、第2の分割用量後に、投与後6時間においてサイトカインレベルがピークに到達している(より多いボーラス用量で達成されたサイトカインレベルよりも更に高い)ことを示している。

【1101】

mOX40Lをコードする単一のmRNA、テザー型mIL-12をコードする単一のmRNA、または細胞結合hIL-15をコードする単一のmRNA、または、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び/または細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせを投与されたマウスにおける血清サイトカインレベルを評価するために、追加の試験を実施した。上記のLNP1またはLNP2内に封入されたmRNAを週に3回投与し、それぞれの用量の6時間後及び24時間後に、マウスIFN γ 及びマウスIL-15/IL-15Rの解析用に血清を採取した。図16は結果を提供しているが、LNP配合物とは関係ない、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの三重組み合わせと、テザー型mIL-12及び細胞結合hIL-15をコードする二重組み合わせの両方に、血清レベルのスパイクを示している。この結果を追加の試験で確認した(データは省略)。これら3種の構成要素のその他の組み合わせでサイトカインもまた誘導されたが、血清サイトカインのより高いスパイクは、テザー型mIL-12と細胞結合hIL-15の両方を含む治療においてのみ認められた。

【1102】

別の試験では、異なる期間の長さにわたり同一用量で投与した、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの効果を評価した。具体的には、1週間、2週間、または3週間にわたる週に3回、または、3週間にわたる週に2回のいずれかで、別々のLNP(LNP1またはLNP2)内に配合された、0.22 mg/kgのmOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコー

ドするmRNAを、マウスに投与した。表23は、これらのmRNAの組み合わせの効果が、2週間または3週間にわたり投与した場合には類似しているが、1週間のみにわたり投与した場合には顕著により低いことを示している。投与スケジュールを1週間以上延長することにより、完全寛解率が40%から70～80%へと改善する。3週間にわたる週に2回または週に3回の投与においても類似した効果が示された。

表23：異なる投与スケジュールにおける組み合わせmRNAの効果

mRNA	用量 (mg/kg)	投与スケジュール	CR
NST	0.22	TIWx3	0
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM (LNP1)		TIWx1	6/10
		TIWx2	7/10
		TIWx3	8/10
		BIWx3	8/10
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM (LNP2)	0.22	TIWx3	10/10

【1103】

実施例8：播種性AMLモデルにおけるmRNA組み合わせ治療の効果の特性解析

とりわけ、分割投与を用いた、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせの高い抗白血病効果については、上記の実施例において記載している。この効果を更に評価するために、分割用量で投与される単一の治療薬及び二重組み合わせについて評価を行った。

【1104】

具体的には、mOX40LをコードするmRNA、細胞結合hIL-15をコードするmRNA、及びテザー型mIL-12をコードするmRNAを実施例6に記載のとおりLNP内に配合してから、マウス播種性AML細胞の移植後9日目に、単一の薬剤または組み合わせで、7日目において毎秒 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 光子のBLI測定を有するマウスに投与した。0.22mg/kgのmRNA(0.22mpk)を3週間にわたり週に3回(TIW $\times$ 3)マウスに投与した。表24は、BLIで測定した疾患負荷量を示している。対象と比較して、mOX40L及びテザー型mIL-12が単一の薬剤で疾患負荷量を低下させた一方で、細胞結合hIL-15は疾患負荷量を低下させなかった。テザー型mIL-12をコードするmRNAまたは細胞結合hIL-15をコードするmRNAにmOX40LをコードするmRNAを追加すると抗腫瘍効果が向上した一方で、テザー型mIL-12及び細胞結合hIL-15の組み合わせは極めてわずかな効果をもたらした。注目すべきことに、全てのmRNA(mOX40L、テザー型mIL-12、及び細胞結合hIL-15)の組み合わせが最も効果的であった。

表24：播種性AMLにおける単一mRNAまたは組み合わせmRNAの効果

10

20

30

40

50

mRNA	CR (80 日目)
NST	0/10
mOX40L	3/10
hIL-15/IL-15R α	0/10
mIL-12TM	6/10
mOX40L + hIL-15/IL-15R α	7/10
mOX40L + mIL-12TM	8/10
mIL-12TM + hIL-15/IL-15R α	1/10
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM	8/10

10

【1105】

加えて、様々な組み合わせを投与されたマウスの体重について評価を行った。具体的には、3週間にわたり週に3回0.22mg/kgの用量で、mOX40L+細胞結合hIL-15、mOX40L+テザー型mIL-12、細胞結合hIL-15+テザー型mIL-12、またはmOX40L+細胞結合hIL-15+テザー型mIL-12を投与されたマウスにおける、体重変化のパーセンテージを測定した。図17A～図17Dは結果を提供しているが、テザー型mIL-12及び細胞結合hIL-15の二重組み合わせが第1週において体重減少を引き起こしていることを示している。総じて、細胞結合hIL-15及びテザー型mIL-12を投与されたマウスにおける体重減少、サイトカインの強力な誘導、及び抗白血病効果の欠乏は、サイトカイン誘導が、必要とはなり得るが、効果を生じさせるには十分ではないことを示唆している。本実施例はまた、OX40Lが抗白血病効果に必要な構成要素であることを示した。

20

【1106】

実施例9：様々な用量の個々のmRNAにおける、播種性AMLモデルにおけるmRNA組み合わせ治療の効果の特性解析

これまでの実施例では、OX40LをコードするmRNA、テザー型IL-12をコードするmRNA、及び細胞結合IL-15をコードするmRNAを、同一の重量（質量）比率（1:1:1）の組み合わせで投与した。細胞結合IL-15をコードするmRNAがhIL-15をコードするmRNA及びhIL-15R α をコードするmRNAを含む場合、2種のmRNAは1:1のモル比率で配合された。組み合わせ内における個々の構成要素の化学量論の影響を評価するために、異なる比率についての評価を行った。

30

【1107】

実施例6に記載のとおり、播種性マウスAML細胞をマウスに移植した。移植の9日後、毎秒 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 光子のBLI測定を有するマウスに、特定の比率の以下のmRNA、1:1:1の重量（質量）比率のmOX40L:細胞結合hIL-15:テザー型mIL-12、1:1の重量（質量）比率のmOX40L:細胞結合hIL-15、1:1の重量（質量）比率のmOX40L:テザー型mIL-12、1:1の重量（質量）比率のテザー型mIL-12:細胞結合hIL-15、1:1:0.1の重量（質量）比率のmOX40L:細胞結合hIL-15:テザー型mIL-12、1:0.1:1の重量（質量）比率のmOX40L:細胞結合hIL-15:テザー型mIL-12、または0.1:1:1の重量（質量）比率のmOX40L:細胞結合hIL-15:テザー型mIL-12を、0.22mg/kgの総mRNA用量で3週間にわたり週に3回投与した。表25は結果を提供しているが、テザー型mIL-12及び細胞結合hIL-15の組み合わせが効果的ではなく場合により毒性ではあるが、mOX40Lをテザー型mIL-12の量及び細胞結合hIL-15の量の10分の1でも含ませることにより効果が援助され、また体重減少が緩和されることを示している（データは省略）。

40

50

表 2 5 : 組み合わせ mRNA 比率の効果

mRNA	mRNA 比率	80 日目におけるCR (% CR)
mOX40L + hIL-15/IL-15R α	1:1	9/15 (60)
mOX40L + mL-12TM		10/15 (67)
mIL-12TM + hIL-15/IL-15R α		1/15 (7)
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mL-12TM	1:1:1	13/15 (87)
	1:1:0.1	8/10 (80)
	1:0.1:1	8/10 (80)
	0.1:1:1	7/10 (70)

10

【1108】

mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせの投与を更に評価するために、2週間にわたる週に3回の0.22mg/kgまたは0.11mg/kgのいずれかで総mRNAを投与した。表26は、用量を半減した場合に、三重組み合わせの類似した抗腫瘍効果を示している。しかしながら、mOX40L及びテザー型mIL-12または細胞結合hIL-15の二重組み合わせをより低用量（すなわち、0.11mg/kg）で投与した場合には、抗腫瘍効果がほとんど失われた。具体的には、完全寛解率が60～80%から20%に低下した。それゆえ、三重組み合わせは、このモデルにおける任意の対応する二重組み合わせと比較してより優れた効果を示している。

20

表 2 6 : 組み合わせ mRNA 用量の効果

mRNA	用量 (mpk)	52 日目におけるCR
mOX40L + hIL-15/IL-15R α	0.22	6/10
	0.11	2/10
mOX40L + mL-12TM	0.22	8/10
	0.11	2/10
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mL-12TM	0.22	9/10
	0.11	7/10

30

【1109】

実施例10：mRNA及び免疫チェックポイント阻害剤を用いた播種性AMLの組み合わせ治療

本実施例では、実施例6に記載の播種性マウスAMLモデルを使用して、免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせた、テザー型サイトカインmRNA構築物及び細胞結合サイトカインmRNA構築物を用いた治療の効果について試験を行った。

【1110】

具体的には、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを0.11mg/kgで2週間にわたり週に3回（TIW×2）投与されているマウスに、抗mPD-L1抗体または抗mCTLA-4抗体（BioXCell）を10mg/kgの用量で2週間にわたり週に2回（BIW×2）投与した。実施例6に記載のとおり、mRNAを調製して配合した。表27は結果を提供しているが、抗mCTLA-4抗体による抗腫瘍効果のわずかな向上を示している。

40

表 2 7 : 組み合わせ mRNA 及び免疫チェックポイント阻害剤の効果

50

mRNA	免疫チェックポイント阻害剤	52 日目におけるCR
mOX40L + hIL-15/IL-15R α	–	2/10
	α mPD-L1	7/10
	α mCTLA-4	9/10
mOX40L + mIL-12TM	–	2/10
	α mPD-L1	8/10
	α mCTLA-4	10/10
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM	–	7/10
	α mPD-L1	7/10
	α mCTLA-4	10/10

10

【1111】

別の試験では、mOX40L及びテザー型mIL-12または細胞結合hIL-15の組み合わせに免疫チェックポイント阻害剤を追加することの効果について評価を行った。具体的には、0.11mg/kgの総mRNA（mOX40LをコードするmRNA、及びテザー型mIL-12をコードするmRNAまたは細胞結合hIL-15をコードするmRNA）を2週間にわたり週に3回投与されているマウスに、抗mPD-L1抗体または抗mCTLA-4抗体を2週間にわたり週に2回（BIW×2）投与した。表27は結果を提供しているが、二重組み合わせ及び免疫チェックポイント阻害剤を組み合わせた場合の、効果の有意な向上を示している。

20

【1112】

総じて、これらの結果は、本明細書に記載のmRNAの組み合わせに免疫チェックポイント阻害剤を追加すると、AMLに対する抗腫瘍効果が向上することを示している。

【1113】

実施例11：チェックポイント療法耐性固形腫瘍におけるテザー型サイトカインmRNA及び細胞結合サイトカインmRNAの効果

30

テザー型サイトカインmRNA及び細胞結合サイトカインmRNAと共刺激mRNAの組み合わせが、固形腫瘍における抗腫瘍効果を誘導するかどうかを確認するために、MC38-R同系結腸腺癌モデルを使用した。MC38-Rモデルは免疫抑制性であり免疫チェックポイント阻害剤治療に耐性を示し、それに対し、MC38-Sモデルは免疫抑制性がより低く免疫チェックポイント阻害剤治療の影響を部分的に受けやすい。C57BL/6マウスの皮下にMC38-R腫瘍を樹立した。上記のmOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び／または細胞結合hIL-15をコードするmRNAを、化合物Xを含む別々のLNP内に配合してから、単回用量の10 μ gの総mRNAで腫瘍内投与して腫瘍を樹立した。表28は結果を提供しているが、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの三重組み合わせが、腫瘍容積を縮小させる上で、mOX40L+テザー型mIL-12、mOX40L+細胞結合hIL-15、及びテザー型mIL-12+細胞結合hIL-15の二重組み合わせと比較してより効果的であることを示している。

40

表28：チェックポイント療法耐性モデルにおける組み合わせmRNAの効果

50

mRNA	投与スケジュール	CR
NST	QDx1	0
mOX40L + mIL-12TM		1/14
mOX40L + hIL-15/IL-15R α		0
hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM		2/14
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM		6/14
NST	Q7Dx3	0
mOX40L + mIL-12TM		2/14
mOX40L + hIL-15/IL-15R α		0
hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM		5/14
mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM		9/14

10

【1114】

注目すべきことに、二重組み合わせと比較した三重組み合わせの高い効果は、C1498モデルで認められた効果とは対照的である（表19を参照のこと）。両方のモデルにおいて効果的ではあるが、この実験では、三重がmOX40L及びテザー型mIL-12の二重組み合わせと比較して有意により効果的であった。

20

【1115】

次に、MC38-RモデルにおけるmRNAの組み合わせの複数回投与の効果について評価を行った。具体的には、化合物Xを含み、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び／または細胞結合hIL-15をコードするmRNAを封入したLNPを、3週間にわたる週に1回（Q7D $\times$ 3）の10 μ gの総mRNAの用量で腫瘍内投与した。表28は結果を提供しているが、mOX40L、テザー型mIL-12、及び細胞結合hIL-15の三重組み合わせの複数回用量が、単回用量と比較してより効果的であることを示している。加えて、テザー型mIL-12及び細胞結合hIL-15の二重組み合わせの効果は、複数回投与で向上した。注目すべきことに、三重組み合わせの抗腫瘍効果は、二重組み合わせと比較してより効果的なままであった。

30

【1116】

固形腫瘍における三重組み合わせの効果を更に評価するために、チェックポイント阻害剤との組み合わせについて評価を行った。具体的には、化合物Xを含み、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを封入したLNPの単回用量（すなわち、10 μ gの総mRNA）を、抗mCTLA-4抗体（BioXcell）と組み合わせ、MC38-R腫瘍を有するマウスに投与した。図18A～図18Bは、抗mCTLA-4抗体と共に投与した際の三重組み合わせの高い効果を示している。

40

【1117】

LNP配合物が三重組み合わせの効果を付与するかどうかを確認するために、化合物Xを含むLNPを、化合物428及び化合物Xを含むLNPと比較した。mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを、別々のLNP内に配合してから、単回用量または複数回用量（すなわち、3週間にわたり週に1回）の10 μ gの総mRNAで、MC38-R腫瘍を有するマウスに投与した。表29は、単回用量の2種のLNP配合物間における同等の抗腫瘍効果、及び、複数回用量の化合物Xを含み化合物428を含むLNPと化合物Xを

50

含み化合物 428 を含まない LNP の両方における高い効果を示している。

表 29：異なる LNP 配合物中の mRNA 組み合わせの効果

LNP 配合物	mRNA	投与スケジュール	CR
化合物 X/DMG	NST	Q7Dx3	0
	mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM	QDx1	4/13
		Q7Dx3	10/13
化合物 X/化合物 428	NST	Q7Dx3	0
	mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM	QDx1	5/13
		Q7Dx3	9/13

10

【1118】

総じて、これらの結果は、mOX40L をコードする mRNA、テザー型 mIL-12 をコードする mRNA、及び細胞結合 hIL-15 をコードする mRNA の組み合わせが、単回投与レジメン及び複数回投与レジメンで、固形腫瘍において効果的であることを示した。

【1119】

実施例 12：固形腫瘍におけるテザー型サイトカイン mRNA 及び細胞結合サイトカイン mRNA のアブスコパル効果

20

固形腫瘍における mOX40L をコードする mRNA、テザー型 mIL-12 をコードする mRNA、及び細胞結合 hIL-15 をコードする mRNA の組み合わせの抗腫瘍効果を更に評価するために、組み合わせのアブスコパル効果について評価を行った。具体的には、未治療腫瘍が、治療腫瘍に認められる抗腫瘍効果の恩恵を受け得るかどうかを試験した。

【1120】

1つの試験では、CT26 同系結腸癌モデルを使用した。CT26 は、最も広く試験されている同系マウス腫瘍モデルのうちの 1 つであり、がん免疫療法に用いる低分子細胞傷害剤及び生物学的応答調節物質のスクリーニング及び評価に使用されている。BALB/c マウスのそれぞれの脇腹に CT26 腫瘍細胞を注射して、皮下腫瘍を樹立した。mRNA の三重組み合わせのアブスコパル効果を解析するために、化合物 X を含む別々の LNP 内に配合された、mOX40L をコードする mRNA、テザー型 mIL-12 をコードする mRNA、及び細胞結合 hIL-15 をコードする mRNA を、1つの腫瘍のみに投与した（「治療」）。mRNA は、1：1：1 の重量（質量）比率の mOX40L：テザー型 mIL-12：細胞結合 hIL-15 の、単回用量または複数回用量（3週間にわたり週に 1 回、「Q7Dx3」）の 5 μ g の総 mRNA のいずれかで投与した。表 30 は、治療腫瘍と未治療腫瘍の両方が、投与スケジュールに関係なく、mRNA の三重組み合わせに対して反応を示したことを示している。

30

表 30：mRNA 組み合わせのアブスコパル効果

40

腫瘍タイプ	mRNA	投与スケジュール	CR	
			治療	遠位
CT26	NST	Q7Dx3	0	0
	mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12T M	QDx1	11/20	11/20
		Q7Dx3	11/20	11/20
A20	NST	Q7Dx3	0	0
	mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12T M	QDx1	8/20	8/20
		Q7Dx3	12/20	12/20

10

【1121】

第2の試験では、A20マウスB細胞リンパ腫細胞（A20、ATCC番号TIB-208；ATCC, Manassas, VA）をBALB/cマウスに注射して皮下腫瘍を作製した。マウスの両方の脇腹に腫瘍を樹立して、アブスコパル効果を評価した。mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを、化合物Xを含む別々のLNP内に配合してから、腫瘍のうちの一方に投与した（「治療」）。mRNAは、1：1：1の重量（質量）比率のmOX40L：テザー型mIL-12：細胞結合hIL-15の、単回用量または複数回用量（すなわち、2週間にわたり週に1回）の5 μ gの総mRNAのいずれかで腫瘍内投与した。表30は、治療腫瘍と未治療腫瘍の両方が、投与スケジュールに関係なく、mRNAの三重組み合わせに対して反応を示したことを示している。

20

【1122】

実施例13：AML細胞を接種したマウスにおけるテザー型サイトカインmRNA及び細胞結合サイトカインmRNAの投与による免疫活性化

本実施例では、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせを用いた治療後における免疫活性化について、上の実施例6に記載のとおりGFP+AML細胞を接種したマウスを用いて試験を行った。治療せずにおくと、高いBLIシグナルによって測定されるように、AML細胞は様々な造血組織において増殖する。AML移植後12日目に、1：1：1の重量（質量）比率で脂質ナノ粒子内に封入され、0.22mg/kg投与の用量で2週間にわたり週に3回（TIW $\times$ 2）（投与間に少なくとも48時間において）静脈内投与されたmOX40L mRNA、テザー型mIL-12 mRNA、及び細胞結合hIL-15 mRNAの組み合わせで、腫瘍保有マウスを治療した。50%のイオン性アミノ脂質（化合物X）、10%のリン脂質、38.5%のコレステロール、及び1.5%のPEG修飾脂質を含むように脂質ナノ粒子を配合したが、PEG修飾脂質は化合物428であった。対照として、同一の脂質ナノ粒子配合物内に封入された対照mRNA（NST）を、同一の用量レベル及びスケジュールで、同様に接種したマウスに投与した。

30

【1123】

この治療組み合わせが免疫細胞集団にどのように影響を及ぼすかを評価するために、24時間時点（1回目の用量の24時間後）、6日目（3回目の用量の24時間後）、及び13日目（6回目の用量の24時間後）に、組織（脾臓、骨髄、及びリンパ節）及び末梢血を採取してから、フローサイトメトリーで解析した。以下のゲーティング戦略、

NK細胞：CD3-CD49b+

NKT細胞：CD3+CD49b+

CD4+T細胞：CD3+CD49b-CD8-CD4+Foxp3-

CD8+T細胞：CD3+CD49b-CD8+CD4-

CD8+cDC1：CD11c+MHC II+B220-CD8+

40

50

CD103+cDC1:CD11c+MHC II+B220-CD103+、
 cDC2:CD11c+、MHC II+B220-Ly6C-CD24+、
 iDC:CD11c+、MHC II+B220-CD11b+Ly6C+、
 を使用して、生CD45+細胞の中から免疫細胞集団を同定した。

【1124】

早くも1回目の用量の24時間後に、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせを投与されたマウスの末梢血中におけるNK細胞の総数は、対照mRNAを投与されたマウスの血液と比較して増加した。しかしながら、NK細胞数は、6回目の用量の24時間後（すなわち、13日目）までには末梢血と免疫組織（脾臓、骨髄、及びリンパ節）の両方において減少しており、NK細胞レベルがベースラインまで戻ったことを示している（データは省略）。生CD45+細胞のパーセンテージとしてNK細胞を解析した際にも同一の結果が認められた（図19A～図19D）。マーカーKi-67を使用したNK細胞増殖の更なる試験では、NK細胞が、末梢血、脾臓、骨髄、及び比較的程度は低いが鼠径リンパ節において、早くも1回目の用量の24時間後に高い増殖を示すことが判明した（データは省略）。NK細胞活性化をまた、CD25（IL-2R α ）マーカー（データは省略）及びCD69（図20A～図20D）マーカーを使用して評価した。mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせが、治療マウスの複数種の造血組織におけるNK細胞の活性化、増殖（proliferation）、及び増殖（expansion）を誘導したことを結果が示している。

【1125】

NKT細胞応答の動態についても試験を行った。具体的には、総NKT細胞数（データは省略）及びCD45+細胞のパーセンテージとしてのNKT細胞（図21A～図21D）を解析し、NKT細胞の増殖が認められた。Ki-67発現の評価では、NKT細胞の増殖もまた高くなっていることが示された（データは省略）。活性化マーカーCD25（データは省略）及びCD69（図22A～図22D）の発現もまた、対照マウスと比較して三重治療マウスにおいて高くなった（データは省略）。

【1126】

mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせを用いた治療はまた、生CD45+細胞の絶対数またはパーセンテージで測定したCD8+T細胞（図23A～図23D）の増殖を6日目（3回目の用量の24時間後）までに誘導し、13日目（6回目の用量の24時間後）まで誘導し続けた。CD8+T細胞の増殖（Ki-67発現）もまた、6日目までに高くなり、13日間の試験にわたり高さを維持した（データは省略）。同様に、活性化マーカーCD25（データは省略）及びCD69（図24A～図24D）もまた、6日目までに上方制御され、13日目まで上昇し続けた。

【1127】

mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせを用いた治療はまた、生CD45+細胞の絶対数またはパーセンテージで測定したCD4+T細胞（図25A～図25D）の増殖、高いCD4+T細胞増殖（データは省略）、及びCD4+T細胞活性化マーカー（図26A～図26D）の上方制御をもたらした。

【1128】

樹状細胞集団（CD8+cDC1、CD103+cDC1、cDC2、及びiDC）もまた、脾臓（図27A～図27D）及びリンパ節（図28A～図28D）においてそれぞれ測定した際、生CD45+細胞の細胞数及びパーセンテージにおいて増加した。DC集団はまた、13日目までにベースラインレベルへと徐々に減少して戻るCD86成熟マーカーの初期の発現上昇を示した（図29A～図29D、図30A～図30D）。この試験は、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、

及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせが免疫刺激性であり、自然免疫細胞及び適応免疫細胞（CD4+T細胞、CD8+T細胞、NK細胞、NKT細胞、CD8+cDC1、CD103+cDC1、cDC2、及びiDC）の数、増殖、及び活性化における上昇、ならびに、成熟マーカーの発現における上昇をもたらすことを示している。

【1129】

実施例14：Batf3 KOマウスを用いた播種性AMLの治療におけるテザー型サイトカインmRNA及び細胞結合サイトカインmRNAの効果

Batf3ノックアウト（KO）マウスにおけるOX40LをコードするmRNA、テザー型IL-12をコードするmRNA、及び細胞結合IL-15をコードするmRNAの効果の評価して、抗白血病効果を介在する樹状細胞の役割を評価した。Batf3 KOマウスは、Batf3（塩基性ロイシンジッパー転写因子、ATF様）遺伝子のエクソン1～2を欠いている。Batf3はCD11c+CD8α+古典的樹状細胞（cDC）において高発現しており、抗原クロスプレゼンテーションにおいて役割を果たしている。Batf3 KOマウスは、CD8α+樹状細胞を欠き、TLR-3誘導IL-12産生が不十分であり、また、肺、腸、腸間膜リンパ節（MLN）、真皮、及び皮膚所属リンパ節においてCD103+CD11b-DCを欠いている。Batf3 KOマウスは、CD8+T細胞プライミングに異常があり、高免疫原性同系腫瘍を拒絶することができない（Hildner K et al., Science 322 (5904) : 1097-1100 (2008)）。

【1130】

この試験では、表31にまとめた試験デザインに従い、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを、C57BL/6マウスまたはBatf3 KOマウスのいずれかに静脈内投与した。

表31：mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの効果

群	mRNA	mRNA 用量 (mg/kg)	CR
1 (C57BL/6)	未治療	0.22	0/10
2 (C57BL/6)	NST (1:1:1)	0.22	0/10
3 (C57BL/6)	mOX40L + mIL-12TM+hIL-15/IL-15Rα (1:1:1)	0.22	7/10
4 (Batf3 KO)	NST	0.22	0/10
5 (Batf3 KO)	mOX40L + mIL-12TM+hIL-15/IL-15Rα (1:1:1)	0.22	6/10

【1131】

上の実施例6に記載のとおり、0日目に、GFPを発現するAML細胞をマウスに接種した。AML細胞が樹立されると、実施例13に記載のLNP内に封入されたmRNAを、2週間にわたり週に3回（TIW×2）静脈内投与した。週に2回マウスのイメージングを行い疾患負荷量をモニターした。AML細胞は、未治療マウス及び対照mRNA（NST）治療マウスにおいて増殖し続けた。C57BL/6マウスとBatf3 KOマウスの両方において、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAを封入したLNPの投与は、AML疾患負荷量を低下させた（例えば、BLIシグナルが低下した）。表31は、C57BL/6群（CR=7）とBatf3 KO群（CR=6）の両方における完全寛解動物を示している。

【1132】

これらの結果は、OX40LをコードするmRNA、テザー型IL-12をコードするmRNA、及び細胞結合IL-15をコードするmRNAの投与が様々なクロスプレゼンテーションを行うDCの増殖及び活性化をもたらしている（例えば、実施例13を参照のこと）が、mRNA組み合わせが抗腫瘍応答に影響を及ぼす能力は、C57BL/6マウスとBatf3 KOマウスの両方におけるAML疾患負荷量の抑制及び治療後100日間にわたる高い生存率（図31）によって示されているとおり、機能的なクロスプレゼンテーションを行うDC集団を有することに依存していないことを示している。

【1133】

実施例15：テザー型サイトカインmRNA及び細胞結合サイトカインmRNAの抗腫瘍効果は、播種性AMLの治療におけるIFN γ 中和またはT細胞枯渇によって阻害される

mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせの効果を介在するT細胞の役割について、上の実施例に記載のマウスAML試験で更なる評価を行った。簡潔に説明すると、 1×10^6 MLL-AF9細胞を尾静脈注射でC57BL/6マウスに投与した（0日目）。AML移植後9日目に、1:1:1の重量（質量）比率で脂質ナノ粒子内に封入され、0.11mg/kg/投与の用量で2週間にわたり週に3回（TIW $\times$ 2）静脈内投与されたmOX40L mRNA、テザー型mIL-12 mRNA、及び細胞結合hIL-15 mRNAの組み合わせで、腫瘍保有マウス（n=15）を治療した。対照として、脂質ナノ粒子内に封入された対照mRNA（NST）を、同一の用量及び同一のスケジュールで、同様に接種したマウスに投与した。mRNA投与開始の前日に始め、表32にまとめているとおりに、CD8+枯渇抗体（2.43, BP0061, BioXCell）またはラット IgG2bアイソタイプ対照（LTF-2, BP0090, BioXCell）のマウスへの腹腔内注射を4回行った。

表32：CD8+枯渇マウスにおけるmOX40L+mIL-12TM+hIL-15/IL-15R α mRNA

群	mRNA	mRNA 用量 (mg/kg) ^a	抗体用量 (mg/mL) ^b	CR
1	NST	0.11 TIW $\times$ 2	ラット IgG2b 0.5mg QD $\times$ 3, 3 日間の 休薬, 0.2mg QD $\times$ 1	0/15
2	mOX40L + mIL-12TM + hIL-15/IL-15R α			10/15
3	NST		抗CD8 0.5mg QD $\times$ 3 , 3 日間の休薬, 0.2 mg QD $\times$ 1	0/15
4	mOX40L + mIL-12TM + hIL-15/IL-15R α			1/15

^a 9、11、14、16、18、及び21日目にiv投与したmRNA

^b 8、9、10、及び14日目にip投与した抗体

【1134】

抗CD8抗体の投与は早くも移植後11日目（1回目のmRNA用量の2日後）にCD8+T細胞の枯渇をもたらし、その枯渇は22日目まで持続した（データは省略）。CD8+T細胞の枯渇は、OX40LをコードするmRNA、テザー型IL-12をコードするmRNA、及び細胞結合IL-15をコードするmRNAの組み合わせの治療効果の阻害をもたらした（表32）。アイソタイプ抗体と共にmRNA組み合わせを投与すると、AML疾患負荷量が成功裏に低下し、移植後60日目までに10匹の完全寛解動物がもたらされた。それに対し、mRNA組み合わせで治療したCD8+T細胞枯渇マウスにおいては、寛解動物数（CR=1）の有意な減少が示すとおり、AML疾患負荷量を制御する

ことができなかった。アイソタイプ対照抗体を投与されたかまたは抗CD8抗体を投与されたかにかかわらず、対照mRNAを投与されたマウスがAML進行を制御することができなかったことから、AML進行の阻害はmRNA組み合わせに特異的である。これらの結果は、AMLを制御するmOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMの効果がCD8+T細胞の機能に依存していることを示している。

【1135】

別の実験では、抗CD4抗体（GK1.5，BP0003-1，BioXCell）を使用してGFP+AML細胞を接種しLNP内に封入されたmOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TM mRNAで治療したマウスにおけるCD4+T細胞を枯渇させることにより、AMLに対するmOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMの効果を介在するCD4+T細胞の役割について試験を行った。試験デザインを表33にまとめる。

表33：CD4+枯渇マウスにおけるmOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMの効果

群	mRNA	mRNA 用量 (mg/kg) ^a	抗体用量 (mg/mL) ^b	CR
1	NST	0.11 TIWx2	---	0/15
2	mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM			8/15
3	NST		ラット IgG2b 0.5mg QDx3, 3 日間の休薬, 0.2mg QDx1	0/15
4	mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM			4/15
5	NST		抗CD4+ 0.5mg QDx3, 3 日間の休薬, 0.2 mg QDx1	0/15
6	mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM			0/15

^a 9、11、14、16、18、及び21日目にiv投与したmRNA

^b 8、9、10、及び14日目にip投与した抗体

【1136】

抗CD4抗体の投与は早くも移植後11日目（1回目のmRNA用量の2日後）にCD4+T細胞の枯渇をもたらし、その枯渇は22日目まで持続した（データは省略）。CD4+T細胞の枯渇は、mOX40LをコードするmRNA、テザー型mIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合hIL-15をコードするmRNAの組み合わせの治療効果の阻害をもたらした（表33）。mRNA組み合わせの投与により、抗体を投与しなかったマウス（CR=8）またはアイソタイプ抗体を投与したマウス（CR=4）におけるAML疾患負荷量が成功裏に低下した。それに対し、mRNA組み合わせで治療したCD4+T細胞枯渇マウスにおいては、AML疾患負荷量を制御することができなかった。アイソタイプ対照抗体を投与されたかまたは抗CD4抗体を投与されたかにかかわらず、対照mRNAを投与されたマウスがAML進行を制御することができなかったことから、AML進行の阻害は三重を用いた治療に特異的である。移植後30日目までの動物の生存曲線を図32に示す。mOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMを投与された腫瘍保有マウスのうちの大多数（11/15）は移植後30日目まで生存した。それに対し、mRNA組み合わせで治療したCD4+T細胞枯渇マウスはいずれも、移植後22日目を越えて生存しなかった。これらの結果は、AMLを制御するmOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMの効果がまた、CD4+T細胞依存

性であることを示している。

【1137】

このmRNA組み合わせの抗白血病活性を介在するIFN γ の役割を確認するために更なる実験を行った。mOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TM mRNAまたは対照mRNA (NST)の投与と同時に、IFN γ 中和抗体(XMG1.2, BioXCell)をAML接種マウス(n=15)に腹腔内投与した。試験デザインを表34にまとめる。

表34：抗IFN γ 治療マウスにおけるmOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMの効果

群	mRNA	mRNA 用量 (mg/kg) ^a	抗体用量 (mg/mL) ^b	CR
1	NST	0.11 TIWx2	---	0/15
2	mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM			5/15
3	NST		アイソタイプ対照	0/15
4	mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM		抗HRP (HRPN) 0.5mg TIWx2	5/15
5	NST		抗IFN γ 0.5mg TIW	0/15
6	mOX40L + hIL-15/IL-15R α + mIL-12TM		x2	0/15

^a 抗体投与の9、12、14、16、19、及び21日後にi.v投与したmRNA

^b mRNA投与の9、12、14、16、19、及び21日前にi.p投与した抗体

【1138】

BLIで測定したAML疾患負荷量は、マウスに抗IFN γ 抗体を投与した場合にmOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMの抗白血病効果が著しく低下することを示した(表34)。hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMの投与により、抗体を投与されなかったマウス(CR=5)またはアイソタイプ対照抗体を投与されたマウス(CR=5)において、AML疾患負荷量が移植後60日目までに成功裏に低下した。それに対し、抗IFN γ 抗体治療マウスは、mOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMで治療した場合であっても、AML疾患負荷量を制御することができなかった。アイソタイプ対照抗体を投与されたかまたは抗IFN γ 抗体を投与されたかにかかわらず、対照mRNAを投与されたマウスがAML進行を制御することができなかったことから、AML進行の阻害はmOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TM特異的である。移植後50日目までの動物の生存曲線を図33に示す。mOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TM及び抗IFN γ 抗体で治療した全てのマウスが移植後22日目までに疾患で死亡した一方で、mOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TMで治療した全てのその他のマウスの生存率は同一時点において約70%であり、移植後50日目までの生存率は約25%であった。

【1139】

IFN γ 中和の下流効果について更に試験を行ったが、それらの結果を図34A～図34B、図35A～図35B、図36A～図36B、及び図37A～図37Bに示す。結果は、mOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TM治療が、IFN γ シグナル伝達が誘導するマーカー、単球上のMHC II (図34A～図34B)及び、

顆粒球上（図36A～図36B）及び単球上（図37A～図37B）の両方を含む骨髓細胞上のチェックポイントタンパク質PD-L1（図35A～図35B）の上方制御をもたらすことを示している。抗IFN γ 抗体を投与すると、対応する細胞集団におけるMHC II及びPD-L1がベースラインレベルへと低下し、IFN γ シグナル伝達の完全な遮断が示された。これらの結果は、IFN γ が、mOX40L+hIL-15/IL-15R α +mIL-12TM mRNA組み合わせの抗白血病効果を介在する重要な役割を果たしていることを示している。

【1140】

実施例16：非ヒト霊長類におけるテザー型サイトカインmRNA及び細胞結合サイトカインmRNAの投与

ヒトOX40LをコードするmRNA、テザー型ヒトIL-12をコードするmRNA、及び細胞結合ヒトIL-15をコードするmRNAの組み合わせを非ヒト霊長類（NHP）に投与して、その組み合わせの免疫活性効果を更に評価した。表35にまとめている試験において、異なる投与経路－皮下（SC）または静脈内（IV）－及び投与スケジュールを評価した。

表35：NHPにおけるhIL-12TM+hOX40L+hIL-15/15R α

群番号	試験物質	用量密度 (mL/kg)	用量レベル (mg/kg/投与)	用量 Conc. (mg/mL)	経路 (投与可)	投与日	動物の数
1	対照物品	5 (IV) 1.5 (SC)	0	0	IV inf. & SC	IV inf: 1, 3, 5, 8, 12, 14, 及び16 SC: 1及び15	3
2	hIL-12TM/hOX40L/ hIL-15/IL-15R α mRNA	5	0.1	0.02	IV inf.	1, 3, 5, 12, 14, 及び16	3
3		5	0.3	0.06		1, 3, 及び5	3
4		5	1	0.2		1及び3	3
5		5	0.3	0.06		1, 4, 及び8	3
6		1.5	0.3	0.2	SC	1及び15	3

Conc. = 濃度 ; IV inf. = 静脈内注入 ; SC = 皮下注射

【1141】

用量レベルは、組み合わせの0.1、0.3、または1.0 mg/kg/投与の総mRNA用量とするための、それぞれ1:1:1の重量（質量）比率、例えば、0.033、0.1、または0.3 mg/kg/投与の、実施例13に記載のLNP内に配合されたhIL-12TM+hOX40L+hIL-15/IL-15R α で投与したmRNAの総量を表す。それぞれの霊長類におけるIFN γ サイトカイン発現及びIP-10（CXCL10）サイトカイン発現の誘導を測定するために、投与前（0日目）及び投与後の様々な時点で血清を採取した。採取した血清は、市販のPrimate IFN γ ELISAキット（DY961, R&D）及びCyno CXCL10 ELISAキット（DIY1266Y-003, Kingfisher Biotech）を製造業者の取扱説明書に従い実施して使用し、1:10、1:30、1:90、及び1:270の希釈で試験を行った。

【1142】

図38A～図38Fに示すとおり、mRNA組み合わせの投与により、それぞれの投与後における、用量依存的で投与経路に依存しない、IFN γ （図38A～図38C）及びIP-10（CXCL10）（図38D～図38F）の誘導がもたらされた。この試験は

、 $hIL-12TM + hOX40L + hIL-15 / IL-15R\alpha$ mRNAがNHPにおいて生物活性であり、免疫活性化に関与する下流のサイトカインを用量依存的に誘導することを示している。

【1143】

免疫系に対する $hIL-12TM + hOX40L + hIL-15 / IL-15R\alpha$ の局所効果及び全身効果を更に評価するために、組織（最終の用量の24時間後に採取した脾臓切片及び全大腿部）もまた、群1（対照）及び群2（ $0.1mg/kg$ ／投与）のカニクイザルから採取した。以下のゲーティング戦略、

NK細胞： $CD3 - CD7 + CD16 +$ 、

NKT細胞： $CD3 + CD16 +$ 、

$CD4 + T$ 細胞： $CD3 + CD16 - CD8 - CD4 +$ 、

$CD8 + T$ 細胞： $CD3 + CD16 - CD8 + CD4 -$ 、

を使用して、 $CD45 +$ の中から免疫細胞集団を同定した。

【1144】

$hIL-12TM + hOX40L + hIL-15 / IL-15R\alpha$ 組み合わせの投与により、対照物品で治療したカニクイザルのNK細胞、NKT細胞、及び $CD8 + T$ 細胞の数と比較して、カニクイザルの脾臓と骨髄の両方における同一細胞集団の増殖がもたらされた（図39A～図39C）。骨髄における免疫細胞（例えば、NK細胞、 $CD8 + T$ 細胞、及びNKT細胞）の数の増加は、脾臓試料に認められた同一細胞集団の増加と比較して劇的ではなかったが、骨髄における免疫細胞集団の更なる解析は、 $CD69$ の高い発現で測定した際に、対照物品を投与された動物の骨髄における細胞と比較して、これらの免疫細胞のより大きな集団が活性化していることを示している（図40A～図40D）。

【1145】

その他の実施形態

本開示についてその発明を実施するための形態と関連させて説明してきたが、上記の説明は例示を目的としたものであり、本開示の範囲を限定するものではなく、本開示は添付の特許請求の範囲の範囲によって定義されるものであるということを理解されたい。その他の態様、利点、及び変更は、以下の特許請求の範囲の範囲内である。

【1146】

本明細書に記載の全ての参考文献の全体は参照により組み込まれる。

【1147】

配列表の一覧

10

20

30

40

50

配列番号:	説明
1.	<u>MERVQPLEENVGNAAARPRFERNKLLLVASVIQGLGLLCFTYICLHFSALQVSHRYPRI</u> <u>QSIKVOFTIEYKKEGFIILTSQKEDEIMKVQNNSVIINCDFYLISLKGYSQEVNLSLH</u> <u>YQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVILNVTTDNTSLDDPHVNGGELILIHQNP</u> <u>GEFCVL</u> OX40L (TNSFR4) - 腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー4アイソフォーム1 [ホモサピエンス] NP_003317 (太字は細胞内ドメインであり、イタリック体は膜貫通ドメインであり、下線は細胞外ドメインである)
2.	MYSHRYPRIQSIKVOFTIEYKKEGFIILTSQKEDEIMKVQNNSVIINCDFYLISLKGYSQEVNLSLHYQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVILNVTTDNTSLDDPHVNGGELILIHQNPGEFCVL OX40L (TNSFR4) - TNFSF4アイソフォーム2 [ホモサピエンス] NP_001284491
3.	MEGEGVQPLDENLENGSRPRFKWKTLRLVVSIGKAGMLLCFIYVCLQLSSSPAKDPPIQRLRGAVTRCEDGQLFISSYKNEYQTMENVQNNSVIKCDGLYIIYLKGSFFQEVKIDLHFREDHNPISIPMLNDGRRRIVFTVVASLAFKDKVYLTVNAPDTLCEHLQINDGELIVVQLTPGYCAPEGSYHSTVNVPL OX40L (TNSFR4) - TNFSF4 [ハツカネズミ] NP_033478
4.	AUGGAAAGGGUCCAACCCUGGAAAGAGAAUGUGGGAAAUGCAGCCAGGCCAAGAUUCGAGAGGAA CAAGCUAUUGGUGGUGGCCUCUGUAAUUCAGGGACUGGGGUGCUCUGUGCUUCACCUACAUUCU GCCUGACUUCUGUGCUUCAGGUAUCACAUCCGUAUCCUCGAAUCAAAGUAUCAAAGUACAA UUUACCGAAUAUAGAAGGAGAAAGGUUUCAUCCUCACUUCGAAAAGGAGGAUGAAUUAUGAA GGUGCAGAACACUCAGUCAUCAACUGUGAUGGGUUUUUAUCUACUCCUGAAGGGCUACU UCUCCAGGAAAGUCAACAUAGCCUUCAUUACCAGAAGGAGGAGGCCCUUCCAAACUGAAG AAGGUCAGGUCUGUACUCCUGAUGGGUGGCCUCUCUGACUUAACAAAGACAAAGUCUACUUGAA UGUGACCACUGACAAUACUCCUGGAGACUCCAUUGGAAUGGGGAGAACUGAUUCUUAUCC AUCAAAUAUCCUGGAGAAUUCUGUGUCCUU ヒトヒトOX40L (ORF)
5.	5' ^{TRG}G₁₀₀G₂ 98GGAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAUAUAAAGAGCCACCAUGGAA AGGGUCCAACCCUGGAAAGAGAAUGUGGGAAAUGCAGCCAGGCCAAGAUUCGAGAGGAACAAGCU AUUGGUGGUGGCCUCUGUAAUUCAGGGACUGGGGUGCUCUGUGCUUCACCUACAUUGCCUGC ACUUCUGUGCUUCAGGUAUCACAUCCGUAUCCUCGAAUCAAAGUAUCAAAGUACAAUUAUCC GAAUAUAAGAAGGAGAAAGGUUUCAUCCUCACUCCGAAAAGGAGGAGUAAUUAUGAAGGUGCA GAACAACUCAGUCAUCAACUGUGAUGGGUUUAUCUCAUUCUCCUGAAGGGCUACUUCUCC AGGAAGUCAACAUUAGCCUUCAUUACCAGAAGGAUGAGGAGCCCUUCCAAACUGAAGAAGGUC AGGUCUGUCAACUCCUUGAUGGUGGCCUCUCUGACUUAACAAAGACAAAGUCUACUUGAAUGGAC CACUGACAAUACUCCUGGAGACUCCAUUGGAAUGGGGAGAACUGAUUCUUAUCCAUCAAA AUCCUGGAGAAUUCUGUGUCUUAUGAUAUAAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCCCU

10

20

30

40

50

	UGGGCCUCCCCAGCCCCCUCUCCCCUCCUGCACCUGUACCCCCAAACACCAUUGUCACACU CCAGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAUCUAG_{3'} 式中、A、C、G & U=それぞれAMP、CMP、GMP & N1- ΦUMP、Me=メチル、p=無機リン酸 ヒトOX40Lの全長mRNAヌクレオチド配列(5' UTR、ORF、 3' UTR、ポリA尾部)
6	AUGGAAAGGGUCCAACCCUGGAAGAGAAUGUGGGAUUGCAGCCAGGCCAAGAUUCGAGAGGAA CAAGCUAUUGCUGGGUGGCCUCUGUAAUUCAGGGACUGGGGCGUGCCUGUGGCUUACCUACAUUCU GCCUGCACUUCUCUGCUCUUCAGGUUUCACAUCCGUUCCUGCAAUUCAGUACAAAGUACAA UUUACCGAAUAAAGAGAGGAGAAAGGUUUCAUCCUCACUUCCCAAAAGGAGGAUGAAUACAUGAA GGUGCAGAACACUCAGUCUACUACUUGUGAUGGGUUUUAUCUACUCCUGAAGGGCUACU UCUCCAGGAAGUCAACAUAGCCUUCAUUACAGAGGAUGAGGAGCCCCUUCACUACUGAAG AAGGUCAGGUCUGUACUCCUUGAUGGGUGGCCUCUCGACUACAAAGACAAAGUCUACUUGAA UGUGACCACUGACAAUACCCUCCUGGAGACUCCAUGUGAAUGGCGGAGAACUGAUUCUUAUCC AUCAAAAUCCUGGUGAAUUCUGUGUCCU TNFSF4、ORF [ホモサピエンス]
7	GGCCUGGGACCUUUGCCUUAUUUCUGAUUGAUAGGCUUUGUUUUGUCUUUACCUCCUUCUUUCU GGGGAACUUCAGUUUUUUCGCACGUUCCCUUUUCCAUUUCUUCUCCUCCUACCCAGAU UGUGAAGAUUGGAAAGGGUCCAACCCUGGAAGAGAAUGUGGGAUUGCAGCCAGGCCAAGAUUCG AGAGGAACAAAGCUAUUGCUGGGUGGCCUCUGUAAUUCAGGGACUGGGGCGUGCCUGUGCUUACCC UACAUUCGCGUCACUUCUCUGCUUUCAGGUUUCACAUCCGUUCCUGCAAUUCAGUACAAAGUACAA AGUACAAUUUACCGAAUAAAGAGAGGAGAAAGGUUUAUCCUACUUCUCCAAAAGGAGGAUGAAU UCAUGAAGGUGCAGAACACUCAGUCUACUACUUGUGAUGGGUUUUAUCUACUCCUCCUGAAG GGCUACUUCUCCAGGAAGUCAACAUUAGCCUUCAUUACAGAGGAUGAGGAGCCCCUUCUCCA ACUGAAGAAGGUCAGGUCUGUACUCCUUGAUGGGUGGCCUCUCGACUACAAAGACAAAGUCU ACUUGAAUUGUGACCACUGACAAUACCUCCUGGAGACUCCAUGUGAAUUGGCGGAGAACUGAUU CUUAUCCAUCAAAAUCCUGGUGAAUUCUGUGUCCUUGAGGGGCGAUGGCAAUUUCUAAAAACA GGCACCAAGCAUACACCAAGCUGGGGUGGACAGGGCAUGGAUUCUUAUUGCAAGUGAAGGAG CCUCCCAAGCUCAGCCACGUGGGUUGUGACAAGAAGCAGAUCCUGGCGCUCCCGCCCCACCCUC AGGGAUAAUUAAAAUUAUUUUAUUAUACAGUUAAUUAUUUUAUCCUUAUUAUUUUAUUUUGC CUAGCCGUCACACCCCAAGAUUGCCUUGAGCCUACUAGGCACCUUUGUGAGAAAGAAAAUAGA UGCCUCUUCUCAAAGAUUGCAUUGUUCUUAUUGGUCAGGCAAUUGUCAUAAUAAACUUUUGUCAU GAAACGGUACUGACUACCAUUGGUGGAAUUGACAUGUGUGGCAUUAUCAAUUGAAGA GGAGCAAGGAGUGAAGGAGUGGGGUUAUGAAUCUGCCAAAGGUGGUUGAAGCAACCCUGGAAG CCAAAGCGGGCCUCCAAAGGUUAAAUUGAUUGCAGUUUGCAUUAUUGCCUAAAUUUAACUUCUC AUUUGGUGGGGGUCAAAGAAGAAUACAGCUUGUGAAAAUACAGGACUUGAAGAGAGCCGUCUAA GAAAUACCAAGUGCUUUUUUUUUAACAUUUUGCUUCCAGCCUCCAAACAUAGUAAUAGAA AUUUCUUUCAAAGAACUGUCUGGGGUGUGAUGCUUUGAAAAUUAUACAGUGACUUAAGAGA GAUUUUCUUGUAUACAGGGAGUGAGAUAAUUAUUGUGAAGGGUAGCUUUACUGUACAGGAU AGCAGGGAACUGGACAUUCAGGGUAAAGUCAGUACGGAUUUUAUAGCCUGGGGAGGAAAAACA

10

20

30

40

50

	CAUUCUUUGCCACAGACAGGCAAGCAACACAUGCUCAUCCUCCUGCCUAUGCUGAGAUACGCAC UCAGCUCUUAUGUCUUGUACACACAGAAACAUUGCUGGUUUCAGAGAAUGAGGUGAUCCUAAUUAUC AAAUUCAAUCUGAUGUCAAUAGCACUAAGAAGUUAUUGUGCCUUAUGAAAAUAAUGAUCUCUG UCUAGAAUACCAUAGACCAUUAUAGUCUCACAUGGAUAAUUGAAACUAGAAAGGGUCUAAUAAUC AGCCUAUGCCAGGGCUUCAAUGGAAUAGUAUCCCUUAUGUUUAGUUGAAUUGUCCCUUAACUU GAUAAUAGUGGUUAGCUUAUGGCGCUGUGGACAAUCUGAUUUUUCAGUCAACUUUCCAGAUGA UUUGUAACUUCUCUGGCCAAACCUUUUAUAAACAUAAAUUUUUGAGAUUGUAUUUAAAAUUG UAGCACAUUUUCCUGACAUUUUCAUAGAGGGAUACACAUACACAGAAUCUUUCUGGAUGAUUC UGUGUUAUCAAGGAUUGUACUGUGCUACAUAUUCUCUAGAAUCUCCAGAAAGGUGGAGGGCUG UUCGCCCUUACACUAAUUGGUCUAGUUGGAUUUUUUUUUCCUGUUUCUAAUUUCCUCUUAAGUA CACCUCUACUUAUUAUCCCAUCCUCUAAUUUAAUUCUGUUUAUGAAGGAAGGUAUAAUAAUUGCU AAUAGAGAAUUGUAGGUAAAGUAAGAGGAUCAAAGUUCUGAGUGGCCUGCCACAGGCACUCACA GAAUCAAUUAUCAGGCCUAAUUAUUAUGGAGGGCCUACUGUGGACCAGGCACUGGGCUAAAUUACU UACAUUUUACAGAAUACAUCUGAGACAGAUUAUCAUAGAUUUCUGGCCUUCACUACUCAGAGAAU GUGUGUGUGUUUGUGUGUGUGUGUGUGUGUAUUUACUUUUUGUAUUGACCAUGUUCUGCAA AAUUGCAGUUAUCUAGUGAGUGAUUCCGAAAAAGUAAACGUUAUGACUUAUAGGUAUUAUUUAA GAAAAUGCAGUGGUCAUUUUUAAGUUUGGAAUUUUUAUCUAAUUUCACACAGAUUGGACUGGCA CAUGCAGGCCUAAAGUAUAGUUUGUGUGUGUUUGUCUUUGAUGUUAUGGUCCCUUCUUUAGG UGUCACUCUGCUUUGGUGCACCUGGCCUGUCUUCCUAGUUGGCCUCUGCAACCACACAGGGA UAAUUUGGCUAUGCACCAGCCUACUCCACCUCUCCUCCAUAUAAUUAUGUGUGUGUGUCUAG UCCUUGUAAGUCAUGUCCUUCACAGGGAGAAUUAACCCUUCGAUUAUACUAGGCAGAUUUUGUGG GAAAGAAUUGAAUUGAAAGUCAGGAGAUAGAAUUUUAAAUUGACUUAGCCACUUAACUAGCCA UGUAACCUUGGGAAGUCUAAUUCUCCAUUUUCUGGGUCUUGCUUUUUCUUGUUUAAUAGAGAGGAA UGUUAUAAUUCUAAACAGUUUAGAAUCUUUAUGCUUACAGUGUUAUCUGUGAAUGCACAUUAUAAU GUCUUAUGUUCUUGUUGCUAUGAGUCAAGGAGUGUAACCUUCUCCUUACUAGUUGAAGUUAUU UUUUCUGGACAAGCUUACAUUCUCCUACGCCAUUUUGUGAGUCCUUAAGAGGCAGUUAUCAAUU GUUAGUUAGAUUUUUUAUUUAGAGAAUGCUUAAGGGAUUCCAAUCCCGAUCCAAUUAUAAUU UGUUCUUAAGUAUACUGGGCAGGUCCCUAAUUUAAGUCAUAAUUUGUAUUUAGUGCUUCCUG GCUCUCAGAGAGUAUUAUUAUUGAUUAUAAUAAUUAAGUUAUUAAGUAAUUAUGCUAAUUACAUGG AAACAAUUAUAAAGAUUCAGAAUUCACUAAAAAAAAA OX40L-TNFSF4、転写バリエント1、mRNA NM_003326	10 20 30
8	GGGAAUUAAGAGAGAAAGAGAGUAAGAGAAUUAUAGAGCCACCAUGGAAAGGGUCCACCC CUGGAAGAGAAUUGGGAAUUGCAGCCAGGCCAAGAUUCGAGAGGAACAAGCUAUUGCUGGUGGC CUCUGUAAUUCAGGGACUGGGGUGGUCUUGGCUUCCACUACUUGCCUGGCACUUCUCUGGUC UUCAGGUUAUCACUUGGUUACCUUGAAUUCAAAGUAUCAAAGUACAUUUACCGAAUUAAGAAAG GAGAAAGGUUUAUCCUACUUCUCCAAAAGGAGGAUGAAUUAUGAAGGUGCAGAAACUCAGU CAUCAUCAAUGUGAUUGGUUUUAUCUACUUCUCCUGAAAGGGUACUUCUCCACAGGAAGUCAACA UUAGCCUUAUUAACAGAAAGAUAGAGGAGCCCUUCCAACUGAAGAGGUCAGGUCUGUACAAC UCCUUGAUGGUGGCCUCUCUGACUUAACAAGACAAAGUCUACUUGAAGUGACCACUGACAAUAC CUCCUUGGAGUACUUCUAGUAAUUGCGGAGAACUGAUUCUUAUCCAUCAAUUCUUGGUGAAU UCUGUGUCCUUUGAAUUAAGGUGGAGCCUCGGUGGCCAUUCUUCUUGCCCUUGGGGCUCCCC	40 50

	CAGCCCCUCCUCCCUUCCUGCACCCGUAACCCCAAAACACCAUUGUCACACUCCAGUGGUCUUU GAAUAAAAGUCUGAGUGGGCGGC mRNA配列：5' - UTR、3' - UTR、及びmiR-122結合部位 を有するヒトOX40L
9	AUGGAGCGGGUGCAGCCCCUGGAGGAGAACGUGGGCAACGCGGUCGGCCACGGUUCGAGCGGAA CAAGCUGCUGGUGGUGGCUAGCGUGAUCCAGGGCCUGGGCCUGCUGCUGGCUUACCUACAUUCU GCCUGCACUUCAGCGCCUGCAGGUGAGCCACCGGUAUCCCCGGAUCCAGAGCAUCAAGGUGCAG UUCACCGAGUACAAGAAGGAGAAGGGCUUCAUCCUGACCAGCCAGAAGGAGGACGAGAUCAUGAA GGUGCAGAACACAGCGUGAUCAUACUGCGACGGCUUCUACCGAUACGCCUGAAGGGCUACU UCAGCCAGGAGGUGAACAUACGCCUGCACUACCAGAAGGACGAGGAGCCCCUGUCCAGCUGAAG AAGGUGCGGAGCGUAACAGCCUGAUGGUGGCCAGCCUGACCUACAAGGACAAGGUGUACCUGAA CGUGACCACCGACAACACCAGCCUGGACGACUCCACGUGAACGGCGGCGAGCUGAUCCUGAUCC ACCAGAACCCCGGCGAGUUCUGCGUGCUG ヒトOX40L用のmRNAオープンリーディングフレーム配列1
10	AUGGAAAGGGUCCAACCCUCGAAAGAGAACGUGGGAAACGCAAGCCAGGCCAAGAUUCGAGAGGAA CAAGCUAUUGCUGGUGGCCUCAGUAAUUCAGGGACUCGGGUAUCCUUGCUUACCUACAUUCU GCUUGCACUUCAGUGCUCUGCAGGUUACAUCCGUAUCCUCGAAUUCAAAGUAUCAAAAGUACAA UUUACCGAAUAAAGAAGGAGAAAGGUUUAUCCUCACUUCGAGAGGAGGAUAAAUCAGAA GGUGCAGAACACUCAGUACAUCAACUGUGAUGGGUUUAUCUCUCCUGAAGGGCUACU UCUCCAGGAGUACAACAUAGCCUUAUUAACAGAGGAUGAGGAGCCCCUUCUCCAAACUGAAG AAGGUCAGGUCUGCAACUCCUGAUGGUAGCCUCUCUGACUUAACAAAGACAAGUCUACUUGAA UGUGACCACUGACAUAUACCUCCUGGAGACUCCAUGUGAAUUGCGGAGAACUGAUUCUUAUCC AUCAGAAUCCUGGUGAAUUCUGUGUCCUU ヒトOX40L用のmRNAオープンリーディングフレーム配列2
11	AUGGAGCGGGUGCAGCCCCUGGAGGAGAACGUGGGCAACGCGGUCGGCCACGGUUCGAGCGGAA CAAGCUGCUGGUGGUGGCUAGCGUGAUCCAGGGCCUGGGCCUGCUGCUGGCUUACCUACAUUCU GCCUGCACUUCAGCGCCUGCAGGUGAGCCACCGGUAUCCCCGGAUCCAGAGCAUCAAGGUGCAG UUCACCGAGUACAAGAAGGAGAAGGGCUUCAUCCUGACCAGCCAGAAGGAGGACGAGAUCAUGAA GGUGCAGAACACAGCGUGAUCAUACUGCGACGGCUUCUACCGAUACGCCUGAAGGGCUACU UCAGCCAGGAGGUGAACAUACGCCUGCACUACCAGAAGGACGAGGAGCCCCUGUCCAGCUGAAG AAGGUGCGGAGCGUGAACAGCCUGAUGGUGGCCAGCCUGACCUACAAGGACAAGGUGUACCUGAA CGUGACCACCGACAACACCAGCCUGGACGACUCCACGUGAACGGCGGCGAGCUGAUCCUGAUCC ACCAGAACCCCGGCGAGUUCUGCGUGCUG ヒトOX40L用のmRNAオープンリーディングフレーム配列3
12	AGGAAAUAAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAAGAAGAAUAAAGACCCCGGCGCCGCCACC 5' UTR
13	MAPRFARGCRTLGLPALLLLLLLRFPAITGILCFPFMSVEHADIQVKSYSLSYSHERYIC NSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIROFALVHQPAPPSTVITAGVTPQ PESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIIVPGSQLMPSPSTGTTEISSHESHGTPSQ TTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLIACYLKSRTPL ASVE MEAMEALPVTWGTSSRDELENCSHHL

10

20

30

40

50

	全長 I L 1 5 R アミノ酸配列 (野生型)。シグナルペプチドはイタリック体とし、野生型 I L 1 5 R α の s u s h i ドメインには二重の下線を付している。
14	<u>AUGGCUCCCCCGCGCGGAGGCGUGCGCACCUCGGACUCCUGCACUCUUGCUUUU</u> <u>GUCCUCCUAGACCCCCUGCAACCAGAGGGAUAAACUGUCACCUCUCAAUGAGCGGCG</u> <u>AGCACGCAGACAUUUUGGUGAAAUCAUACAGUCUGUACAGUAGAGAGCGGUACAUUGG</u> <u>AACAGUGGGUUUAAAAGAAAAGCAGGCACUUAUCUCUGACAGAGUGCGUGCUGAACAA</u> <u>AGCAACUAAUGUAGCUCAUUGGACAACCCCAUCACUGAAAUGCAUAGAGAUCCAGCUC</u> <u>UGGUGCAUCAAGACAGCACCACCAAGUACCGUAACAACCGCAGGGGUGACCCUCAG</u> <u>CCUGAGUCCUUAUCUCCUCCCGGCAAGGAGCCAGCAGCAUCUUCACCUAGCUCCAAUAA</u> <u>CACCGCAGCUACCACUGCCGCCAUAGUCCCCGGAAGCCAGCUGAUGCCUAGUAAAUCUC</u> <u>CCUCAACAGGUACCACCGAAAUUUCUAGCCAUAGUCCUCGCACGGCACCUCGUCACAG</u> <u>ACUACAGCUAAAAUCUGGAGCUAACGGCUUCGCGAUCCACCAACCUCCAGGCGUUUA</u> <u>UCCCCAAGGUCACUCCGACACUACUGUGGCGAUUAGCAAGUACCGUCCUUCUGUGG</u> <u>GACUGAGUGCAGUUCAUUGCUGGCCUGUUAUCUGAAAUUCGCCAGACCCUCCCCUC</u> <u>GCCAGUGUUGAGAUUGGAGCCAUUGGAGCACUUCUGUGACUUGGGGAACAUCUCGAG</u> <u>GGACGAGGACCUCGAGAACUGCUCUACACCACUG</u> 全長 IL15R mRNA ORF #1. シグナルペプチドはイタリック体とし、野生型 I L 1 5 R α の s u s h i ドメインには二重の下線を付している。
15	<u>MRISKPHLSISITQCYLCLLNSHFLTEAGIHVELLSCFSAGLPRTAANWVNVISDLKK</u> <u>IEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELOVISLESQDASIHDTVENLILIA</u> <u>NNLSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLOSFEVHVQMFINTS</u> 全長 I L 1 5 アミノ酸配列 (野生型)。シグナルペプチドはイタリック体としている。プロペプチドには実線の下線を付している。成熟 I-L-1-5 にはドットの下線を付している。
16	<u>AUGCGCAUCAGCAAAACCUAAUUAACGGAGUAUCAGCAUCCAGUGCUAUCUCUGCCUGCU</u> <u>UCUGAACAGUCAUUUUCUGACUGAGGCGGGCAUUC AUGUCUUUAAUUUAAGGCUUUUU</u> <u>CCGCAAGGUCUGCCCAAAACAGAAAGCAAAUUGGGUGAACGUGAUCAGCGACCUGAAGAAG</u> <u>AUUGAGGAUCUAAUUAAGCAUGCAUAUUGAUGCCACACUCUACACCGAAUCCGACGU</u> <u>GCACCCUUCGUGUAAAGUGACUGCAAUGAAGUGUUCUUAUCUGGAACUGCAGGUGAUCA</u> <u>GUCUGGAGUCCGGGGAUGCAUCAUCCACGACACAGUGGAAAACUGAUUAUCCUGGCA</u> <u>AACAAUUCUCCUGAGCAGUAAUGGCAUUGUCACGGAGAGCGGAUGUAAGGAGUGUGAGGA</u> <u>AUUGAGGAAAAAGAAUUAUCAAGGAUUCUUCAGUCCUUGUGCACAUUGUACAGAUUGU</u> <u>UUAUUAUAUACAUCC</u> 全長 I L 1 5 スクレオチド配列 (野生型)
17	<u>MDAMKRLCCVLLLCGAVFVSPQETIHAKFRRGARNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT</u> <u>LYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELOVISLESQDASIHDTVENLILANNLSLSSNGNVTES</u> <u>GCKECELEEKNIKEFLOSFEVHVQMFINTS</u> i P A - i L 1 5 アミノ酸配列。i P A に由来するシグナルペプチド及びプロペプチドはイタリック体とし、成熟 I-L-1-5 ペプチドにはドットの下線を付している
18	<u>MEYDTLLLVLLLVFPGSTGEPKSCDKTHTCFPFPAPELGGFSVTLFPFKPKDTLMIS</u> <u>RTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW</u> <u>LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF</u> <u>YPSDIAVENESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHEA</u> <u>LHNHYTQKSLSLSPGKITCPPPMSEHADINVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLT</u> <u>ECVLNKAATNVAHWTTPSLKCIKIDPALVHQRPAAPP</u><u>SGGSGGGSGGGSGGGSLQNNWNV</u> <u>ISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLELOVISLESQDASIHDTVE</u> <u>NLILANNLSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLOSFEVHVQMFINTS</u>

10

20

30

40

50

	完全なFe-IL15R-リンカー-IL15アミノ酸配列。シグナルペプチドはイタリック体とし、成熟IL15はドットの下線で表している。
19	AUGGAUGCAAUGAAGAGAGGGGCUUGCUGUGUGCUGCUGCUGUGUGGAGCAGUCUUCGUUUCGCC CAGCCAGGAAAUCCAUGCCCGAUUCAGAAAGAGGAGCCAGAAACUGGGUGAACGUGAUCUCGGACC UGAAGAAGAUCCGAGGACCUCAUCCAGUGCGAUGCACAUCCGACGCGACGCUACACGGAGUCGGAC GUCCACCCGUCUGGCAAGGUCACGGCGAUGAAGUGCUUCCUCCUGGAGCUCAAGUCAUCUGCU CGAGUCGGGGGACGCGUGAUCACGACACGGUGGAGAACCUGAUCAUCCUGGCGAACACUCGC UGUCGUGCAACGGGAACGUCACGGAGUCGGGCGCAAGGAGUGCGAGGAGCUGGAGGAGAAGAAC AUCAAGGAGUUCUGCAGUCGUUCGUGCACAUCGUCCAGAGUUCAUCAACACGUCG Hs IL15opt-tPA6 mRNA ORF #1
20	AUGGACGCCAUGAAGCGCGGCCUGUGCUGGUGCUGCUGCUGUGCGGGCCGUGUUCGUGAGCCC CUCCACGGAGAUCCACGCAAGGUUCAGGAGGGGCGCCAGAAACUGGGUGAACGUGAUCUCUGAUC UGAAGAAGAUCCGAGGAUUCUAUACAGAGCAUGGCACAUCCGACGCAACCCUGUACACCGAGAGCGAC GUGCACCCUAGCUGCAAGGUGACAGCUAUGAAGUGCUUCCUCCUGGAGCUGCAGGUGAUCAGCCU GGAGAGCGGGGACGCGUCCAUUCACGACACCGUGGAGAACCUGAUCAUCCUGGCCAAUAAACAGCC UGAGCAGCAACGGCAACGUGACAGAAAGCGGCGUUAAGGAGUGCGAGGAGCUGGAGGAGAAGAAC AUCAAAGAGUUCUGCAGAGCUUCGUGCACAUGUGCAGAGUUCAUCAACACACGAGC Hs IL15opt-tPA6 mRNA ORF #3
21	AUGGCACCAAGACGCGCCAGGGGCGUGUCGACCCUCGGACUUCGCGCACUCUUGCUUUUGCCCU CCUUAAGACCACCGCAACCAGAGGGAAUACCUGUCCACCCUCCAUGAGCGUCGAGCACGACAGACA UUUGGGUGAAAUCUAUACAGUCUGUACAGUAGAGAGCGGUACAUCUGCAACAGUGGGUUAAGAGG AAGGCAGGCACUUCUUCUGACAGAGUGCGUGCUGAACAAAGCACTUAACGUAGCUCAUUGGAC AACCCCAUCACUGAAGUGCAUUAAGAGAUCCAGCUCUGGUGCAUCAAAGACCAAGCACCACAGUA CCGUAAACAACCGCAGGGGUGACCCUCAGCCUGAGUCCCUAUCUCCCUCCGGCAAGGAGCCAGCA GCAUCUUCACCUAAGCUCCAAUAACACCGCAGCUACACUGCCGCCAUAGUCCCGGAAAGCCAGCU GAUGCCUAGUAAAUUCUCCUCAACAGGUACCAACCGAAAUUCUAGCCACGAGUCCUCGACGGCA CCCCGUCACAGACUACAGCUAAGAACUGGGAGCUAACGGCUUCGGCAUCCCAACCAACCUCCAGGC GUUUAUCCCAAGGUCACUCCGACACUACUGGCGAUUAAGCAAGUACCGUCCUUCUGUGUGG ACUGAGUGCAGUUCAUUGCUGGGCGUUAUCUGAAAUUCUGGCCAGACCCUCCCUCCGCCAGUG UUGAGAUUGGAAGCAUGGAAGCACUUCUGUGACUUGGGGAACAUCCUCGAGGGACGAGGACCUC GAGAACUGCUCUACCAACUCG Hs IL15Ra mRNA ORF #2
22	AUGGCCCUUAGACGGGCGAGGGGCGUCAGGACACUGGGCCUGCCCGCCUUGCUGUCCUGCGUU GCUACAGACUCCCGCCACAGAGGAUACCUUGCCCUCCUCCCAUGAGCGUGGAGCAGCCGACA UCUGGGUGAAGUCCUACAGCCUGUACAGCCGGGAGAGAUACAUCUGUAAACUCCGGCUUCAAGAGA AAGGCCCGCACCAAGCUCUCCUGACCGAGUGUGUGCUAACAAGGCCACCAACGUGGCCACUCGGAC CACACCCAGCCUGAAGUGCAUACAGAGAUCCCGCUCUGGUGCACCAAGACCUUGCUCUCCUAGCA CCGUGACCAACAGCCGGCGUACACCUCAACCGGAAAGCCUGAGCCCUCCGGCAAAGGAGCCGGCC GCCUCCUACACCCAGCAGCAACAACACCGCCGCCACAACCGCCCUAUCUGUGCCCGGACGCAAGCU GAUGCCCAGCAAGAGCCCAAGCACAGGAACAACCGAGAUACGUCUACGAAUCCAGCCACGGCA CCCCUAGCCAGACAACCGCUAAGAACUGGGAGCUGACAGCCAGCGCUAGCCACCAAGCCACCCGGG GUGUACCCACAGGGCCACAGCGACACCAACCGUGGCCAUACGACCAAGCACUGUGCUGCUGGCGG

10

20

30

40

50

50

	UGGGGGGGGGAGCCUGCAGAUACCCUGUCCUCCUCCCAUGAGCGUGGAGCACGCCGACAUCUGGG UGAAGAGCUACAGCCUGUACAGCCGGGAGCGGUACAUCUGCAACAGCGGCCUUAAGCGGAAGGCC GGCACAGCAGCCUGACCGAGUGCGUGUGAACAAGGCCACCAACGUGGCCACUUGGACCAACCC AAGCCUGAAGUGAUCCGGGACCCCGCCUGGUGCAUCAGCGGCCCGCCCAUAGCACCUGUA CCACCGCCGGGUGACACCCAGCCCGAGAGCCUGAGCCCCAGCGGCAAGGAGCCCGUGCCAGC UCCCCAAGAGCAACAACACCGCCGCCACAACCGCCGCCAUCGUGCCCGGCAAGCAGCUGAUGCC CAGCAAGAGCCCCAGCACCAGGACCCAGAGAUACAGAGCCACGAGAGCAGCCACGGCACACCCA GCCAGACCACCGCCAGAACUGGGAGCUGACCGCCAGCGCCAGCCACCAAGCCUCCCGGCGUGAU CCCCAGGGCCACAGCGACACCAGCGGCCAUCAGCACCAGCACCUGUGUGUGCGGCCUGAG CGCCGUGAGCCUGUGGCCUGCUACUGAAGAGCCGGCAGACCCACCCUUGGCCAGCGUGGAGA UGGAGGCCAUGGAGGCCUGGCCUGACCUGGGGACCCAGCAGCCGGGACGAGGACCUGGAGAAC UGCAGCCACCACCUG ヌクレオチド配列 #2:Hs IL15opt-IgEsp_IL15Ra
26	AUGGACUGGACUGGAUCCUGUUCUGUUGCCCGCCUACCAGAGUGCACAGCAACUGGGUGAA CGUGAUCAGCGACCGAAGAUCCGAGGACCGAUCCAGAGCAUGCACAUCGACGCCACCCUGU ACACCGAGAGCGACGUGCACCACCGUGCAAGGUGACCGCCAUAGAGUGCUUCCUGUGGAGCUG CAGGUGAUCAGCCUGGAGAGCGGCGACGCCAGCAUCCACGACACCGUGGAGAACCUGAUCAUCCU GGCCAACAACAGCCUGAGCAGCAACGGCAACGUGACCGAGAGCGGCGUGCAAGGAGUGCGAGGAGC UGGAGGAGAAGAACAUCAGGAGUUCUGCAGAGCUUCGUGCACAUCCGUGCAGAUUUAUCAAAC ACCAGCAGUGGUGGCGAAGUGGCGCGGAGGCGAGUGGAGCGCGCGGUCAGGAGGCGGUGGUC AGGCGGAGGUAAGCUGCAGAUACCCUGCCACCUCUCCAUAGAGCGUGGAGCAGCCGCAUCUGGG UGAAGAGCUACAGCCUGUACAGCCGGGAGCGGUACAUCUGCAACAGCGGCCUUAAGCGGAAGGCC GGCACACGACCGUGACCGAGUGCGUGUGAACAAGGCCACCAACGUGGCCACUUGGACAACCCC UAGCCUGAAGUGCAUUAAGAGACCCGGCCUGGUGCAUACCGGCCCGCCCAUAGCACCUGUA CCACCGCCGGGUGACUCCCAAGCCCGAGAGCCUGAGCCCCAGCGGCAAGGAACCCCGGCCAGU AGCCCCAGCAGCAACAACACAGCGGCCACUACCGCCGCCAUCGUGCCCGGAGCCAGCUGAUGCC CAGCAAGAGCCCAAGCACCAGGACCCAGAGAUACGAGCCACGAGAGCAGCCAGGACCCCUA GCCAGACCACCGCAAGAACUGGGAGCUGACCGCCAGCGCCAGCCACCAACACAGGCGUGUAC CCUCAGGGCCACAGCGACACCACCGUGGCCAUCAGCACCAGCACCUGUGUGUGCGGCCUGAG CGCCGUGAGCCUGUGGCCUGCUACUGAAGAGCCGGCAGACCCACCCUUGGCCAGCGUGGAGA UGGAGGCCAUGGAGGCCUGGCCUGACCUGGGGACCAAGCUCUCGGGACGAGGACCUGGAGAAC UGCAGCCACCACCUG ヌクレオチド配列 #3:Hs IL15opt-IgEsp_IL15Ra
27	<u>MDAMKRLCCVLLCGAVFVSPSCQEIHARFRRGARNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT</u> <u>LYTESDVHPSCKVTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNLSLSSNGRVTES</u> <u>GCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS</u> SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQIT <u>CPFPMSVEHADINVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPSL</u> <u>KCIRDPALVHORPAPPSTVTTAGVTPQFESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGS</u> <u>QLMPKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTAKNWELTASASHOPPGVYPQGHSDTTVAIS</u> <u>TSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLENCSHHL</u> Hs IL15opt-tPA6_IL15Ra WT (シグナルペプチドはイタリック体とし、IL -15には下線を付し、リンカーは太字とし、s-u-s-h-ドメインは下線を 付してイタリック体とし、IL-15Raには二重下線を付し、膜貫通ドメ

10

20

30

40

50

	インは太字として下線を付し、細胞内ドメインにはドットの下線を付している)
28	AUGGAUGCAAUGAAGAGAGGGGCUUGGUGUGUGUGUGUGUGUGGAGCAGUCUUCGUUCGGCC CAGCCAGGAAAUCCAUGCCCGAUUCAGAAAGAGAGCCAGAAAACUGGGUGAACGUGAUCUCGGACC UGAAGAAGAUCCGAGGACCUCAUCCAGUCGAGCACAUCGACGCGACGCGUACACGGAGUCGGAC GUCCACCCGUGUGCAAGGUCACGGCGAUGAAGUGCUUCCUCCUGGAGUCCAAAGUCAUCUGCGU CGAGUCGGGGCAGCGGUCGUAUCCAGACACGGUGGAGAACCUGAUCUCCUGGGCAACAACUCGC UGUCGUGCAACGGGAACGUCACGGAGUCGGGCGCAAGGAGUGCGAGGAGCUGGGAGGAGAAGAAC AUCAAAGGAGUCCUGCAGUCGUUCGUGCACAUCGUCCAGAGUUCUCAACACGUCGUCUGGUGG CGGAUCAGGUGGUGGCGGAUCUGGCGGUGGUGGAAGUGGAGGUGGCGGGUCUGGCGGAGGUAC UGCAGAUAAACCUGUCCACCUCCAAUGAGCGUCGAGCACGCAGACAUUUGGGUGAAAUCAUACAGU CUGUACAGUAGAGAGCGGUACAUCUGCAACAGUGGGUUUAGAGAAAAGGCGAGGCAUCUACUCU GACAGAGUGCGUGCUAACAAGCAACUAAUGUAGCUCAUUGGACAACCCCAUCACUGAAAUGCA UUAGAGAUCCAGCUCUGGUGCAUCAAGACCAGCACCACCAAGUACCGUAAACAACCGCAGGGUG ACCCUCUAGCCUGAGUCCCUAUCUCCUCCGGCAAGGAGCCAGCAGCAUCUUCACCUAGCUCCAA UAAACACCGCAGCUACCACUGCCGCCAUAGUCCCGGAAGCCAGCUGAUGCCUAGUAAAUCUCCCU CAACAGGUACCACCGAAAUUUCUAGCCAUGAGUCCUCGCACGGCACCCCGUCACAGACUACAGCU AAGAACUGGGAGCUAACGGCUUCGGCAUCCACCAACCUCCAGGGGUUAUCCCAAGGUCACUC CGACACUACUGUGGCGAUUAGCACAAGUACCGUCCUUCUGUGUGGACUGAGUGCAGUUCUUCUUGC UGGCCUGUUAUCUGAAAUCUGGCCAGACCCUCCUCCCGCCAGUGUUGAGAGUGGAAGCCAUUGGA GCACUCCUGUGACUUGGGGAACAUCUUGGAGGGAGGAGGCCUGGAGAACUGUCUACCCACCU G スクレオチド配列 #1: Hs IL15opt-1PA6_IL15Ra WT
29	AUGGAUGCAAUGAAGAGAGGGGCUUGGUGUGUGUGUGUGUGUGGAGCAGUCUUCGUUCGGCC CAGCCAGGAAAUCCAUGCCCGAUUCAGAAAGAGAGCCAGAAAACUGGGUGAACGUGAUCUCGGACC UGAAGAAGAUCCGAGGACCUCAUCCAGUCGAGCACAUCGACGCGACGCGUACACGGAGUCGGAC GUCCACCCGUGUGCAAGGUCACGGCGAUGAAGUGCUUCCUCCUGGAGUCCAAAGUCAUCUGCGU CGAGUCGGGGCAGCGGUCGUAUCCAGACACGGUGGAGAACCUGAUCUCCUGGGCAACAACUCGC UGUCGUGCAACGGGAACGUCACGGAGUCGGGCGCAAGGAGUGCGAGGAGCUGGAGGAGAAGAAC AUCAAAGGAGUCCUGCAGUCGUUCGUGCACAUCGUCCAGAGUUCUCAACACGUCGAGCGGGCG CGGUGUGGAGGAGGUGGCGGUGGAGGGCGGACGCGGUGGCGGUGGAAGUGGCGGCGGCGAGCC UGCAGAUACCCUGUCCUCCCAUGAGCGUGGAGCACGCCGACAUCUGGGUGAAGAGCUACAGC CUGUACAGCCGGGAGCGGUACAUCUGCAACAGCGGCUUCAAAGCGGAAGGCCGCAACAAGCAGCCU GACCGAGUGCGUGCUGAACAAGGCCACCAACGUGGGCCACUGGACCACCCCAAGCCUGAAGUGCA UCCGGGAGCCCGCCUGGUGGAGCAGCGGCCCCCCCCACCUAGCACCGUGACCAACCGCGGGGUG ACACCCAGCCCGAGAGCCUGAGCCCCAGCGGCAAGGAGCCCGCUGCCAGCUCUCCCAAGCAGCAA CAACACCGCGCCACAACCGCGCCAUUCGUGCCCGGAGCCAGCUGAUGCCAGCAAGAGCCCA GCACCGGCACCAACCGAGUACAGCAGCCACGAGAGCAGCCACGGCACACCCAGCCAGACCAACCGCC AAGAACUGGGAGCUGACCGCCAGCGCCAGCCACCAAGCCUCCCGGCGUUAUCCCAAGGCGCACAG CGACACCACCGUGGCAUCAGCACCAGCACCUGUGUGUGUGGCGGUGAGCGCGUGAGCCUGC UGGCCUGUACUGAAGAGCCGGCAGACCCACCCUGGCCAGCGUGGAGAUUGGAGGCCAUUGGAG GCCUUGCCGUGACUUGGGGACCAAGCAGCCGGGAGGAGGCCUGGAGAACUGCAGCCACCAACCU G

10

20

30

40

50

	ヌクレオチド配列 #2:Hs IL15-tPA6_IL15Ra-opt
30	AUGGACGCCAUGAAGCGGGGCCUGUGCGUGCGUGCGUGCGUGCGGGCGCCGUGUUCGUGAGGCC CAGGCCAGGAGAUCCACGCCCGUUUCCGACGGGGCGCCAGAAACUGGGUGAACGUGAUCAGCGACC UGAAGAAGAUCCGAGGACCUGAUCCAGAGCAUGCACAUCCGACGCCACCCUGUACACCGAGAGCGAC GUGCACCCAGCGUGCAAGGUGACCGCCAUAGAAGUGCUUCCUGCGUGGAGCGUGAGGUGAUCAGGCCU GGAGAGCGGGCAGCCAGCAUCCACGACACCGUGGAGAACCUGAUCAUCCUGGCCAACACAGCC UGAGCAGCAACGGCAACGUGACCGAGAGCGGCGUCAAGGAGUGCGAGGAGCGUGGAGGAGAAGAAC AUAACAGGAGUUCUGCAGAGCUUCGUGCACAUCGUGCAGAUUGUACAACACAGCGUCUGGGCG CGGCUACAGGAGGAGGAGCGAGCGAGGAGCGGUAAGCGCGGAGGUGAAGCGGCGGGGAAAGCC UGCAGAUACCGUGCCGCUCCCAUGAGCGUGGAGCACGCCGACAUCUGGGUGAAGAGCUACAAGC CUGUACAGCGGGAGCGGUACAUCUGCAACAGCGGCUUCAAGCGGAAGGCCGGUACCAGCAGUCU GACCGAGUGCGUGUGAACAAGGCCACCAACGUGGGCCACUGGAGCAACCCCAAGCCUGAAGUGCA UCCGGGACCCAGCCUGGUGCAUCAGCGGCCCGCUCCCAAGCACCGUGACCACCGCUGGCGUG ACCCACAGGCCGAGAGCCUGUCCCCAAGCGGCAAGGAGCCCGCGGUAAGCAGCCCCAGCAGCAA CAACACAGCGCGCCACCCCGUGCCAUCGUGCCCGGAGCCAGCUGAUGCCAGCAAGAGCGCCCA GCACCGGACCCAGAGAUACAGAGCCACGAGAGCAGCCACGGCACCCUAGCCAGACCACCGCC AAGAACUGGGAGCUGACCGCCAGCGCCAGGCCACGAGCCACCGGCGUGUAUCCCCAGGGCCACAG CGACACCACCGUGGCCAUACGACAGCAGCAGCGUGCGUGUGUGGCCUGAGCGCCGUGAGCCUGC UGGCCUGUACUGAAGUCCCGCCAAACCCCGCCACUGGCCAGCGUGGAAGAGGAGGCCAUGGAG GCCCGUGCCGUGACCGUGGGGACCAAGCAGCGGGACGAGGACCGGAGAACUGCAGCCACCCU G
31	ヌクレオチド配列 #3:Hs IL15-15Ra-tPA6_fullopt METDTLLLVLLWVPGSTG DYKDDDDK ITCFPFMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNS <u>GFRRKAGTSSLT</u> ECVLNKATNVAHWTTPSLRCIRDPALVHQRPAPP SGSGGGGGSGGGG GGGGSLQ NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPCKVTAMKCFLLLEQVISL ESGDASIHDTIVENLIILANNSLSNNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLOSFVHIVQMF NTS Hs IL-15 RLI (シグナルペプチドはイタリック体とし、エピトープタグは太 字とし、s u s h i ドメインには下線を付してイタリック体とし、リンカー には下線を付して太字とし、I-L-15にはドットの下線を付している)
32	AUGGAAACCGACACUCUGCGUCUUUGGGUGCGUGCGUCUGGGUGCCCGGAUCCACGGAGAUUA CAAGGACGAUGACGACAAGAUACCGUGCCACCUCCCAUGUCCGUGGAACACGCCGACAUCUGGG UCAAAAGCUACAGCGUGUACUCCCGGGAAGAUACAUIUGUAACAGCGGGUUUAAGAGGAAGGCC GGCACCUCUCUGUACCGGAUCCGUGCGUGAACAAGGCUACCAAGCGGCCCAUUGGACUACCCC GUCCUGAAGUGCAUUCGCGAUCCUGCCUGCGUACCAACGGCCUGCGCCCGGUGCCGGAGGGU CUGGGCGUGGUGAUCCGGAGGGCGUUCAGGAGGCGGAGGGUCCUGCAGAACUGGGUGAACGGU AUCUCCGACCUUAAGAAGAUCCGAGGACCUGAUCCAGUCCAUCCGACAUCCGACGCAACCCUGUAUAC UGAGUCAGACGUGCACCUCUUGCAAAAGUCACAGCGAUGAAGUGCUUCCUGCGUGGAACUCCAGG UCAUCUCCUUGGAAUCGGGAGAGGCCUCCAUUACGACACUGUCGAGAAACCUCAUUAUUCUGGCC AAACAACAGCCUGUCCAGCAUUGGCAACGUGACGGAGUCAGGCUGCAAGGAGUGCGAGGAACUCGA AGAGAAGAAUAUCAAGGAGUCCUGCAGUCGUUCGUGCAUUCGUGGCAAAUGUUAUCAACACCA GC Hs IL15-RLI mRNA オープンリーディングフレーム

10

20

30

40

50

33	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQ YTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDI TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPTEVMVDAVHK LKYENVTSFFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEYSWEYPDTWSTPHSYFSLTFVCVQVQKSK REKKDRVFTDKTSATVICRKNASISYRAQDRYSSSWSEWASVPCS シグナルアミノ酸を有さない野生型 I L 1 2 B
34	AUAUGGGAACUGAAGAAAGAUUUUAUGUCGUAGAAUUGGAUUGGUAUCCGGAUGCCCGGAGA AAUGGGUGGUCACACCUGUGACACCCUGAAGAAGAUUGUAUACCUGGACCUUGGACCAGAGCA GUGAGGUCUAGGCUCUGGCAAAACCCUGACCAUCCAAGUCAAAGAGUUUGGAGAUUGCUGGCCAG UACACCUGUCACAAAGGAGGCGAGGUUCUAAGCCAUCGCUCCUGCUGUUCACAAAAAGGAAGA UGGAUUUUGGUCCACUGAUUUUUAAAGGACCAGAAAGAACCACAAAAUAGACCUUUCUAGAU GCCAGGCCAAGAAUUAUUCUGGACGUUUCACCUGCUGGUGGCGACGACAAUCAGUACUGAUUUG ACAUUCAGUGUCAAAAGCAGCAGAGGCUCUUCUGACCCCCAAGGGGUGACGUGCGGAGCUGCUAC ACUCUCUGCAGAGAGAGUCAGAGGGGACAACAAGGAGUAUGAGUACUCAGUGGAGUGCCAGGAGG ACAGUGCCUGCCAGCUGCUGAGGAGAGUCUGCCAUUGAGGUCAUUGUGGAUGCCGUUCACAAG CUCAAGUAUGAAACUACACCAGCAGCUUCUUCAUCAAGGACAUCAUCAAACCGACCCACCCAA GAACUUGCAGCUGAAGCCAUAUAAAGAAUUCUGGCGAGGUGGAGGUCAGCUGGGAGUACCCUGACA CCUGGAGUACUCCACAUUCCUACUUCUCCUGACAUUCUGGUUCAGGUCCAGGGCAAGAGCAAG AGAGAAAAGAAAGAUAGAGUCUUCACGGACAAGACCUCAGCCACGGUCAUCGCCGCAAAAAUUGC CAGCAUUAAGCGUGCGGGGCCAGGACCGUACUUAAGCUCAUUCUGGAGCGAAUGGGCAUCUGUGC CCUGCAGU シグナル核酸を有さない野生型 I L 1 2 B
35	RNLPVATPDPGMFPLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLP LELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQ IFLDQNMALVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLN AS シグナルアミノ酸を有さない野生型 I L 1 2 A
36	AGAAACCUCCECGUGGCCACUCCAGACCCAGGAAUGUUCCCAUGCCUUCACCACUCCCAAAACCU GCUGAGGGCCGUCAGCAACAUUGCUCAGAAAGGCCAGACAAACUCUAGAAUUUUAACCUUGCACUU CUGAAGAGAUUGAUCAUGAAGAUUACACAAAAGAUAAAACAGCACAGUGGAGGCCUGUUUACCA UUGGAAUUAACCAAGAAUGAGAGUUGCCUAAAUUCCAGAGAGACCUCUUCAUAAAUAAUGGGAG UUGCCUGGCCUCCAGAAAGACCUUUUUAUGAUGGCCUGUGCCUUAGUAGUAAUUUAUGAAGACU UGAAGAUUACCAGGUGGAGUUCAGACCAUGAAUGCAAAGCUUCUGAUGGAUCCUAAAGAGGCAG AUCUUUCUAGAUCAAAACAUGCUGGCAGUUAUUGAUGAGCUGAUGCAGGCCUGAAUUUUAACAG UGAGACUGUGGCCACAAAAAUCCUCCUUGAAGAACCGGAUUUUUAUAAAACUAAAAUCAAGCUCU GCAUACUUCUUAUGCUUUCAGAAUUCGGGCAGUGACUUAUGAUAGAGUGAUGAGCUAUCUGAAU GCUUCC シグナル核酸を有さない野生型 I L 1 2 A
37	MCHQQLVTSWFSLVFLASPLVA 野生型 I L 1 2 B シグナルペプチドアミノ酸
38	AUGUGUCACCAGCAGUUGGUCAUCUCUUGGUUUUCCUGGUUUUUCUGGCAUCUCCCUUGUGGC C

10

20

30

40

50

	野生型 I L 1 2 B シグナルペプチド核酸
39	MCHQQLVISWFSVLFLASPLVAIWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDDQS SEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLR CEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVECEQ DSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEYYP TWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASY PCSGGGGGGSRNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSEEIDHEDITKD KTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMV AKLLMDPKRQIFLDQNMALVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAV TIDRVMSYLNAS シグナルペプチドー I L 1 2 Bーリンカーー I L 1 2 A アミノ酸配列 #1
40	MGCHQQLVISWFSVLFLASPLVAIWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDDQ SSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFL RCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVECEQ EDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEYYP DTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWAS VPCSGGGGGGSRNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSEEIDHEDITKD DKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTM NAKLLMDPKRQIFLDQNMALVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAV VTIDRVMSYLNAS シグナルペプチドー I L 1 2 Bーリンカーー I L 1 2 A アミノ酸配列 #2
41	LYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCY ヒト C D 8 A 膜貫通ドメイン
42	VVVISAILALVLTIIISLIILIMLW ヒト P D G FーR B 膜貫通ドメイン
43	LLPSWATLTISVNGIFVICCL ヒト C D 8 O 膜貫通ドメイン
44	AUGUGUCCUCAGAAAGCUAACCAUCUCCUGGUUUGCCAUCCGUUUUGCUUGUGUCUCCACUCAUGGC CAUGUGGGAGCUCGAGAAAGACGUUUACGUUGUAGAGGUGGACUGGACUCCCGACGCCCCAGGAG AAACAGUGAAACUCCUGGACACGCCUGAAGAGAGUACAUACCCUGGACCUACAGACCAGAGA CAUGGAGUCUAUAGGUCUGGAAAGACCCUGACCAUCACUGUCAAGAGAUCCUAGAUUGUGCCA GUACACUGGCCACAAAGGAGGCGAGACUCUGAGCCACUCACAUUGGUGGCCACAAAGAGGAGA AUGGAAUUUGGUCCACCGAAAUCCUGAAGAACUUAAGAAUAGACUUCCUGAAGUGUGAAGCA CCAAAUUACUCCGGACGGUUCACGUGCUCUAGGUGGUGCAAAGAAACAUGGACUUGAAGUCAA CAUCAAGAGCAGUAGCAGUUCUCCUGACUCUGGGCAGUGACAUUGGAAUUGGCGUCUCUGUCUG CAGAGAAGGUCACACUGGACCAAAGGGACUAUGAGAAGUAUUCAGUGUCCUGCCAGGAGGAUGUC ACCUGCCCAACUGCGAGGAAACUCUGCCCAUUGAACUGGCGUUGGAAAGCACGGCAGCAGAAUAA AU/AUGAGAACUACAGCACAGCUUCUUAUCAGGGACAUCAUAAACCAGACCCGCCCAAGAACU UGCAGAUAGAAGCCUUUGAAGAACUCACAGGUGGAGGUCAGCUGGGAGUACCCAGACUCCUGGAGC ACUCCCCAUUCCUACUUCUCCUCAAGUUCUUGUUCGAAUCCAGCGCAAGAAAGAGAAGAUAA

10

20

30

40

50

	GGAGACAGAGGAGGGGUGUAACAGAAAGGUGCGUCCUCGUAGAGAAGACAUUACCGAAGUCC AAUGCAAAGGCGGGAUUGUCUGCGUGCAAGCUCAGGAUCGCUAUUACAAUCCUCAUGCAGCAAG UGGGCAUGUGUCCCUAGCGGUGCCGAUCCGGAGGCGGAGGGUCUGGAGGAGGAGGUUCUGGAGG UGGUGGCGAGUAGGGUCAUCCAGUCUCUGGACUGCAAGGUGUCUUAAGCCAGUCCGAAACCU6C UGAAGACCACAGACGAUAGGUGAAGACGGCCAGAGAGAAAACUGAAACAUUUAUCCUGCACAGCA GAGGACAUCAUGAUGAAGAUUUAACAGGGACCAAAACCAGCACAUUGAAGACCUGUUUACCACU GGAACUACACAAGAACGAGAGUUGCCUGGCUACUAGAGAGACUUCUCCACAACAAGAGGGAGCU GCCUGCCACCACAGAAAGACGUCUUUGAUGAUGACCCUGGCUUGGUGAGCAUCUACGAGGAUUC AAGAUUACAGACAGAGUCCAGGGCAUCAACGCAGCACUUCAGAAUCACAACCAUCAGCAGAU CAUUUUGAGCAAAGGGCAUGCUGGUGGCAUCGAUGAGCUGAUGCAAUCUCUGAAUCAUAAUGGGG AGACACUUCGCGCAAAACUCCUGUGGGGAGAAGCAGACCCUUACAGAGUGAAGAUGAAGCUCUGC AUCCUGUUCACGCCUUCAGCACCCGCGUCGUCACUADUAAACAGGGUGAUGGGCUAUCUGAGCUC CGCCUCUGGUGGGGGAUCAGGCGGGCGGCGCUCUGGCGGGGUGGAAGCGGAGGUGGCGGGUCUG GGGAGGUUCACUGAGGUGAGUGAUCAGCGCCAUCCUGGCCUGGUGGUGGACCGUGAUC UCAUUGAUCUUCUGAUUUGCUGUGGGGCGGAGGAGGACGCGGGAACCAAUUCCAAAUCCCCU CCUGGGGUGGAGAGCACC mIL12AB-PTM_v5-miR122 スクレオチド配列
45	MCPOKLTISWFAIVLLVSPFMAMWELEKDVYVVEVDWIPDAPGETVNLICDTPEEDDIT WTSQDRHGVIGSCKTLITITVKEFLDAGQYTCRKGGETLSHSHLLHKKENGWSTELIK NFKNKTFLKCEAPNYSGRFTCSNLVQRNMDLKFNKSSSSSPDSRAVTCGMASLSAEKV TLDQDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQNKYENYSTSFFIRDIKPDFF KNLQMKFLKNSQVEVSWEPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCNQKGAPL VEKSTEVQCKGGNVCVQAQDRYYNSSCKWACVPCRVRSGGGGSGGGSGGGSGRVIP VSGPACLSQSRNLLKTTDDMVKTAREKLKHYSCTAEDIDHEDITRDQTSTLKTCLPLE LHKNESCLATRETSSTTRGSCLPFPQKTSLLMTLCLGSIYEDLKMYPQTEFQAINAALQNH NHQIILDKGMLVAIDELMQSLNHNGETLRQKPPVGEADPYRVKMKLCILLHAFSTRVV TINRVMGYLSSA.SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQVVVISAILALVVLTVISLIL IMLWGGGGS.GKPIPNPLLGLDST イタリック体：シグナルペプチド、下線：IL12B、破線の下線及びイタ リック体：リンカー、太字：IL12A、二重の下線：膜貫通ドメイン、太 字及びイタリック体：V5タグ mIL12AB-PTM_v5-miR122 アミノ酸配列
46	AUGUGCCACCAGCAGCUGGUGAUCAGCUGGUUACGCCUGGUGUCCUGGCCAGCCCCUGGUGGC CAUCUGGGAGCUGAAGAAGGACGUGUACGUGGUGGAGUUGGAUUGGUACCCCGACGCCCCGGG AGAUGGUGGUGUGACCUUGCGACACCCCGAGGAGGACGGCAUACCUUGGACCCUGGACAGAGC AGCGAGGUGUGGGCAGCGGCAAGACCCUGACCAUCCAGGUGAAGGAGUUCGGCGACGCGGCCA GUACACCUGCCACAAGGGCGGCGAGGUGUGAGCCACAGCCUGCUGGUGUGCAACAAGAAGGAGG ACGGCAUCUGGAGCACCAGACAUCCUGAAGGACCAAGGAGGCCAAGAACAGACCUUCCUGAGA UGCGAGGCCAAGAACUACAGCGGCAGAUUACCUUGCUGGUGGUGACCAUACAGACCCGACCU GACCUUCAGCGUGAAGAGCAGCAGAGGACGACGACGCCAGGCCGUGACCUUGCGGCGCGGCCA CCUGAGCGCCGAGAGAGUGAGAGGCGACAACAAGGAGUACGAGUACAGCGUGGAGUGCCAGGAA GAUAGCGCCUGCCCCGCGCGAGGAGAGCCUGCCAUCCAGGUGAUGGUGGACGCGUGGCACAA GCGUAGUACGAGAACUACACAGCAGCUCUUCUACAGAGAUUACUACAAGCCCGACCCCCCA AGAACCUGCAGCUGAAGCCCCUGAAGAACAGCCGCGAGGUGGAGGUGAGCUGGGAGUACCCCGAC

10

20

30

40

50

	ACCUGGAGCAGCCCCACAGCUACUUCAGCCUGACCUUCUGCGUGCAGGUGCAGGGCAAGAGCAA GAGAGAGAAGAAAGAUAGAGUGUUCACCGACAAGACCAGCGCCACCGUGAUCUGCAGAAAGAACG CCAGCAUCAGCGUGAGAGCCCAAGAUAGAUACUACAGCAGCAGCUGGAGCGAGUGGGCCAGCGUG CCUGCAGCGGGCGGGCGGGCGGGCAGCAGAAACUGCCCGUGGCCACCCCCGACCCCGCAU GUUCCCCUGCCUGACCCACAGCCAGAACCUGCUGAGAGCCGUGAGCAACAUGCUGCAGAAAGGCC GGCAGACCCUGGAGUUCUACCCUGCAGCAGGAGAGAUCCAGCAGAAAGAUACCAAAAGAU AAGACCAGCAGCGUGGAGGCCUGCCUGCCCGUGGAGCUGACCAAGAACGAGAGCUGCCUGAACAG CAGAGAGACCAGCUUCAUCACCAACGGCAGCUGCCUGGCCAGCAGAAAGACCAGCUUCAUGAUGG CCUGUGCCUGAGCAGCAUCUACGAGGACCGAAGAUUACCAGGUGGAGUUAAGACCAUGAAC GCCAAGCUGCUGAUGGACCCCAAGCGGCAGAUUCCUGGACAGAACAUCCUGGCCUGAUCGA CGAGCUGAUGCAGGCCUGAACUUAACAGCGAGACCGUGCCCAAGAGCAGCCUGGAGGAGC CCGACUUCUACAAGACCAAGAUCAAGCUGUGCAUCCUGCAGCCUUCAGAAUCAGAGCCGUG ACCAUCGACAGAGUGAUGAGCUACCUGAACGCCAGC h1L12AB_041 mRNA ORF
47	TYCFAPRCRERRRNERLRRESVRPV ヒトCD80細胞内ドメイン
48	QKKPRYEIRWKVIESVSSDGHEYIYVDPMQLPYDSTWELPRDQLVLGRTLGSAGFGQVVEATAHG LSHSQATMKVAVKMLKSTARSSKQALMSELKIMSHLGPHLNVVNLGACTKGGPIYIITEYCRY GDLVDYLHRNKHTFLQHHSKRRPPSAELYSNALPVGLPLPSHVSLTGESDGGYMDMSKDESVDY VPMIDMKGDVYKADIESSNYMAPYDNYVPSAPERTCRATLINEPVLSYMDLVGPSYQVANGMEF LASKNCVHRDLAARNVLCIEGKLVKICDFGLARDIMRDSNYISKGSTFLPLKWMAPESIFNSLYT TISDVVSFGILLWEIFTLGGTPYPELPMNEQFYNAIKRGYRMAQPAHASDEIYEIMQCKWEEKFE IRPPFSQLVLLERLLGEGYKKYQYVDEEFLRSDHPAILRSQARLPGFHGLRSPLDTSVLYTA VQPNEGDNDYIIPLPDPKPEVADEGPLEGSPSLASSTLNEVNTSSTISCDSPLEPQDEPEPEPQL ELQVEPEPELEQLPDSGCPAPRAEAEDSFL ヒトPGFRB細胞内ドメイン (WT)
49	QKKPRYEIRWKVIESVSSDGHE ヒトPGFRB細胞内ドメイン (E570tr)
50	QKKPRYEIRWKVIESVSSDGHEFIFVDPMQLPYDSTWELPRDQLVLGRTLGSAGFGQVVEATAHG LSHSQATMKVAVKMLKSTARSSKQALMSELKIMSHLGPHLNVVNLGACTKGGPIYIITEYCRY GDLVDYLHRNKHTFLQHHSKRRPPSAELYSNALPVGLPLPSHVSLTGESDGG ヒトPGFRB細胞内ドメイン (G739tr)
51	SGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQ リンカー
52	AUGUGCCACCAGCAGCUGGUGAUCAGCUGGUUCAGCCUGGUGUCCUGGCCAGCCCCUGGUGGC CAUCUGGGAGCUGAAGAAGGACGUGUACGUGGUGGAGUUGGAUUGGUACCCGACGCCCCGGCG AGAUGGUGGUGCUGACCUGCGACACCCCGAGGAGGACGGCAUACCUGGACCCUGGACCAGAGC AGCGAGGUGCUGGGCAGCGCAAGACCCUGACCAUCCAGGUGAAGGAGUUCGGCGACCGCGGCA GUACACCUGCCACAAGGGCGGCGAGGUGCUGAGCCACAGCCUGCUGCUGCACAAGAAGGAGG ACGGCAUCUGGAGCACCAGAUCCUGAAGGACCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCUUCUGAGA UGCGAGGCCAAGAACUACAGCGGCAGAUUACCUUGCUGGUGGUGACCAUCAAGCACCAGCCU GACCUUCAGCGUGAAGAGCAGCAGAGGACGAGCGACCCCAAGGCGUGACCUUGCGCGCGGCCA

10

20

30

40

50

	CCCUGAGCGCCGAGAGAGUGAGAGGGGACAACAAGGAGUACGAGUACAGCGUGGAGUGCCAGGAA GAUAGCGCCUGCCCCCGCCGAGGAGAGCCUGCCCAUCGAGGUGAUGGUGGACGCCGUGCACA GCUGAAGUACGAGAACUACCCAGCAGCUUCUUAUCAGAGAUUAUCAAGCCCGACCCCCCA AGAACCUGCAGCUGAAGCCCCUGAAGAACAGCCGGCAGGUGGAGGUGAGCUGGGAGUACCCCGAC ACCUGGAGCAGCCCCACAGCUACUUCAGCCUGACCUUCUGCGUGCAGGUGCAGGGCAAGAGCAA GAGAGAGAAGAAAGAUAGAGUGUUCACCGACAAGACCAGCGCCACCGUGAUCUGCAGAAAGAAGC CCAGCAUCAGCGUGAGAGCCCAAGAUAGAUACUACAGCAGCAGCUGGAGCGAGUGGGCCAGCGUG CCCUGCAGCGGGCGGGCGGGCGGGCAGCAGAAACCUGCCCGUGGGCAGCCCCGACCCCGGCAU GUUCCCCUGCGUACACAGCCAGAACCUGCUGAGAGCCGUGAGCAACAUGCUGCAGAAAGGCC GGCAGACCCUGGAGUUCUACCCUGCACCAGCGAGGAGAUCCGACCACGAAGAUUACACCAAGAU AAGACCAGCAGCCUGGAGGGCCUGCCUGCCCCUGGAGCUGACCAAGAAGCAGAGCUGCCUGAACAG CAGAGAGACCAGCUUUAUACCAACCGCAGCUGCCUGGGCAGCAGAAAGACCAGCUUAUGAUGG CCUUGUGCCUGAGCAGCAUCUACGAGGACCUGAAGAUGUACCAGGUGGAGUUAAGACCAUGAAC GCCAAGCUGUGAUGGACCCCAAGCGGCAGAUUCCUGGACAGAAACAGCUGGGCCGUGAUCGA CGAGCUGAUGCAGGGCCUGAACUUAACAGCGAGACCUGCCCGAGAGCAGCUGGAGGAGC CCGACUUCUACAAGACCAAGAUCAAGCUGUGCAUCCUGCGACGCEUUCAGAAUCAGAGCCGUG ACCAUCGACAGAGUGAUGAGCUACCGAAGCCAGCUCUGGUGGGGAGUACAGCGGGCGGGGUC AGGAGCGGGGAGUGGAGGUGGGGGUCUGGGCGAGGUCACUGCAGAUCAUUCUGGGCUG CACUGGGCGGACCUCCGGCGUGCUGCUGCUGAGCCUGGGUAGUACCCUGUACUGCUACGGGAAA CCAAUCCAAAUCCCCUCCUGGGGUGGAGUAGCACC	10
	hIL12AB-8TM スクレオチド配列	20
53	<u>MCHQQLVLSWFSLVFLASFLVAIWELKKDVYVVELDWYFDAPGEMVVLTCDTPEEDGIT</u> <u>WTLDSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILK</u> <u>DQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTGGAATLSA</u> <u>ERVRGDNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPTEVMVDVHKLKYENYTSFFIRDIIRKPD</u> <u>PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKKDRVFTDKTS</u> <u>ATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCSGGGGGGSRNLPVATPDGPMFPCLHHS</u> <u>QNLLRAVSNMLQARQTLFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSR</u> <u>ETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM</u> <u>LAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNA</u> <u>SSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQIYINAPLAGTCGVLLSLVITLYCYGKPIPNP</u> <u>LLGLDST</u> イタリック体：シグナルペプチド、下線：I-L12-B、破線の下線及びイタ リック体：リンカー、太字：I-L12-A、二重の下線：膜貫通ドメイン、太 字及びイタリック体：エビトープタグ hIL12AB-8TM アミノ酸配列	30
54	AUGUGCCACCAGCAGCUGGUGAUCAGCUGGUUCAGCCUGGUGUCCUGGCCAGCCCCUGGUGG CAUCUGGGAGCUGAAGAAGGACGUGUACGUGGUGGAGUUGGAUGGUACCCGACGCCCGGGC AGAUGGUGGUGCUGACCUGCGACACCCCGAGGAGGACGGCAUACCCUGGACCCUGGACAGAGC AGCGAGGUGCUGGGCAGCGGCAAGACCUGACCAUCCAGGUGAAGGAGUUCGGCGACGCCGCCA GUACACCUGCCACAAGGGCGGGAGGUGCUGAGCCACAGCCUGCUGCUGCUGCACAAGAAGGAGG ACGGCAUCUGGAGCACCAGAUCCUGAAGGACCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCUUCUGAGA UGCGAGGCCAAGAACUACAGCGGCAGAUUACCCUGCUGGUGGUGACCAUACAGCACCAGCCU GACCUUCAGCGUGAAGAGCAGCAGAGGCGAGCAGCGACCCCGAGGGCGUGACCUUGCGCGCGCCA	40
		50

	CCCUGAGCGCGGAGAGAGUGAGAGGGGACAACAAGGAGUACGAGUACAGCGUGGAGUGCCAGGAA GAUAGCGCCUGCCCCGCGCGGAGGAGAGCCUGCCCAUCGAGGUGAUGGUGGACGCGGUGGCACAA CCUGAAGUACGAGAACUACACGAGAGCUUCUUCACAGAGAUUACAUCAAGCCCGACCCCCCA AGAACCUGCAGCUGAAGCCCCUGAAGAACAGCCGGCAGGUGGAGGUGAGCUGGGAGUACCCCGAC ACCUGGAGCACCCECCACAGCUACUUCAGCCUGACCUUCUGCGUGCAGGUGCAGGGCAAGAGCAA GAGAGAGAAGAAAGAUAGAGUGUUCACCGACAAGACCAGCGCCACCGUGAUCUGCAGAAAGAACG CCAGCAUCAGCGUGAGAGCCCAAGAUAGAUACUACAGCAGCAGCUGGAGCGAGUGGGCCAGCGUG CCCUGCAGCGGGCGGGCGGGCGGCGGAGCAGAAACCUGCCCGUGGGCACCCECCAGCCCGGCAU GUUCCCCUGCGUGCACCACAGCCAGAACCUGCUGAGAGCCGUGAGCAACAUGCUGCAGAAAGGCC GGCAGACCCUGGAGUUCUACCCUGCACCAGCGAGGAGAUCCGACCACGAAGAUUCACCAAGAU AAGACCAGCACCUGGAGGGCCUGCCUGCCCGUGGAGCUGACCAAGAACGAGAGCUGCCUGAACAG CAGAGAGACCAGCUUCACCAACCGGAGCUGCCUGGGCAGCAGAAAGACCAGCUUCAGAUUG CCUGUGCCUGAGCAGCAUCUACGAGGACCUGAAGAUGUACCAGGUGGAGUUCAGACCAUGAAC GCCAAGCUGUGAUGGACCCCAAGCGGAGAGUUCUCCUGGACGAGAAACAGCUGGGCGGAGUCCGA CGAGCUGAUGCAGGGCCUGAACUACACAGCGAGACCUGCCCGAGAGAGCAGCUGGAGGAGC CCGACUUCUACAAGACCAAGAUCAAGCUGUGCAUCCUGCGACGCGCUUCAGAAUCAGAGCGUG ACCAUCGACAGAGUGAUGAGCUACCCUGAACGCCAGCUCUGGUGCGGAGUACAGCGGGGGCGGUG AGGAGCGGGUGAAGUGGAGGUGGGGGGUGUGCGCGGAGGUGACUGCAGAUCAUUCUGGGCUC CACUGGCCGGACCUCCGGCGUGCUGCUGAGCCUGGUGAUCACCCUGUACUGCUAC hIL12AB-8TM-エビトープタグなしヌクレオチド配列	10
55	<u>MCRQLVVISWFSLVFLASFLVAIWELKRDVYVVVELDWYDFGEMVVDICDTPEEDGII</u> <u>WTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCRKGGEVLSHSLILLHKKEDGIWSTDILK</u> <u>DQKEFKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA</u> <u>ERVHGDNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLP</u> IEVMVDVAVHKLKYENYTSFFIRDTIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTS ATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSGGGGGGSRNLFPVATPDPGMFPCLHHS <u>QNLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSR</u> <u>ETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNM</u> <u>LAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNA</u> <u>SSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSLQIYIWAPLAGTCGVLLLSIVITLYCY</u> イタリック体：シグナルペプチド、下線：I L 1 2 B、破線の下線及びイタ リック体：リンカー、太字：I L 1 2 A、二重の下線：膜貫通ドメイン hIL12AB-8TM-エビトープタグなしアミノ酸配列	20
56	AUGUGCCACCAGCAGCUGGUGAUCAGCUGGUUACGCCUGGUGUCCUGGCCAGCCCCCUUGGUGC CAUCUGGGAGCUGAAGAAGGACGUGUACGUGGUGGAGUGUGAUUGGUACCCCGACGCCCCCGGG AGAUGGUGGUGCUGACCUCCGACACCCCCGAGGAGGACGGCAUCACCUCCAGCCUGGACAGAGC AGCGAGGUGCUGGGCAGCGGCAAGACCCUGACCAUCCAGGUGAAGGAGUUCGGCGACGCCGCCA GUACACCUCCACAAGGGCGGGCAGGUGCUGAGCCACAGCCUGCUGCUGCUGCACAAGAAGGAGG ACGGCAUCUGGAGCACCAGAUCCUGAAGGACCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCUUCUGAGA UGCGAGGCCAAGAACUACAGCGGCAGAUUACCUUGCUGGUGGUGACCAUACGACCCGACCU GACCUUCAGCGUGAAGAGCAGCAGAGGAGCAGCGACCCCAAGGGCGUGACCUUGCGCGCGGCCA CCCUGAGCGCGGAGAGUGAGAGGCGACAACAAGGAGUACGAGUACAGCGUGGAGUGCCAGGAA GAUAGCGCCUGCCCCCGCGCGAGGAGAGCCUGCCCAUCGAGGUGAUGGUGGACCCGUGGCACAA GCUGAAGUACGAGAACUACACGAGCAGCUUCUUCAGAGAUUACAUCAAGCCCGACCCCCCA	30

10

20

30

40

50

	AGAACCUGCAGCUGAAGCCCCUGAAGAACAGCCGGCAGGUGGAGGUGAGCUGGGAGUACCCCGAC ACCUGGAGCAGCCCCACAGCUACUUCAGCCUGACCUUCUGCGUGCAGGUGCAGGGCAAGAGCAA GAGAGAGAAGAAAGAUAGAGUGUUCACCGACAAGACCAGCGCCACCGUGAUCUGCAGAAAGAACG CCAGCAUCAGCGUGAGAGCCCAAGAUAGAUACUACAGCAAGCAGCUGGAGCGAGUGGGCCAGCGUG CCUGCAGCGGGCGGGCGGGCGGGCAGCAGAAACUGGCCUGGGCCACCCCGACCCCGGCAU GUUCCCCUGCCUGCACCACAGCCAGAACUGCGUGAGAGCCUGAGCAACAUUGCGCAGAAAGGCC GGCAGACCCUGGAGUUCUACCCUGCACCAGCGAGGAGAUCCAGCCAGAAAGAUACCAAAGAU AAGACCAGCACCUGGAGGGCCUGCCUGCCCGUGGAGCUGACCAAGAACGAGAGCUGCCUGAACAG CAGAGAGACCAGCUUCAUCACCAACGGCAGCUGCCUGGCCAGCAGAAAGACCAGCUUCAUGAUGG CCCUGUGCCUGAGCAGCAUCUACGAGGACCUGAAGAUUGUACCAGGUGGAGUUAAGACCAGUAAC GCCAAGCUGUGAUGGACCCCAAGCGGGCAGAUUCUCCUGGACCAGAACAUUGCUGGCCUGAUCGA CGAGCUGAUGCAGGGCCUGAACUUAACAGCGAGAGCCUGGCCCAAGAGAGCAGCCUGGAGGAGC CCGACUUCUACAAGACCAAGAUCAAGCUGUGCAUCCUGCGCAGCCCUUCAGAAUCAGAGCCGUG ACCAUCGACAGAGUGAUGAGCUACCUGAACGCCAGCUCUGGUGGGGAGUACAGGGCGGGCGGGUUC AGGAGCGGGGAGGAGGAGGUGGGGGUGUGGGCGGAGGUACUGCAGCUGCGCCAGCUGGG CCAUACCCUGAUCAGCGUGAACGGCAUCUUCUGAUGUUGCUGCCUGACCUACUGCUUGGGCCCU CGAUGCAGAGAGAGAAGAAAGAAACGAGAGACUGAGAAGAGAGAGCGUGCGACCCGUG h12AB-80T1D スクレオチド配列 1 マッチ
57	AUGUGCCACCAGCAGCUGGUGAUCAGCUGGUUCAGCCUGGUGUUCUUGGCCAGCCUCUGGUGGC CAUCUGGGAGCUGAAGAAGGACGUGUACGUGGUGGAGCUGGACUGGUACCCUGAGCCGCCUGGGC AGAUGUGGUGCUGACCUGCGACACCCUGAGGAGGACGGCAUACCCUGGACCCUGGACCAGAGC AGCGAGGUGUGGGCAGGGGCAAGACCCUGACCAUCCAGGUGAAGGAGUUCGGCGACGGCGGCA GUACACCUGGCCACAAGGGCGGAGGUGUUAAGCCACAGCCUGCUCUUGCUACACAAGAAGGAGG ACGGUAAUUGGAGCACCAGCAUCCUGAAGGACCAGAAGGAGCCUAAAGAAACAGACCUUCUGAGG UGCGAGGCCAAGAAACUACAGCGGCAGAUUACCCUGCGUGGGCUGAGCCACCAUUCACCGGACCU GACCUUCAGCGUUAAGAGUAGCAGAGGCAGCAGCGACCCUACAGGGCGUGACUUGUGGGCGCCGCA CCCUGAGCGCGGAGAGAGUGAGAGGGCGACAACAAGGAGUACGAGUACAGCGUGGAGUGCCAGGAG GACAGCGCCUGCCUGCCGCGAGGAGAGCCUGCCUUAUCGAGGUGAUGGUGGACGCCGUGGCACAA GCUGAAGUACGAGAAUUAACCCUACUCCUUCUUAUCAGAGACAUCAUCAAGCCUGACCCUCCAA AGAAUCUGCAGCUGAAGCCUCUGAAGAACAGCAGACAGGUGGAGGUGAGCUGGGAGUAUCCGGAU ACCUGGAGCAGCCUCACAGCUACUUCUACUUAUUCUGCGUGCAGGUGCAGGGCAAGAGCAA GAGAGAGAAGAAAGGAUAGAGUGUUCACCGACAAGACCAGCGCCACCGUGAUCUGCAGAAAGAACG CCAGCAUCUCAGUGAGAGCCCAAGGACAGAUACUUAUCCUUCUGGAGCGAGUGGGCCAGCGUG CCUUGCUCCGGUGGUGGUGGGCGGAGGAGCAAAACUGCCUGGUGGUACACCUGAUCCUGGCAU GUUCCCCUGCCUGCACCACAGCCAGAACCCUGCGAGAGCCGUGAGCAACAUUGCGCAGAAAGGCCA GACAGACUCUGGAGUUCUACCCUUGCACCAGCGAGGAGAUCAAGCAGGAGCAUACCAAGGAU AAGACAAGCACCUGGAGGGCCUGCCUGCCUGGAGCUGACCAAGAACGAGAGCUGGCCUAAACUC UAGGGAAACAGCUUCAUUAACUACCGCAGUUGCUUAGCCAGCCGGAAGACAUCGUUCAUGAUGG CCUGUGCCUGAGCAGCAUCUACGAGGACCUGAAGAUUGUACCAAGUGGAGUUAAGACCAUGAAC GCCAAGCUGCUGAUGGACCCUAAAGAGACAGAUUCUCCUAGACCAGAACAUUGCUGCCGUGAUCGA CGAGCUGAUGCAGGGCCUGAACUUAACAGCGAAACUGUGCCUCAGAAAGAGUUCACUGGAGGAGC CUGACUUCUUAAGACUAAGAUCAAGCUGUGUADUUCUCCACGCCUUCAGAAUCAGGGCUGUC ACCAUCGAUAGGGUGAUGAGCUACCUGAACGCAUCGUCGGCGGAGGAGUCCGGAGGAGGAGGCUC

10

20

30

40

50

	CGGCGGUGGGGGAAGUGGAGGAGGUGGAUCAGGAGGCGGUAGUCUCCAGCUCUCCUAGCUGGG CCAUCACCCUGAUCUCUGUAAACGGCAUUUUCGUCAUUUUGCUGUCUGACUUAUCUGCUCGCCCCU AGGUGCCGGGAGCGUAGGAGAAACGAGAGACUGCGCCGGGAGUCCGUGCGGCCUGUG h12AB-80TID: スクレオチド配列 2 IL12_041
58	AUGUGUACACAGCAGCUCGUGAUCAAGCUGGUUCAGCCUGGUGUCCUGGCCUCCCCGUGGGGCG CAUCUGGGAGCUGAAGAAGGACGUGUACGUGGUGGAGCUGGACUGGUACCCCGAGCUCGCCGGG AGAUGGUGGUGCUGACCUGCGACACACCGGAGGAAGACGGAAUACCCUGGACCCUGGACCAAUCC UCCGAAGUUCUGGGCAGCGGCAAGACCCUGACC AUCCAGGUGAAGGAGUUCGGCGACGCGGGCCA GUACACCUGCCACAAGGGCGGCGAGGUGCUGAGCCACAGCCUGCUCUCCUCCACAAGAAAGAGG ACGGCAUCUGGAGCACCAGCAUCCUGAAGGACCAGAAGGAGCCAAAGAACAGACCUUCUGCGG UGCGAGGCCAAGAACUACUCAGGCCGAAUACCCUGUUGGUGGCGUACAAACUAUACGACAGACCU GACCUUCAGCGUGAAGUCUAGCCGGGGCAGCAGCGAUCCUAGGGCGUGACCUCCGGCGCGGCCA CCUGAGCGCGCGAGCGGGUGCGGGGCGAACAAGGAGUACGAGUACAGCGUGGAGUGCCAGGAG GACAGCGCCUGCGCGCGCGCGAAGAGUCCCGCCAUCCAGGUGAUGGUGGACGCGGUGCAAA ACUCAAAGUACGAGAACUACACCUCCAGCUUCUUAUCCGGGACAUCAUAAAGCCGAUCCCGCCA AGAACCUGCCAGCUGAAGCCCCUGAAGAACAGCCGGCAGGUGGAGGUGAGCUGGGAAUACCCGGAC ACGUGGUECCACCCACACAGCUACUUCAGCCUGACCUUUUGCGUGCAGGUGCAAAGGCAAGAGCAA GCGGGAGAAGAAGGACCGGGUGUACCGGAUAAGACCUACGCCACCGUGAUUUUGCAGAAAGAACG CAUCCAUUACCUACCGCGCCAGGAUCCGUAUACAGCAGCAGCUGGAGCGAGUGGGCCAGCGUG CCUGUAGCGCGCGCGCGGUGGUGGAGUCCGAACCUCCCGUGGCCACCCCGAGCCCGGCAU GUCUCCUUGCCUGCACCACAGCCAGAACCUUGCGGGGCGGUGAGCAACAUUGCUGCAGAGGCC GGCAGACCCUGGAGUUCUACCCUGCACCAGCGAGGAGAUCCAGCCACGAGGACAUACCAAGGAC AAGACCAGCACCGUGGAGGCCUGCCUGCCCCUGGAGCUGACCAAGAAGCAGAGCUGCCUGAACAG UCCGCGAACCUCCUUAUUAACGAACGGCAGCUGCCUGGCCAGCCGGAAGACCAGCUUCAUGAUG CCUGUGCCUGAGCAGCAUCUACGAGGACCUGAAGAUUACAGGUGGAGUUAAGACCAUGAAC GCCAAGCUGUGUGAUGGACCCCAAGCGGCAGAUUCCUGGACAGAACAUAGCUGGGCGUGAUCGA CGAGCUGAUGCAGGCCUGAACUUAACAGCGAAACCGUGCCCCAGAGUCCAGCCUGGAGGAGC CCGACUUCUACAAGACCAAGAUCAAGCUGUGCAUCCUGCUGCAGCCUUCGCGAUCCGGGCGGUG ACCAUCGAGCCGGGUGAUGAGCUACCUGAACGCCUCUUCGCGUGGCGGGAGCGGAGGGCGGUAU UGCGGAGGAGGGUGCGGAGGGCGGGAAGCGGUGGUGGAAGCCUUAACUGCUGCCUCCUGGG CCAUCACACUGAUCUCCGUGAACGGCAUCUUCGUGAUCUGCUGCCUGACCUACUGCUGCCGCCU CGGUGCCGCGAGCGAGGAGAAACGAGAGGCUACAGACGGGAGAGCGUGCGGCCCGUG h12AB-80TID: スクレオチド配列 3 IL12_042
59	AUGUGCCACCAACAGCUGGUGAUCAGCUGGUUCAGCCUGGUGUCCUGGCCUACCCUUGGGGCG CAUCUGGGAGCUGAAGAAGGACGUGUACGUGGUGGAGCUGGACUGGUACCCCGACGCCCCUGGGC AGAUGGUGGUGCUGACCUGCGACACGCCCGAGGAAGACGGUAUACCCUGGACUUCGGACAGAGC AGCGAGGUGCUGGGCAGCGGCAAGACCCUGACC AUCCAGGUGAAGGAGUUCGGCGACGCGGCCA GUACACCUGCCACAAGGGCGGCGAAGUGCUGAGCCACAGCCUUCUGCUGCUGCACAAGAAAGGAG ACGGCAUUGGAGCACCGACAUCCUGAAGGACCAGAAGGAGCCCAAGAACAGACCUUCUGCGG UGCGAGGCCAAGAACUACAGCGGCCGUGUACCCUGCUGGUGGUGACCAUACAGACCGACCU UACCUUCAGCGUUAAGAGCAGCGGGGCGAGCAGCGAUCCCAAGGCGUGACCUUGCGGAGCCGCCA CCCUUCUCCGAGAGCGGGUGCGUGGGGACAACAAGGAGUACGAGUACAGCGUGGAGUGCCAGGAG GAUAGCGCCUGUCCCGUGCCGAAGAGAGCCUCCCAUCCAGGUGAUGGUGGACGCGCGGCAAA

10

20

30

40

50

	GCUGAAGUACGAGAACUACACCAGCAGCUUCUUAUCCGGGACAUCAUCAAGCCCGAUCCACCCA AGAACCUGCAGCUGAAGCCCCUGAAGAACAGCAGGCAGGUUGAGGUGAGCUGGGAAUACCCCGAC ACCUGGAGCACCUCACAGCUACUUCAGCCUGACCUUCUGGGUGCAGGUGCAGGGCAAGAGCAA GCGGGAGAAGAAAGGAUCGGGUGUUCACCGAUAAAGACCAGCGCCACCGUGAUCUGCCGGAAAGAACG CCA6CAUCAGCGUUCGGGCCCAGGACC6GUACUACAGCAGCAGCUGGAGCGAGUGGGCCAGCGUG CCCUGCUCUGGAGGGGGAGGCGGAGGUCACGGAAACUCCAGUGGCCACGCCGGAUCCGGCAU GUUCCCCUGCCUGCACCACAGCCAGAACCUGCUGGGGGCCUGAGCAACAUUGCUGCAGAAGGCC GGCAGACCCUGGAGUUCUACCCUGCACCAGCGAGGAGAUCCGACCACGAGGACAUCCACAGGAC AAGACCAGCACCUGGAGGCGUGCCUGCCCCUGGAGCUGACCAAGAACGAGAGCUGCCUGAACAG CCGGGAGACAAGCUUCAUACCAACGGCAGCUGCCUGGCCAGCCGGAAGACCAGCUUCAUGAUGG CCCUGUGCCUGAGCAGCAUCUACGAGGACCUGAAGAUGUACCAGGUGGAGUUAAGACCAUGAAC GCCAAGCUGCUGAUGGACCCCAAGCGGCGAGAUUUCUGGAGUACAGAACAUUGCUGGCCUGAUCGA CGAGCUGAUGCAGGCCUGAACUUAACAGCGAGACUGUGCCCCAGAAGUCCAGCCUGGAGGAGC CCGACUUCUACAAAGACCAAGAUCAAGCUGUGCAUCCUGCUGCAGCCUCCGGAUCCGGGCGUG ACCACUGACCGGGUGAUGAGCUACCUGAACGCCUCUCCGGCGGGAGUCCGGAGGUGGAGGUUC UGGAGGAGGUGGAAGCGGUGGGGCGGAAGCGGCGGUGGCAGCCUGCAAUUGCUCUCCAGCUGGG CCAUCACCCUGAUCAGCGGAACGGCAUCUUCUGAUCUGUUGCCUGACCUACUGCUUCCGCCCA CGGUGCCGGGAGAGACGGCGGAACGAGCGGUGCGGCCGAGAGAGCGUGCGGCCCGUG h12AB-80TID-ヌクレオチド配列 4. IL12_043	10
60	AUGUGUACCAGCAGUUGGUGAUUUCUGGUUCACUGGUGUUCUUGCAUCACCACUCGUGGC GAUCUGGGAAUUAAGAAAGGACGUCUACGUGGUGGAGUUAAGAUUGGUUCCUGAGCGACCCGGGG AAAUGGUGUCCUCACGUGCGACACUCCAGAGGAAGACGGGAUACCUUGGACCCUGGAGCAGUCG UCAGAGGUACUUGGCGAGUGGCAAGACACUGACAAUCCAGGUAUAAAGAGUUGGUGACCGCCGGCA GUUUAACGUGCCACAAGGGCGGGAGGUGUGUACAUUCUUGCUUCUCCUGCACAAGAAAGAAAG ACGGCAUCUGGUGAACUGACAUCCUGAAAAGACCAGAAAGAACCAAGAAUAAAGACCUUCCUCCGU UGGGAAGCAAAGAACUACUCAGGGCGUUCACUUGCUGGGUGGUAACCAAAUUCUACCGAUCU GACGUUCUCUGAAGUCAAGUAGGGGAUCCUCAGACCCUCAAAGGGGUCACCUUGCGGCGCGCCA CCUUAUCCGCGCAAAGAGUUCGGGGUGACAAUAAAGAGUACGAGUACAGCGUCGAGUGCAGGAG GACUCCGCCUGUCCUGCUGCAGAGGAGUCCUGCGGAUCGGAAGUUAUGGUGGACCGGCCACAA GCUCAAAUAACGAGAACUACCCUCAAGCUUCUUAUCAGAGACAUCAUCAAAGCCUGAUCCACCCA AGAACUGCAACUGAAGCCUUGAAGAACAGCCGACAGGUGGAGGUVUCUUGGGAAUUAUCCAGAC ACGUGGAGUACGCCCCAUCCUACUUCAGCUGACCUUCUGGGUGCAGGUUCAGGGGAAGUCCAA GAGAGAGAAGAAAGAUCCUGUGUUCACAGACAAGACCUCCGCCACCGUGAUCUGCCGGAAGAACG CAUCUUAUCAGUUAAGGGCCAGGAUCGGUACUACUCGAGUUCUUGGUCUGAGUGGGCAAGUGUG CCCUGCUCGGGUGGGGGGGAGGAGGUGUACAGGAACCUGCCGUGGCCACACAGAUCCAGGAU GUUCCCCUGUCGACCAUCUCAGAACCUUUGCGAGCCGUVUCAAUAUGCUUCAGAAAGGCU GGCAGACCCUGAGUUAUCCUGCACGUCUGAGGAGAUCCGUAACGAGGACAUCAACAAGGAC AAGACUUCACCGUGAAGCCUGUUUACCUUGGAACUGACCAAGAACGAAUCCUGUCUACACAG UAGGGAAACGAGCUUCUACUAAACGGAAGCUGUCUGGCUAGCCGGAAGACCUCUUAUUGAUGG CCCUGUGCUGGAGCUCUUAUUACGAAGAUUUGAAGAGUACCAAGUGGAUUUAAGACUAGAAC GCCAAACUGCUGAUGGACCCUAAAGCGCCAAAUUCUUGGAGUACAGAAUUGCUGGCUGUAAUCGA CGAGCUCAUUGCAGGCUUGAACUUAACAGCGAGAGCGGUACCGCAGAGAGUCCUGGGAAGAAC CGGACUUCUACAAAGACUAAAGAUAAACUCUGCAUACUCCUCCAGCCUCCGGAUCCAGGGCCGUC	20 30

10

20

30

40

50

	ACAAUAGAUAGGGUCAUGAGUUAUCUUAACGCCAGUUCUGGUGGUGGAUCGGGUGGCGGAGGCUC AGGAGGAGGGCGGUUCUGGCGGUGGUGGAGUGGAGGCCGUAUCUGCAGCUGCUGCCGAGUUGGG CAAUCACGCUAAUACAGCGUGAACGGAUAUUCGUAUUUGUUGCCUACCUAUUGUUUGGCACCC AGGUGCAGGGAAGGAGGCGAAACGAAAGGUUGAGGAGGGAAUCUGUCCGGCCAGUG h12AB-80TID スクレオチド配列 5 IL12_044
61	MCHQLVTSWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYTPAPGEMVVLTCDTPEEDGII WTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTKHGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILK DQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLTITISTDLTFVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECCQEDSACFAAEEELPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPD PPKNLQLKPLKNSHQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTS ATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSGGGGGGSRNLPVATPDPGMFPCLHHS QNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSR ETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIIYEDLMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYINA SSGGSSGGGSGGGSGGGSGGGSLQLLPSWAITLISVNGIFVICCLTYCFAPRCRER RRNERLRRESVRPV イタリック体：シグナルペプチド、下線：IL12-B、破線の下線及びイタ リック体：リンカー、太字：IL12-A、二重の下線：膜貫通ドメイン、太 字及びイタリック体：細胞内ドメイン h12AB-80TID アミノ酸配列 1 (スクレオチド配列 1-に対応している)
62	GUGGUGGUGAUCAGGCCAUCUUGGCCUGGUGGUGUGACCAUCAUCAGCCUGAUCUCCUGAU CAUGCUGUGG ヒト PGFRB 膜貫通ドメインスクレオチド配列
63	CAGAAGAAGCCAGAUACGAGAUCAUGGAAGGUGAUCGAGAGCGUGAGCAGCCAGCCACGA G ヒト PGFRB E570tr 細胞内ドメインスクレオチド配列
64	CAGAAGAAGCCAGAUACGAGAUCCGGUGGAAAGGUGAUCGAGAGCGUGAGCAGCCAGCCACGA GUUCAUCUUGGUGGACCCCAUGCAGCUGCCCUACGACAGCACCUGGGAGCUGCCCCGUGAUCAGC UGGUGCUGGGCAGAACCCUGGGCAGCGGCCCUUCGGCCAGGUGGUGGAGGCUACCGCCACGGC CUGAGCCACAGCCAGGCCACCAUGAAAGGUGGCCUGGCCAUGCUAAGAGCAGCCGCCAGAAAGCAG CGAGAAGCAGGCCUGAUGAGCGAGCUGAAGAUCAUGAGCCAUCUGGGGCCCAACUGAACGUGG UGAACCUUGCUGGGCGCCUGCACCAAGGGCGGCCCAUCUACAUCAUACCCAGUACUGCAGAUAC GCGGACCUUGGUGACUACCUUGCACAGAAACAAGCACACCUUCCUGCAGCACCACAGCGACAAGAG AAGACCUCCAGCGCCGAGCUGUACAGCAACGCCUGCCCCGUGGUGUCUGCCCCUACCCAGCCACG UGAGCCUGACCCGGCGAGAGCGACGGCGGC ヒト PGFRB G739tr 細胞内ドメインスクレオチド配列
65	AUGUGCCACCAAGCAGCUGGUGAUCAGCUGGUCAGCCUGGUGUCCUGGCCAGCCCCCUGGUGGC CAUCUGGGAGCUGAAGAAGGACGUGUACUGGUGGAGUUGGAUUGGUACCCCGACGCCCCCGCG AGAUGGUGGUGCUGACCUGCGACACCCCGAGGAGGACGGCAUCACCUGGACCCUGGACAGAGC AGCGAGGUGCUGGGCAGCGCAAGACCCUGACC AUCCAGGUGAAGGAGUUCGGCGACGCCGCCA GUACACCUGCCACAAGGGCGGGCAGGUGCUGAGCCACAGCCUGCUGUGCUGCACAAGAAGGAGG ACGGCAUCUGGAGCACCAGAUCCUGAAGGACCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCUUCCUGAGA UGGAGGGCCAAAGAACUACAGCGGCAGAUUACCUUGCUGGUGGUGACCAUCAAGCACCAGCCU GACCUUCAGCGUGAAGAGCAGCAGAGGCGAGCAGCGACCCCGAGGGCGUGACCUGCGCGCGGCCA

10

20

30

40

50

	CCCUGAGCGCGGAGAGAGUGAGAGGGGACAACAAGGAGUACGAGUACAGCGUGGAGUGCCAGGAA GAUAGCGCCUGCCCCCGCGCGGAGGAGAGCCUGCCCAUCGAGGUGAUGGUGGACGCCGUGCACA GCUGAAGUACGAGAACUACACGAGAGCUUCUUAUCAGAGAUUAUCAAGCCCGACCCCCCA AGAACCUGCAGCUGAAGCCCCUGAAGAACAGCCGGCAGGUGGAGGUGAGCUGGGAGUACCCCGAC ACCUGGAGCAGCCCCCACAGCUACUACAGCCUGACCUUCUGCGUGCAGGUGCAGGGCAAGAGCAA GAGAGAGAAGAAAGAUAGAGUGUUCACCGACAAGACCAGCGCCACCGUGAUCUGCAGAAAGAAGC CCAGCAUCAGCGUGAGAGCCCAAGAUAGAUACUACAGCAGCAGCUGGAGCGAGUGGGCCAGCGUG CCCUGCAGCGGGCGGGCGGGCGGGCAGCAGAAACCUGCCCGUGGGCAGCCCCGACCCCGGCAU GUUCCCCUGCGUACACAGCCAGAACCUGGUGAGAGCCGUGAGCAACAUGCUGCAGAAAGGCC GGCAGACCCUGGAGUUCUACCCUGGACCGAGGAGAUCCGACCAGGAAGAUUACACCAAGAU AAGACCAGCAGCGUGGAGGGCCUGCCUGCCCCUGGAGCUGACCAAGAAGCAGAGCUGCCUGAACAG CAGAGAGACCAAGCUUACUACCAACCGGAGCUGCCUGGGCAGCAGAAAGACCAGCUUACUAGUG CCUGUGCCUGAGCAGCAUCUACGAGGACCUGAAGAUGUACAGGUGGAGUUAAGACCAUGAAC GCCAGCUGGUGAUGGACCCCAAGGGCAGAUUCCUGGACAGAAACAUGCUGGGCCGUGAUCGA CGAGCUGAUGCAGGGCCUGAACUUAACAGCGAGACCGUGCCCGAAGAGCAGCCUGGAGGAGC CCGACUUCUACAAGACCAAGAUCAAGCUGUGCAUCCUGGCAACGCEUUCAGAAUCAGAGCCGUG ACCAUCGACAGAGUGAUGAGCUACCGAAGCCAGCUCUGGUGGGGGAUCAGGGGGUGGGGAUC UGGCGGGGGUGGAAGUGGAGGUGGGGGUCUGGGCGAGGUACACUGCAGGUGGUGGUGAUCAGCG CCAUCUGGGCCUGGUGGUGGUGACCAUACUACCCUGAUCAUCCUGAUCAGCUGGUGGAGAG AAGCCAGAUACGAGAUCAUGGAAGGUGAUCGAGAGCGUGAGCAGCGAGCGGCCACGAG h12AB-PTM-1CD-E570tr スクレオチド配列	10
66	<u>MCHQQLVISWFSLVFLASFLVAIWELKKDVYVVELDWYFPDAPGEMVVLTCDTPEEDGIT</u> <u>WTLDSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILK</u> <u>DQKEFKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTIIISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA</u> <u>ERVVRGDNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI IKPD</u> <u>PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTS</u> <u>ATVICRKNASISVRAQDRYYSWSEWASVPCSGGGGGGSRNLPVATPDGPMFPC LHHS</u> <u>QNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPC TSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSR</u> <u>ETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM</u> <u>LAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN</u> <u>SSGGGGGGGGSGGGGGGGGGSGGGSLQVVVISAILALVVLTIISLIILIMLWQKKPRYE</u> <u>IRWKVIESVSSDGHE</u> イタリック体：シグナルペプチド、下線：1 L 1 2 B、破線の下線及びイタ リック体：リンカー、太字：1 L 1 2 A、二重の下線：膜貫通ドメイン、太 字及びイタリック体：細胞内ドメイン h12AB-PTM-1CD-E570tr アミノ酸配列	30
67	AUGUGCCACCAACAGCUGGUGAUCAGCUGGUUCAGCCUGGUGUCCUGGCCAGCCCCUGGUGG CAUCUGGGAGCUGAAGAAGGACGUGUACGUGGUGGAGUUGGAUUGGUACCCGACGCCCCGGCG AGAUGGUGGUGCUGACCUGCGACACCCCGAGGAGGACGGCAUACCCUGGACCCUGGACAGAGC AGCGAGGUGCUGGGCAGCGGCAAGACCCUGACCAUCCAGGUGAAGGAGUCCGGCAGCGCGGCA GUACACCCUGCCACAAGGGCGGGCAGGUGCUGAGCCACAGCCUGCUGCUGGACACAAGAAGGAGG ACGGCAUCUGGAGCACCAGAUCCUGAAGGACCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCUUCCUGAGA UGCGAGGCCAAGAACUACAGCGGCAGAUUACCCUGCUGGUGGUGACCAUACAGCAGCGACCU GACCUUCAGCGUGAAGAGCAGCAGAGGACAGCGACCCCGAGGGGUGACCUUGCGGGCGGCCCA	40
		50

	CCCUGAGCGCCGAGAGAGUGAGAGGGGACAACAAGGAGUACGAGUACAGCGUGGAGUGCCAGGAA GAUAGCGCCUGCCCCCGCCGAGGAGAGCCUGCCCAUCGAGGUGAUGGUGGACGCCGUGCACA CCUGAAGUACGAGAACUACACAGCAGCUUCUUAUCAGAGAUUAUCAAGCCCGACCCCCCA AGAACCUGCAGCUGAAGCCCCUGAAGAACAGCCGGCAGGUGGAGGUGAGCUGGGAGUACCCCGAC ACCUGGAGCACCCECCACAGCUACUUCAGCCUGACCUUCUGCGUGCAGGUGCAGGGCAAGAGCAA GAGAGAGAAGAAAGAUAGAGUGUUCACCGACAAGACCAGCGCCACCGUGAUCUGCAGAAAGAACG CCAGCAUCAGCGUGAGAGCCCAAGAUAGAUACUACAGCAGCAGCUGGAGCGAGUGGGCCAGCGUG CCCUGCAGCGGGCGGGCGGGCGGGCAGCAGAAACCUGCCCGUGGGCACCCECCAGCCCGGCAU GUUCCCCUGCGUACCCACAGCCAGAACCUGCGAGAGCCGUGAGCAACAUGCGCAGAAAGGCC GGCAGACCCUGGAGUUCUACCCUGCACCAGCGAGGAGAUCCGACCACGAAGAUUCACCAAGAU AAGACCAGCACCUGGAGGGCGUGCCUGCCCCUGGAGCUGACCAAGAACGAGAGCUGCCUGAACAG CAGAGAGACCAGCUUUAUCACCAACCGCAGCUGCCUGGGCAGCAGAAAGACCAGCUUUAUGAUG CCUGUGCCUGAGCAGCAUCUACGAGGACCUGAAGAUGUACCAGGUGGAGUUAAGACCAGAAAC GCCAAGCUGUGAUGGACCCCAAGCGGCAGAUUCCUGGACAGAAACAGCUGGGCGGAGUAGCAG CGAGCUGAUGCAGGGCCUGAACUUAACAGCGAGACCUGGCCAGAAAGAGCAGCUGGAGGAGC CCGACUUCUACAAGACCAAGAUCAAGCUGUGCAUCCUGCGACGCCUUCAGAAUCAGAGCGGUG ACCAUCGACAGAGUGAUGAGCUACCGAAGCGCCAGCUCUGGUGGGGAUCAGGGCGGGCGGUG AGGAGCGGGUGAAGUGGAGGUGGGGGUCUGGGCGAGGUCACUGCAGGUGGUGGUGAUCAGCG CCAUCGCGGCCUGGUGGUGCUCACCAUUAUCAGCCUGAUAUCCUGAUCAGGUGGCGAGAAAG AAGCCAGAUACGAGAUCCGUGGAAGGUGAUCGAGAGCGUGAGCAGCGACGCCACAGAUUCAU CUUCGUGGACCCCAUGCAGCUGCCUACGACAGCACCUGGAGCUGCCCGUGAUCAGCUGGUGC UGGGCAGAACCCUGGGCAGCGGGCCUUCGGCCAGGUGGUGGAGGCUACCGCCACGGCCUGAGC CACAGCCAGGCCACCAUGAAGGUGGGCGGUGGCAUGCUAAGAGCACCGCCAGAAAGCAGCGAA GCAGGCCUGAUGAGCGAGCUGAAGAUCAUGAGCCAUCUGGGGCCACCUGAACGUGGUGAACC UGCUGGGCGGUGCACCAGGGCGGGCCCAUCUACAUCAUACCGAGUACUGCAGAUACGGCGAC CUGGUGGACUACCGCACAGAAACAAGCACACCUCCUGCAGCACCACAGCGACAAGAGAAGACC UCCAGCGCGGAGCUGUACAGCAACGCCUGGCCGUGGUGGUGGUGGUGGUGGUGGUGGUGGUGG UGACCGGGCAGAGCGACGGCGGC
	h12AB-PTM-ICD-G7391r スクレオチド配列
68.	<u>MCHQQLVTSWFSLVFLASPLVAIWELKKDVIYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGLT</u> <u>WTLQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTTCHKGGVLSHSLILLHKKEDGIWSTDILK</u> <u>DQKEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWNLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA</u> <u>ERVRGDNKEYEYSVECCEDSACPAAEESLP</u> IEVMVDVHKLKYENYTSFFIRDI IKPD PPKNLQQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDINSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTS ATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSGGGGGG <u>RNL</u> PVATPDPGMFPCLHHS <u>QNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEIDHEDITDKDTSVEACLPLELTKNESCLNSR</u> <u>ETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNM</u> <u>LAVIDELMQALNFNSETVFPQSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN</u> <u>SSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQVVVISAILALVVLTIISLIILIMLWOKKPRYE</u> <u>IRWKVIESVSSDGHFIFVDPNQLPYDSTWELPRDQLVLGRTLGSAGFQVVEATAHGL</u> <u>SHSQATMKVAVAMLKSTARSEKQALMSELKIMSHLGPLNVNLLGACTKGGPIYIIT</u> <u>EYCRYGDLVDYLHRNKHFTFLQHHSQKRRPPSAELYSNALPVGLPLPSHVSLTGESDGG</u> イタリック体：シグナルペプチド、下線：I-L 1.2 B、破線の下線及びイタ リック体：リンカー、太字：I-L 1.2 A、二重の下線：膜貫通ドメイン、太 字及びイタリック体：細胞内ドメイン

10

20

30

40

50

	h12AB-PTM-1CD-G7391r アミノ酸配列
69	AUCUACAUUCUGGGCUCCACUGGCCGGCACCUGCGCGUGCUGCUGGUGAUCACCCU GUACUGCUAC ヒトCD8膜貫通スクレオチド配列
70	CUGCUGCCACGUCUGGGCCAUACCCUGAUCAGCGUGAACGGCAUCUUCGUGAUCUGCUGCCUG ヒトCD80膜貫通ドメインスクレオチド配列
71	ACCUACUGCUCGCCCCUCGAUGCAGAGAGAGAAGAAGAAACGAGAGACUGAGAAGAGAGAGCGU GCGACCCGUG ヒトCD80細胞内ドメインスクレオチド配列
72	CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCUAAACUAUCAAACGCCAUUAUCACA CUAAAUAGCUACUGCUAGGC (miR-122)
73	AACGCCAUUAUCACACUAAUA (miR-122-3p)
74	UAUUUAGUGUGAUAAUGGCGUU (miR-122-3p 結合部位)
75	UCAAGCUDUUUGGACCCUCGUAACAGAAUCUAAUACGACUCACUUAUAGGGAAUUAAGAGAGAAAAA AGAGUAAAGAAAAUUAAGAGCCACC (5' UTR)
76	GGGAAAUUAGAGAGAAAAAGAAGAGUAAGAAGAAUUAUAAAGGCCACC (5' UTR)
77	UGAUAAUAGGCGGAGGCCUCGUGGCCAUGCUUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCCCAGCCCCCUCU CCCCUCCUGCACCUGUACCCCCCAAACACCAUUGUCACACUCAGUGGUCUUUGAAUAAAGUCU GAGUGGGCGGC (3' UTR)
78	UGAUAAUAGGCGGAGGCCUCGUGGCCAUGCUUCUUGCCCCUUGGGCCCAAACACCAUUGUCACA CUCCAUCCCCCCAAGCCCCUCCUCCCCUCCUCAAUAAAGUAGGAAACACUACAUGCACCUGUACC CCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC (mi-122 部位及び mi-142.3p 部位を有する 3' UTR)
79	GSQATNFSLLKQAGDVEENPGP (2 A ペプチドアミノ酸配列)
80	GGAAAGCGAGCTACTAAGCTTCAGCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAAGGAGAACCTGGACC T (2 A ペプチドをコードするスクレオチド配列)
81	TCCGGACTCAGATCCGGGGATCTCAAAATTTGCTGCTCTGTCAAACAACTCTTAAGTTTGATT ACTCAAACTGGCTGGGGATGTAGAAAGCAATCCAGGTCCACTC (2 A ペプチドをコードするスクレオチド配列)
82	UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG (miR-122-5p)
83	CAAAACCAUUGUCACACUCCA (miR-122-5p 結合部位)
84	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA (has-miR-21-5p)
85	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU (has-miR-21-3p)
86	(GGGGS)。 o=1-5

87	GGSGGGGSGG
88	GGSGGGGG
89	GSGSGS
90	GGGGGS
91	GGGGG
92	GGGGGG
93	GGGGGGG
94	GGGGGGGG
95	(EAAAK) ₄ q=1-5
96	EAAAKEAAAKEAAAK
97	GGGGSLVPRGSGGGG
98	GSGS
99	GGGGSLVPRGSGGGG
100	GGSGGHMCSGG
101	GGSGSGSGSGG
102	GGSGG
103	GSGS
104	GGGSEGGGSEGGGSEGGG
105	AAGAATAA
106	GGSSG
107	SGGGTGGS
108	SGSGSGSGSG
109	SGSGSGSGSGSG
110	SGSGSGSGSGSGS
111	CCGCCGCCGCCG [CCG] ₄
112	CCGCCGCCGCCGCCG [CCG] ₅
113	CCCCGGCGCC V1 GC-リッチ RNA エlement
114	CCCCGGC V2 GC-リッチ RNA エlement
115	GCCGCC EK GC-リッチ RNA エlement
116	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGA 5' UTR
117	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGACCCCGGCCGCCACC V1-5' UTR
118	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGACCCCGGCCGCCACC V2-5' UTR
119	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGAGCCACC 標準的な UTR

10

20

30

40

50

120	GCCA/GCC コザックコンセンサス
121	UGAUAUAGGCUUGGAGCCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCCCAAGCCGCUCCU CCCCUUCUGGACCCGUACCCCCAAACACCAUUGUCACACUCCAGUGGCUUUUGAAUAAAGUCU GAGUGGGCGGC miR-122 を有する 3' UTR
122	AUGGACGCAAUAGAGAGAGGGGCUUGCUGGUGGCUCCUUCUUUGGGAGCAGUCUUCGUUUCGCC CAGCCAGGAAAUCCACGCCCGAUUCAGAAGAGGAGCCAGAAACUGGGUGAACGUGAUCUCGGACC UUAAGAAGAUCCGAGGACCCAUCCAGUCGAGCACAUCGACGCGAGCGUGUACACGGAGUCGGAC GUCCACCCGUGUGCAAGGUCACGGCGAUGAAGUGCUUCCUCCUGGAGCUCCAAGUCAUCUCGCU CGAGAGCGGGUGACGCGUCGAUCCACGACACGGUGGAGAACCUGAUCUCCUGGCGAACAACUCGC UGUCGUGGAACGGGAACGUCACAGAGUCCGGUGCAAGGAGUGCGAGGAGCUGGAGGAGAAGAAC AUCAGGAGUUCUCCGAGUCGUCGUCUUAUAGUCCAGAUUUAUCAACACGUCG HS IL15opt-tPA6 mRNA ORF #2
123	MDAMKRGLCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAI LYTESDVHPSCKVTAMKCFLLLEQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTES GCKEELEEKNKEFLQSFVHIVQMFINTS SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQIT CPFPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSL KCIKDPALVHQRPAPPS GGGGSGGGSGGGSL LPSWAITLISVNGIFVICCLTYCFAP RCRERRRNERLRRESVRPV Hs tPA6-ILR_linker_CD80TID (シグナルペプチドは太字とし、IL-15に は下線を付し、リンカーは太字及びイタリック体とし、IL-15 R α s u s h iドメインにはドットの下線を付し、CD80膜貫通ドメインには二 重の下線を付し、CD80細胞内ドメインは太字として下線を付している)
124	ATGGATGCAATGAAGAGAGGGGCTCTGCTGTGTGCTGCTGCTGTGTGGAGCAGTCTTCGTTTCGCC CAGCCAGGAAATCCATGCCCGATTGAGAAGAGGAGCCAGAACTGGGTGAACGTGATCTCGGACC TGAAGAAGATCGAGGACCTCATCCAGTCGATGCACATCGACGGGACGCTGTACACGGAGTCGGAC GTCCACCCGTCGTGCAAGGTCACGGCGATGAAGTGCTTCCTCTGGAGCTCCAAGTCATCTCGCT CGAGTCGGGCGACGGGTCGATCCACGACACGGTGGAGAACCCTGATCATCTCTGGCGAACAACCTCGC TGTCGTCGAACGGGAACGTACGGAGTCGGGCTGCAAGGAGTGGAGGAGCTGGAGGAGAAGAAC ATCAAGGAGTTCCTGCACTGCTGTCACATCGTCCAGATGTTATCAACACGTCGTCGTTGG CGGATCAGGCGGTGGCGATCTGGCGGCGTGGAAAGTGGAGGTGGCGGCTCTGGCGGAGGTTAC TGCAGATCACCTGTCCACCTCCCATGTCCGTGGAAACACGGCGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGC CTGTACTCCCGGAAAGATACATTTGTAACAGCGGGITTAAGAGGAAGGCCGGCACCTCCTCGTT GACCGAATGCGTGCTGAACAAGGCTACCAACGTGGCCCATTTGGACTACCCCGTCCCTGAAGTGCA TTTCGGATCTGCTGCTGTCACCAACGGGCTGCGCCGCGCTCCGGCGGCGGCTTCAGGCGGA GGAGGAAGTGGAGGTGGAGGCTCCCTGCTGCCAGCTGGGCTATCACCTGATCAGGCTGAACGG CATCTTCGTGATCTGCTGCTGACCTACTGCTTCGCTCCAGATGCAGAGAGAGAAGAAGAACG AGAGACTGAGAAGAGAGAGCGTGAGACCCGTG ヌクレオチド配列 #1:Hs tPA6-ILR_linker_CD80TID
125	ATGGATGCAATGAAGAGAGGGGCTCTGCTGTGTGCTGCTGCTGTGTGGAGCAGTCTTCGTTTCGCC CAGCCAGGAAATCCATGCCCGATTGAGAAGAGGAGCCAGAACTGGGTGAACGTGATCTCGGACC TGAAGAAGATCGAGGACCTCATCCAGTCGATGCACATCGACGGGACGCTGTACACGGAGTCGGAC

10

20

30

40

50

	GTCCACCCCGTCGTGCAAGGTCACGGCGATGAAGTGCTTCCTCCTGGAGCTCCAAGTCATCTCGCT CGAGTCGGGCGACGGTCGATCCACGACACGGTGGAGAACCCTGATCATCTGGCGAACAACCTCGC- TGTCGTGGAACGGGAACGTCACGGAGTCGGGCTGCAAGGAGTGCAGGAGCTGGAGGAGAAGAAC ATCAAGGAGTTCCTGCAGTCGTTCTGTGCACATCGTCCAGATGTTTCATCAACACGTCGAGCGGCGG CGGTAGTGGAGGAGGTGGCTCCGGTGGAGGGCGGAGCGGTGGCGGTGGAAGTGGCGGCGGAGCC TGCAGATCACCTGTCTCTCTCCATGAGCGTGGAGCACGCGGACATCTGGGTGAAGAGCTACAGC CTGTACAGCCGGGAGCGGTACATCTGCAACAGCGGCTTCAAGCGGAAGGCCGGCACAAGCAGCCT GACCGAGTGTGCTGCTGAACAAGGCCACCAAGCTGGCCCTGAGGACACCCCAAGCCTGAAGTGCA TCCGGGACCCCGCCTGGTGCATCAGCGGCCCGCCCCACCTAGCGGCGGAGGAGGCTCCGGAGGA GGCGGGAGCGGTGGAGGGCGGAGCCTGCTGCCCTCTTGGGCCATCACCTGATCAGCGTGAACGG CATCTTCGTGATCTGCTGCCGTGACCTACTGCTTTGCCCTTAGGTGCCGGGAGAGACGGCGGAACG- AGAGGCTGCGGCGGAGAGCGTGGGCCCGTG ヌクレオチド配列 #2:Hs lPA6-ILR_GS_CD80TID-partopt
126	ATGGAGCGCCATGAAGCGGGGCTGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCGGGCGCGTTCGTGAGCCC CAGCCAGGAGATCCACGCCCGTTTAGACGGGGCGCACGGAACTGGGTGAACGTGATCAGCGACC TGAAGAAGATCGAGGACCTGATCCAGAGCATGCACATCGACGCCACCTGTACACCGAGAGCGAC GTGCACCCAGCTGCAAGGTGACCGCCATGAAGTGCTTCCTGCTGGAGCTGCAGGTGATCAGCCT GGAGAGCGGGGACGCCAGCATCCACGACACCGTGGAGAACCCTGATCATCTGGCCAACAACAGCC TGAGCAGCAACGGCAACGTGACCGAGAGCGGCTGCAAGGAGTGCAGGAGCTGGAGGAGAAGAAC ATCAAGGAGTTCCTGCAGAGCTTCGTGCACATCGTGCAGATGTTTCATCAACACCGCTCTGGTGG CGGCTCCGGTGGAGGTGGCTCTGGCGGCGGAGGTAGCGGTGGCGGAGGCACTGGCGGAGGGAGCC TGCAGATCACCTGCCCAACCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTACAGC CTGTACAGCCGGGAGCGGTACATCTGCAACAGCGGCTTCAAGCGGAAGGCCGGCACCAGCAGCCT GACCGAGTGGCTGCTGAACAAGGCCACCAACGTGGCCCACTGGACCACCCCGAGCCTGAAGTGCA TCCGGGACCCAGCCTGGTGCATCAGCGGCCCGACCTCCAAGCGCGGAGGCGGAAGTGGCGGG GGCGGTTCAAGCGGAGGAGGAGCGCCTCCTGCCCTCTTGGGCCATCACCTGATCAGCGTGAACGG CATCTTCGTGATCTGCTGCCGTGACCTACTGCTTCGCACCCCGGTGCAGAGAGCGGCGGCGGAACG- AGCGCCTGCGGCGGAGAGCGTGGGCCCGTG ヌクレオチド配列 #3:Hs lPA6-ILR_GS_CD80TID_fullopt
127	UGUAGUGUUUCCUACUUUAUGGA (hsa-miR-142-3p)
128	CAUAAAGUAGAAAGCACUACU (hsa-miR-142-5p)
129	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPLKCIR DPALVHQRPAPPS IL-15Ra sushi ドメイン
130	VAISTSTVLLCGLSAVSLACYL IL-15Ra 膜貫通ドメイン
131	KSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEBLENCSHHL IL-15Ra 細胞内ドメイン
132	GGGAAAUAAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAAAGA 5' UTR
133	GGGAAAUAAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAAAGACCCCGGCGCCGCCACC V1-5' UTR

10

20

30

40

50

134	GGGAAAUAAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAAAGACCCCGGCCACC V2-5' UTR
135	CCR(A/G)CCAUGG. コザックコンセンサス配列
136	GGGAGAUCAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAAAGAGCCACC 5' UTR-002
137	GGGAGACAAGCUUGGCAUCCGGUACUGUUGGUAAAGCCACC 5' UTR-003
138	GGGAAUUAACAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAAAGAGCCACC 5' UTR-008
139	GGGAAAUUAGACAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAAAGAGCCACC 5' UTR-009
140	GGGAAAUAAAGAGAGUAAAGAACAGUAAGAAGAAAUAAAGAGCCACC 5' UTR-010
141	GGGAAAAAAGAGAGAAAAGAAGACUAAGAAGAAAUAAAGAGCCACC 5' UTR-011
142	GGGAAAUAAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAUAAUAAAGAGCCACC 5' UTR-012
143	GGGAAAUAAAGAGACAAAACAAGAGUAAGAAGAAAUAAAGAGCCACC 5' UTR-013
144	GGGAAAUUAGAGAGUAAAGAACAGUAAGUAGAAUUAAGAGCCACC 5' UTR-014
145	GGGAAAUAAAGAGAGAAUAGAAGAGUAAGAAGAAAUAAAGAGCCACC 5' UTR-015
146	GGGAAAUAAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAAAGAGCCACC 5' UTR-016
147	GGGAAAUAAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAAAGAGCCACC 5' UTR-017

10

20

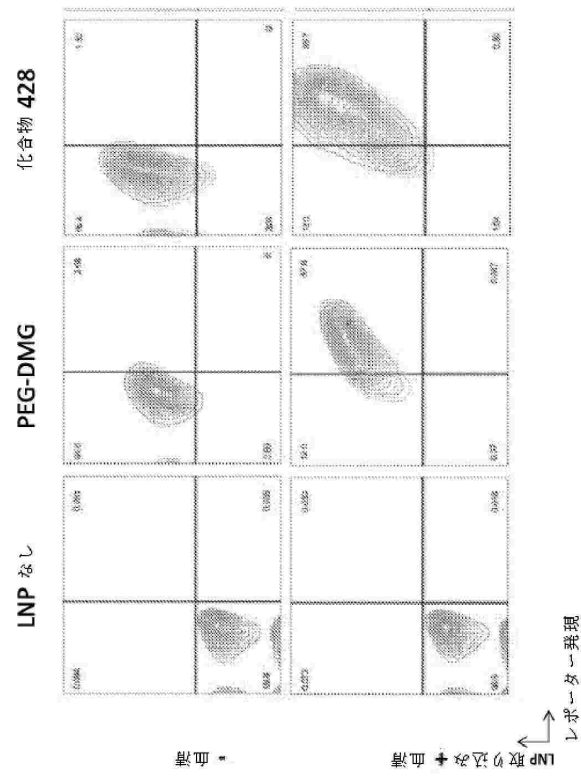
30

40

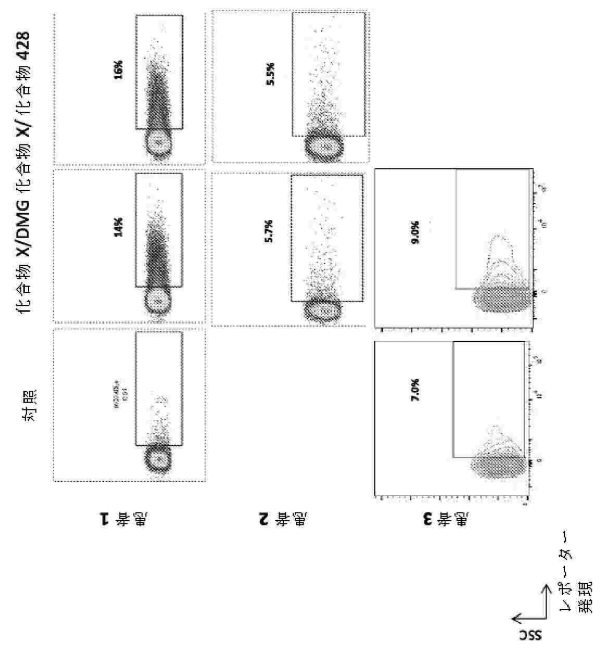
50

【図面】

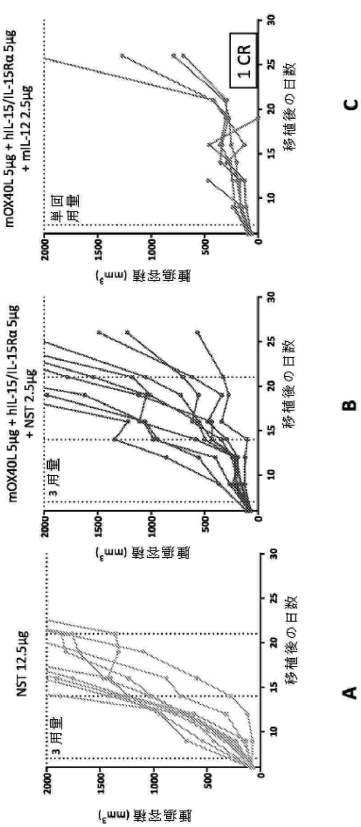
【図 1】



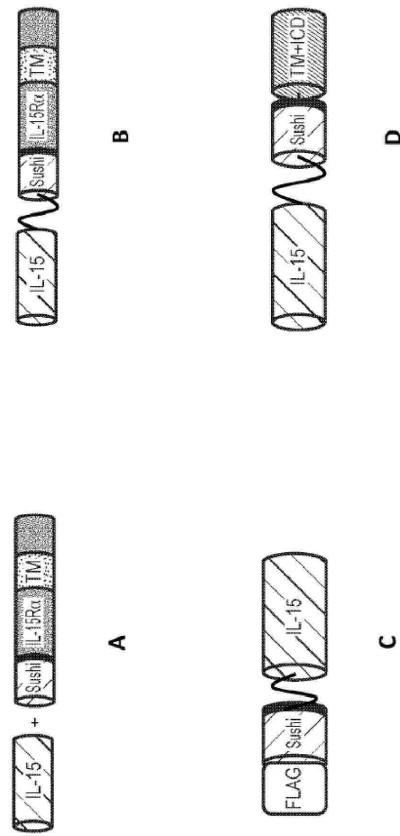
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

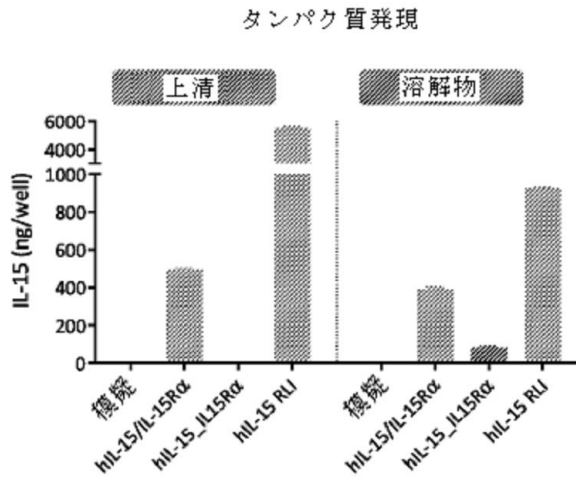
20

30

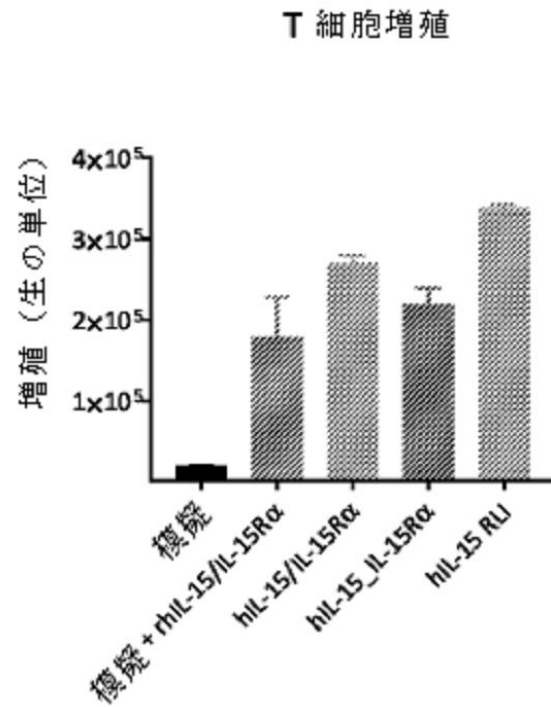
40

50

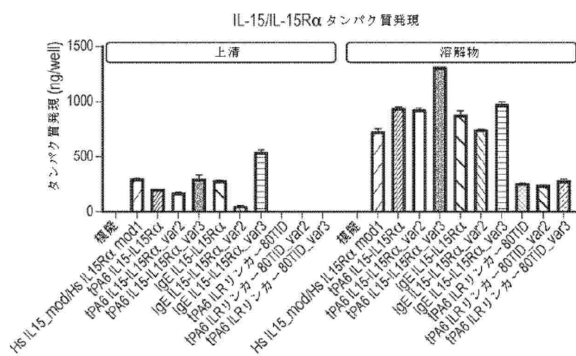
【図 5 A】



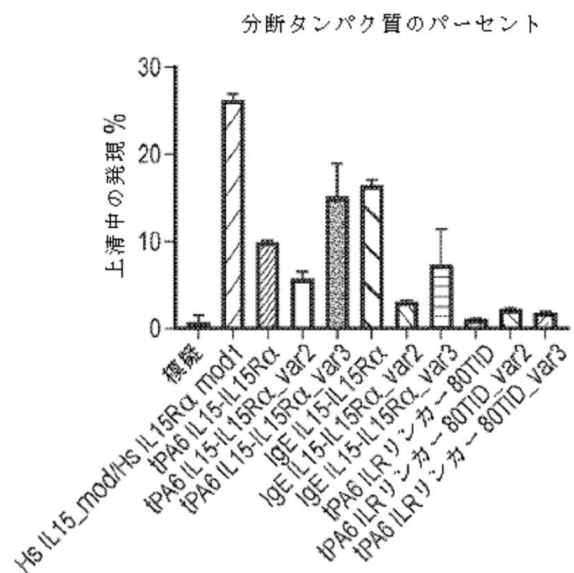
【図 5 B】



【図 5 C】



【図 5 D】



10

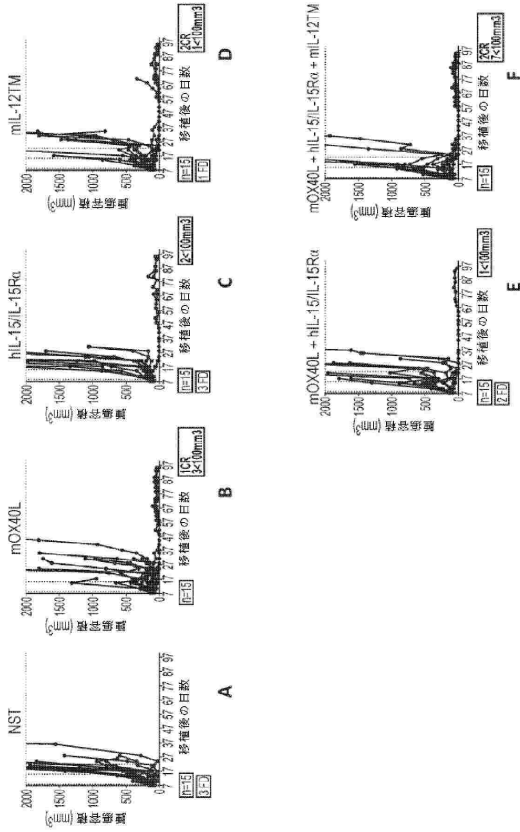
20

30

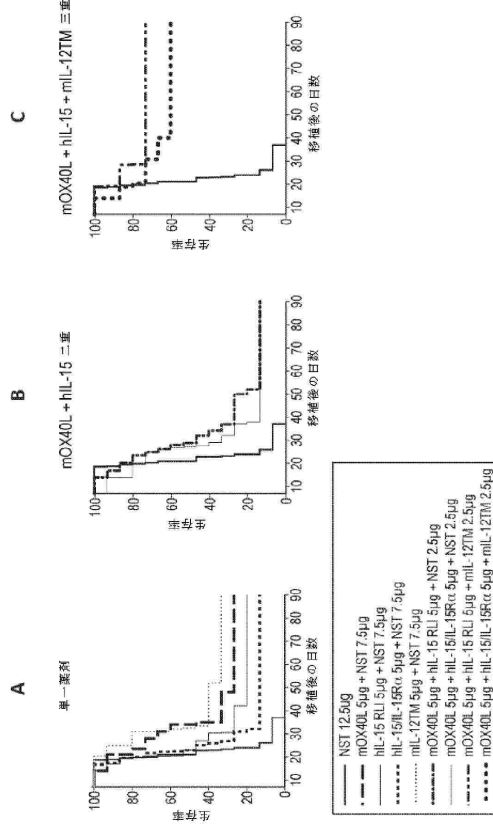
40

50

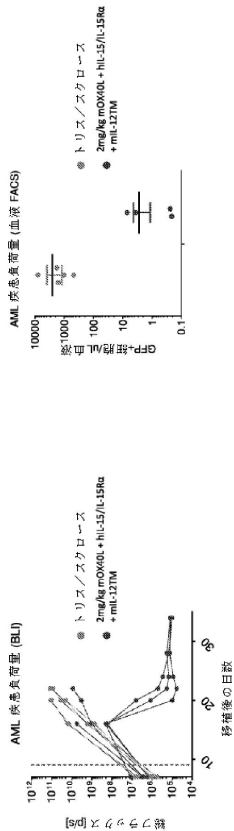
【図 6】



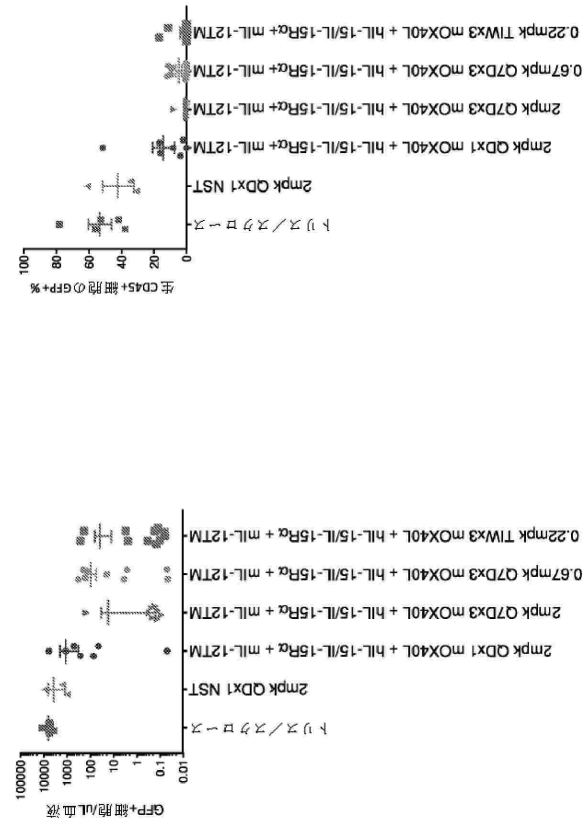
【図 7】



【図 8】



【図 9】



10

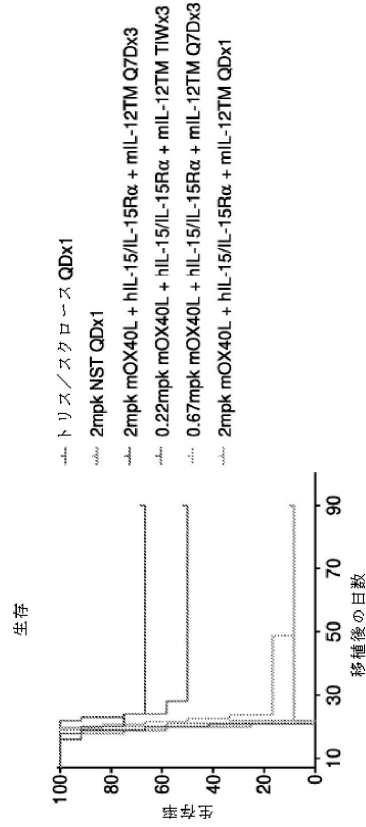
20

30

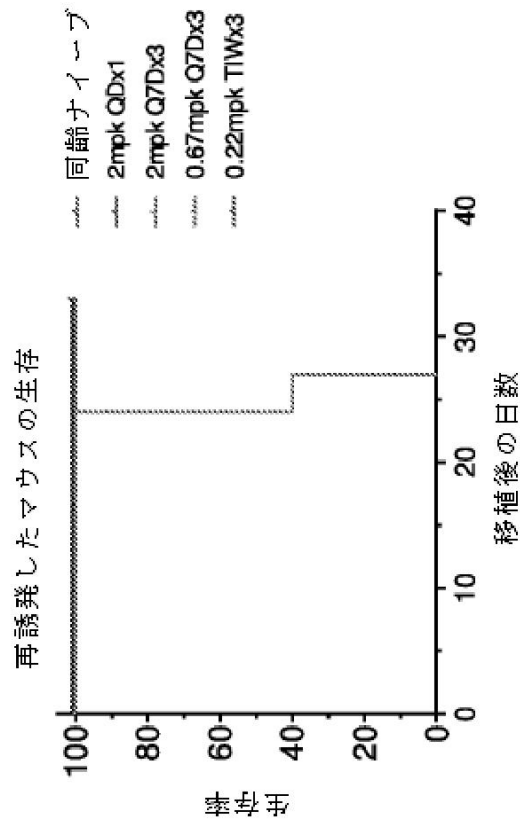
40

50

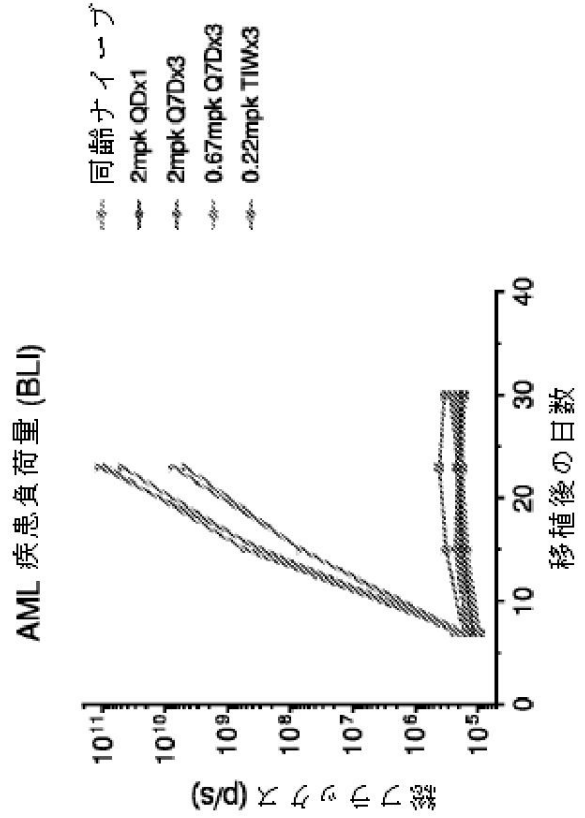
【図 10】



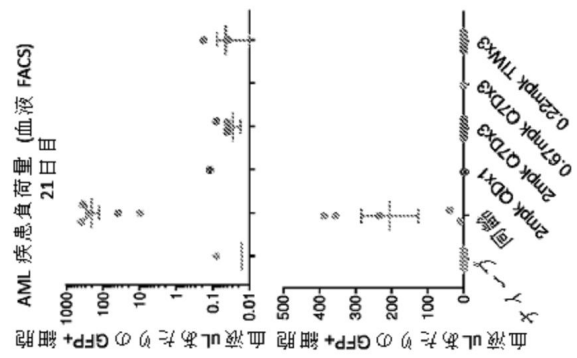
【図 12】



【図 11】



【図 13】



10

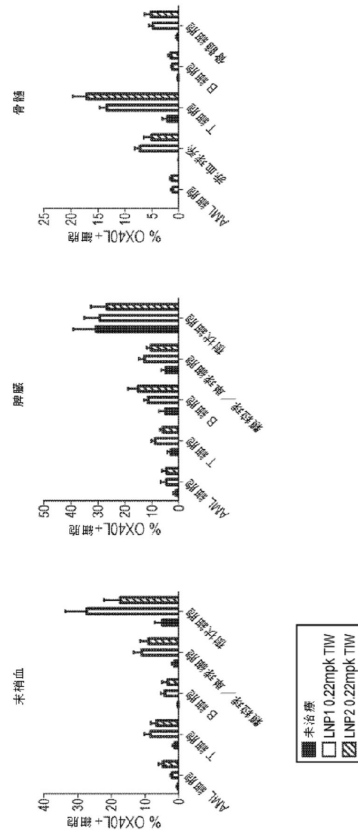
20

30

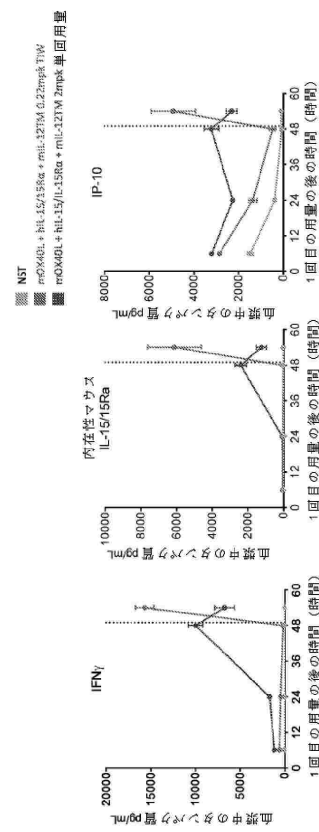
40

50

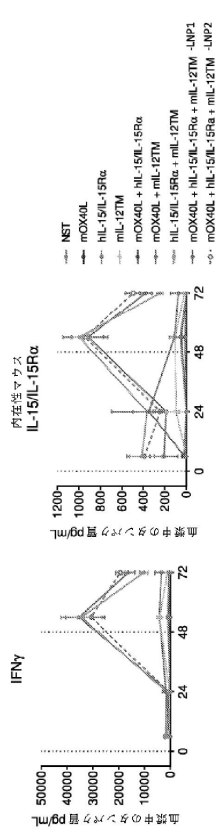
【図 1 4】



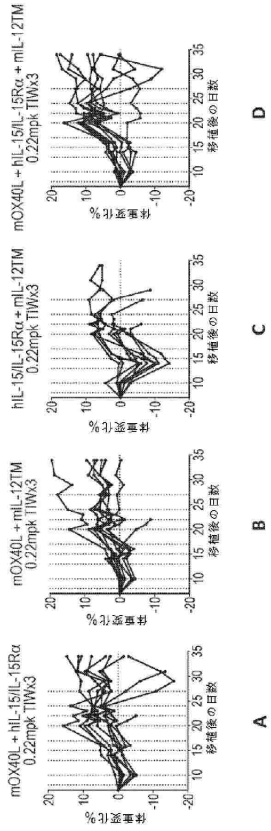
【図 1 5】



【図 1 6】



【図 1 7】



10

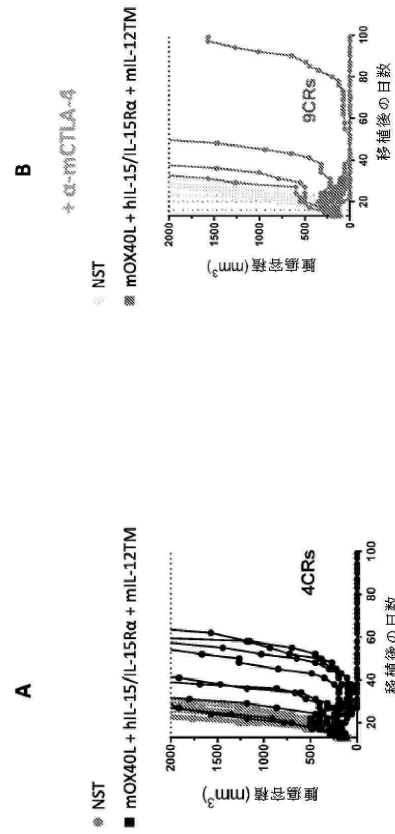
20

30

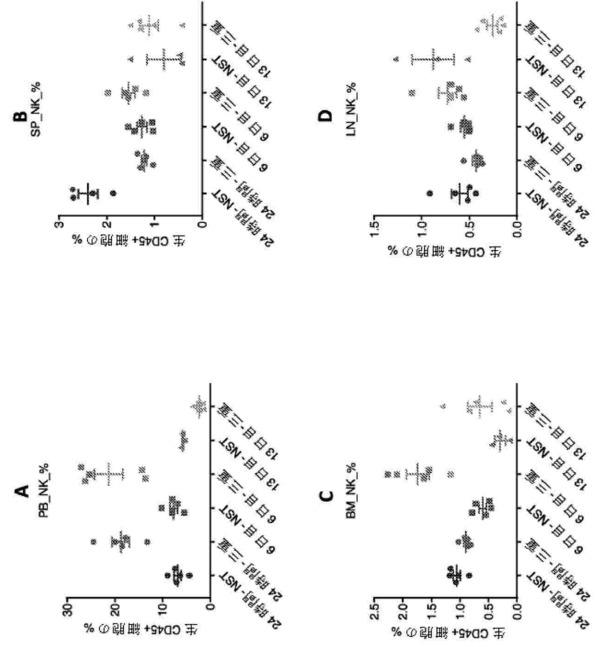
40

50

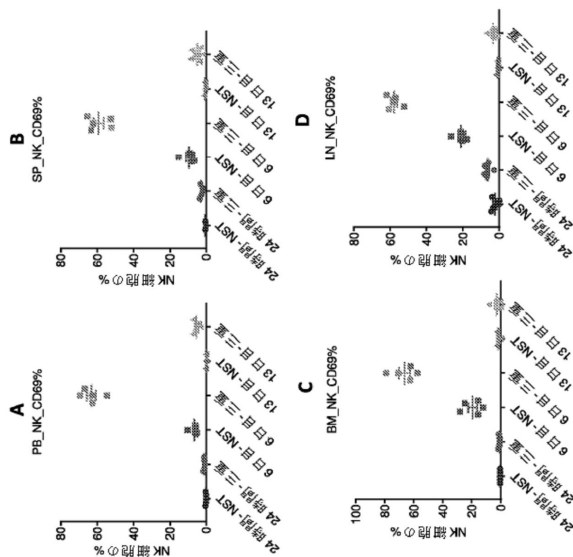
【図 18】



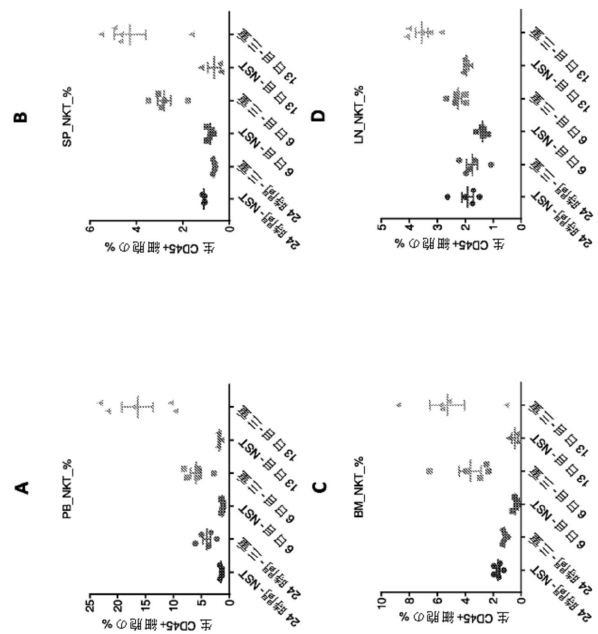
【図 19】



【図 20】



【図 21】



10

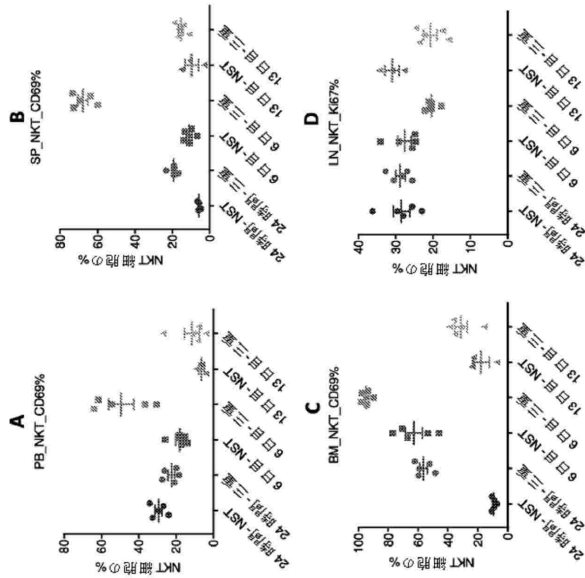
20

30

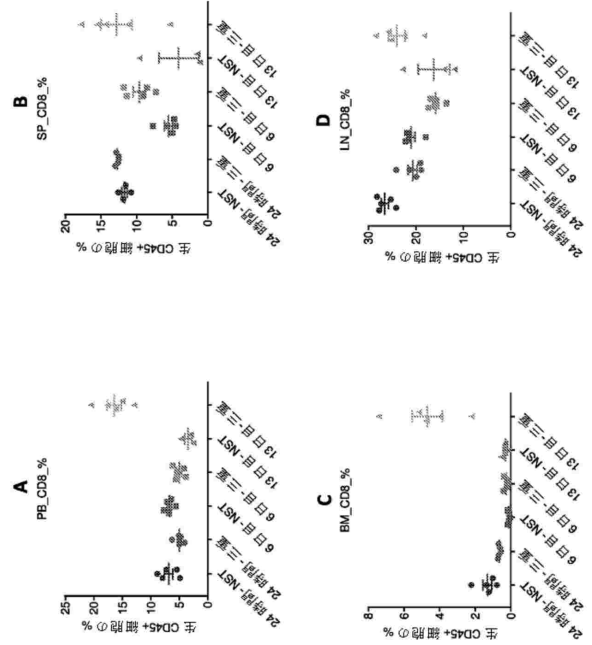
40

50

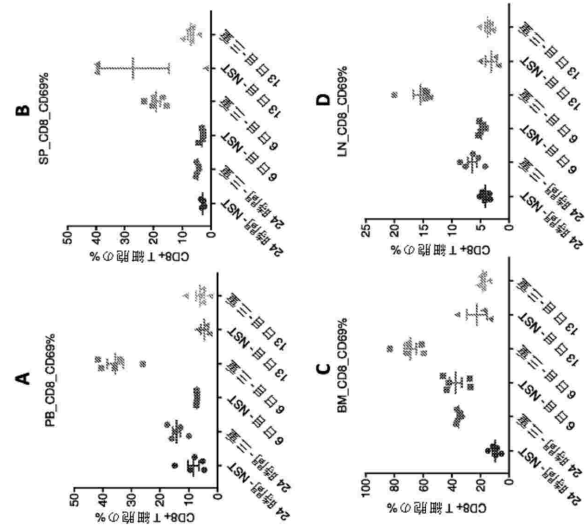
【図 2 2】



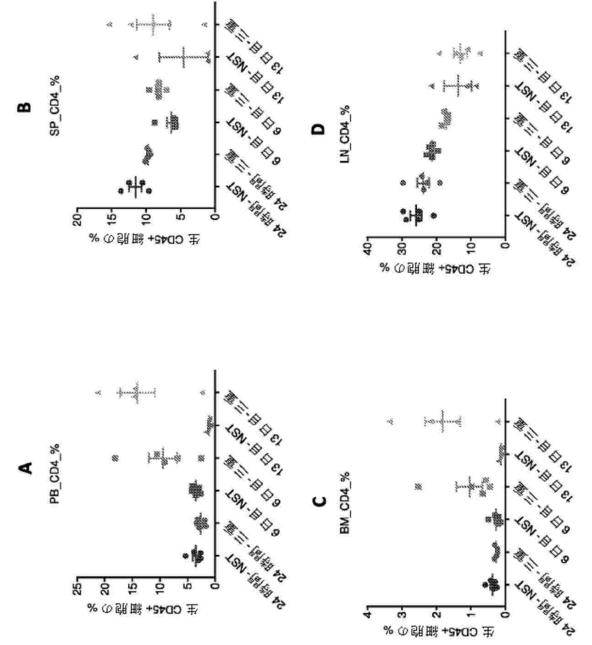
【図 2 3】



【図 2 4】



【図 2 5】



10

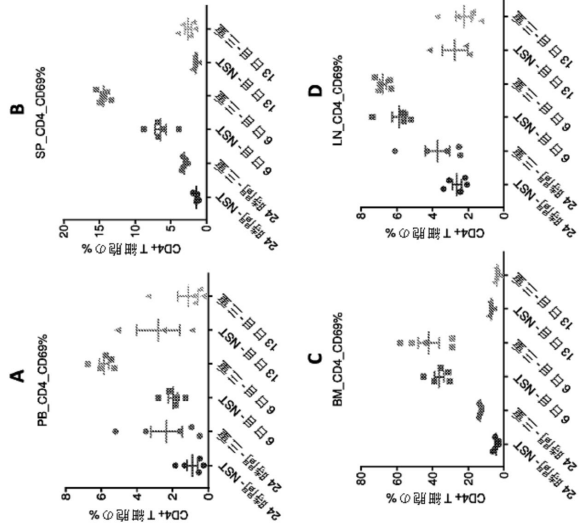
20

30

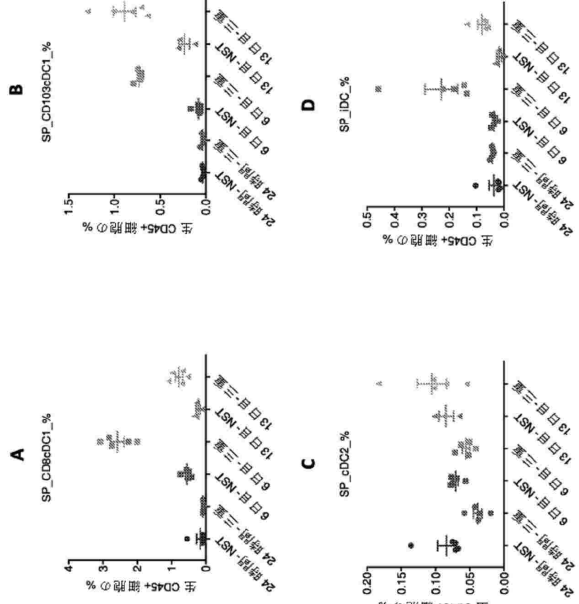
40

50

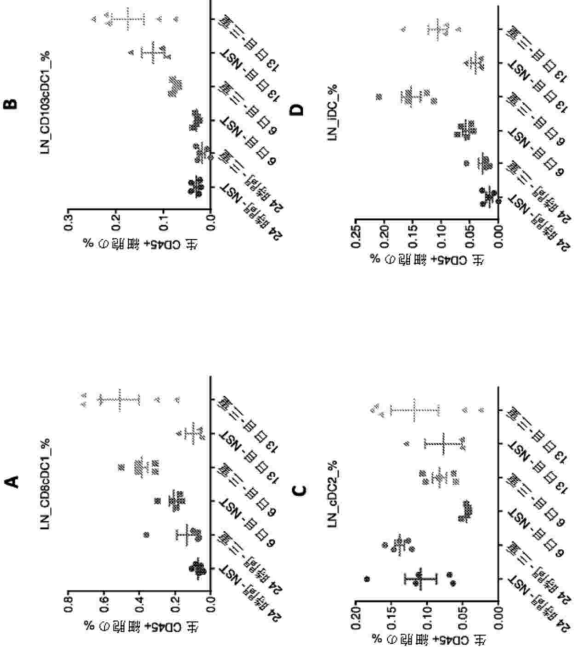
【図 2 6】



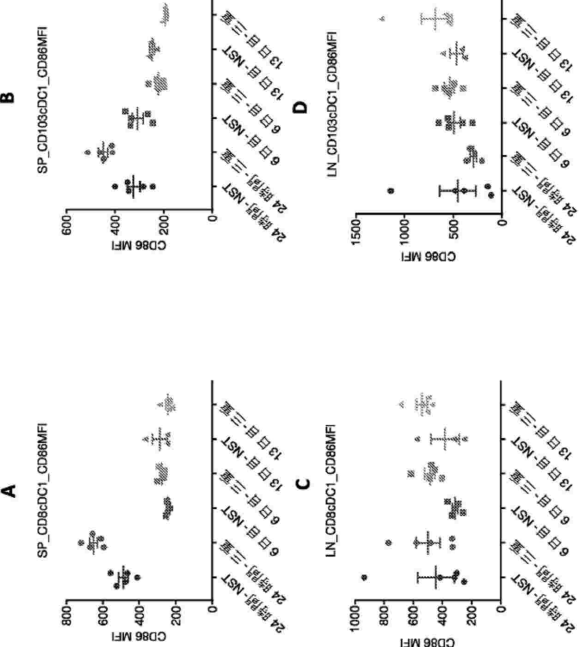
【図 2 7】



【図 2 8】



【図 2 9】



10

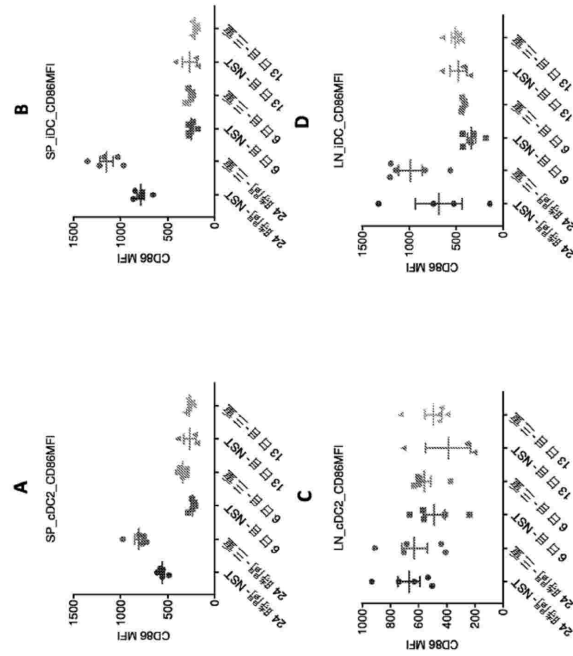
20

30

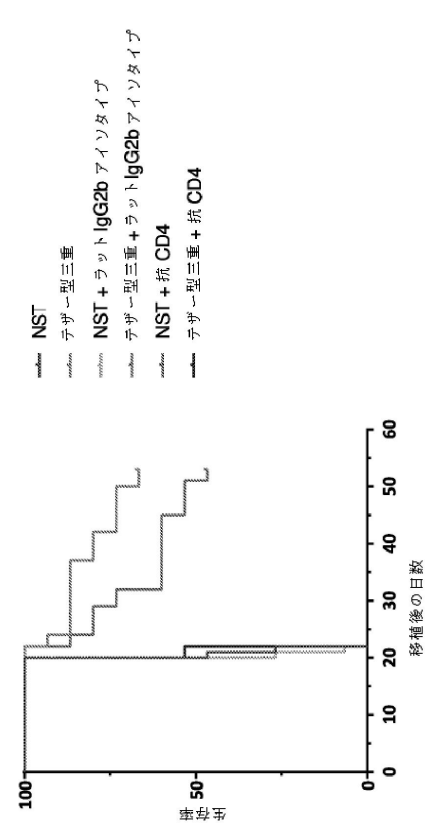
40

50

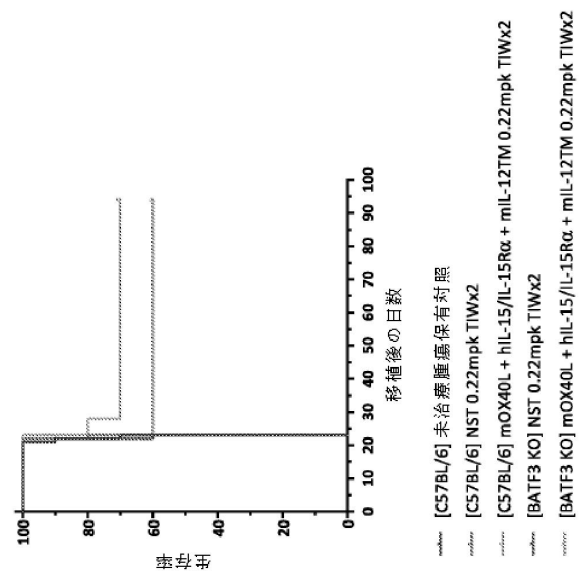
【図 30】



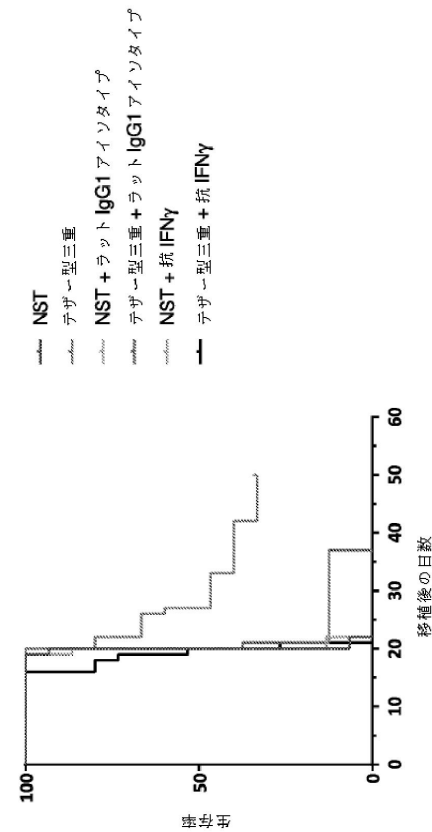
【図 32】



【図 31】



【図 33】



10

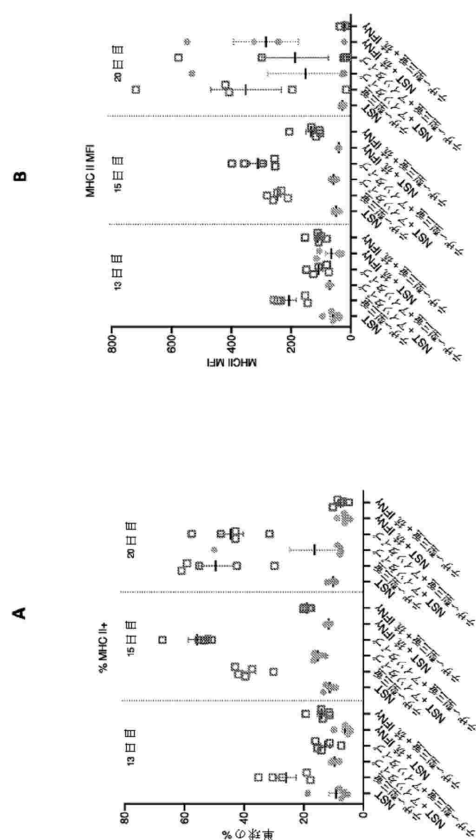
20

30

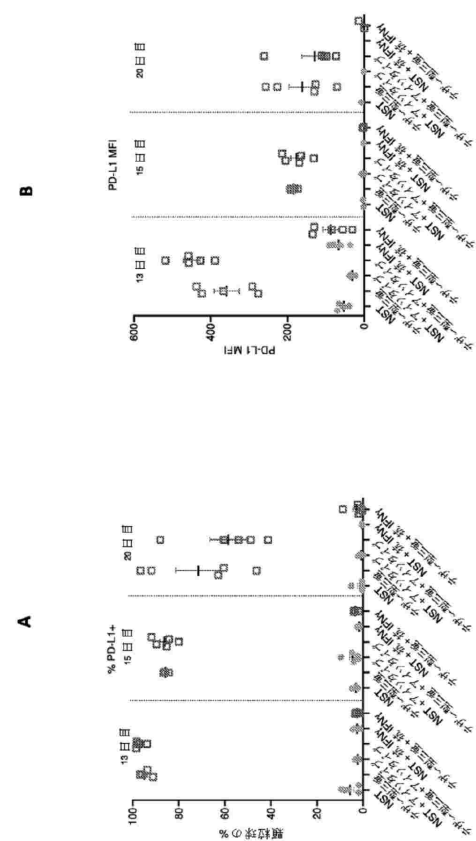
40

50

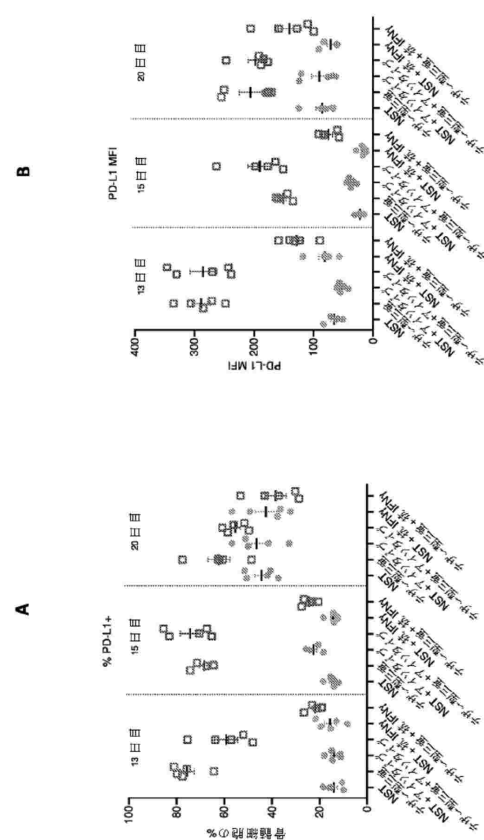
【図 3 4】



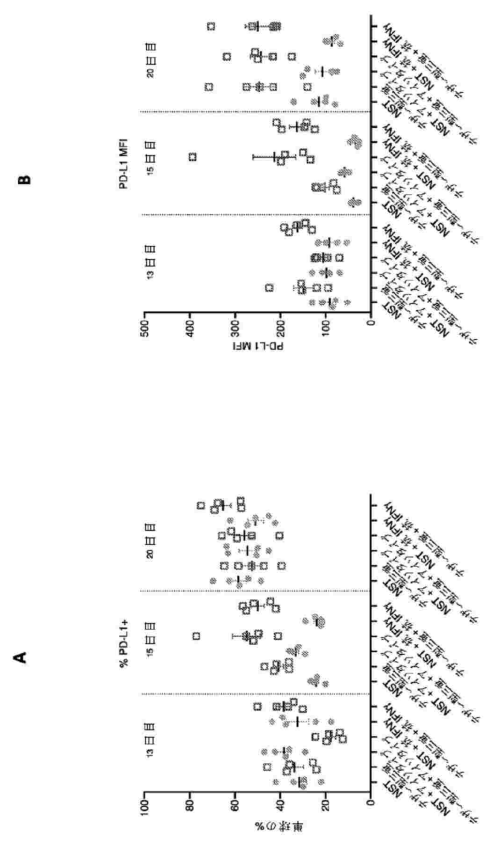
【図 3 6】



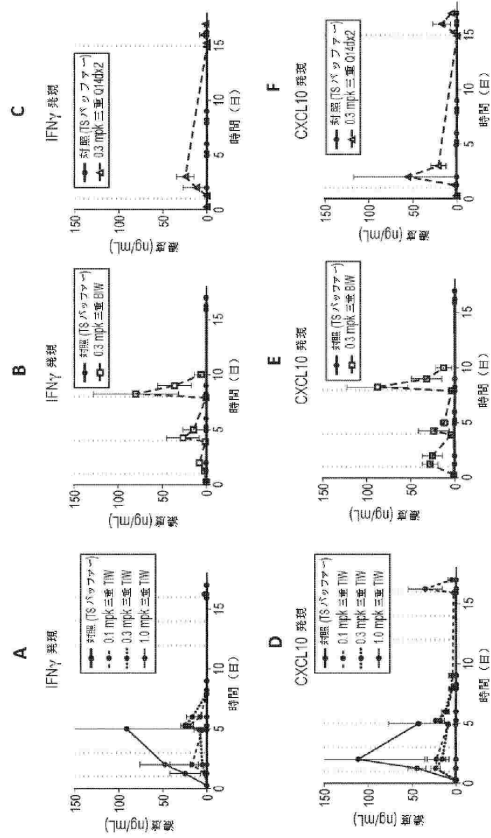
【圖 3 5】



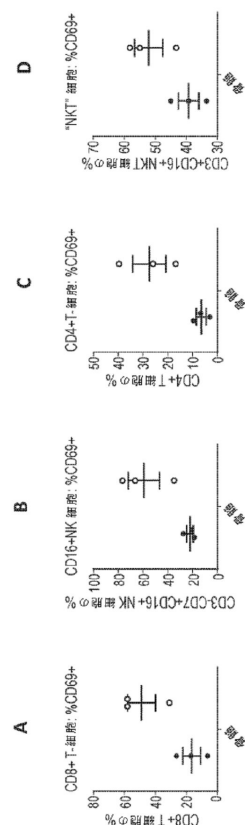
【図 3 7】



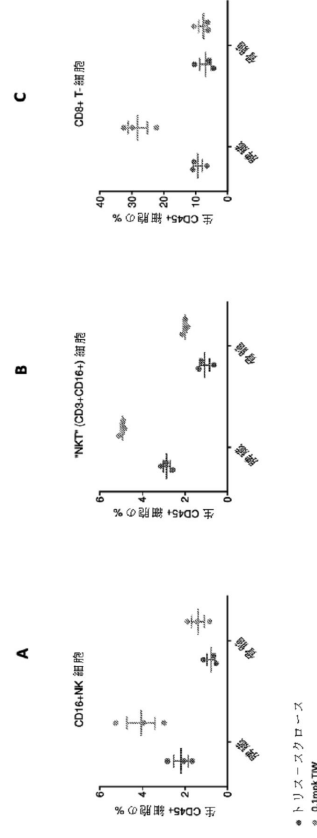
【図 38】



【図 40】



【図 39】



10

20

30

40

50

【配列表】
0007556848000001.app

10

20

30

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	31/7115(2006.01)	A 6 1 K	31/7115	
A 6 1 K	9/16 (2006.01)	A 6 1 K	9/16	
A 6 1 K	47/28 (2006.01)	A 6 1 K	47/28	
A 6 1 K	47/24 (2006.01)	A 6 1 K	47/24	
A 6 1 K	47/34 (2017.01)	A 6 1 K	47/34	
A 6 1 K	47/22 (2006.01)	A 6 1 K	47/22	
A 6 1 K	47/18 (2017.01)	A 6 1 K	47/18	
A 6 1 K	38/17 (2006.01)	A 6 1 K	38/17	
A 6 1 K	38/19 (2006.01)	A 6 1 K	38/19	
A 6 1 K	47/65 (2017.01)	A 6 1 K	47/65	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	38/20 (2006.01)	A 6 1 K	38/20	
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12	Z N A
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/19 (2006.01)	C 1 2 N	15/19	
C 1 2 N	15/24 (2006.01)	C 1 2 N	15/24	
C 1 2 N	15/11 (2006.01)	C 1 2 N	15/11	Z
C 1 2 N	15/88 (2006.01)	C 1 2 N	15/88	Z
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	C 0 7 K	16/30	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46	
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/731,335

(32)優先日 平成30年9月14日(2018.9.14)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

ツッツ州チャールズタウン、モニュメント・アベニュー53番

(72)発明者 スシュマ・グルムルティ

アメリカ合衆国02067マサチューセッツ州シャロン、デボラ・サンブソン・ストリート54番

(72)発明者 アンキタ・ミシュラ

アメリカ合衆国02139マサチューセッツ州ケンブリッジ、シドニー・ストリート240番、ユニット・ナンバー225

(72)発明者 アイリン・バイ

アメリカ合衆国02458マサチューセッツ州ニュートン、ファクソン・ストリート63番

審査官 愛清 哲

(56)参考文献 特許第7285220(JP, B2)

国際公開第2017/201350(WO, A1)

特表2021-512090(JP, A)

国際公開第2019/152557(WO, A1)

国際公開第2017/201352(WO, A1)

国際公開第2016/048903(WO, A1)

国際公開第2018/068008(WO, A1)

Int. J. Oncol., 2016年, Vol.48, p.2381-2386

Gene Therapy, 2015年, Vol.22, p.696-706

J Immunol, 2004年, 173(6), pp.3716-3724

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/00-31/80

A61K 9/00-9/72
A61K 47/00-47/69
A61K 38/00-38/58
A61P 35/00-35/04
A61P 43/00
C12N 15/00-15/90
C07K 16/00-16/46
C07K 19/00
C12P 21/00-21/08
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)