

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】令和5年5月26日(2023.5.26)

【国際公開番号】WO2020/237227

【公表番号】特表2022-533796(P2022-533796A)

【公表日】令和4年7月25日(2022.7.25)

【年通号数】公開公報(特許)2022-134

【出願番号】特願2021-569894(P2021-569894)

【国際特許分類】

A 6 1 K 48/00(2006.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 15/19(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 5/0783(2010.01)

A 6 1 K 31/7105(2006.01)

A 6 1 K 38/17(2006.01)

A 6 1 K 47/18(2017.01)

A 6 1 K 47/24(2006.01)

A 6 1 K 47/34(2017.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

A 6 1 P 37/04(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 P 35/02(2006.01)

【F I】

A 6 1 K 48/00

C 1 2 N 15/12 Z N A

C 1 2 N 15/13

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 15/19

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 5/0783

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 38/17

A 6 1 K 47/18

A 6 1 K 47/24

A 6 1 K 47/34

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

【手続補正書】

【提出日】令和5年5月18日(2023.5.18)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

10

20

30

40

50

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

a. 非ヒトスプライシング後3'グループイントロンフラグメントと、内部リボソーム侵入部位(IRES)と、キメラ抗原受容体(CAR)またはT細胞受容体(TCR)複合体タンパク質をコードする発現配列と、非ヒトスプライシング後5'グループイントロンフラグメントとを含む、環状RNAポリヌクレオチド、ならびに

b. (i)イオン化可能脂質、(ii)構造脂質、及び(iii)PEG修飾脂質を含む、輸送ビヒクル

を含む、静脈内投与用に製剤化された医薬組成物であって、

前記輸送ビヒクルが、前記環状RNAポリヌクレオチドを、ヒト対象に存在するヒト免疫細胞に送達することができ、その結果、前記CARまたはTCRが前記ヒト免疫細胞において翻訳され、前記ヒト免疫細胞の表面上で発現される、
前記医薬組成物。

【請求項2】

前記IRESが、タウラ症候群ウイルス、トリアトーマウイルス、タイラー脳脊髄炎ウイルス、シミアンウイルス40、ヒアリ(Solenopsis invicta)ウイルス1、ムギクビレアブラムシ(Rhopalosiphum padi)ウイルス、
網内皮症ウイルス、ヒトポリオウイルス1、チャパネアオカメムシ(Plautia stali)腸ウイルス、カシミールハチウイルス、ヒトライノウイルス2、ホマロディスカ・コアギュラタ(Homalodisca coagulata)ウイルス-1、ヒト免疫不全ウイルス1型、ホマロディスカ・コアギュラタウイルス-1、ヒメトビPウイルス、C型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、GB型肝炎ウイルス、口蹄疫ウイルス、ヒトエンテロウイルス71、ウマ鼻炎ウイルス、ウスジロエダシャク(Ectropis obliqua)ピコルナ様ウイルス、脳心筋炎ウイルス、ショウジョウバエCウイルス、ヒトコクサッキーウイルスB3、アブラナ科トバモウイルス、クリケット麻痺ウイルス、ウシウイルス性下痢ウイルス1、ブラッククイーンセルウイルス、アブラムシ致死麻痺ウイルス、トリ脳脊髄炎ウイルス、急性ミツバチ麻痺ウイルス、ハイビスカスクロロティックリングスポットウイルス、古典的ブタ熱ウイルス、ヒトFGF2、ヒトSFTPA1、ヒトAML1/RUNX1、ショウジョウバエアンテナベディア、ヒトAQP4、ヒトAT1R、ヒトBAG-1、ヒトBCL2、ヒトBiP、ヒトc-IAP1、ヒトc-myc、ヒトEIF4G、マウスNDST4L、ヒトLEF1、マウスHIF1アルファ、ヒトn.myc、マウスGtx、ヒトp27kip1、ヒトPDGF2/c-sis、ヒトp53、ヒトPim-1、マウスRbm3、ショウジョウバエreaper、イヌScamper、ショウジョウバエUbx、ヒトUNR、マウスUtrA、ヒトVEGF-A、ヒトXIAP、ショウジョウバエhairless、S.セレビシエ(S.cerevisiae)TFIID、S.セレビシエYAP1、タバコエッチウイルス、カブクリンクルウイルス、EMCV-A、EMCV-B、EMCV-Bf、EMCV-Cf、EMCVpEC9、ピコビルナウイルス、HCVQC64、ヒトコサウイルスE/D、ヒトコサウイルスF、ヒトコサウイルスJMY、ライノウイルスNAT001、HRV14、HRV89、HRVC-02、HRV-A21、サリウイルスASH1、サリウイルスFHB、サリウイルスNG-J1、ヒトパレコウイルス1、クロヒウイルスB、Yc-3、ロサウイルスM-7、シャンバウイルスA、パシウイルスA、パシウイルスA2、エコーウイルスE14、ヒトパレコウイルス5、アイチウイルス、A型肝炎ウイルスHA16、フォピウイルス、CVA10、エンテロウイルスC、エンテロウイルスD、エンテロウイルスJ、ヒトペギウイルス2、GBV-CGT110、GBV-CK1737、GBV-CIowa、ペギウイルスA1220、パシウイルスA3、サペロウイルス、ロサウイルスB、バクンサ(Bakunsa)ウイルス、トレモウイルスA、ブタパシウ

10

20

30

40

50

イルス 1、PLV-CHN、パシウイルス A、シシニウイルス、ヘパシウイルス K、ヘパシウイルス A、BVDV 1、ボダー病ウイルス、BVDV 2、CSFV-PK15C、SF573 ジシストロウイルス、湖北ピコルナ様ウイルス、CRPV、サリウイルス A BN5、サリウイルス A BN2、サリウイルス A 02394、サリウイルス A GUT、サリウイルス A CH、サリウイルス A SZ1、サリウイルス FHB、CVB3、CVB1、エコーウイルス 7、CVB5、EVA71、CVA3、CVA12、EV24、または EIF4G に対するアプタマーに由来する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

第 1 の内部スペーサーを、前記非ヒトスプライシング後 3' グループイントロンフラグメントと前記 IRES との間に、及び

第 2 の内部スペーサーを、前記発現配列と前記非ヒトスプライシング後 5' グループイントロンフラグメントとの間に

含む、請求項 1 または 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

前記第 1 及び第 2 の内部スペーサーがそれぞれ、約 10 ~ 約 60 ヌクレオチドの長さを有する、請求項 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記輸送ビヒクルが、脂質ナノ粒子、コアシェルナノ粒子、生分解性ナノ粒子、生分解性脂質ナノ粒子、ポリマーナノ粒子、または生分解性ポリマーナノ粒子を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

標的化部分をさらに含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記ヒト対象においてがんを処置するのに有効な量の、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記組成物内の前記ポリヌクレオチドの 1 重量%未滿が、二本鎖 RNA、DNA スプリント、または三リン酸化 RNA である、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記輸送ビヒクルが、1 つより多い環状 RNA ポリヌクレオチドを含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

非ヒトスプライシング後 3' グループイントロンフラグメントと、IRES と、CAR または TCR 複合体タンパク質をコードする発現配列と、非ヒトスプライシング後 5' グループイントロンフラグメントとを含む、環状 RNA ポリヌクレオチド。

【請求項 11】

第 1 の内部スペーサーを、前記非ヒトスプライシング後 3' グループイントロンフラグメントと前記 IRES との間に、及び

第 2 の内部スペーサーを、前記発現配列と前記非ヒトスプライシング後 5' グループイントロンフラグメントとの間に

含む、請求項 10 に記載の環状 RNA ポリヌクレオチド。

【請求項 12】

前記第 1 及び第 2 の内部スペーサーがそれぞれ、約 10 ~ 約 60 ヌクレオチドの長さを有する、請求項 11 に記載の環状 RNA ポリヌクレオチド。

【請求項 13】

前記 CAR または TCR 複合体タンパク質が、CD19、CD123、CD22、CD30、CD171、CS-1、C 型レクチン様分子-1、CD33、上皮成長因子受容体変異体 III (EGFRvIII)、ジシアロガングリオシド GD2、ジサロガングリオシド GD3、TNF 受容体ファミリーメンバー、B 細胞成熟抗原 (BCMA)、Tn 抗原 ((Tn Ag) または (GaINAc a - Ser / Thr))、前立腺特異的膜抗原 (PSMA)、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体 1 (ROR1)、Fms 様チロ

10

20

30

40

50

シンキナーゼ3 (FLT3)、腫瘍関連糖タンパク質72 (TAG72)、CD38、CD44v6、癌胎児性抗原(CEA)、上皮細胞接着分子(EPCAM)、B7H3(CD276)、KIT(CD117)、インターロイキン-13受容体サブユニットアルファ-2、メソセリン、インターロイキン11受容体アルファ(IL-11Ra)、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、プロテアーゼセリン21、血管内皮成長因子受容体2(VEGFR2)、ルイス(Y)抗原、CD24、血小板由来成長因子受容体ベータ(PDGFR-ベータ)、ステージ特異的胚性抗原-4(SSEA-4)、CD20、葉酸受容体アルファ、HER2、HER3、ムチン1、細胞表面関連(MUC1)、表皮成長因子受容体(EGFR)、神経細胞接着分子(NCAM)、プロスターゼ、前立腺酸性ホスファターゼ(PAP)、伸長因子2突然変異(ELF2M)、エフリンB2、線維芽細胞活性化タンパク質アルファ(FAP)、インスリン様成長因子1受容体(IGF-I受容体)、炭酸アンヒドラーゼIX(CAIX)、プロテアソーム(プロソーム、マクロペイン)サブユニット、ベータタイプ、9(LMP2)、糖タンパク質100(gp100)、ブレークポイントクラスター領域(BCR)及びアベルソンマウス白血病ウイルス癌遺伝子ホモログ1(ABL)からなる癌遺伝子融合タンパク質(bcr-abl)、チロシナーゼ、エフリンA型受容体2(EphA2)、フコシルGM1、シアリルルイス接着分子(sLe)、ガングリオシドGM3、トランスグルタミナーゼ5(TGS5)、高分子量黒色腫関連抗原(HMWMAA)、o-アセチル-GD2ガングリオシド(OAcGD2)、葉酸受容体ベータ、腫瘍内皮マーカー1(TEM1/CD248)、腫瘍内皮マーカー7関連(TEM7R)、クローディン6(CLDN6)、クローディン18.2(CLDN18.2)、甲状腺刺激ホルモン受容体(TSHR)、Gタンパク質共役型受容体クラスCグループ5、メンバーD(GPRC5D)、染色体Xオープンリーディングフレーム61(CXORF61)、CD97、及びCD179aの群から選択される抗原に特異的な抗原結合ドメインを含む、請求項10~12のいずれか1項に記載の環状RNAポリヌクレオチド。

10

20

30

40

50

【請求項14】

非ヒトスプライシング後3'グループイントロンフラグメントと、IRESと、CAR またはTCR複合体タンパク質をコードする発現配列と、非ヒトスプライシング後5'グループイントロンフラグメントとを含む、環状RNAポリヌクレオチドを含む、免疫細胞。

【請求項15】

T細胞である、請求項14に記載の免疫細胞。

【請求項16】

非ヒトスプライシング後3'グループイントロンフラグメントと、IRESと、CAR またはTCR複合体タンパク質をコードする発現配列と、非ヒトスプライシング後5'グループイントロンフラグメントとを含む、環状RNAポリヌクレオチドを含む、免疫細胞の集団であって、

前記環状RNAポリヌクレオチドによってコードされる前記CARまたはTCR複合体タンパク質をその細胞表面上に発現する、前記免疫細胞の集団。

【請求項17】

前記細胞の集団が、NK細胞、NKT細胞、マクロファージ、樹状細胞、アルファベータT細胞、ガンマデルタT細胞、またはそれらの組み合わせを含む、請求項16に記載の免疫細胞の集団。

【請求項18】

前記細胞の集団が、T細胞を含む、請求項16に記載の免疫細胞の集団。

【請求項19】

前記細胞の集団が、CD3+T細胞、CD4+T細胞、CD8+T細胞、またはそれらの組み合わせを含む、請求項18に記載の免疫細胞の集団。

【請求項20】

その必要があるヒト対象においてがんを処置するのに有効な量の、請求項16に記載の

免疫細胞の集団。

【請求項 2 1】

免疫細胞の集団を作製する方法であって、

非ヒトスプライシング後 3' グループイントロンフラグメントと、IRES と、CAR または TCR 複合体タンパク質をコードする発現配列と、非ヒトスプライシング後 5' グループイントロンフラグメントとを含む環状 RNA ポリヌクレオチドを含む輸送ビヒクルを、前記集団内の細胞と接触させる工程を含み、

前記輸送ビヒクルが、(i) イオン化可能脂質、(ii) 構造脂質、及び (iii) PEG 修飾脂質を含み、

前記輸送ビヒクルが、前記環状 RNA ポリヌクレオチドをヒト免疫細胞に送達することができ、その結果、前記 CAR または TCR が前記ヒト免疫細胞において翻訳され、前記ヒト免疫細胞の表面上で発現される、

前記方法。

【請求項 2 2】

がんの処置のための医薬組成物の使用であって、前記医薬組成物が、

a. 非ヒトスプライシング後 3' グループイントロンフラグメントと、IRES と、CAR または TCR 複合体タンパク質をコードする発現配列と、非ヒトスプライシング後 5' グループイントロンフラグメントとを含む、環状 RNA ポリヌクレオチド、ならびに

b. (i) イオン化可能脂質、(ii) 構造的脂質、及び (iii) PEG 修飾脂質を含む、輸送ビヒクルを含み、

前記輸送ビヒクルが、前記環状 RNA ポリヌクレオチドをヒト免疫細胞に送達することができ、その結果、前記 CAR または TCR が前記ヒト免疫細胞において翻訳され、前記ヒト免疫細胞の表面上で発現され、

前記医薬組成物が、静脈内投与用に製剤化されている、

前記使用。

【請求項 2 3】

前記がんが、急性リンパ球性癌；急性骨髄性白血病（AML）；肺胞横紋筋肉腫；膀胱癌（例えば、膀胱癌腫）；骨癌；脳癌（例えば、髄芽細胞腫）；乳癌；肛門、肛門管、または肛門直腸のがん；眼のがん；肝内胆管のがん；関節のがん；首、胆嚢、または胸膜のがん；鼻、鼻腔、または中耳のがん；口腔のがん；外陰部のがん；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性癌；結腸癌；食道癌；子宮頸癌；線維肉腫；消化管カルチノイド腫瘍；頭頸部癌（例えば、頭頸部扁平上皮癌）；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；腎臓癌；喉頭癌；白血病；液性腫瘍；肝臓癌；肺癌（例えば、非小細胞肺癌及び肺腺癌）；リンパ腫；中皮腫；肥満細胞腫；黒色腫；多発性骨髄腫；上咽頭癌；非ホジキンリンパ腫；B-慢性リンパ球性白血病；有毛細胞白血病；急性リンパ球性白血病（ALL）；及びパーキットリンパ腫；卵巣癌；膵臓癌；腹膜、大網、及び腸間膜の癌；咽頭癌；前立腺癌；直腸癌；腎癌；皮膚癌；小腸癌；軟部組織癌；固形腫瘍；滑膜肉腫；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；ならびに尿管癌からなる群より選択される、請求項 2 2 に記載の使用。

【請求項 2 4】

がんの処置のための医薬の製造における医薬組成物の使用であって、前記医薬組成物が、

a. 非ヒトスプライシング後 3' グループイントロンフラグメントと、IRES と、CAR または TCR 複合体タンパク質をコードする発現配列と、非ヒトスプライシング後 5' グループイントロンフラグメントとを含む、環状 RNA ポリヌクレオチド、ならびに
b. (i) イオン化可能脂質、(ii) 構造的脂質、及び (iii) PEG 修飾脂質を含む、輸送ビヒクルを含み、

前記輸送ビヒクルが、前記環状 RNA ポリヌクレオチドをヒト免疫細胞に送達することができ、その結果、前記 CAR または TCR が前記ヒト免疫細胞において翻訳され、前記ヒト免疫細胞の表面上で発現され、

前記医薬組成物が、静脈内投与用に製剤化されている、

前記使用。

10

20

30

40

50

【請求項 25】

前記がんが、急性リンパ球性癌；急性骨髄性白血病（AML）；肺胞横紋筋肉腫；膀胱癌（例えば、膀胱癌腫）；骨癌；脳癌（例えば、髄芽細胞腫）；乳癌；肛門、肛門管、または肛門直腸のがん；眼のがん；肝内胆管のがん；関節のがん；首、胆嚢、または胸膜のがん；鼻、鼻腔、または中耳のがん；口腔のがん；外陰部のがん；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性癌；結腸癌；食道癌；子宮頸癌；線維肉腫；消化管カルチノイド腫瘍；頭頸部癌（例えば、頭頸部扁平上皮癌）；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；腎臓癌；喉頭癌；白血病；液性腫瘍；肝臓癌；肺癌（例えば、非小細胞肺癌及び肺腺癌）；リンパ腫；中皮腫；肥満細胞腫；黒色腫；多発性骨髄腫；上咽頭癌；非ホジキンリンパ腫；B - 慢性リンパ球性白血病；有毛細胞白血病；急性リンパ球性白血病（ALL）；及びパーキットリンパ腫；卵巣癌；膵臓癌；腹膜、大網、及び腸間膜の癌；咽頭癌；前立腺癌；直腸癌；腎癌；皮膚癌；小腸癌；軟部組織癌；固形腫瘍；滑膜肉腫；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；ならびに尿管癌からなる群より選択される、請求項 24 に記載の使用。

10

【請求項 26】

がんの処置における使用のための医薬組成物であって、前記医薬組成物が、
a . 非ヒトスプライシング後 3 ' グループイントロンフラグメントと、IRES と、CAR または TCR 複合体タンパク質をコードする発現配列と、非ヒトスプライシング後 5 ' グループイントロンフラグメントとを含む、環状 RNA ポリヌクレオチド、ならびに
b . (i) イオン化可能脂質、(i i) 構造的脂質、及び (i i i) PEG 修飾脂質を含む、輸送ビヒクルを含み、

20

前記輸送ビヒクルが、前記環状 RNA ポリヌクレオチドをヒト免疫細胞に送達することができ、その結果、前記 CAR または TCR が前記ヒト免疫細胞において翻訳され、前記ヒト免疫細胞の表面上で発現され、

前記医薬組成物が、静脈内投与用に製剤化されている、

前記医薬組成物。

【請求項 27】

前記がんが、急性リンパ球性癌；急性骨髄性白血病（AML）；肺胞横紋筋肉腫；膀胱癌（例えば、膀胱癌腫）；骨癌；脳癌（例えば、髄芽細胞腫）；乳癌；肛門、肛門管、または肛門直腸のがん；眼のがん；肝内胆管のがん；関節のがん；首、胆嚢、または胸膜のがん；鼻、鼻腔、または中耳のがん；口腔のがん；外陰部のがん；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性癌；結腸癌；食道癌；子宮頸癌；線維肉腫；消化管カルチノイド腫瘍；頭頸部癌（例えば、頭頸部扁平上皮癌）；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；腎臓癌；喉頭癌；白血病；液性腫瘍；肝臓癌；肺癌（例えば、非小細胞肺癌及び肺腺癌）；リンパ腫；中皮腫；肥満細胞腫；黒色腫；多発性骨髄腫；上咽頭癌；非ホジキンリンパ腫；B - 慢性リンパ球性白血病；有毛細胞白血病；急性リンパ球性白血病（ALL）；及びパーキットリンパ腫；卵巣癌；膵臓癌；腹膜、大網、及び腸間膜の癌；咽頭癌；前立腺癌；直腸癌；腎癌；皮膚癌；小腸癌；軟部組織癌；固形腫瘍；滑膜肉腫；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；ならびに尿管癌からなる群より選択される、請求項 26 に記載の医薬組成物。

30

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

40

【補正対象項目名】0049

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0049】

一部の実施形態では、本開示の環状 RNA ポリヌクレオチドは、非脂質ポリマーコアシェルナノ粒子において標的細胞に送達される。

[本発明 1001]

a . 以下の順序で、3 ' グループイントロンフラグメントと、内部リボソーム侵入部位 (IRES) と、キメラ抗原受容体 (CAR) または T 細胞受容体 (TCR) 複合体タンパク質をコードする発現配列と、5 ' グループイントロンフラグメントとを含む、環

50

状RNAポリヌクレオチド、ならびに

b. (i) イオン化可能脂質、(ii) 構造脂質、及び(iii) PEG修飾脂質のうち
の少なくとも1つを含む、輸送ビヒクル
を含む、医薬組成物であって、

前記輸送ビヒクルが、前記環状RNAポリヌクレオチドを、ヒト対象に存在するヒト免疫細胞に送達することができ、その結果、前記CARが前記ヒト免疫細胞において翻訳され、前記ヒト免疫細胞の表面上で発現される、前記医薬組成物。

[本発明1002]

その必要がある前記ヒト対象への静脈内投与用に製剤化された、本発明1001の医薬組成物。

[本発明1003]

前記3'グループイントロンフラグメント及び5'グループイントロンフラグメントが、アナバナグループイントロンフラグメントである、本発明1001または1002の医薬組成物。

[本発明1004]

前記3'イントロンフラグメント及び5'イントロンフラグメントが、インタクトなイントロン内のL9a-5順列置換部位によって定義される、本発明1003の医薬組成物。

[本発明1005]

前記3'イントロンフラグメント及び5'イントロンフラグメントが、インタクトなイントロン内のL8-2順列置換部位によって定義される、本発明1003の医薬組成物。

[本発明1006]

前記IRESが、タウラ症候群ウイルス、トリアトーマウイルス、タイラー脳脊髄炎ウイルス、シミアンウイルス40、ヒアリ(Solenopsis invicta)ウイルス1、ムギクビレアブラムシ(Rhopalosiphum padi)ウイルス、細網内皮症ウイルス、ヒトポリオウイルス1、チャパネアオカメムシ(Plautia stali)腸ウイルス、カシミールハチウイルス、ヒトライノウイルス2、ホマロディスカ・コアギュラタ(Homalodisca coagulata)ウイルス-1、ヒト免疫不全ウイルス1型、ホマロディスカ・コアギュラタウイルス-1、ヒメトビPウイルス、C型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、GB型肝炎ウイルス、口蹄疫ウイルス、ヒトエンテロウイルス71、ウマ鼻炎ウイルス、ウスジロエダシャク(Ectropis obliqua)ピコルナ様ウイルス、脳心筋炎ウイルス、ショウジョウバエCウイルス、ヒトコクサッキーウイルスB3、アブラナ科トバモウイルス、クリケット麻痺ウイルス、ウシウイルス性下痢ウイルス1、ブラッククイーンセルウイルス、アブラムシ致死麻痺ウイルス、トリ脳脊髄炎ウイルス、急性ミツバチ麻痺ウイルス、ハイビスカスクロロティックリングスポットウイルス、古典的ブタ熱ウイルス、ヒトFGF2、ヒトSFTPA1、ヒトAML1/RUNX1、ショウジョウバエアンテナベディア、ヒトAQP4、ヒトAT1R、ヒトBAG-1、ヒトBCL2、ヒトBiP、ヒトc-IAP1、ヒトc-myc、ヒトeIF4G、マウスNDST4L、ヒトLEF1、マウスHIF1アルファ、ヒトn.myc、マウスGtx、ヒトp27kip1、ヒトPDGF2/c-sis、ヒトp53、ヒトPim-1、マウスRbm3、ショウジョウバエReaper、イヌScamper、ショウジョウバエUbx、ヒトUNR、マウスUtrA、ヒトVEGF-A、ヒトXIAP、ショウジョウバエhairless、S.セレビシエ(S.cerevisiae)TFIID、S.セレビシエYAP1、タバコエッチウイルス、カブクリンクルウイルス、EMCV-A、EMCV-B、EMCV-Bf、EMCV-Cf、EMCVpEC9、ピコビルナウイルス、HCVQC64、ヒトコサウイルスE/D、ヒトコサウイルスF、ヒトコサウイルスJMY、ライノウイルスNAT001、HRV14、HRV89、HRVC-02、HRV-A21、サリウイルスASH1、サリウイルスFHB、サリウイルスNG-J1、ヒトパレコウイルス1、クロヒウイルスB、Yc-3、口サウイルスM-7、シャンバウイルスA、パシウイルスA、パシウイルスA2、エコーウイルスE14、ヒトパレコウイルス5、アイチウイルス、A型肝炎ウイルスHA16、

10

20

30

40

50

フォピウイルス、CVA10、エンテロウイルスC、エンテロウイルスD、エンテロウイルスJ、ヒトペギウイルス2、GBV-C GT110、GBV-C K1737、GBV-C Iowa、ペギウイルスA 1220、パシウイルスA 3、サペロウイルス、ロサウイルスB、バクンサ(Bakunsa)ウイルス、トレモウイルスA、ブタパシウイルス1、PLV-CHN、パシウイルスA、シシニウイルス、ヘパシウイルスK、ヘパシウイルスA、BVDV1、ボーダー病ウイルス、BVDV2、CSFV-PK15C、SF573ジシストロウイルス、湖北ピコルナ様ウイルス、CRPV、サリウイルスA BN5、サリウイルスA BN2、サリウイルスA 02394、サリウイルスA GUT、サリウイルスA CH、サリウイルスA SZ1、サリウイルスFHB、CVB3、CVB1、エコーウイルス7、CVB5、EVA71、CVA3、CVA12、EV24、またはeIF4Gに対するアプタマーに由来する、本発明1001~1005のいずれかの医薬組成物。

10

[本発明1007]

前記IRESが、CVB3 IRESまたはそのフラグメントもしくは変異体を含む、あるいは前記IRESが、配列番号65に従う配列を含む、本発明1006の医薬組成物。

[本発明1008]

前記IRESが、サリウイルスSZ1 IRESまたはそのフラグメントもしくは変異体を含む、本発明1006の医薬組成物。

[本発明1009]

前記IRESが、配列番号63に従う配列を含む、本発明1008の医薬組成物。

20

[本発明1010]

第1の内部スペーサーを、前記3'グループイントロンフラグメントと前記IRESとの間に、及び

第2の内部スペーサーを、前記発現配列と前記5'グループイントロンフラグメントとの間に

含む、本発明1001~1009のいずれかの医薬組成物。

[本発明1011]

前記第1及び第2の内部スペーサーがそれぞれ、約10~約60ヌクレオチドの長さを有する、本発明1010の医薬組成物。

30

[本発明1012]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD19、CD123、CD22、CD30、CD171、CS-1、C型レクチン様分子-1、CD33、上皮成長因子受容体変異体III(EGFRvIII)、ジシアロガングリオシドGD2、ジシアロガングリオシドGD3、TNF受容体ファミリーメンバー、B細胞成熟抗原(BCMA)、Tn抗原((Tn Ag)または(GaINAc-Ser/Thr))、前立腺特異的膜抗原(PSMA)、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1(ROR1)、Fms様チロシンキナーゼ3(FLT3)、腫瘍関連糖タンパク質72(TAG72)、CD38、CD44v6、癌胎児性抗原(CEA)、上皮細胞接着分子(EPCAM)、B7H3(CD276)、KIT(CD117)、インターロイキン-13受容体サブユニットアルファ-2、メソセリン、インターロイキン11受容体アルファ(IL-11Ra)、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、プロテアーゼセリン21、血管内皮成長因子受容体2(VEGFR2)、ルイス(Y)抗原、CD24、血小板由来成長因子受容体ベータ(PDGFR-ベータ)、ステージ特異的胚性抗原-4(SSEA-4)、CD20、葉酸受容体アルファ、HER2、HER3、ムチン1、細胞表面関連(MUC1)、表皮成長因子受容体(EGFR)、神経細胞接着分子(NCAM)、プロスターゼ、前立腺酸性ホスファターゼ(PAP)、伸長因子2突然変異(ELF2M)、エフリンB2、線維芽細胞活性化タンパク質アルファ(FAP)、インスリン様成長因子1受容体(IGF-I受容体)、炭酸アンヒドラーゼIX(CAIX)、プロテアソーム(プロソーム、マクロペイン)サブユニット、ベータタイプ、9(LMP2)、糖タンパク質100(gp100)、プレ

40

50

ークポイントクラスター領域（BCR）及びアベルソン Maus 白血病ウイルス癌遺伝子ホモログ1（Ab1）からなる癌遺伝子融合タンパク質（bcra1）、チロシナーゼ、エフリンA型受容体2（EphA2）、フコシルGM1、シアリルルイス接着分子（sLe）、ガングリオシドGM3、トランスグルタミナーゼ5（TGS5）、高分子量黒色腫関連抗原（HMWMAA）、o-アセチル-GD2ガングリオシド（OAcGD2）、葉酸受容体ベータ、腫瘍内皮マーカー1（TEM1/CD248）、腫瘍内皮マーカー7関連（TEM7R）、クローディン6（CLDN6）、クローディン18.2（CLDN18.2）、甲状腺刺激ホルモン受容体（TSHR）、Gタンパク質共役型受容体クラスCグループ5、メンバーD（GPCR5D）、染色体Xオープンリーディングフレーム61（CXORF61）、CD97、及びCD179aの群から選択される抗原に特異的な抗原結合ドメインを含む、本発明1001～1011のいずれかの医薬組成物。

10

[本発明1013]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD19に特異的な抗原結合ドメインを含むCARを含む、本発明1012の医薬組成物。

[本発明1014]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD28、4-1BB、OX40、CD27、CD30、ICOS、GITR、CD40、MYD88、CD2、SLAM、及びそれらの組み合わせの群から選択される共刺激ドメインを含むCARを含む、本発明1001～1013のいずれかの医薬組成物。

[本発明1015]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD3ゼータシグナル伝達ドメインを含むCARを含む、本発明1001～1014のいずれかの医薬組成物。

20

[本発明1016]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CH2CH3、CD28、及び/またはCD8スペーサードメインを含むCARを含む、本発明1001～1015のいずれかの医薬組成物。

[本発明1017]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD28またはCD8膜貫通ドメインを含むCARを含む、本発明1001～1016のいずれかの医薬組成物。

[本発明1018]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、

- a. 抗原結合ドメイン、
- b. スペーサードメイン、
- c. 膜貫通ドメイン、
- d. 共刺激ドメイン、及び
- e. 細胞内T細胞シグナル伝達ドメイン

を含むCARを含む、本発明1001～1017のいずれかの医薬組成物。

30

[本発明1019]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、少なくとも2つの異なる抗原に対する抗原結合ドメインを含む多重特異性CARを含む、本発明1001～1018のいずれかの医薬組成物。

40

[本発明1020]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、TCRアルファ、TCRベータ、TCRガンマ、及びTCRデルタの群から選択されるTCR複合体タンパク質を含む、本発明1001～1019のいずれかの医薬組成物。

[本発明1021]

前記輸送ビヒクルが、脂質ナノ粒子、コアシェルナノ粒子、生分解性ナノ粒子、生分解性脂質ナノ粒子、ポリマーナノ粒子、または生分解性ポリマーナノ粒子を含む、本発明1001～1020のいずれかの医薬組成物。

[本発明1022]

50

標的化部分をさらに含む、本発明 1 0 0 1 ~ 1 0 2 1 のいずれかの医薬組成物。

[本発明 1 0 2 3]

前記標的化部分が、細胞単離または精製の非存在下で、選択された細胞集団または組織の選択された細胞への受容体媒介性エンドサイトーシスまたは直接融合を媒介する、本発明 1 0 2 2 の医薬組成物。

[本発明 1 0 2 4]

前記標的化部分が、C D 3、C D 4、C D 8、C D 5、C D 7、P D - 1、4 - 1 B B、C D 2 8、C 1 q、及び C D 2 の群から選択されるタンパク質に結合することができる、本発明 1 0 2 2 の医薬組成物。

[本発明 1 0 2 5]

前記標的化部分が、マクロファージ、樹状細胞、NK細胞、NK T、または T 細胞抗原に特異的な抗体を含む、本発明 1 0 2 2 の医薬組成物。

[本発明 1 0 2 6]

前記標的化部分が、s c F v、ナノボディ、ペプチド、ミニボディ、ポリヌクレオチドアプタマー、重鎖可変領域、軽鎖可変領域、またはそのフラグメントを含む、本発明 1 0 2 2 ~ 1 0 2 5 のいずれかの医薬組成物。

[本発明 1 0 2 7]

前記ヒト対象においてがんを処置するのに有効な量の、本発明 1 0 0 1 ~ 1 0 2 6 のいずれかの医薬組成物。

[本発明 1 0 2 8]

同じ C A R をコードする外因性 D N A を含む T 細胞またはベクターを含む医薬組成物と比較した場合、向上した安全性プロファイルを有する、本発明 1 0 0 1 ~ 1 0 2 7 のいずれかの医薬組成物。

[本発明 1 0 2 9]

前記組成物内の前記ポリヌクレオチドの 1 重量%未満が、二本鎖 R N A、D N A スプリント、または三リン酸化 R N A である、本発明 1 0 0 1 ~ 1 0 2 8 のいずれかの医薬組成物。

[本発明 1 0 3 0]

前記医薬組成物内の前記ポリヌクレオチド及びタンパク質の 1 重量%未満が、二本鎖 R N A、D N A スプリント、三リン酸化 R N A、ホスファターゼタンパク質、タンパク質リガーゼ、及びキャッピング酵素である、本発明 1 0 0 1 ~ 1 0 2 9 のいずれかの医薬組成物。

[本発明 1 0 3 1]

前記輸送ピヒクルが、1 つより多い環状 R N A ポリヌクレオチドを含む、本発明 1 0 0 1 ~ 1 0 3 0 のいずれかの医薬組成物。

[本発明 1 0 3 2]

以下の順序で、3' グループイントロンフラグメントと、内部リボソーム侵入部位 (I R E S) と、キメラ抗原受容体 (C A R) または T C R 複合体タンパク質をコードする発現配列と、5' グループイントロンフラグメントとを含む、環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 3 3]

前記 3' グループイントロンフラグメント及び 5' グループイントロンフラグメントが、アナベナグループイントロンフラグメントである、本発明 1 0 3 2 の環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 3 4]

前記 3' イントロンフラグメント及び 5' イントロンフラグメントが、インタクトなイントロン内の L 9 a - 5 順列置換部位によって定義される、本発明 1 0 3 3 の環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 3 5]

前記 3' イントロンフラグメント及び 5' イントロンフラグメントが、インタクトなイン

10

20

30

40

50

トロン内の L 8 - 2 順列置換部位によって定義される、本発明 1 0 3 3 の環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 3 6]

前記 I R E S が、C V B 3 I R E S またはそのフラグメントもしくは変異体を含む、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 3 5 のいずれかの環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 3 7]

前記 I R E S が、配列番号 6 5 に従う配列を有する、本発明 1 0 3 6 の環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 3 8]

前記 I R E S が、サリウイルス S Z 1 I R E S またはそのフラグメントもしくは変異体を含む、本発明 1 0 3 2 の環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 3 9]

前記 I R E S が、配列番号 6 3 に従う配列を有する、本発明 1 0 3 8 の環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 4 0]

第 1 の内部スパーサーを、前記 3 ' グループイントロンフラグメントと前記 I R E S との間に、及び

第 2 の内部スパーサーを、前記発現配列と前記 5 ' グループイントロンフラグメントとの間に

含む、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 3 9 のいずれかの環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 4 1]

前記第 1 及び第 2 の内部スパーサーがそれぞれ、約 1 0 ~ 約 6 0 ヌクレオチドの長さを有する、本発明 1 0 4 0 の環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 4 2]

天然ヌクレオチドからなる、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 4 1 のいずれかの環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 4 3]

治療用タンパク質をコードする第 2 の発現配列をさらに含む、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 4 2 のいずれかの環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 4 4]

前記治療用タンパク質が、チェックポイント阻害剤を含む、本発明 1 0 4 3 の環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 4 5]

前記治療用タンパク質が、サイトカインを含む、本発明 1 0 4 3 の環状 RNA ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 4 6]

前記 C A R または T C R 複合体タンパク質が、C D 1 9、C D 1 2 3、C D 2 2、C D 3 0、C D 1 7 1、C S - 1、C 型レクチン様分子 - 1、C D 3 3、上皮成長因子受容体変異体 I I I (E G F R v I I I)、ジシアロガングリオシド G D 2、ジサロガングリオシド G D 3、T N F 受容体ファミリーメンバー、B 細胞成熟抗原 (B C M A)、T n 抗原 ((T n A g) または (G a I N A c a - S e r / T h r))、前立腺特異的膜抗原 (P S M A)、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体 1 (R O R 1)、F m s 様チロシンキナーゼ 3 (F L T 3)、腫瘍関連糖タンパク質 7 2 (T A G 7 2)、C D 3 8、C D 4 4 v 6、癌胎児性抗原 (C E A)、上皮細胞接着分子 (E P C A M)、B 7 H 3 (C D 2 7 6)、K I T (C D 1 1 7)、インターロイキン - 1 3 受容体サブユニットアルファ - 2、メソセリン、インターロイキン 1 1 受容体アルファ (I L - 1 1 R a)、前立腺幹細胞抗原 (P S C A)、プロテアーゼセリン 2 1、血管内皮成長因子受容体 2 (V E G F R 2)、ルイス (Y) 抗原、C D 2 4、血小板由来成長因子受容体ベータ (P D G F R - ベータ)、ステージ特異的胚性抗原 - 4 (S S E A - 4)、C D 2 0、葉酸受容体アルファ、H E R 2、H E R 3、ムチン 1、細胞表面関連 (M U C 1)、表皮成長因子受容体

10

20

30

40

50

(EGFR)、神経細胞接着分子(NCAM)、プロスターゼ、前立腺酸性ホスファターゼ(PAP)、伸長因子2突然変異(ELF2M)、エフリンB2、線維芽細胞活性化タンパク質アルファ(FAP)、インスリン様成長因子1受容体(IGF-I受容体)、炭酸アンヒドラーゼIX(CAIX)、プロテアソーム(プロソーム、マクロペイン)サブユニット、ベータタイプ、9(LMP2)、糖タンパク質100(gp100)、ブレークポイントクラスター領域(BCR)及びアベルソンマウス白血病ウイルス癌遺伝子ホモログ1(ABL)からなる癌遺伝子融合タンパク質(bcr-abl)、チロシナーゼ、エフリンA型受容体2(EphA2)、フコシルGM1、シアリルルイス接着分子(sLe)、ガングリオシドGM3、トランスグルタミナーゼ5(TGS5)、高分子量黒色腫関連抗原(HMWMAA)、o-アセチル-GD2ガングリオシド(OAcGD2)、葉酸受容体ベータ、腫瘍内皮マーカー1(TEM1/CD248)、腫瘍内皮マーカー7関連(TEM7R)、クローディン6(CLDN6)、クローディン18.2(CLDN18.2)、甲状腺刺激ホルモン受容体(TSHR)、Gタンパク質共役型受容体クラスCグループ5、メンバーD(GPRC5D)、染色体Xオープンリーディングフレーム61(CXORF61)、CD97、及びCD179aの群から選択される抗原に特異的な抗原結合ドメインを含む、本発明1032~1045のいずれかの環状RNAポリヌクレオチド。

[本発明1047]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD19に特異的な抗原結合ドメインを含むCARを含む、本発明1032~1046のいずれかの環状RNAポリヌクレオチド。

[本発明1048]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD28、4-1BB、OX40、CD27、CD30、ICOS、GITR、CD40、CD2、SLAM、及びそれらの組み合わせの群から選択される共刺激ドメインを含むCARを含む、本発明1032~1047のいずれかの環状RNAポリヌクレオチド。

[本発明1049]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD3ゼータシグナル伝達ドメインを含むCARを含む、本発明1032~1048のいずれかの環状RNAポリヌクレオチド。

[本発明1050]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CH2CH3、CD28、及び/またはCD8スペーサードメインを含むCARを含む、本発明1032~1049のいずれかの環状RNAポリヌクレオチド。

[本発明1051]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD28またはCD8膜貫通ドメインを含むCARを含む、本発明1032~1050のいずれかの環状RNAポリヌクレオチド。

[本発明1052]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、

- a. 抗原結合ドメイン、
- b. スペーサードメイン、
- c. 膜貫通ドメイン、
- d. 共刺激ドメイン、及び
- e. 細胞内T細胞シグナル伝達ドメイン

を含むCARを含む、本発明1032~1051のいずれかの環状RNAポリヌクレオチド。

[本発明1053]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、少なくとも2つの異なる抗原に対する抗原結合ドメインを含む多重特異性CARを含む、本発明1032~1052のいずれかの環状RNAポリヌクレオチド。

10

20

30

40

50

[本発明 1 0 5 4]

前記 C A R または T C R 複合体タンパク質が、T C R アルファ、T C R ベータ、T C R ガンマ、及び T C R デルタの群から選択される T C R 複合体タンパク質を含む、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 5 3 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 5 5]

天然ヌクレオチドからなる、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 5 4 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 5 6]

前記発現配列が、コドン最適化されている、本発明 1 0 3 2 の環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 5 7]

同等の事前に最適化されたポリヌクレオチドに存在する少なくとも 1 つのマイクロ R N A 結合部位を欠くように最適化される、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 5 6 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 5 8]

同等の事前に最適化されたポリヌクレオチドに存在する少なくとも 1 つのエンドヌクレアーゼ感受性部位を欠くように最適化される、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 5 7 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 5 9]

同等の事前に最適化されたポリヌクレオチドに存在する少なくとも 1 つの R N A 編集感受性部位を欠くように最適化される、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 5 8 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 6 0]

同じ発現配列を有する同等の線状 R N A ポリヌクレオチドの機能的半減期よりも長い、ヒトにおけるインビボ機能的半減期を有する、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 5 9 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 6 1]

約 1 0 0 ヌクレオチド ~ 約 1 0 キロベースの長さを有する、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 6 0 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 6 2]

少なくとも約 2 0 時間の機能的半減期を有する、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 6 1 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 6 3]

少なくとも約 2 0 時間のヒト細胞における治療効果の持続時間を有する、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 6 2 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 6 4]

同じ発現配列を含む同等の線状 R N A ポリヌクレオチドの治療効果の持続時間以上の、ヒト細胞における治療効果の持続時間を有する、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 6 3 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 6 5]

同じ発現配列を含む同等の線状 R N A ポリヌクレオチドの機能的半減期以上の、ヒト細胞における機能的半減期を有する、本発明 1 0 3 2 ~ 1 0 6 4 のいずれかの環状 R N A ポリヌクレオチド。

[本発明 1 0 6 6]

以下の順序で、5'二重鎖形成領域、第 1 の順列置換部位を有するアナベナ 3'グループイントロンフラグメント、内部リボソーム侵入部位 (I R E S)、キメラ抗原受容体 (C A R) ポリペプチドをコードする発現配列、第 2 の順列置換部位を有するアナベナ 5'グループイントロンフラグメント、及び 3'二重鎖形成領域を含む、D N A ベクター。

[本発明 1 0 6 7]

前記 3'グループイントロンフラグメント及び 5'グループイントロンフラグメント

10

20

30

40

50

が、アナベナグループイントロンフラグメントである、本発明 1066 の DNA ベクター。

[本発明 1068]

前記 3' イントロンフラグメント及び 5' イントロンフラグメントが、インタクトなイントロン内の L9a - 5 順列置換部位によって定義される、本発明 1067 の DNA ベクター。

[本発明 1069]

前記 3' イントロンフラグメント及び 5' イントロンフラグメントが、インタクトなイントロン内の L8 - 2 順列置換部位によって定義される、本発明 1067 の DNA ベクター。

[本発明 1070]

前記 IRES が、CVB3 IRES またはそのフラグメントもしくは変異体を含む、本発明 1066 ~ 1069 のいずれかの DNA ベクター。

[本発明 1071]

前記 IRES が、配列番号 65 に従う配列をコードする、本発明 1070 の DNA ベクター。

[本発明 1072]

前記 IRES が、サリウイルス SZ1 IRES またはそのフラグメントもしくは変異体を含む、本発明 1066 ~ 1069 のいずれかの DNA ベクター。

[本発明 1073]

前記 IRES が、配列番号 63 に従う配列をコードする、本発明 1072 の DNA ベクター。

[本発明 1074]

前記環状 RNA ポリヌクレオチドが、以下の順序で、5' 二重鎖形成領域と、3' グループイントロンフラグメントと、内部リボソーム侵入部位 (IRES) と、キメラ抗原受容体 (CAR) または TCR 複合体タンパク質をコードする発現配列と、5' グループイントロンフラグメントと、3' 二重鎖形成領域とを含む、本発明 1066 ~ 1073 のいずれかの DNA ベクター。

[本発明 1075]

前記 5' 二重鎖形成領域及び 3' 二重鎖形成領域がそれぞれ、約 70% GC ヌクレオチドを有する、本発明 1074 の DNA ベクター。

[本発明 1076]

前記 5' 二重鎖形成領域及び 3' 二重鎖形成領域がそれぞれ、約 30 ヌクレオチドの長さを有する、本発明 1074 または本発明 1075 の DNA ベクター。

[本発明 1077]

第 1 の外部スペーサーを、前記 5' 二重鎖形成領域と前記 3' グループイントロンフラグメントとの間に、及び

第 2 の外部スペーサーを、前記 5' グループイントロンフラグメントと前記 3' 二重鎖形成領域との間に

含む、本発明 1074 ~ 1076 のいずれかの DNA ベクター。

[本発明 1078]

前記第 1 及び第 2 の外部スペーサーがそれぞれ、約 10 ~ 約 60 ヌクレオチドの長さを有する、本発明 1077 の DNA ベクター。

[本発明 1079]

前記 5' 二重鎖形成領域が、3' グループイントロンフラグメントに直接隣接しており、前記 5' グループイントロンフラグメントが、3' 二重鎖形成領域に直接隣接している、本発明 1074 ~ 1078 のいずれかの DNA ベクター。

[本発明 1080]

第 1 の内部スペーサーを、前記 3' グループイントロンフラグメントと前記 IRES との間に、及び

10

20

30

40

50

第2の内部スペーサーを、前記発現配列と前記5'グループイントロンフラグメントとの間に

含む、本発明1066~1079のいずれかのDNAベクター。

[本発明1081]

前記第1及び第2の内部スペーサーがそれぞれ、約10~約60ヌクレオチドの長さを有する、本発明1080のDNAベクター。

[本発明1082]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD19、CD123、CD22、CD30、CD171、CS-1、C型レクチン様分子-1、CD33、上皮成長因子受容体変異体III(EGFRvIII)、ジシアロガングリオシドGD2、ジサロガングリオシドGD3、TNF受容体ファミリーメンバー、B細胞成熟抗原(BCMA)、Tn抗原((Tn Ag)または(GaINAc-Ser/Thr))、前立腺特異的膜抗原(PSMA)、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1(ROR1)、Fms様チロシンキナーゼ3(FLT3)、腫瘍関連糖タンパク質72(TAG72)、CD38、CD44v6、癌胎児性抗原(CEA)、上皮細胞接着分子(EPCAM)、B7H3(CD276)、KIT(CD117)、インターロイキン-13受容体サブユニットアルファ-2、メソセリン、インターロイキン11受容体アルファ(IL-11Ra)、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、プロテアーゼセリン21、血管内皮成長因子受容体2(VEGFR2)、ルイス(Y)抗原、CD24、血小板由来成長因子受容体ベータ(PDGFR-ベータ)、ステージ特異的胚性抗原-4(SSEA-4)、CD20、葉酸受容体アルファ、HER2、HER3、ムチン1、細胞表面関連(MUC1)、表皮成長因子受容体(EGFR)、神経細胞接着分子(NCAM)、プロスターゼ、前立腺酸性ホスファターゼ(PAP)、伸長因子2突然変異(ELF2M)、エフリンB2、線維芽細胞活性化タンパク質アルファ(FAP)、インスリン様成長因子1受容体(IGF-I受容体)、炭酸アンヒドラーゼIX(CAIX)、プロテアソーム(プロソーム、マクロペイン)サブユニット、ベータタイプ、9(LMP2)、糖タンパク質100(gp100)、ブレークポイントクラスター領域(BCR)及びアベルソン Maus 白血病ウイルス癌遺伝子ホモログ1(ABL)からなる癌遺伝子融合タンパク質(bcr-abl)、チロシンキナーゼ、エフリンA型受容体2(EphA2)、フコシルGM1、シアリルルイス接着分子(sLe)、ガングリオシドGM3、トランスグルタミナーゼ5(TGS5)、高分子量黒色腫瘍関連抗原(HMWMAA)、o-アセチル-GD2ガングリオシド(OAcGD2)、葉酸受容体ベータ、腫瘍内皮マーカー1(TEM1/CD248)、腫瘍内皮マーカー7関連(TEM7R)、クローディン6(CLDN6)、クローディン18.2(CLDN18.2)、甲状腺刺激ホルモン受容体(TSHR)、Gタンパク質共役型受容体クラスCグループ5、メンバーD(GPRC5D)、染色体Xオープンリーディングフレーム61(CXORF61)、CD97、及びCD179aの群から選択される抗原に特異的な抗原結合ドメインを含む、本発明1066~1081のいずれかのDNAベクター。

[本発明1083]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD19に特異的な抗原結合ドメインを含むCARを含む、本発明1066~1082のいずれかのDNAベクター。

[本発明1084]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD28、4-1BB、OX40、CD27、CD30、ICOS、GITR、CD40、CD2、SLAM、及びそれらの組み合わせの群から選択される共刺激ドメインを含むCARを含む、本発明1066~1083のいずれかのDNAベクター。

[本発明1085]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CD3ゼータシグナル伝達ドメインを含むCARを含む、本発明1066~1084のいずれかのDNAベクター。

[本発明1086]

前記CARまたはTCR複合体タンパク質が、CH2CH3、CD28、及び/または

10

20

30

40

50

C D 8 スペーサードメインを含む C A R を含む、本発明 1 0 6 6 ~ 1 0 8 5 のいずれかの D N A ベクター。

[本発明 1 0 8 7]

前記 C A R または T C R 複合体タンパク質が、C D 2 8 または C D 8 膜貫通ドメインを含む C A R を含む、本発明 1 0 6 6 ~ 1 0 8 6 のいずれかの D N A ベクター。

[本発明 1 0 8 8]

前記 C A R または T C R 複合体タンパク質が、

- a . 抗原結合ドメイン、
- b . スペーサードメイン、
- c . 膜貫通ドメイン、
- d . 共刺激ドメイン、及び
- e . 細胞内 T 細胞シグナル伝達ドメイン

を含む C A R を含む、本発明 1 0 6 6 ~ 1 0 8 7 のいずれかの D N A ベクター。

[本発明 1 0 8 9]

前記 C A R または T C R 複合体タンパク質が、少なくとも 2 つの異なる抗原に対する抗原結合ドメインを含む多重特異性 C A R を含む、本発明 1 0 6 6 ~ 1 0 8 8 のいずれかの D N A ベクター。

[本発明 1 0 9 0]

前記 C A R または T C R 複合体タンパク質が、T C R アルファ、T C R ベータ、T C R ガンマ、及び T C R デルタの群から選択される T C R 複合体タンパク質を含む、本発明 1 0 6 6 ~ 1 0 8 9 のいずれかの D N A ベクター。

[本発明 1 0 9 1]

以下の順序で、3' グループイントロンフラグメントと、内部リボソーム侵入部位 (I R E S) と、キメラ抗原受容体 (C A R) または T C R 複合体タンパク質をコードする発現配列と、5' グループイントロンフラグメントとを含む、環状 R N A ポリヌクレオチド

を含む、真核細胞。

[本発明 1 0 9 2]

ヒト細胞を含む、本発明 1 0 9 1 の真核細胞。

[本発明 1 0 9 3]

免疫細胞を含む、本発明 1 0 9 1 または 1 0 9 2 の真核細胞。

[本発明 1 0 9 4]

T 細胞を含む、本発明 1 0 9 1 ~ 1 0 9 3 のいずれかの真核細胞。

[本発明 1 0 9 5]

以下の順序で、3' グループイントロンフラグメントと、内部リボソーム侵入部位 (I R E S) と、キメラ抗原受容体 (C A R) または T C R 複合体タンパク質をコードする発現配列と、5' グループイントロンフラグメントとを含む、環状 R N A ポリヌクレオチド

を含む、真核細胞の集団であって、

前記環状 R N A ポリヌクレオチドによってコードされる前記 C A R または T C R 複合体タンパク質をその細胞表面上に発現する、前記真核細胞の集団。

[本発明 1 0 9 6]

前記細胞の集団が、N K 細胞、N K T 細胞、マクロファージ、樹状細胞、アルファベータ T 細胞、ガンマデルタ T 細胞、またはそれらの組み合わせを含む、本発明 1 0 9 5 の真核細胞の集団。

[本発明 1 0 9 7]

前記細胞の集団が、T 細胞を含む、本発明 1 0 9 5 または 1 0 9 6 の真核細胞の集団。

[本発明 1 0 9 8]

前記集団が、C D 3 + T 細胞を含む、本発明 1 0 9 7 の真核細胞の集団。

[本発明 1 0 9 9]

10

20

30

40

50

前記集団が、CD4 + T細胞を含む、本発明1097の真核細胞の集団。

[本発明1100]

前記集団が、CD8 + T細胞を含む、本発明1097の真核細胞の集団。

[本発明1101]

その必要があるヒト対象においてがんを処置するのに有効な量の、本発明1095 ~ 1100のいずれかの真核細胞の集団。

[本発明1102]

前記細胞の集団が、同じCARをコードする線状RNAを含む真核細胞の同等の集団よりも効果的にまたはより長く腫瘍細胞を死滅させる、本発明1095 ~ 1101のいずれかの真核細胞の集団。

[本発明1103]

真核細胞の集団を作製する方法であって、

以下の順序で、3'グループイントロンフラグメントと、内部リボソーム侵入部位(IRES)と、キメラ抗原受容体(CAR)またはTCR複合体タンパク質をコードする発現配列と、5'グループイントロンフラグメントとを含む環状RNAポリヌクレオチドを含む輸送ビヒクルを、前記集団内の細胞と接触させる工程を含み、

前記輸送ビヒクルが、(i)イオン化可能脂質、(ii)構造脂質、及び(iii)PEG修飾脂質を含み、

前記輸送ビヒクルが、前記環状RNAポリヌクレオチドをヒト免疫細胞に送達することができ、その結果、前記CARが前記ヒト免疫細胞において翻訳され、前記ヒト免疫細胞の表面上で発現される、

前記方法。

[本発明1104]

その必要がある対象を処置する方法であって、

a. 以下の順序で、3'グループイントロンフラグメントと、内部リボソーム侵入部位(IRES)と、キメラ抗原受容体(CAR)またはTCR複合体タンパク質をコードする発現配列と、5'グループイントロンフラグメントとを含む、環状RNAポリヌクレオチド、ならびに

b. (i)イオン化可能脂質、(ii)構造的脂質、及び(iii)PEG修飾脂質を含む、輸送ビヒクル

を含む、治療有効量の医薬組成物を投与する工程を含み、

前記輸送ビヒクルが、前記環状RNAポリヌクレオチドをヒト免疫細胞に送達することができ、その結果、前記CARが前記ヒト免疫細胞において翻訳され、前記ヒト免疫細胞の表面上で発現される、

前記方法。

[本発明1105]

前記対象が、急性リンパ球性癌；急性骨髄性白血病(AML)；肺胞横紋筋肉腫；膀胱癌(例えば、膀胱癌腫)；骨癌；脳癌(例えば、髄芽細胞腫)；乳癌；肛門、肛門管、または肛門直腸のがん；眼のがん；肝内胆管のがん；関節のがん；首、胆嚢、または胸膜のがん；鼻、鼻腔、または中耳のがん；口腔のがん；外陰部のがん；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性癌；結腸癌；食道癌；子宮頸癌；線維肉腫；消化管カルチノイド腫瘍；頭頸部癌(例えば、頭頸部扁平上皮癌)；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；腎臓癌；喉頭癌；白血病；液性腫瘍；肝臓癌；肺癌(例えば、非小細胞肺癌及び肺腺癌)；リンパ腫；中皮腫；肥満細胞腫；黒色腫；多発性骨髄腫；上咽頭癌；非ホジキンリンパ腫；B-慢性リンパ球性白血病；有毛細胞白血病；急性リンパ球性白血病(ALL)；及びパーキットリンパ腫；卵巣癌；膵臓癌；腹膜、大網、及び腸間膜の癌；咽頭癌；前立腺癌；直腸癌；腎癌；皮膚癌；小腸癌；軟部組織癌；固形腫瘍；滑膜肉腫；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；ならびに尿管癌の群から選択されるがんを有する、本発明1104の方法。

[本発明1106]

内部リボソーム侵入部位(IRES)、キメラ抗原受容体(CAR)ポリペプチドをコ

10

20

30

40

50

ードする発現配列、及び少なくとも1つの自己環状化エレメントを含む、RNAポリヌクレオチド。

[本発明1107]

5'二重鎖形成領域、第1の順列置換部位を有するアナベナ3'グループイントロンフラグメント、内部リボソーム侵入部位(IRES)、キメラ抗原受容体(CAR)ポリペプチドをコードする発現配列、第2の順列置換部位を有するアナベナ5'グループイントロンフラグメント、及び3'二重鎖形成領域を含む、本発明1106のRNAポリヌクレオチド。

[本発明1108]

5'二重鎖形成領域、第1の順列置換部位、内部リボソーム侵入部位(IRES)、キメラ抗原受容体(CAR)ポリペプチドをコードする発現配列、第2の順列置換部位、及び3'二重鎖形成領域を含む、本発明1106または1107のRNAポリヌクレオチド。

10

[本発明1109]

前記自己環状化エレメントが、グループイントロンフラグメントである、本発明1106~1108のいずれかのRNAポリヌクレオチド。

[本発明1110]

3'グループイントロンフラグメント及び5'イントロンフラグメントを含む、本発明1108または1109のRNAポリヌクレオチド。

[本発明1111]

前記3'グループイントロンフラグメント及び5'グループイントロンフラグメントが、アナベナグループイントロンフラグメントである、本発明1110のRNAポリヌクレオチド。

20

[本発明1112]

前記3'イントロンフラグメント及び5'イントロンフラグメントが、インタクトなイントロン内のL9a-5順列置換部位によって定義される、本発明1111のRNAポリヌクレオチド。

[本発明1113]

前記3'イントロンフラグメント及び5'イントロンフラグメントが、インタクトなイントロン内のL8-2順列置換部位によって定義される、本発明1111のRNAポリヌクレオチド。

30

[本発明1114]

酵素の非存在下で環状化することができる、本発明1110~1113のいずれかのRNAポリヌクレオチド。

[本発明1115]

天然ヌクレオチドからなる、本発明1106~1114のいずれかのRNAポリヌクレオチド。

[本発明1116]

本発明1106~1115のいずれかのRNAポリヌクレオチドを合成するのに好適なDNAベクター。

[本発明1117]

前記環状RNAポリヌクレオチドが、非脂質ポリマーコアシェルナノ粒子において標的細胞に送達される、本発明1032~1065のいずれかの環状RNAポリヌクレオチド。

40

—