

【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】平成26年10月16日 (2014.10.16)

【公表番号】特表2013-536803(P2013-536803A)

【公表日】平成25年9月26日 (2013.9.26)

【年通号数】公開・登録公報2013-049

【出願番号】特願2013-526210(P2013-526210)

【国際特許分類】

A 6 1 K 9/127 (2006.01)

A 6 1 K 47/18 (2006.01)

A 6 1 K 47/24 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 P 33/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 31/10 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 47/18

A 6 1 K 47/24

A 6 1 K 47/34

A 6 1 K 39/00 H

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 33/00

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 31/10

A 6 1 P 31/00

【手続補正書】

【提出日】平成26年8月29日 (2014.8.29)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【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】

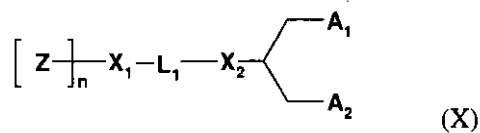
【請求項 1】

目的の免疫原をコードする RNA 分子を中に被包しているリボソームであって、ここで該リボソームは、ポリエチレングリコールが該リボソームの外側に存在するように、ポリエチレングリコール部分に結合した少なくとも 1 種の脂質を含み、ここで該ポリエチレングリコール (P E G) 部分の平均分子量は、1 k D a ~ 3 k D a である、リボソーム。

【請求項 2】

目的の免疫原をコードする RNA 分子を中に被包しているリボソームであって、ここで該リボソームは、P E G - D M G (1 , 2 - ジミリストイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン - N - [メトキシ (ポリエチレングリコール)]) および / もしくは式

(X) :
【化 4】



のポリマー改変脂質を含み、
ここで：

$[Z]_n$ は、ポリ（オキサゾリン）、ポリ（エチレンオキシド）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（グリセロール）、ポリ（N - ビニルピロリドン）、ポリ〔N - （2 - ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド〕およびポリ（アミノ酸）からなる群より選択される親水性ポリマー部分であり、 $[Z]_n$ は、直鎖状または分枝状であり；

各 Z は、独立して、必要に応じて置換されてもよく；

n は、Z の 10 ~ 200 ユニットの数平均重合度であり（そして種々の Z 基に関して最適化され得る）；

L_1 は、エーテル（例えば、 $-O-$ ）、エステル（例えば、 $-C(O)O-$ ）、スクシネート（例えば、 $-O(O)C-CH_2-CH_2-C(O)O-$ ）、カルバメート（例えば、 $-OC(O)-NR'-$ ）、カーボネート（例えば、 $-OC(O)O-$ ）、ウレア（例えば、 $-NRC(O)NR'-$ ）、アミン（例えば、 $-NR'-$ ）、アミド（例えば、 $-C(O)NR'-$ ）、イミン（例えば、 $-C(NR')-$ ）、チオエーテル（例えば、 $-S-$ ）、キサンテート（例えば、 $-OC(S)S-$ ）、およびホスホジエステル（例えば、 $-OP(O)_2O-$ ）のうちの 0 個、1 個もしくは 2 個を含む、必要に応じて置換された、 C_{1-10} アルキレンもしくは C_{1-10} ヘテロアルキレンリンカーであり、ここで R' は、独立して、 $-H$ 、 $-NH-$ 、 $-NH_2$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、ホスフェート、もしくは必要に応じて置換された C_{1-10} アルキレンから選択され；

X_1 および X_2 は、炭素、または $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ もしくはホスフェートから選択されるヘテロ原子から独立して選択され；

A_1 および A_2 は、いずれも、 C_{6-30} アルキル、 C_{6-30} アルケニル、および C_{6-30} アルキニルから独立して選択され、ここで A_1 および A_2 は、同じであっても異なってもよく、または A_1 および A_2 は、 A_1 および A_2 が結合する炭素原子と一緒に、必要に応じて置換されたステロイドを形成する、リボソーム。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 のいずれか 1 項に記載のリボソームであって、80 nm ~ 160 nm の範囲の直径を有する、リボソーム。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のリボソームであって、カチオン性頭部を有する脂質を含む、リボソーム。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のリボソームであって、両性イオン性頭部を有する脂質を含む、リボソーム。

【請求項 6】

前記 RNA 分子は、自己複製 RNA 分子である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のリボソーム。

【請求項 7】

前記自己複製 RNA 分子は、

(i) RNA を該自己複製 RNA 分子から転写し得る RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ、および

(ii) 免疫原
をコードする、請求項 6 に記載のリボソーム。

【請求項 8】

前記 RNA 分子は、2 個のオープンリーディングフレームを有し、該 2 個のオープンリーディングフレームのうちの第 1 のものは、アルファウイルスレプリカーゼをコードし、該 2 個のオープンリーディングフレームのうちの第 2 のものは、前記免疫原をコードする、請求項 7 に記載のリボソーム。

【請求項 9】

前記 RNA 分子は、9000 ~ 12000 ヌクレオチド長である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のリボソーム。

【請求項 10】

前記免疫原は、細菌、ウイルス、真菌もしくは寄生生物に対してインビボで免疫応答を誘発し得る、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のリボソーム。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載のリボソームであって、D l i n D M A (1 , 2 - ジリノレイルオキシ - N , N - ジメチル - 3 - アミノプロパン) 、 D S P C (1 , 2 - ジアステアロイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン) 、 D P y P E (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) 、コレステロール、PEG 化脂質、またはこれらの組合せを含む、リボソーム。

【請求項 12】

前記ポリエチレングリコール部分が前記脂質の頭部に結合している、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のリボソーム。

【請求項 13】

前記リボソームは、大きな単層小胞 (L U V) である、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載のリボソーム。

【請求項 14】

リボソームの集団および免疫原をコードする RNA 分子の集団を含む薬学的組成物であって、ここで該リボソームは脂質の集団を含み、ここで、該脂質の一部は、ポリエチレングリコール部分が該リボソームの外側に存在するように、ポリエチレングリコール部分に結合しており、ここで、該ポリエチレングリコール部分の平均分子量は、1 k D a ~ 3 k D a であり、そして該 RNA 分子の集団のうちの少なくとも半分がリボソーム中に被包されている、薬学的組成物。

【請求項 15】

前記リボソームの集団の平均直径は、60 nm ~ 180 nm の範囲にある、請求項 14 に記載の薬学的組成物。

【請求項 16】

ポリエチレングリコール部分に結合した脂質分子の部分は、該組成物中の脂質の全量の 10 % 未満である、請求項 14 または 15 に記載の薬学的組成物。

【請求項 17】

前記リボソームの集団の多分散性指数は 0 . 2 未満である、請求項 14 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【請求項 18】

脊椎動物における防御免疫応答を惹起するための、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載のリボソームを含む組成物または請求項 14 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0007

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0007】

本発明はまた、RNA 含有リボソームを調製するためのプロセスを提供し、上記プロセ

スは、RNAと、1種以上の脂質とを、上記脂質が上記RNAの中に被包するリボソームを形成するような条件下で、混合する工程を包含し、ここで少なくとも1種の脂質は、上記プロセス中に上記リボソームの外側に位置するようになるポリエチレングリコール部分を含み、そして上記ポリエチレングリコールの平均分子量は、1kDa～3kDaである。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目1)

目的の免疫原をコードするRNAの中に被包しているリボソームであって、ここで該リボソームは、ポリエチレングリコールが該リボソームの外側に存在するように、ポリエチレングリコール部分を含む少なくとも1種の脂質を含み、ここで該ポリエチレングリコールの平均分子量は、1kDa～3kDaである、リボソーム。

(項目2)

PEG-DMGおよび/もしくは式(X)の脂質を含む、項目1に記載のリボソーム。

(項目3)

前述の項目のいずれかに記載のリボソームであって、80nm～160nmの範囲の直径を有する、リボソーム。

(項目4)

前述の項目のいずれかに記載のリボソームであって、カチオン性頭部を有する脂質を含む、リボソーム。

(項目5)

前述の項目のいずれかに記載のリボソームであって、両性イオン性頭部を有する脂質を含む、リボソーム。

(項目6)

前記RNAは、自己複製RNAである、前述の項目のいずれかに記載のリボソーム。

(項目7)

前記自己複製RNA分子は、

(i) RNAを該自己複製RNA分子から転写し得るRNA依存性RNAポリメラーゼ、および

(ii) 免疫原

をコードする、項目6に記載のリボソーム。

(項目8)

前記RNA分子は、2個のオープンリーディングフレームを有し、該2個のオープンリーディングフレームのうちの第1のものは、アルファウイルスレプリカーゼをコードし、該2個のオープンリーディングフレームのうちの第2のものは、前記免疫原をコードする、項目7に記載のリボソーム。

(項目9)

前記RNA分子は、9000～12000ヌクレオチド長である、前述の項目のいずれかに記載のリボソーム。

(項目10)

前記免疫原は、細菌、ウイルス、真菌もしくは寄生生物に対してインビボで免疫応答を誘発し得る、前述の項目のいずれかに記載のリボソーム。

(項目11)

前述の項目のいずれかに記載のリボソームを含む、薬学的組成物。

(項目12)

脊椎動物における防御免疫応答を惹起するための方法であって、該方法は、該脊椎動物に、項目1～10に記載のリボソームまたは項目11に記載の薬学的組成物の有効量を投与する工程を包含する、方法。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

本発明での使用のための1つの適切なPEG化脂質は、実施例において使用されるとおり、PEG-DMGである。図17A~17Eは、さらなる有用なPEG化脂質を示す。PEG化コレステロールもまた、使用され得る。他のポリマー改変脂質、例えば、式(X)のポリマー改変脂質が使用され得る：

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0024

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0024】

ここで：

$[Z]_n$ は、PEG、ならびにポリ(オキサゾリン)、ポリ(エチレンオキシド)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリ(グリセロール)、ポリ(N-ビニルピロリドン)、ポリ[N-(2-ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド]およびポリ(アミノ酸)に基づくポリマーから選択される親水性頭部成分であり、ここで上記ポリマーは、直鎖状であっても分枝状であってもよく、そして上記ポリマーは、必要に応じて置換されていてもよく；

Zは、nサブユニットで重合され；

nは、Zの10~200ユニットの数平均重合度であり(そして種々のZ基に関して最適化され得る)；

L_1 は、エーテル(例えば、 $-O-$)、エステル(例えば、 $-C(O)O-$)、スクシネート(例えば、 $-O(O)C-CH_2-CH_2-C(O)O-$)、カルバメート(例えば、 $-OC(O)-NR'-$)、カーボネート(例えば、 $-OC(O)O-$)、ウレア(例えば、 $-NRC(O)NR'-$)、アミン(例えば、 $-NR'-$)、アミド(例えば、 $-C(O)NR'-$)、イミン(例えば、 $-C(NR')-$)、チオエーテル(例えば、 $-S-$)、キサンテート(例えば、 $-OC(S)S-$)、およびホスホジエステル(例えば、 $-OP(O)_2O-$)のうちの0個、1個もしくは2個を含む、必要に応じて置換された、 C_{1-10} アルキレンもしくは C_{1-10} ヘテロアルキレンリンカーであり、ここで R' は、独立して、 $-H$ 、 $-NH-$ 、 $-NH_2$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、ホスフェート、もしくは必要に応じて置換された C_{1-10} アルキレンから選択され；

X_1 および X_2 は、炭素、または $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ もしくはホスフェートから選択されるヘテロ原子から独立して選択され；

A_1 および A_2 は、いずれも、 C_{6-30} アルキル、 C_{6-30} アルケニル、および C_{6-30} アルキニルから独立して選択され、ここで A_1 および A_2 は、同じであっても異なってもよく、または A_1 および A_2 は、 A_1 および A_2 が結合する炭素原子と一緒に、必要に応じて置換されたステロイドを形成する。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0131

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0131】

ここで：

$[Z]_n$ は、PEG、ならびにポリ(オキサゾリン)、ポリ(エチレンオキシド)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリ(グリセロール)、ポリ(N-ビニルピロリドン)、ポリ[N-(2-ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド]およびポリ(アミノ酸)に基づくポリマーから選択される親水性頭部成分であり、ここで上記ポリマーは、直鎖状であっても分枝状であってもよく、そして上記ポリマーは、必要に応じて置換されていてもよく；

ここでZは、nサブユニットで重合され；

nは、Zの10～200ユニットの数平均重合度であり、ここでnは、種々のポリマータイプに関して最適化され；

L₁は、エーテル（例えば、-O-）、エステル（例えば、-C(O)O-）、スクシネート（例えば、-O(O)C-CH₂-CH₂-C(O)O-）、カルバメート（例えば、-OC(O)-NR'-）、カーボネート（例えば、-OC(O)O-）、ウレア（例えば、-NRC(O)NR'-）、アミン（例えば、-NR'-）、アミド（例えば、-C(O)NR'-）、イミン（例えば、-C(NR')-）、チオエーテル（例えば、-S-）、キサンテート（例えば、-OC(S)S-）、およびホスホジエステル（例えば、-OP(O)₂O-）のうちの0個、1個もしくは2個を含む、必要に応じて置換された、C₁₋₁₀アルキレンもしくはC₁₋₁₀ヘテロアルキレンリンカーであり、

ここでR'は、-H、-NH-、-NH₂、-O-、-S-、ホスフェートもしくは必要に応じて置換されたC₁₋₁₀アルキレンから独立して選択され；

X₁およびX₂は、炭素、または-NH-、-O-、-S-もしくはホスフェートから選択されるヘテロ原子から独立して選択され；

A₁およびA₂は、C₆₋₃₀アルキル、C₆₋₃₀アルケニル、およびC₆₋₃₀アルキニルから独立して選択され、ここでA₁およびA₂は、同じであっても異なっているもよく、またはA₁およびA₂は、A₁およびA₂が結合する炭素原子と一緒にあって、必要に応じて置換されたステロイドを形成する。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

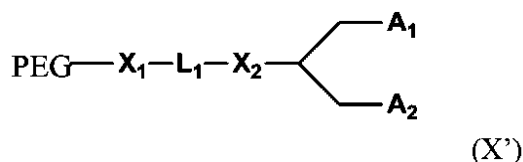
【補正対象項目名】0133

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0133】

【化11】



【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0134

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0134】

ここで

PEGは、ポリ（エチレングリコール）であり、ここで上記PEGは、直鎖状であっても分枝状であってもよく；

nは、エチレンオキシドの10～200ユニット、好ましくは、約45ユニットの数平均重合度であり；

L₁は、エーテル、エステル、スクシネート、カルバメート、カーボネート、ウレア、アミン、アミド、イミン、チオエーテル、キサンテート、およびホスホジエステルのうちの1個もしくは2個を含む、必要に応じて置換されたC₁₋₁₀ヘテロアルキレンリンカーであり；

X₁およびX₂は、酸素で有り；

A₁およびA₂は、C₆₋₃₀アルキル、C₆₋₃₀アルケニル、およびC₆₋₃₀アルキニルから独立して選択され、ここでA₁およびA₂は、同じであっても異なっているもよく、またはここでA₁およびA₂は、A₁およびA₂が結合する炭素原子と一緒にな

って、必要に応じて置換されたステロイドを形成する。