

【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】

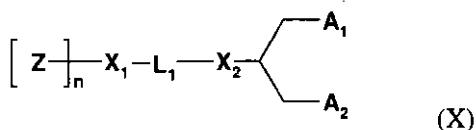
【請求項1】

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ポソームであって、ここで該リポソームは、ポリエチレングリコールが該リポ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(PEG)部分の平均分子量は、1kDa～3kDaである、リポソーム。

【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ポソームであって、ここで該リポソームは、PEG-DMG(1,2-ジミリストイル-sn-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-ヒドロキシプロビル)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）；

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、独立して、-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、いずれも、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てもよく、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、リポソーム。

【請求項 3】

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

【請求項 4】

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

【請求項 5】

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

【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 項に記載のリポソーム。

【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

(i i) 免疫原

をコードする、請求項 6 に記載のリポソーム。

【請求項 8】

前記 R N A 分子は、2個のオーブンリーディングフレームを有し、該2個のオーブ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個のオーブ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に記載のリポソーム。

【請求項 9】

前記 R N A 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項に記載のリポソーム。

【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項に記載のリポソーム。

【請求項 11】

請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームであって、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-sn -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-sn -グリセロ-3 -ホスホエタノールアミン)、コレステロール、P E G 化脂質、またはこれらの組合せを含む、リポソーム。

【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項に記載のリポソーム。

【請求項 13】

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

【請求項 14】

リポソームの集団および免疫原をコードする R N A 分子の集団を含む薬学的組成物であって、ここで該リポ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ポ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 R N A 分子の集団のうちの少なくとも半分がリポソーム中に被包されている、薬学的組成物。

【請求項 15】

前記リポ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】

前記リポ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項に記載のリポソームを含む組成物または請求項14～17のいずれか一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、R N A 含有リポ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、R N Aと、1種以上の脂質とを、上記脂質が上記R N Aを中に被包するリポ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ポ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、1 k D a ~ 3 k D a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R N Aを中に被包しているリポソームであって、ここで該リポソームは、ポリエチレングリコールが該リポソームの外側に存在するよう、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、1 k D a ~ 3 k D aである、リポソーム。

(項目2)

P E G - D M Gおよび／もしくは式(X)の脂質を含む、項目1に記載のリポソーム。

(項目3)

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

(項目4)

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

(項目5)

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

(項目6)

前記R N Aは、自己複製R N Aである、前述の項目のいずれかに記載のリポソーム。

(項目7)

前記自己複製R N A分子は、

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

(ii) 免疫原

をコードする、項目6に記載のリポソーム。

(項目8)

前記R N A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に記載のリポソーム。

(項目9)

前記R N A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ポソーム。

(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オ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ポソーム。

(項目11)

前述の項目のいずれかに記載のリポソームを含む、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に記載のリポソームまたは項目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-C₂H₂-C₂H₂-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～C₁₀アルキレンもしくはC₁～C₁₀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-、-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～C₁₀アルキレンから選択され；

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、いずれも、C₆～C₃₀アルキル、C₆～C₃₀アルケニル、およびC₆～C₃₀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てもよく、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。

【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～C₁₀アルキレンもしくはC₁～C₁₀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～C₁₀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～C₃₀アルキル、C₆～C₃₀アルケニル、およびC₆～C₃₀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てもよく、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。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

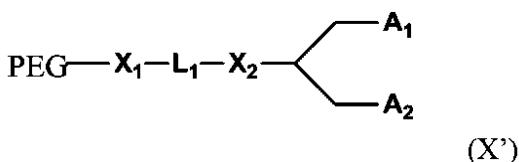
【補正対象項目名】0133

【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～C₁₀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～C₃₀アルキル、C₆～C₃₀アルケニル、およびC₆～C₃₀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てもよく、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。