

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-549265

(P2023-549265A)

(43)公表日 令和5年11月22日(2023.11.22)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	9/51 (2006.01)	A 6 1 K	9/51	4 C 0 7 6	
A 6 1 K	47/28 (2006.01)	A 6 1 K	47/28	4 C 0 8 4	
A 6 1 K	47/26 (2006.01)	A 6 1 K	47/26	4 C 0 8 5	
A 6 1 K	47/18 (2017.01)	A 6 1 K	47/18	4 C 0 8 6	
A 6 1 K	47/34 (2017.01)	A 6 1 K	47/34		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全133頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-528665(P2023-528665)	(71)出願人	522021206
(86)(22)出願日	令和3年11月15日(2021.11.15)		ピオンテック・ソシエタス・エウロパエ
(85)翻訳文提出日	令和5年7月12日(2023.7.12)		ア
(86)国際出願番号	PCT/EP2021/081674		B i o N T e c h S E
(87)国際公開番号	WO2022/101469		ドイツ55131マイantz、アン・デア
(87)国際公開日	令和4年5月19日(2022.5.19)		・ゴルトグルーベ12
(31)優先権主張番号	63/114,478	(74)代理人	100145403
(32)優先日	令和2年11月16日(2020.11.16)		弁理士 山尾 憲人
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100156144
			弁理士 落合 康
(31)優先権主張番号	63/115,588	(72)発明者	パンツナー, シュテツフェン
(32)優先日	令和2年11月18日(2020.11.18)		ドイツ55131マイantz、アン・デア
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		・ゴルトグルーベ12、ピオンテック・
			ソシエタス・エウロペア内
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(72)発明者	ラインシュ, クリスティアン
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 脂質ナノ粒子mRNAワクチンの安定化のための組成物および方法

(57)【要約】

本発明は、脂質ナノ粒子mRNA組成物(例えば、ワクチン)の安定化に関連するテクノロジーを提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；

ii) 約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質

を含むLNP；および

b) 製剤中約10% w/vの濃度のスクロース；

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるTris緩衝液を含む、製剤。

10

【請求項 2】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；

ii) 約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質

を含むLNP；および

b) 製剤中約10% w/vの濃度のスクロース；

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるTris緩衝液を含む、凍結製剤。

20

【請求項 3】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；

ii) 約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質

を含むLNP；およびb) 乾燥前製剤中約10% w/vの濃度のスクロース；

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約10mMの濃度であるTris緩衝液

を含む、乾燥製剤。

30

【請求項 4】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが、

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；

ii) 約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程；および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるTris緩衝液；
および

40

50

ii) 製剤中約 10 % w / v の濃度のスクロースを含むものである、工程を含む、方法。

【請求項 5】

さらに

c) 製剤を凍結する工程を含む、請求項 4 の方法。

【請求項 6】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程を含む、請求項 4 の方法。

10

【請求項 7】

投薬形態を調製する方法であって、

a) 請求項 1 の製剤を希釈する工程；
 b) 請求項 2 の製剤を解凍および希釈する工程；および/または
 c) 請求項 3 の製剤を再懸濁および希釈する工程を含む、方法。

【請求項 8】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 7 の方法。

【請求項 9】

対象が mRNA の発現産物を必要とする、請求項 8 の方法。

20

【請求項 10】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、
 i) 約 0.5 mg / ml の濃度の mRNA；
 ii) 約 7.17 mg / ml の濃度の ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315)；
 iii) 約 0.89 mg / ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159)；
 iv) 約 1.56 mg / ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)；
 v) 約 3.1 mg / ml の濃度のコレステロール

30

を含む LNP；

b) 約 10 % w / v の濃度のスクロース；
 c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含み；

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 11】

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード；
 ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315)；2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含む LNP；および

40

b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース；

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、製剤。

【請求項 12】

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード；

50

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP; および

b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、凍結製剤。

【請求項 13】

10

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP; および

b) 乾燥前製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、乾燥製剤。

20

【請求項 14】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNP が、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液; および

ii) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース

を含むものである、工程

を含む、方法。

30

【請求項 15】

さらに

c) 製剤を凍結する工程

を含む、請求項 14 の方法。

40

【請求項 16】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程

を含む、請求項 14 の方法。

【請求項 17】

投薬形態を調製する方法であって、

a) 請求項 11 の製剤を希釈する工程;

b) 請求項 12 の製剤を解凍および希釈する工程; および/または

50

c) 請求項 13 の製剤を再懸濁および希釈する工程を含む、方法。

【請求項 18】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 17 の方法。

【請求項 19】

対象が mRNA の発現産物を必要とする、請求項 18 の方法。

【請求項 20】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 約 0.5 mg/ml の濃度の mRNA ;

ii) 約 7.17 mg/ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ;

iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159) ;

iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC) ;

v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール

を含む LNP ;

b) 約 10 % w/v の濃度のトレハロース ;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含み ;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 21】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP ; および

b) 製剤中約 5 % w/v の濃度のスクロース ;

c) 製剤中約 5 % w/v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、製剤。

【請求項 22】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP ; および

b) 製剤中約 5 % w/v の濃度のスクロース ;

c) 製剤中約 5 % w/v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、凍結製剤。

【請求項 23】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;

10

20

30

40

50

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質

を含む L N P ; および

b) 乾燥前製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ;

c) 乾燥前製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 1 0 m M の濃度である T r i s 緩衝液

を含む、乾燥製剤。

【請求項 2 4】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(L N P)を調製する工程であって、ここで、L N P が、
i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である T r i s 緩衝液 ;

ii) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ; および

iii) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース

を含むものである、工程

を含む、方法。

【請求項 2 5】

さらに

c) 製剤を凍結する工程

を含む、請求項 2 4 の方法。

【請求項 2 6】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程

を含む、請求項 2 4 の方法。

【請求項 2 7】

投薬形態を調製する方法であって、

a) 請求項 2 1 の製剤を希釈する工程

を含む L N P ;

b) 請求項 2 2 の製剤を解凍および希釈する工程 ; および / または

c) 請求項 2 3 の製剤を再懸濁および希釈する工程

を含む、方法。

【請求項 2 8】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 2 7 の方法。

【請求項 2 9】

対象が m R N A の発現産物を必要とする、請求項 2 8 の方法。

【請求項 3 0】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 約 0.5 mg / ml の濃度の m R N A ;

10

20

30

40

50

ii) 約 7.17 mg/ml の濃度の ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315);

iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159);

iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC);

v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロールを含む LNP;

b) 製剤中約 5% w/v の濃度のスクロース;

c) 製剤中約 5% w/v の濃度のトレハロース;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含み;

10

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 3 1】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

20

を含む LNP; および

b) 製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース;

c) 製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、製剤。

【請求項 3 2】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

30

を含む LNP; および

b) 製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース;

c) 製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、凍結製剤。

【請求項 3 3】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

40

を含む LNP; および

b) 乾燥前製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース;

c) 乾燥前製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液

を含む、乾燥製剤。

【請求項 3 4】

50

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが、
i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；

ii) 約8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約9 : 1 : 2 : 3.5の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315)；2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程；および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 製剤中約6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約10 mMの濃度であるTris緩衝液；および

ii) 製剤中約10% w/vの濃度のスクロースを含むものである、工程を含む、方法。

【請求項35】

さらに

c) 製剤を凍結する工程

を含む、請求項34の方法。

【請求項36】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程

を含む、請求項34の方法。

【請求項37】

投薬形態を調製する方法であって、

a) 請求項31の製剤を希釈する工程；

b) 請求項32の製剤を解凍および希釈する工程；および/または

c) 請求項33の製剤を再懸濁および希釈する工程

を含む、方法。

【請求項38】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項37の方法。

【請求項39】

対象がmRNAの発現産物を必要とする、請求項38の方法。

【請求項40】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 約0.5 mg/mlの濃度のmRNA；

ii) 約7.17 mg/mlの濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315)；

iii) 約0.89 mg/mlの濃度の2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159)；

iv) 約1.56 mg/mlの濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；

v) 約3.1 mg/mlの濃度のコレステロール

を含むLNP；

b) 製剤中約10% w/vの濃度のスクロース；

c) 製剤中約6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約10 mMの濃度であるTris緩衝液を含み；

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項41】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；

10

20

30

40

50

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP; および

b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース;

c) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、製剤。

【請求項 4 2】

10

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP; および

b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース;

c) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、凍結製剤。

20

【請求項 4 3】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP; および

b) 乾燥前製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース;

c) 乾燥前製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液

を含む、乾燥製剤。

30

【請求項 4 4】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNP が、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液; および

ii) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース

を含むものである、工程

を含む、方法。

40

50

【請求項 4 5】

さらに

c) 製剤を凍結する工程を含む、請求項 4 4 の方法。

【請求項 4 6】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程を含む、請求項 4 4 の方法。

【請求項 4 7】

投薬形態を調製する方法であって、

a) 請求項 4 1 の製剤を希釈する工程；
b) 請求項 4 2 の製剤を解凍および希釈する工程；および/または
c) 請求項 4 3 の製剤を再懸濁および希釈する工程を含む、方法。

10

【請求項 4 8】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 4 7 の方法。

【請求項 4 9】

対象が mRNA の発現産物を必要とする、請求項 4 8 の方法。

【請求項 5 0】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

20

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 約 0.5 mg/ml の濃度の mRNA；

ii) 約 7.17 mg/ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315)；

iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159)；

iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；

v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール

を含む LNP；

b) 製剤中約 10% w/v の濃度のトレハロース；

30

c) 製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含み；

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 5 1】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード；

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315)；2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラ

デシルアセトアミド(ALC - 0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質

40

を含む LNP；および

b) 製剤中約 5% w/v の濃度のスクロース；

c) 製剤中約 5% w/v の濃度のトレハロース；

d) 製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液

を含む、製剤。

【請求項 5 2】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード；

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロ

50

キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質を含むLNP; および

b) 製剤中約5% w/vの濃度のスクロース;

c) 製剤中約5% w/vの濃度のトレハロース;

d) 製剤中約6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約10 mMの濃度であるTris緩衝液を含む、凍結製剤。

【請求項53】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約8:1:1.5:3 ~ 約9:1:2:3.5の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質を含むLNP; および

b) 乾燥前製剤中約5% w/vの濃度のスクロース;

c) 乾燥前製剤中約5% w/vの濃度のトレハロース;

d) 乾燥前製剤中約6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約10 mMの濃度であるTris緩衝液を含む、乾燥製剤。

【請求項54】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが、

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約8:1:1.5:3 ~ 約9:1:2:3.5の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質を含むものである工程; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 製剤中約6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約10 mMの濃度であるTris緩衝液;

ii) 製剤中約5% w/vの濃度のスクロース; および

iii) 製剤中約5% w/vの濃度のトレハロース

を含むものである、工程

を含む、方法。

【請求項55】

さらに

c) 製剤を凍結する工程

を含む、請求項54の方法。

【請求項56】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程

を含む、請求項54の方法。

【請求項57】

投薬形態を調製する方法であって、

10

20

30

40

50

- a) 請求項 5 1 の製剤を希釈する工程 ;
 b) 請求項 5 2 の製剤を解凍および希釈する工程 ; および / または
 c) 請求項 5 3 の製剤を再懸濁および希釈する工程
 を含む、方法。

【請求項 5 8】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 5 7 の方法。

【請求項 5 9】

対象が mRNA の発現産物を必要とする、請求項 5 8 の方法。

【請求項 6 0】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

- a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 約 0.5 mg/ml の濃度の mRNA ;

ii) 約 7.17 mg/ml の濃度の ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ;

iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159) ;

iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) ;

v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール

を含む LNP ;

- b) 製剤中約 5 % w/v の濃度のスクロース ;

- c) 製剤中約 5 % w/v の濃度のトレハロース ;

- d) 製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液
 を含む ;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 6 1】

- a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロ
 キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエー
 ト)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラ
 デシルアセトアミド (ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (DSP
 C) ; およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP ; および

- b) 製剤中約 10 % w/v の濃度のスクロース ;

- c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液
 を含む、製剤。

【請求項 6 2】

- a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロ
 キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエー
 ト)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラ
 デシルアセトアミド (ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (DSP
 C) ; およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP ; および

- b) 製剤中約 10 % w/v の濃度のスクロース ;

- c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液
 を含む、凍結製剤。

【請求項 6 3】

- a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

- i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；
- ii) 約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；および
- b) 乾燥前製剤中約10% w/vの濃度のスクロース；
- c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約10mMの濃度であるHis緩衝液を含む、乾燥製剤。

10

【請求項64】

製剤を調製する方法であって、

- a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが、
 - i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；
 - ii) 約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むものである工程；および
- b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が
 - i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるHis緩衝液；および
 - ii) 製剤中約10% w/vの濃度のスクロースを含むものである、工程を含む、方法。

20

【請求項65】

さらに

- c) 製剤を凍結する工程を含む、請求項64の方法。

30

【請求項66】

さらに

- c) 製剤を乾燥する工程を含む、請求項64の方法。

【請求項67】

投薬形態を調製する方法であって、

- a) 請求項61の製剤を希釈する工程；
- b) 請求項62の製剤を解凍および希釈する工程；および/または
- c) 請求項63の製剤を再懸濁および希釈する工程を含む、方法。

40

【請求項68】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項67の方法。

【請求項69】

対象がmRNAの発現産物を必要とする、請求項68の方法。

【請求項70】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

- a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、
 - i) 約0.5mg/mlの濃度のmRNA；
 - ii) 約7.17mg/mlの濃度の((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；

50

iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159);

iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC);

v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール

を含む LNP;

b) 製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液を含み;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 7 1】

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート) (ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP; および

b) 製剤中約 10% w/v の濃度のトレハロース;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液を含む、製剤。

【請求項 7 2】

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート) (ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP; および

b) 製剤中約 10% w/v の濃度のトレハロース;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液を含む、凍結製剤。

【請求項 7 3】

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート) (ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP; および

b) 乾燥前製剤中約 10% w/v の濃度のトレハロース;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液を含む、乾燥製剤。

【請求項 7 4】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子 (LNP) を調製する工程であって、ここで、LNP が、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロ

10

20

30

40

50

キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が
i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液; および

ii) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース

を含むものである、工程

10

を含む、方法。

【請求項 75】

さらに

c) 製剤を凍結する工程

を含む、請求項 74 の方法。

【請求項 76】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程

を含む、請求項 74 の方法。

【請求項 77】

20

投薬形態を調製する方法であって、

a) 請求項 71 の製剤を希釈する工程;

b) 請求項 72 の製剤を解凍および希釈する工程; および / または

c) 請求項 73 の製剤を再懸濁および希釈する工程

を含む、方法。

【請求項 78】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 77 の方法。

【請求項 79】

対象が mRNA の発現産物を必要とする、請求項 78 の方法。

【請求項 80】

30

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 約 0.5 mg / ml の濃度の mRNA;

ii) 約 7.17 mg / ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315);

iii) 約 0.89 mg / ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159);

iv) 約 1.56 mg / ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC);

v) 約 3.1 mg / ml の濃度のコレステロール

を含む LNP;

40

b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液を含み;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 81】

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラ

50

デシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む L N P ; および

- b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ;
- c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ;
- d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H i s 緩衝液を含む、製剤。

【請求項 8 2】

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

- i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む L N P ; および

- b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ;
- c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ;
- d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H i s 緩衝液を含む、凍結製剤。

【請求項 8 3】

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

- i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む L N P ; および

- b) 乾燥前製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ;
- c) 乾燥前製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ;
- d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 1 0 m M の濃度である H i s 緩衝液を含む、乾燥製剤。

【請求項 8 4】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(L N P)を調製する工程であって、ここで、L N P が、

- i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

- i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H i s 緩衝液 ;
 - ii) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ; および
 - iii) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース
- を含むものである、工程

を含む、方法。

【請求項 8 5】

10

20

30

40

50

さらに

c) 製剤を凍結する工程
を含む、請求項 8 4 の方法。

【請求項 8 6】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程
を含む、請求項 8 4 の方法。

【請求項 8 7】

投薬形態を調製する方法であって、

a) 請求項 8 1 の製剤を希釈する工程；
b) 請求項 8 2 の製剤を解凍および希釈する工程；および / または
c) 請求項 8 3 の製剤を再懸濁および希釈する工程
を含む、方法。

10

【請求項 8 8】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 8 7 の方法。

【請求項 8 9】

対象が mRNA の発現産物を必要とする、請求項 8 8 の方法。

【請求項 9 0】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、
i) 約 0.5 mg/ml の濃度の mRNA；
ii) 約 7.17 mg/ml の濃度の ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315)；
iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159)；
iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)；
v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール

20

を含む LNP；

b) 製剤中約 5% w/v の濃度のスクロース；
c) 製剤中約 5% w/v の濃度のトレハロース；

30

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液
を含み；

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 9 1】

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード；
ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315)；2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)；およびコレステロールを含む脂質

40

を含む LNP；および

b) 製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース；

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液
を含む、製剤。

【請求項 9 2】

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード；
ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエー

50

ト)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラ
 デシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P
 C) ; およびコレステロールを含む脂質
 を含む L N P ; および

b) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース ;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H E P E S 緩衝液
 を含む、凍結製剤。

【請求項 9 3】

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロ
 キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエー
 ト)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラ
 デシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P
 C) ; およびコレステロールを含む脂質
 を含む L N P ; および

b) 乾燥前製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース ;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 1 0 m M の濃度である H E P E S
 緩衝液
 を含む、乾燥製剤。

【請求項 9 4】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(L N P)を調製する工程であって、ここで、L N P が、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロ
 キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエー
 ト)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラ
 デシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P
 C) ; およびコレステロールを含む脂質
 を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H E P E S 緩衝液
 ; および

ii) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース

を含むものである、工程

を含む、方法。

【請求項 9 5】

さらに

c) 製剤を凍結する工程

を含む、請求項 9 4 の方法。

【請求項 9 6】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程

を含む、請求項 9 4 の方法。

【請求項 9 7】

投薬形態を調製する方法であって、

a) 請求項 9 1 の製剤を希釈する工程 ;

b) 請求項 9 2 の製剤を解凍および希釈する工程 ; および / または

c) 請求項 9 3 の製剤を再懸濁および希釈する工程

を含む、方法。

10

20

30

40

50

【請求項 98】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 97 の方法。

【請求項 99】

対象が mRNA の発現産物を必要とする、請求項 98 の方法。

【請求項 100】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 約 0.5 mg/ml の濃度の mRNA ;

ii) 約 7.17 mg/ml の濃度の ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315);

iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159);

iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC);

v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール

を含む LNP ;

b) 製剤中約 10 % w/v の濃度のスクロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液を含む ;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 101】

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP ; および

b) 製剤中約 10 % w/v の濃度のトレハロース ;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液を含む、製剤。

【請求項 102】

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP ; および

b) 製剤中約 10 % w/v の濃度のトレハロース ;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液を含む、凍結製剤。

【請求項 103】

a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)

を含む LNP ; および

b) 製剤中約 10 % w/v の濃度のトレハロース ;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液を含む、凍結製剤。

C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む L N P ; および

b) 乾燥前製剤中約 1 0 % w / v の濃度のトレハロース ;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 1 0 m M の濃度である H E P E S 緩衝液

を含む、乾燥製剤。

【請求項 1 0 4】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(L N P)を調製する工程であって、ここで、L N P が、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H E P E S 緩衝液 ; および

ii) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のトレハロース

を含むものである、工程

を含む、方法。

【請求項 1 0 5】

さらに

c) 製剤を凍結する工程

を含む、請求項 1 0 4 の方法。

【請求項 1 0 6】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程

を含む、請求項 1 0 4 の方法。

【請求項 1 0 7】

投薬形態を調製する方法であって、

a) 請求項 1 0 1 の製剤を希釈する工程 ;

b) 請求項 1 0 2 の製剤を解凍および希釈する工程 ; および / または

c) 請求項 1 0 3 の製剤を再懸濁および希釈する工程

を含む、方法。

【請求項 1 0 8】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 1 0 7 の方法。

【請求項 1 0 9】

対象が m R N A の発現産物を必要とする、請求項 1 0 8 の方法。

【請求項 1 1 0】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 約 0.5 mg / ml の濃度の m R N A ;

ii) 約 7.17 mg / ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ;

iii) 約 0.89 mg / ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ;

iv) 約 1.56 mg / ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ;

v) 約 3.1 mg / ml の濃度のコレステロール

10

20

30

40

50

を含む L N P ;

b) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H E P E S 緩衝液を含み ;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 1 1 1】

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質

を含む L N P ; および

b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ;

c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H E P E S 緩衝液を含む、製剤。

【請求項 1 1 2】

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質

を含む L N P ; および

b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ;

c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H E P E S 緩衝液を含む、凍結製剤。

【請求項 1 1 3】

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質

を含む L N P ; および

b) 乾燥前製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ;

c) 乾燥前製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 1 0 m M の濃度である H E P E S 緩衝液

を含む、乾燥製剤。

【請求項 1 1 4】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(L N P)を調製する工程であって、ここで、L N P が、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロ

10

20

30

40

50

キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程; および

- b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が
- i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液;
 - ii) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース; および
 - iii) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース

を含むものである、工程

10

を含む、方法。

【請求項 115】

さらに

- c) 製剤を凍結する工程

を含む、請求項 114 の方法。

【請求項 116】

さらに

- c) 製剤を乾燥する工程

を含む、請求項 114 の方法。

【請求項 117】

20

投薬形態を調製する方法であって、

- a) 請求項 111 の製剤を希釈する工程;
- b) 請求項 112 の製剤を解凍および希釈する工程; および / または
- c) 請求項 113 の製剤を再懸濁および希釈する工程

を含む、方法。

【請求項 118】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 117 の方法。

【請求項 119】

対象が mRNA の発現産物を必要とする、請求項 118 の方法。

【請求項 120】

30

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

- a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、
 - i) 約 0.5 mg / ml の濃度の mRNA;
 - ii) 約 7.17 mg / ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315);
 - iii) 約 0.89 mg / ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159);
 - iv) 約 1.56 mg / ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC);
 - v) 約 3.1 mg / ml の濃度のコレステロール

を含む LNP;

40

- b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース;

- c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース;

- d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液を含み;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法。

【請求項 121】

- a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

- i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード;

- ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエー

50

ト)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラ
 デシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P
 C) ; およびコレステロールを含む脂質
 を含む L N P ; および

b) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース ;
 c) 塩化ナトリウムを実質的に含まない P B S 緩衝液
 を含む、製剤。

【請求項 1 2 2】

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロ
 キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエー
 ト)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラ
 デシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P
 C) ; およびコレステロールを含む脂質
 を含む L N P ; および

b) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース ;
 c) 塩化ナトリウムを実質的に含まない P B S 緩衝液
 を含む、凍結製剤。

【請求項 1 2 3】

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロ
 キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエー
 ト)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラ
 デシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P
 C) ; およびコレステロールを含む脂質
 を含む L N P ; および

b) 乾燥前製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース ;
 c) 塩化ナトリウムを実質的に含まない P B S 緩衝液
 を含む、乾燥製剤。

【請求項 1 2 4】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(L N P)を調製する工程であって、ここで、L N P が、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロ
 キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエー
 ト)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラ
 デシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P
 C) ; およびコレステロールを含む脂質
 を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 塩化ナトリウムを実質的に含まない P B S 緩衝液 ; および

ii) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース

を含むものである、工程

を含む、方法。

【請求項 1 2 5】

さらに

c) 製剤を凍結する工程

を含む、請求項 1 2 4 の方法。

10

20

30

40

50

- b) 製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース；
 c) 製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む P B S 緩衝液
 を含む、凍結製剤。

【請求項 133】

- a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、
 i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；
 ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315)；2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；および

- b) 乾燥前製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース；
 c) 乾燥前製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む P B S 緩衝液
 を含む、乾燥製剤。

【請求項 134】

製剤を調製する方法であって、

- a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが、
 i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；
 ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315)；2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むものである工程；および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む P B S 緩衝液；および

ii) 製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース

を含むものである、工程

を含む、方法。

【請求項 135】

さらに

- c) 製剤を凍結する工程
 を含む、請求項 134 の方法。

【請求項 136】

さらに

- c) 製剤を乾燥する工程
 を含む、請求項 134 の方法。

【請求項 137】

投薬形態を調製する方法であって、

- a) 請求項 131 の製剤を希釈する工程；
 b) 請求項 132 の製剤を解凍および希釈する工程；および/または
 c) 請求項 133 の製剤を再懸濁および希釈する工程
 を含む、方法。

【請求項 138】

それを必要とする対象に投薬形態を投与することをさらに含む、請求項 137 の方法。

【請求項 139】

対象が mRNA の発現産物を必要とする、請求項 138 の方法。

【請求項 140】

投薬形態の製剤を投与する工程を含む、方法であって、該製剤が

10

20

30

40

50

- a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、
- i) 約 0.5 mg/ml の濃度の mRNA ;
 - ii) 約 7.17 mg/ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ;
 - iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159) ;
 - iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC) ;
 - v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール
- を含む LNP ;

b) 製剤中約 10 % w/v の濃度のスクロース ;

c) 約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む PBS 緩衝液

を含み ;

【請求項 141】

製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNP が、

- i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含まないペイロード ;
- ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6,1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

- i) 製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む PBS 緩衝液 ; および
- ii) 製剤中約 10 % w/v の濃度のスクロース

を含み、第一緩衝液系が約 10 % w/v の濃度のスクロースを含むものである工程を含む方法。

【請求項 142】

さらに

c) 製剤を凍結する工程

を含む、請求項 141 の方法。

【請求項 143】

さらに

c) 製剤を乾燥する工程

を含む、請求項 141 の方法。

【請求項 144】

対象における細胞に核酸を送達する方法であって、請求項 1 ~ 143 の何れかの製剤を投与する工程を含む、方法。

【請求項 145】

対象における免疫応答を誘導する方法であって、請求項 1 ~ 144 の何れかの製剤を対象に投与する工程を含む、方法。。

【請求項 146】

免疫応答が mRNA によりコードされるウイルス抗原またはそのエピトープに対するものである、請求項 145 の方法。

【請求項 147】

ウイルス抗原がコロナウイルス抗原である、請求項 146 の方法。

【請求項 148】

コロナウイルスが SARS - CoV2 ウイルスである、請求項 147 の方法。

【請求項 149】

10

20

30

40

50

抗原がSタンパク質であるかまたはそれを含む、請求項147または請求項148の方法。

【請求項150】

製剤が水を実質的に含まなくなるまで乾燥される、請求項3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123または133の何れかの製剤または請求項6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136または143の何れかの方法。

【請求項151】

製剤が凍結乾燥により乾燥される、請求項3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133または150の何れかの製剤または請求項6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、143または150の何れかの方法。 10

【請求項152】

製剤が0.8%未満、0.7%未満、0.6%未満、0.5%未満、0.4%未満または0.3% w/w未満の水を含むまで乾燥される、請求項3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133、150または151の何れかの製剤または請求項6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、143、150または151の何れかの方法。

【請求項153】

製剤が乾燥中アニールされる、請求項3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133、150、151または152の何れかの製剤または請求項6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、143、150、151または152の何れかの方法。 20

【請求項154】

製剤が乾燥中アニールされない、請求項3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133、150、151または152の何れかの製剤または請求項6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、143、150、151または152の何れかの方法。

【請求項155】

製剤が約2 ~ 約25 の範囲の温度で少なくとも12週間0.8%未満、0.7%未満、0.6%未満、0.5%未満、0.4%未満または0.3% w/w未満の水を維持する、請求項150 ~ 154の何れかの製剤または請求項150 ~ 154の何れかの方法。 30

【請求項156】

1以上のmRNAが1以上のポリペプチドをコードする、請求項1 ~ 3、11 ~ 13、21 ~ 23、31 ~ 33、41 ~ 43、51 ~ 53、61 ~ 63、71 ~ 73、81 ~ 83、91 ~ 93、101 ~ 103、111 ~ 113、121 ~ 123または131 ~ 133の何れかの製剤または請求項4 ~ 9、14 ~ 19、24 ~ 29、34 ~ 39、44 ~ 49、54 ~ 59、64 ~ 69、74 ~ 79、84 ~ 89、94 ~ 99、104 ~ 109、114 ~ 119、124 ~ 129、134 ~ 139または141 ~ 149の何れかの方法。

【請求項157】

1以上のポリペプチドが対象における抗原に対する免疫応答を誘導するエピトープであるかまたはそれを含む、請求項156の製剤。

【請求項158】

1以上のmRNAが対象における抗原に対する免疫応答を誘導するエピトープであるかまたはそれを含む、請求項1 ~ 3、11 ~ 13、21 ~ 23、31 ~ 33、41 ~ 43、51 ~ 53、61 ~ 63、71 ~ 73、81 ~ 83、91 ~ 93、101 ~ 103、111 ~ 113、121 ~ 123または131 ~ 133の何れかの製剤。

【請求項159】

1以上のRNAが自己増幅RNA分子であるかまたはそれを含む、請求項1 ~ 3、11 50

～ 1 3、2 1～2 3、3 1～3 3、4 1～4 3、5 1～5 3、6 1～6 3、7 1～7 3、
8 1～8 3、9 1～9 3、1 0 1～1 0 3、1 1 1～1 1 3、1 2 1～1 2 3、1 3 1～
1 3 3または1 5 8の何れかの製剤または請求項 4～9、1 4～1 9、2 4～2 9、3 4
～3 9、4 4～4 9、5 4～5 9、6 4～6 9、7 4～7 9、8 4～8 9、9 4～9 9、
1 0 4～1 0 9、1 1 4～1 1 9、1 2 4～1 2 9、1 3 4～1 3 9または1 4 1～1 4
9の何れかの方法。

【請求項 1 6 0】

1 以上の RNA が修飾 RNA 分子または非修飾 RNA 分子であるかまたはそれを含む、
請求項 1～3、1 1～1 3、2 1～2 3、3 1～3 3、4 1～4 3、5 1～5 3、6 1～
6 3、7 1～7 3、8 1～8 3、9 1～9 3、1 0 1～1 0 3、1 1 1～1 1 3、1 2 1
～1 2 3、1 3 1～1 3 3、1 5 8または1 5 9の何れかの製剤または請求項 4～9、1
4～1 9、2 4～2 9、3 4～3 9、4 4～4 9、5 4～5 9、6 4～6 9、7 4～7 9
、8 4～8 9、9 4～9 9、1 0 4～1 0 9、1 1 4～1 1 9、1 2 4～1 2 9、1 3 4
～1 3 9、1 4 1～1 4 9または1 5 9の何れかの方法。

10

【請求項 1 6 1】

1 以上の RNA が非修飾ウリジン RNA 分子であるかまたはそれを含む、請求項 1～3
、1 1～1 3、2 1～2 3、3 1～3 3、4 1～4 3、5 1～5 3、6 1～6 3、7 1～
7 3、8 1～8 3、9 1～9 3、1 0 1～1 0 3、1 1 1～1 1 3、1 2 1～1 2 3、1
3 1～1 3 3または1 5 8～1 6 0の何れかの製剤または請求項 4～9、1 4～1 9、2
4～2 9、3 4～3 9、4 4～4 9、5 4～5 9、6 4～6 9、7 4～7 9、8 4～8 9
、9 4～9 9、1 0 4～1 0 9、1 1 4～1 1 9、1 2 4～1 2 9、1 3 4～1 3 9、1
4 1～1 4 9、1 5 9または1 6 0の何れかの方法。

20

【請求項 1 6 2】

1 以上の RNA がヌクレオシド修飾 RNA 分子であるかまたはそれを含む、請求項 1～
3、1 1～1 3、2 1～2 3、3 1～3 3、4 1～4 3、5 1～5 3、6 1～6 3、7 1
～7 3、8 1～8 3、9 1～9 3、1 0 1～1 0 3、1 1 1～1 1 3、1 2 1～1 2 3、
1 3 1～1 3 3または1 5 8～1 6 1の何れかの製剤または請求項 4～9、1 4～1 9、
2 4～2 9、3 4～3 9、4 4～4 9、5 4～5 9、6 4～6 9、7 4～7 9、8 4～8
9、9 4～9 9、1 0 4～1 0 9、1 1 4～1 1 9、1 2 4～1 2 9、1 3 4～1 3 9、
1 4 1～1 4 9または1 5 9～1 6 1の何れかの方法。

30

【請求項 1 6 3】

1 以上のポリペプチドの少なくとも 1 個が配列番号 1 または 7 の SARS - COV - 2
S タンパク質由来である、請求項 1 5 6 の製剤または請求項 1 5 6 の方法。

【請求項 1 6 4】

1 以上のポリペプチドの少なくとも 1 個が配列番号 1 または 7 の SARS - COV - 2
S タンパク質と少なくとも 8 5 % 配列同一性を含む、請求項 1 5 6 の製剤または請求項 1
5 6 の方法。

【請求項 1 6 5】

1 以上のポリペプチドの少なくとも 1 個が配列番号 1 または 7 の完全長 SARS - CO
V - 2 S タンパク質であるかまたはそれを含む、請求項 1 5 6 の製剤または請求項 1 5 6
の方法。

40

【請求項 1 6 6】

1 以上のポリペプチドの少なくとも 1 個が配列番号 1 または 7 の SARS - COV - 2
S タンパク質の受容体結合ドメイン (RBD) と少なくとも 8 5 % 配列同一性を含む、請求
項 1 5 6 の製剤または請求項 1 5 6 の方法。

【請求項 1 6 7】

1 以上のポリペプチドの少なくとも 1 個が配列番号 1 または 7 の SARS - COV - 2
S タンパク質の受容体結合ドメイン (RBD) であるかまたはそれを含む、請求項 1 5 6 の
製剤または請求項 1 5 6 の方法。

【請求項 1 6 8】

50

1以上のmRNAがLNPと関連するまたは封入されている、請求項1～3、11～13、21～23、31～33、41～43、51～53、61～63、71～73、81～83、91～93、101～103、111～113、121～123または131～133の何れかの製剤または請求項4～9、14～19、24～29、34～39、44～49、54～59、64～69、74～79、84～89、94～99、104～109、114～119、124～129、134～139または141～149の何れかの方法。

【請求項169】

製剤が、少なくとも12週間の期間にわたり、25 を超える温度で貯蔵されている、請求項1～3、11～13、21～23、31～33、41～43、51～53、61～63、71～73、81～83、91～93、101～103、111～113、121～123または131～133の何れかの製剤または請求項4～9、14～19、24～29、34～39、44～49、54～59、64～69、74～79、84～89、94～99、104～109、114～119、124～129、134～139または141～149の何れかの方法。 10

【請求項170】

製剤が少なくとも12週間期間にわたり、約2～40 の温度で貯蔵されている、請求項1～3、11～13、21～23、31～33、41～43、51～53、61～63、71～73、81～83、91～93、101～103、111～113、121～123または131～133の何れかの製剤または請求項4～9、14～19、24～29、34～39、44～49、54～59、64～69、74～79、84～89、94～99、104～109、114～119、124～129、134～139または141～149の何れかの方法。 20

【請求項171】

製剤が、脂質ナノ粒子が、対照製剤と比較して、少なくとも12週間の期間にわたり、約2～8 の温度で貯蔵したとき、Z平均の20nm未満の変化を示すことにより特徴づけられる、請求項1～3、11～13、21～23、31～33、41～43、51～53、61～63、71～73、81～83、91～93、101～103、111～113、121～123または131～133の何れかの製剤または請求項4～9、14～19、24～29、34～39、44～49、54～59、64～69、74～79、84～89、94～99、104～109、114～119、124～129、134～139または141～149の何れかの方法。 30

【請求項172】

製剤が、脂質ナノ粒子が、対照製剤と比較して、少なくとも12週間の期間にわたり、約25 の温度で貯蔵したとき、Z平均の20nm未満の変化を示すことにより特徴づけられる、請求項1～3、11～13、21～23、31～33、41～43、51～53、61～63、71～73、81～83、91～93、101～103、111～113、121～123または131～133の何れかの製剤または請求項4～9、14～19、24～29、34～39、44～49、54～59、64～69、74～79、84～89、94～99、104～109、114～119、124～129、134～139または141～149の何れかの方法。 40

【請求項173】

製剤が、脂質ナノ粒子が、対照製剤と比較して、少なくとも12週間の期間にわたり、約2～8 の温度で貯蔵したとき、多分散指数(PDI)の0.1未満の変化を示すことにより特徴づけられる、請求項1～3、11～13、21～23、31～33、41～43、51～53、61～63、71～73、81～83、91～93、101～103、111～113、121～123または131～133の何れかの製剤または請求項4～9、14～19、24～29、34～39、44～49、54～59、64～69、74～79、84～89、94～99、104～109、114～119、124～129、134～139または141～149の何れかの方法。 50

【請求項 174】

製剤が、脂質ナノ粒子が、対照製剤と比較して、少なくとも12週間の期間にわたり、約25の温度で貯蔵したとき、多分散指数(PDI)の0.1未満の変化を示すことにより特徴づけられる、請求項1~3、11~13、21~23、31~33、41~43、51~53、61~63、71~73、81~83、91~93、101~103、111~113、121~123または131~133の何れかの製剤または請求項4~9、14~19、24~29、34~39、44~49、54~59、64~69、74~79、84~89、94~99、104~109、114~119、124~129、134~139または141~149の何れかの方法。

【請求項 175】

製剤が、脂質ナノ粒子が、対照製剤と比較して、少なくとも12週間の期間にわたり、約2~8の温度で貯蔵したとき、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%または少なくとも90%の% mRNA封入により特徴づけられる、請求項1~3、11~13、21~23、31~33、41~43、51~53、61~63、71~73、81~83、91~93、101~103、111~113、121~123または131~133の何れかの製剤または請求項4~9、14~19、24~29、34~39、44~49、54~59、64~69、74~79、84~89、94~99、104~109、114~119、124~129、134~139または141~149の何れかの方法。

【請求項 176】

製剤が、脂質ナノ粒子が、対照製剤と比較して、少なくとも12週間の期間にわたり、約25の温度で貯蔵したとき、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%または少なくとも90%の% mRNA封入により特徴づけられる、請求項1~3、11~13、21~23、31~33、41~43、51~53、61~63、71~73、81~83、91~93、101~103、111~113、121~123または131~133の何れかの製剤または請求項4~9、14~19、24~29、34~39、44~49、54~59、64~69、74~79、84~89、94~99、104~109、114~119、124~129、134~139または141~149の何れかの方法。

【請求項 177】

製剤が、脂質ナノ粒子が、対照製剤と比較して、少なくとも12週間の期間にわたり、約2~8の温度で貯蔵したとき、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%または少なくとも90%の% mRNA発現により特徴づけられる、請求項1~3、11~13、21~23、31~33、41~43、51~53、61~63、71~73、81~83、91~93、101~103、111~113、121~123または131~133の何れかの製剤または請求項4~9、14~19、24~29、34~39、44~49、54~59、64~69、74~79、84~89、94~99、104~109、114~119、124~129、134~139または141~149の何れかの方法。

【請求項 178】

製剤が、脂質ナノ粒子が、対照製剤と比較して、少なくとも12週間の期間にわたり、約25の温度で貯蔵したとき、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%または少なくとも90%の% mRNA発現により特徴づけられる、請求項1~3、11~13、21~23、31~33、41~43、51~53、61~63、71~73、81~83、91~93、101~103、111~113、121~123または131~133の何れかの製剤または請求項4~9、14~19、24~29、34~39、44~49、54~59、64~69、74~79、84~89、94~99、104~109、114~119、124~129、134~139または141~149の何れかの方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

背景

メッセンジャーRNA (mRNA)は面白い治療モダリティであることが判明しており、特にワクチンスペースにおいて相当に最近注目が集まっている。

【発明の概要】

【0002】

要約

本発明は、RNA (例えば、mRNA)治療の製剤および特にRNA (例えば、mRNA)ペイロードを含む脂質ナノ粒子(LNP)製剤に関するテクノロジーを提供する。とりわけ、本発明は、約 - 80 より高いまたは約 - 70、約 - 60、約 - 50、約 - 40、約 - 30 もしくは約 - 20 より高い温度での貯蔵および/または取り扱いに適している(例えば、安定な)治療RNA製剤(すなわち、LNP製剤)を提供する。ある実施態様において、提供される製剤は、凍結より高い(例えば、約0 より高い)温度、標準的冷蔵温度(例えば、約1 ~ 約8 または約2 ~ 約8 または約2 ~ 約6 または約2 ~ 約4 の範囲内)および/または室温(例えば、約15 ~ 約25 または約20 ~ 約23 の範囲内)での貯蔵および/または取り扱いに適している可能性がある。

【0003】

ある実施態様において、本発明は、乾燥に適するおよび/または乾燥物である(例えば、凍結乾燥製剤である)製剤を提供する。

【0004】

本発明は、特にワクチンとして(および/またはその製造に)有用である、ある製剤を提供する。

【0005】

ある実施態様において、本発明は、ウイルス抗原(例えば、S-タンパク質またはそのエピトープなどのSARS-CoV2抗原)をコードするRNAの製剤(および特にLNP製剤)を提供する。特に例示される製剤は、BNT162構築物であるRNA構築物を含む(例えば、Walsh, E. et al. RNA-Based COVID-19 Vaccine BNT162b2 Selected for a Pivotal Efficacy Study. medRxiv (2020))、例えば、BNT162b2; および2020年11月12日に出願され、“Coronavirus Vaccine”なる表題のPCT出願番号PCT/EP2020/081981参照(これら各々の内容は、引用により、ここに記載する目的で、内容を本明細書に包含させる))。

【0006】

ある態様において、ここに提供する製剤は、(a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード; ii) 約8:1:1.5:3 ~ 約9:1:2:3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサ-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315); 2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質を含むLNP; (b)製剤中約10% w/vの濃度のスクロース; および(c)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるTris緩衝液を含む。

【0007】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、(a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード; ii) 約8:1:1.5:3 ~ 約9:1:2:3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサ-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315); 2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質を含むLNP; (b)製剤中約10% w/vの濃度のスクロース; および(c)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるTris緩衝液を含む、凍結

製剤である。

【0008】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、(a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、
 i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約
 9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(
 ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(
 ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0
 159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含
 む脂質を含むLNP；(b)乾燥前製剤中約10%w/vの濃度のスクロース；および(c)
 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約10mMの濃度であるTris緩衝液
 を含む乾燥製剤である。 10

【0009】

ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様にお
 いて、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、

a)第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが、
 i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；
 ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロ
 キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエー
 ト)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラ
 デシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSP
 C)；およびコレステロールを含む脂質 20
 を含むものである工程；および

b)第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が
 i)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるTris緩衝液
 ；および
 ii)製剤中約10%w/vの濃度のスクロース
 を含むものである、工程
 を含む、方法である。

【0010】

ある実施態様において、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで 30
 、製剤は、

a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、
 i)約0.5mg/mlの濃度のmRNA；
 ii)約7.17mg/mlの濃度の((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-
 6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；
 iii)約0.89mg/mlの濃度の2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N
 -ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；
 iv)約1.56mg/mlの濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；
 v)約3.1mg/mlの濃度のコレステロール

を含むLNP； 40
 b)約10%w/vの濃度のスクロース；
 c)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるTris緩衝液
 を含み；
 ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される。

【0011】

ある態様において、ここに提供されるのは、(a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、(i)
 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；(ii)約8：1：1.5：3～約9
 ：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(
 ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポ
 リエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-01 50

59) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む、L N P ; (b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース ; および(c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む、製剤である。

【0012】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、(a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、
 i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む L N P ; (b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース ; および c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む、凍結製剤である。

10

【0013】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、(a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、
 i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む L N P ; (b) 乾燥前製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース ; および(c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む、乾燥製剤である。

20

【0014】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(L N P)を調製する工程であって、ここで、L N P が

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質

30

を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が :

i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液 ; および

ii) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース

を含むものである、工程

40

を含む、方法である。

【0015】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで、製剤が

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 約 0.5 mg / ml の濃度の mRNA ;

ii) 約 7.17 mg / ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0315) ;

iii) 約 0.89 mg / ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0159) ;

50

iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC) ;

v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール

を含むLNP ;

b) 約 10% w/v の濃度のトレハロース ;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含み ;

ここで、製剤は投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【0016】

ある態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質を含むLNP ; および

b) 製剤中約 5% w/v の濃度のスクロース ; c) 製剤中約 5% w/v の濃度のトレハロース ; d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む。

【0017】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質を含むLNP ; および

b) 製剤中約 5% w/v の濃度のスクロース ; c) 製剤中約 5% w/v の濃度のトレハロース ; d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、凍結製剤である。

【0018】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質を含むLNP ; および b) 乾燥前製剤中約 5% w/v の濃度のスクロース ; c) 乾燥前製剤中約 5% w/v の濃度のトレハロース ; d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含む、乾燥製剤である。

【0019】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、(a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNP が i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質を含むものである工程 ; および

10

20

30

40

50

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が
 i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液；
 ii) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース；および
 iii) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース
 を含むものである工程
 を含む、方法である。

【 0 0 2 0 】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで、製剤が

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、
 i) 約 0.5 mg / ml の濃度の m R N A ；
 ii) 約 7.17 mg / ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5)；
 iii) 約 0.89 mg / ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9)；
 iv) 約 1.56 mg / ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C)；
 v) 約 3.1 mg / ml の濃度のコレステロール

を含む L N P ；

b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース；

c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース；

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液
 を含み；

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【 0 0 2 1 】

ある態様において、ここに提供する製剤は、(a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード；ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5)；2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9)；ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C)；およびコレステロールを含む脂

質を含む L N P ；および
 b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のスクロース；c) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウム
 を含み、約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む。

【 0 0 2 2 】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、
 i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード；ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5)；2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9)；ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C)；およびコレステロールを含

む脂質を含む L N P ；および
 b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のスクロース；c) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウム
 を含み、約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む、凍結製剤である。

【 0 0 2 3 】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、
 i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード；ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5)；2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9)；ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C)；およびコレステロールを含

10

20

30

40

50

む脂質を含む L N P ; および b) 乾燥前製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース ; c) 乾燥前製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 1 0 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む、乾燥製剤である。

【 0 0 2 4 】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法は、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(L N P)を調製する工程であって、ここで、L N P が

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質

10

を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 1 0 mM の濃度である T r i s 緩衝液 ; および

ii) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース

を含むものである、工程を含む、方法である。

【 0 0 2 5 】

20

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで、製剤が

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 約 0.5 mg / ml の濃度の m R N A ;

ii) 約 7.17 mg / ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ;

iii) 約 0.89 mg / ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ;

iv) 約 1.56 mg / ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ;

v) 約 3.1 mg / ml の濃度のコレステロール

30

を含む L N P ;

b) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース ;

c) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 1 0 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含み ;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【 0 0 2 6 】

ある態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1

: 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9)

40

; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質

を含む L N P ; および

b) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のトレハロース ; c) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 1 0 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む。

【 0 0 2 7 】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約

9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(

50

ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (A L C - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む L N P ; および

b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース ; c) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む、凍結製剤である。

【 0 0 2 8 】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、 a) 脂質ナノ粒子 (L N P) であって、
i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0315) ; 2 - [(
ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (A L C - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む L N P ; および b) 乾燥前製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース ; c) 乾燥前製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む、乾燥製剤である。

10

【 0 0 2 9 】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子 (L N P) を調製する工程であって、ここで、 L N P が

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

20

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (A L C - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液 ; および

ii) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロースを含むものである工程を含む、方法である。

30

【 0 0 3 0 】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで、製剤が

a) 脂質ナノ粒子 (L N P) であって、

i) 約 0.5 mg / ml の濃度の m R N A ;

ii) 約 7.17 mg / ml の濃度の ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0315) ;

iii) 約 0.89 mg / ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (A L C - 0159) ;

40

iv) 約 1.56 mg / ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン (D S P C) ;

v) 約 3.1 mg / ml の濃度のコレステロール

を含む L N P ;

b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース ;

c) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含み ;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【 0 0 3 1 】

ある態様において、ここに提供する製剤は、 a) 脂質ナノ粒子 (L N P) であって、 i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1

50

: 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9); ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C); およびコレステロールを含む脂質を含む L N P; および

b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース; c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース; d) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 1 0 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む。

【 0 0 3 2 】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、
i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9); ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C); およびコレステロールを含む脂質を含む L N P; および

b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース; c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース; d) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 1 0 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む、凍結製剤である。

【 0 0 3 3 】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、
i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9); ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C); およびコレステロールを含む脂質を含む L N P; および b) 乾燥前製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース; c) 乾燥前製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース; d) 乾燥前製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 1 0 mM の濃度である T r i s 緩衝液を含む、乾燥製剤である。

【 0 0 3 4 】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、
a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(L N P)を調製する工程であって、ここで、L N P が
i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9); ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C); およびコレステロールを含む脂質を含むものである工程; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 製剤中約 6 mg / ml 塩化ナトリウムを含み、約 1 0 mM の濃度である T r i s 緩衝液;

ii) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース; および

iii) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース

を含むものである工程を含む、方法である。

【 0 0 3 5 】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで、製剤が

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

10

20

30

40

50

- i) 約 0.5 mg/ml の濃度の mRNA ;
 - ii) 約 7.17 mg/ml の濃度の ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ;
 - iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159) ;
 - iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) ;
 - v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール
- を含む LNP ;
- b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ;
 - c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ;
 - d) 製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含み、約 10 mM の濃度である Tris 緩衝液を含み ;
- ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

10

【0036】

- ある態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質
- b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のスクロース ; c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液を含む。

20

【0037】

- ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質を含む LNP ; および
- b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のスクロース ; c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液を含む、凍結製剤である。

30

【0038】

- ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子 (LNP) であって、i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質を含む LNP ; および
- b) 乾燥前製剤中約 10 % w / v の濃度のスクロース ; c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 10 mM の濃度である His 緩衝液を含む、乾燥製剤である。

40

【0039】

- ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子 (LNP) を調製する工程であって、ここで、LNP が
- i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;
 - ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエー

50

ト)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラ
 デシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P
 C) ; およびコレステロールを含む脂質
 を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H i s 緩衝液 ;
 および

ii) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース

を含むものである工程を含む、方法である。

【 0 0 4 0 】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む
 、方法であって、ここで、製剤が

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 約 0 . 5 m g / m l の濃度の m R N A ;

ii) 約 7 . 1 7 m g / m l の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン -
 6 , 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ;

iii) 約 0 . 8 9 m g / m l の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N -
 ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ;

iv) 約 1 . 5 6 m g / m l の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ;

v) 約 3 . 1 m g / m l の濃度のコレステロール

を含む L N P ;

b) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のスクロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 1 0 m M の濃度である H i s 緩衝液
 を含み ;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【 0 0 4 1 】

ある態様において、ここに提供する製剤は、 a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、 i) 1
 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1 . 5 : 3 ~ 約 9 : 1

: 2 : 3 . 5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサ
 ン - 6 , 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエ
 チレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9)

) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質
 を含む L N P ; および

b) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のトレハロース ; c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、
 製剤中約 1 0 m M の濃度である H i s 緩衝液を含む。

【 0 0 4 2 】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、 a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、
 i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1 . 5 : 3 ~ 約

9 : 1 : 2 : 3 . 5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(
 ヘキサン - 6 , 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(
 ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0

1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含
 む脂質を含む L N P ; および

b) 製剤中約 1 0 % w / v の濃度のトレハロース ; c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、
 製剤中約 1 0 m M の濃度である H i s 緩衝液を含む、凍結製剤である。

【 0 0 4 3 】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、 a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1 . 5 : 3 ~ 約

9 : 1 : 2 : 3 . 5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(
 ヘキサン - 6 , 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(

10

20

30

40

50

ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (A L C - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む L N P ; および b) 乾燥前製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース ; c) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約 10 mM の濃度である H i s 緩衝液を含む、乾燥製剤である。

【0044】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子 (L N P) を調製する工程であって、ここで、L N P が

i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;

ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート) (A L C - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (A L C - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程 ; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である H i s 緩衝液 ; および

ii) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース

を含むものである工程を含む、方法である。

【0045】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで、製剤が

a) 脂質ナノ粒子 (L N P) であって、

i) 約 0.5 mg / ml の濃度の m R N A ;

ii) 約 7.17 mg / ml の濃度の ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート) (A L C - 0315) ;

iii) 約 0.89 mg / ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (A L C - 0159) ;

iv) 約 1.56 mg / ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン (D S P C) ;

v) 約 3.1 mg / ml の濃度のコレステロール

を含む L N P ;

b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である H i s 緩衝液を含み ;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【0046】

ある態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子 (L N P) であって、i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1

: 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート) (A L C - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (A L C - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (D S P C) ; およびコレステロールを含む脂質を含む L N P ; および

b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ; c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ; d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である H i s 緩衝液を含む。

【0047】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子 (L N P) であって、

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；および

b)製剤中約5%w/vの濃度のスクロース；c)製剤中約5%w/vの濃度のトレハロース；d)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるHis緩衝液を含む、凍結製剤である。

【0048】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；およびb)乾燥前製剤中約5%w/vの濃度のスクロース；c)乾燥前製剤中約5%w/vの濃度のトレハロース；d)塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約10mMの濃度であるHis緩衝液を含む、乾燥製剤である。

【0049】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、

a)第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが

i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；

ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程；および

b)第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるHis緩衝液；

ii)製剤中約5%w/vの濃度のスクロース；および

iii)製剤中約5%w/vの濃度のトレハロース

を含むものである工程を含む、方法である。

【0050】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで、製剤が

a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i)約0.5mg/mlの濃度のmRNA；

ii)約7.17mg/mlの濃度の((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；

iii)約0.89mg/mlの濃度の2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；

iv)約1.56mg/mlの濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；

v)約3.1mg/mlの濃度のコレステロール

を含むLNP；

b)製剤中約5%w/vの濃度のスクロース；

c)製剤中約5%w/vの濃度のトレハロース；

d)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるHis緩衝液

10

20

30

40

50

を含み；

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【0051】

ある態様において、ここに提供する製剤は、a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；および

b)製剤中約10%w/vの濃度のスクロース；c)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるHEPES緩衝液を含む。

【0052】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；および

b)製剤中約10%w/vの濃度のスクロース；c)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるHEPES緩衝液を含む、凍結製剤である。

【0053】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；およびb)乾燥前製剤中約10%w/vの濃度のスクロース；c)塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約10mMの濃度であるHEPES緩衝液を含む、乾燥製剤である。

【0054】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、

a)第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが

i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；

ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むものである工程；および

b)第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるHEPES緩衝液；および

ii)製剤中約10%w/vの濃度のスクロースを含むものである工程を含む、方法である。

【0055】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む

10

20

30

40

50

、方法であって、ここで、製剤が

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 約0.5 mg/mlの濃度のmRNA;

ii) 約7.17 mg/mlの濃度の((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315);

iii) 約0.89 mg/mlの濃度の2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159);

iv) 約1.56 mg/mlの濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC);

v) 約3.1 mg/mlの濃度のコレステロール

を含むLNP;

b) 製剤中約10% w/vの濃度のスクロース;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10 mMの濃度であるHEPES緩衝液を含み;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【0056】

ある態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード; ii) 約8:1:1.5:3~約9:1:2:3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315); 2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159);

ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質を含むLNP; および

【0057】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード; ii) 約8:1:1.5:3~約9:1:2:3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315); 2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159);

ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質を含むLNP; および

【0058】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード; ii) 約8:1:1.5:3~約9:1:2:3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315); 2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159);

【0059】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード;

ii) 約8:1:1.5:3~約9:1:2:3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロ

10

20

30

40

50

キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315); 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159); ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程; および

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液; および

ii) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース

を含むものである工程を含む、方法である。

10

【0060】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで、製剤が

a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 約 0.5 mg / ml の濃度の mRNA ;

ii) 約 7.17 mg / ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315);

iii) 約 0.89 mg / ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159);

iv) 約 1.56 mg / ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC);

20

v) 約 3.1 mg / ml の濃度のコレステロール

を含む LNP ;

b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液を含み ;

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【0061】

ある態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、i) 1

以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1

30

: 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315);

2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159)

; ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質

を含む LNP ; および

b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ; c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液を含む。

【0062】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約

40

9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315);

2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159);

ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC); およびコレステロールを含む脂質を含む LNP ;

および

b) 製剤中約 5 % w / v の濃度のスクロース ; c) 製剤中約 5 % w / v の濃度のトレハロース ;

d) 塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約 10 mM の濃度である HEPES 緩衝液を含む、凍結製剤である。

【0063】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a) 脂質ナノ粒子(LNP)であって、

50

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；およびb)乾燥前製剤中約5%w/vの濃度のスクロース；c)乾燥前製剤中約5%w/vの濃度のトレハロース；d)塩化ナトリウムを実質的に含まず、乾燥前製剤中約10mMの濃度であるHEPES緩衝液を含む、乾燥製剤である。

【0064】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、

a)第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが

i) 1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；

ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程；および

b)第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるHEPES緩衝液；

ii)製剤中約5%w/vの濃度のスクロース；および

iii)製剤中約5%w/vの濃度のトレハロース

を含むものである工程を含む、方法である。

【0065】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで、製剤は、

a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、

i)約0.5mg/mlの濃度のmRNA；

ii)約7.17mg/mlの濃度の((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；

iii)約0.89mg/mlの濃度の2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；

iv)約1.56mg/mlの濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；

v)約3.1mg/mlの濃度のコレステロール

を含むLNP；

b)製剤中約5%w/vの濃度のスクロース；

c)製剤中約5%w/vの濃度のトレハロース；

d)塩化ナトリウムを実質的に含まず、製剤中約10mMの濃度であるHEPES緩衝液を含み；

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【0066】

ある態様において、ここに提供する製剤は、a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；および

10

20

30

40

50

b) 製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース ; c) 塩化ナトリウムを実質的に含まない P B S 緩衝液を含む。

【 0 0 6 7 】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、 a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、
i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約
9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(
ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(
ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0
1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含
む脂質を含む L N P ; および

10

b) 製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース ; c) 塩化ナトリウムを実質的に含まない P B S 緩衝液を含む、凍結製剤である。

【 0 0 6 8 】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、 a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、
i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ; ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約
9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(
ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(
ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0
1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ; およびコレステロールを含
む脂質を含む L N P ; および b) 乾燥前製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース ; c) 塩
化ナトリウムを実質的に含まない P B S 緩衝液を含む、乾燥製剤である。

20

【 0 0 6 9 】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載さ
れる。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、
a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(L N P)を調製する工程であって、ここで、 L N P が
i) 1 以上の m R N A であるまたはそれを含むペイロード ;
ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で((4 - ヒドロ
キシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエ
ート)(A L C - 0 3 1 5) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N - ジテトラ
デシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ; ジステアロイルホスファチジルコリン(D S P
C) ; およびコレステロールを含む脂質
を含むものである工程 ; および
b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が
i) 塩化ナトリウムを実質的に含まない P B S 緩衝液 ; および
ii) 製剤中約 10% w/v の濃度のスクロース
を含むものである工程を含む、方法である。

30

【 0 0 7 0 】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む
、方法であって、ここで、製剤が

40

a) 脂質ナノ粒子(L N P)であって、

i) 約 0.5 mg/ml の濃度の m R N A ;

ii) 約 7.17 mg/ml の濃度の((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン -
6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(A L C - 0 3 1 5) ;

iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0] - N, N -
ジテトラデシルアセトアミド(A L C - 0 1 5 9) ;

iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン(D S P C) ;

v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール

を含む L N P ;

b) 約 10% w/v の濃度のスクロース ;

c) 塩化ナトリウムを実質的に含まない P B S 緩衝液

50

を含み；

ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

【0071】

ある態様において、ここに提供する製剤は、a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；および

b)製剤中約10%w/vの濃度のスクロース；c)製剤中約6mg/ml 塩化ナトリウムを含むPBS緩衝液を含む。

【0072】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；および

b)製剤中約10%w/vの濃度のスクロース；c)製剤中約6mg/ml 塩化ナトリウムを含むPBS緩衝液を含む、凍結製剤である。

【0073】

ある実施態様において、ここに提供する製剤は、a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質を含むLNP；およびb)乾燥前製剤中約10%w/vの濃度のスクロース；c)乾燥前製剤中約6mg/ml 塩化ナトリウムを含むPBS緩衝液を含む、乾燥製剤である。

【0074】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法は

a)第一緩衝液系に脂質ナノ粒子(LNP)を調製する工程であって、ここで、LNPが

i)1以上のmRNAであるまたはそれを含むペイロード；

ii)約8：1：1.5：3～約9：1：2：3.5の範囲の相対的質量比で((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)；2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)；ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)；およびコレステロールを含む脂質

を含むものである工程；および

b)第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

i)製剤中約6mg/ml 塩化ナトリウムを含むPBS緩衝液；および

ii)製剤中約10%w/vの濃度のスクロース

を含むものである工程を含む、方法である。

【0075】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤の投薬形態を投与する工程を含む、方法であって、ここで、製剤が

a)脂質ナノ粒子(LNP)であって、

10

20

30

40

50

- i) 約 0.5 mg/ml の濃度の mRNA ;
 - ii) 約 7.17 mg/ml の濃度の ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ;
 - iii) 約 0.89 mg/ml の濃度の 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159) ;
 - iv) 約 1.56 mg/ml の濃度のジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) ;
 - v) 約 3.1 mg/ml の濃度のコレステロール
- を含む LNP ;
- b) 製剤中約 10 % w / v の濃度のスクロース ;
 - c) 約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む PBS 緩衝液
- を含み ;
- ここで、製剤が投与前に投薬形態に希釈される、方法である。

10

【0076】

ある実施態様において、ここに記載するこのような製剤を提供する方法もここに記載される。ある実施態様において、ここに提供されるのは、製剤を調製する方法であって、

a) 第一緩衝液系に脂質ナノ粒子 (LNP) を調製する工程であって、ここで、LNP が

- i) 1 以上の mRNA であるまたはそれを含むペイロード ;
 - ii) 約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の相対的質量比で ((4 - ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン - 6, 1 - ジイル)ビス(2 - ヘキシルデカノエート)(ALC - 0315) ; 2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N, N - ジテトラデシルアセトアミド (ALC - 0159) ; ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) ; およびコレステロールを含む脂質
- を含むものである工程 ; および

20

b) 第一緩衝液系を第二緩衝液系に交換する工程であって、ここで、第二緩衝液系が

- i) 製剤中約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む PBS 緩衝液 ; および
 - ii) 製剤中約 10 % w / v の濃度のスクロース
- を含み、第一緩衝液系が約 10 % w / v の濃度のスクロースを含むものである工程を含む、方法である。

【0077】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、対象における細胞に核酸を送達する方法であって、上に記載する何れかの製剤を投与することを含む、方法である。

30

【0078】

ある実施態様において、ここに提供されるのは、対象における免疫応答を誘導する方法であって、上に記載する何れかの製剤を投与することを含む、方法である。

【0079】

定義

本明細書において、文脈から明らかではない限り、(i) 単数表現は、「少なくとも 1 つ」を意味すると理解し得て ; (ii) 用語「または」は「および/または」を意味すると理解し得て ; (iii) 用語「含む」および「包含する」は、個条書きした成分または工程を、それだけでまたは 1 以上のさらなる成分または工程と共に存在するかに関係なく、包含すると理解され得て ; そして (iv) 用語「約」および「およそ」は当業者により理解される標準偏差を許容すると理解され得て ; そして (v) 範囲が示されるとき、終端が包含される。

40

【0080】

投与 : ここで使用する用語「投与」は、対象への粗製物の投与をいう。例示的投与経路は、気管支(気管支注入を含む)、バツカル、経腸、皮間、動脈内、皮内、胃内、脊髄内、筋肉内、鼻腔内、腹腔内、髄腔内、静脈内、脳室内、粘膜、経鼻、経口、直腸、皮下、舌下、局所、気管(気管内注入を含む)、経皮、腔および硝子体を含み得る。多くの実施態様において、提供されるテクノロジーは、筋肉内注射により投与される、LNP 組成物(例えば、BNT 162 構築物を含む)に関する。ある実施態様において、LNP 組成物は、第一投与、続いて 1 以上の投与(例えば、1 以上のブースター投与)で投与される。ある実施

50

態様において、LNP組成物の各投与、例えば、第一投与と第二投与の間は、一定期間、例えば、約1週間、2週間、3週間、4週間またはそれ以上を含み、約24時間、48時間、72時間、96時間またはそれ以上離れる。ある実施態様において、一定期間離された投与は約3週間(例えば、約21日)である。

【0081】

抗体剤：ここで使用する用語「抗体剤」は、特定の抗原に特異的に結合する薬剤をいう。ある実施態様において、本用語は、特異的結合をさせるのに十分な免疫グロブリン構造要素を含む、あらゆるポリペプチドまたはポリペプチド複合体を包含する。例示的抗体剤は、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体を含むが、これらに限定されない。ある実施態様において、抗体剤は、マウス、ウサギ、霊長類またはヒト抗体に特徴的な1以上の定常領域配列を含み得る。ある実施態様において、抗体剤は、当分野で知られるとおり、ヒト化、霊長類化、キメラなどの1以上の配列要素を含み得る。多くの実施態様において、用語「抗体剤」は、別の提示で抗体構造的および機能的性質を利用するための、当分野で知られるまたは開発された構築物または形式の1以上をいうために使用される。例えば、実施態様において、本発明で使用される抗体剤は、インタクトIgA、IgG、IgEまたはIgM抗体；二または多特異的抗体(例えば、Zybody(登録商標)など)；Fabフラグメント、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、Fd'フラグメント、Fdフラグメントおよび単離CDRまたはそれらのセットなどの抗体フラグメント；一本鎖Fvs；ポリペプチド-Fc融合体；単ドメイン抗体(例えば、IgNARなどのサメ単ドメイン抗体またはそのフラグメント)；ラクダ科抗体；マスクされた抗体(例えば、Probody(登録商標))；小モジュール免疫薬(Small Modular Immunopharmaceuticals)(「SMIPT^M」)；一本鎖またはタンデム二重特異性抗体(TandAb(登録商標))；VHH；アンチカリン(登録商標)；Nanobody(登録商標)ミニボディ；BiTE(登録商標)；アンキリン反復タンパク質またはDARPIN(登録商標)；アビマー(登録商標)；DART；TCR様抗体；アドネクチン(登録商標)；アフィリン(登録商標)；トランスbody(登録商標)；Affibody(登録商標)；TrimerX(登録商標)；微小タンパク質；フィノマー(登録商標)、センチリン(登録商標)；およびKALBITOR(登録商標)を含むが、これらに限定されないものから選択される、形式である。ある実施態様において、抗体は、天然に生じたならば、有している共有結合性修飾(例えば、グリカンの結合)を欠き得る。ある実施態様において、抗体は共有結合性修飾(例えば、グリカンの結合、ペイロード[例えば、検出可能部分、治療部分、触媒部分など]または他のペンダント基[例えば、ポリ-エチレングリコールなど])を有し得る。多くの実施態様において、抗体剤は、アミノ酸配列が当業者により相補性決定領域(CDR)として認識される1以上の構造要素を含む、ポリペプチドであるかまたはそれを含む；ある実施態様において、抗体剤は、アミノ酸配列が、参照抗体に見られるのと実質的に同一である少なくとも1個のCDR(例えば、少なくとも1個の重鎖CDRおよび/または少なくとも1個の軽鎖CDR)を含む、ポリペプチドであるかまたはそれを含む。ある実施態様において、含まれるCDRは、参照CDRと比較して配列が同一であるかまたは1~5アミノ酸置換を含む点で、参照CDRと実質的に同一である。ある実施態様において、含まれるCDRは、参照CDRと少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%配列同一性を示す点で、参照CDRと実質的に同一である。ある実施態様において、含まれるCDRは、参照CDRと少なくとも96%、96%、97%、98%、99%または100%配列同一性を示す点で、参照CDRと実質的に同一である。ある実施態様において、含まれるCDRは、包含されるCDR内の少なくとも1個のアミノ酸が、参照CDRと比較して欠失、付加または置換されているが、包含されるCDRが他の点では参照CDRと同一であるアミノ酸配列を有する点で、参照CDRと実質的に同一である。ある実施態様において、含まれるCDRは、包含されるCDR内の1~5アミノ酸が参照CDRと比較して欠失、付加または置換されるが、包含されるCDRが他の点では参照CDRと同一であるアミノ酸配列を有する点で、参照CDRと実質的に同一である。ある実

施態様において、含まれるCDRは、包含されるCDR内の少なくとも1個のアミノ酸が参照CDRと比較して置換されるが、包含されるCDRが他の点では参照CDRと同一であるアミノ酸配列を有する点で、参照CDRと実質的に同一である。ある実施態様において、含まれるCDRは、包含されるCDR内の1～5アミノ酸が参照CDRと比較して欠失、付加または置換されるが、包含されるCDRが他の点では参照CDRと同一であるアミノ酸配列を有する点で、参照CDRと実質的に同一である。ある実施態様において、抗体剤は、アミノ酸配列が当業者により免疫グロブリン可変ドメインとして認識される構造要素を含む、ポリペプチドであるかまたはそれを含む。ある実施態様において、抗体剤は、免疫グロブリン結合ドメインと相同または大部分は相同である結合ドメインを有する、ポリペプチドタンパク質である。

10

【0082】

抗原：ここで使用する用語「抗原」は、免疫応答を誘導する；および/または抗体またはT細胞受容体(例えば、MHC分子に提示されたとき)に特異的に結合する、薬剤または部分をいう。ある実施態様において、抗原は、液性応答を誘導する(例えば、抗原特異的抗体の産生が関与するまたはそれを含むことがある)；ある実施態様において、抗原は細胞応答を誘発する(例えば、受容体が抗原と特異的に相互作用するT細胞が関与するまたはそれを含むことがある)。ある実施態様において、抗原は抗体に結合し、生物で特定の生理学的応答を誘導するかまたはしないことがある。一般に、抗原は、例えば、小分子、核酸、ポリペプチド、炭水化物、脂質、ポリマーなどの、あらゆる化学物質であり得るかまたはそれを含み得る(ある実施態様において、生体ポリマー以外[例えば、核酸またはアミノ酸ポリマー以外]など)。ある実施態様において、抗原はポリペプチドまたはそのエピートームであるかまたはそれを含む。ある実施態様において、抗原は組み換え抗原である。

20

【0083】

関連：2個の事象または物体は、一方の存在、レベル、程度、タイプおよび/または形態が、他方と関連するならば、ここで使用される限り、互いに「関連」する。例えば、特定の物体(例えば、ポリペプチド、遺伝子特性、代謝物、微生物など)は、存在、レベルおよび/または形態が疾患、障害または状態(例えば、関連集団にわたり)の発生頻度および/または罹病性と関連するならば、特定の疾患、障害または状態と関連すると考えられる。ある実施態様において、2以上の物体は、互いに、直接的または間接的に、互いに物理的近位にあるおよび/またはそのままであるように相互作用するならば、物理的に「関連」する。ある実施態様において、互いに物理的に関連する2以上の物体は互いに共有結合で連結される；ある実施態様において、互いに物理的に関連する2以上の物体は互いに共有結合で連結されないが、例えば、水素結合、ファンデルワールス相互作用、疎水性相互作用、磁力およびそれらの組み合わせの手段により、非共有結合で関連する。

30

【0084】

組み合わせ療法：ここで使用する用語「組み合わせ療法」または「組み合わせて」投与される薬剤についての言及は、対象が2以上の治療レジメン(例えば、2以上の治療剤またはモダリティ)に同時に曝される状況をいう。ある実施態様において、2以上のレジメンは同時に投与され得る；ある実施態様において、このようなレジメンは逐次的に投与され得る(例えば、第一レジメンの全「用量」は、第二レジメンの何れかの用量の前に投与される)；ある実施態様において、このような薬剤は、重複投与計画で投与される。ある実施態様において、組み合わせ療法の「投与」は、1以上の薬剤またはモダリティの、他の薬剤またはモダリティを組み合わせる対象への投与を含み得る。明確にするために、組み合わせ療法は、個々の薬剤を一緒に単一組成物で投与する必要はない(または当時に投与する必要性すらない)が、ある実施態様において、2以上の薬剤またはその活性部分を、一緒に組み合わせ組成物または組み合わせ化合物(例えば、単一化学複合体または共有結合性物の一部として)として投与し得る。

40

【0085】

発現：ここで使用する核酸配列の「発現」は、次の事象の1以上をいう：(1)相補性核酸のテンプレート化された合成(例えば、DNA配列からの、例えば、転写による、RNA

50

テンプレートの産生) ; (2) 例えば、mRNAを産生するためのRNA転写物のプロセッシング(例えば、スプライシング、編集、5'キャップ形成および/または3'末端形成による) ; (3) RNA(例えば、mRNA)のポリペプチドまたはタンパク質への翻訳 ; および/または(4)ポリペプチドまたはタンパク質の翻訳後修飾。ある状況で、「発現」は、テンプレート化された合成の複数工程を含み得ることを、当業者は認識する(例えば、DNA鎖を産生するためのRNAの逆転写、続いてそのようなDNA鎖の転写および/または所望により、例えば、二本鎖DNAを産生するための、相補性DNA鎖の合成)。

【0086】

製剤 : 「製剤」は、ここに記載するとおり、調製および/または提供される、組成物である。多くの実施態様において、用語「製剤」は、LNP組成物 - すなわち、ここに記載するRNA(特にmRNAなどの治療RNA)および脂質を含む - をいう。 10

【0087】

フラグメント : ここに記載する物質または物体の「フラグメント」は、全体の個別の一部を含むが、全体に見られる1以上の部分を欠く、構造をいう。ある実施態様において、フラグメントはこのような個別の一部からなる。ある実施態様において、フラグメントは、全体に見られる特徴的構造的要素または部分からなるかまたはそれを含む。ある実施態様において、ポリマーフラグメントは、ポリマー全体(例えば、連続的関連で)に見られる、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500またはそれ以上の単量体単位(例えば、残基)を含むかまたはそれからなる。ある実施態様において、ポリマーフラグメントは、ポリマー全体に見られる単量体単位(例えば、残基)の少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、25%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上を含むかまたはそれからなる。物質または物体全体は、ある実施態様において、フラグメントの「親」と称し得る。 20

【0088】

機能的 : ここで使用する用語「機能的」は、特定の性質および/または活性を示す物体の形態またはフラグメントをいう。ある実施態様において、このような「機能的」フラグメントの性質および/または活性は、その全体と同程度である。 30

【0089】

同一性 : ここで使用する用語「同一性」は、ポリマー分子間、例えば、核酸分子(例えば、DNA分子および/またはRNA分子)間および/またはポリペプチド分子間の全体的関連性をいう。ある実施態様において、ポリマー分子は、配列が少なくとも25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または99%同一であるならば、互いに「実質的に同一」と考えられ得る。当業者には理解されるとおり、相同性の程度を決定するために、配列の比較を可能とする多様なアルゴリズムが利用可能であり、どの残基が異なる配列で互いに「対応する」かを考察するとき、一方の配列に他方に対して指定された長さのギャップを許容するものを含む。2個の核酸配列間のパーセント同一性の計算は、例えば、最適比較目的で2個の配列を整列させることにより、実施し得る(例えば、最適アラインメントのためにギャップを第一および第二核酸配列の一方または両方に導入でき、対応しない配列を比較目的で無視し得る)。ある実施態様において、比較目的で整列した配列の長さは、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%または実質的に100%である。次いで、対応するヌクレオチド位置のヌクレオチドを比較する。第一配列におけるある位置が、第二配列における対応する位置と同じヌクレオチドで占拠されているならば、これら分子は、その位置で同一である。2個の配列間のパーセン 40 50

ト同一性は、2個の配列の最適アラインメントのために導入することが必要であったギャップ数および各ギャップ長を考慮に入れた、配列により共有される同一位置の関数である。2個のヌクレオチド配列間のパーセント同一性の決定に有用な代表的アルゴリズムおよびコンピュータプログラムは、例えば、ALIGNプログラム(version 2.0)に組み込まれている、Meyers and Miller (CABIOS, 1989, 4: 11-17)のアルゴリズムであり、PAM120加重残基表、ギャップ長ペナルティ12およびギャップペナルティ4を使用する。2個のヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、あるいは、例えば、GCGソフトウェアパッケージのGAPプログラムを使用して、NWS gap dna.CMPマトリクスを使用して決定し得る。

【0090】

核酸：ここで使用する用語「核酸」は、その最も広い意味で、オリゴヌクレオチド鎖に組み込まれ得るあらゆる化合物および/または物質をいう。ある実施態様において、核酸は、ホスホジエステル結合を介してオリゴヌクレオチド鎖に組み込まれるまたは組み込まれ得る化合物および/または物質である。文脈から明らかなどおり、ある実施態様において、「核酸」は、個々の核酸残基(例えば、ヌクレオチドおよび/またはヌクレオシド)をいう；ある実施態様において、「核酸」は、個々の核酸残基を含む、オリゴヌクレオチド鎖をいう。ある実施態様において、「核酸」は、RNAであるかまたはそれを含む；ある実施態様において、「核酸」は、DNAであるかまたはそれを含む。ある実施態様において、核酸は、1以上の天然核酸残基であるか、それを含むかまたはそれからなる。ある実施態様において、核酸は、1以上の核酸アナログであるか、それを含むかまたはそれからなる。ある実施態様において、核酸アナログは、ホスホジエステル主鎖を利用しない点で、核酸と異なる。例えば、ある実施態様において、核酸は、当分野で知られ、主鎖にホスホジエステル結合ではなく、ペプチド結合を含み、本発明の範囲内であると考えられる、1以上の「ペプチド核酸」であるか、それを含むかまたはそれからなる。それとは別にまたはそれに加えて、ある実施態様において、核酸は、ホスホジエステル結合ではなく、1以上のホスホロチオエートおよび/または5'-N-ホスホロアミダイト結合を有する。ある実施態様において、核酸は、1以上の天然ヌクレオシド(例えば、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、ウリジン、デオキシアデノシン、デオキシチミジン、デオキシグアノシンおよびデオキシシチジン)であるか、それを含むかまたはそれからなる。ある実施態様において、核酸は、1以上のヌクレオシドアナログ(例えば、2-アミノアデノシン、2-チオチミジン、イノシン、ピロロ-ピリミジン、3-メチルアデノシン、5-メチルシチジン、C5-プロピニル-シチジン、C5-プロピニル-ウリジン、2-アミノアデノシン、C5-プロモウリジン、C5-フルオロウリジン、C5-ヨードウリジン、C5-プロピニル-ウリジン、C5-プロピニル-シチジン、C5-メチルシチジン、2-アミノアデノシン、7-デアザアデノシン、7-デアザグアノシン、8-オキソアデノシン、8-オキソグアノシン、O(6)-メチルグアニン、2-チオシチジン、メチル化塩基、介在塩基およびそれらの組み合わせ)であるか、それを含むかまたはそれからなる。ある実施態様において、核酸は、天然核酸のものと比較して、1以上の修飾糖(例えば、2'-フルオロリボース、リボース、2'-デオキシリボース、アラビノースおよびヘキソース)を含む。ある実施態様において、核酸は、RNAまたはポリペプチドなどの機能的遺伝子産物をコードするヌクレオチド配列を有する；ある実施態様において、このようなヌクレオチド配列は、特定の宿主(例えば、レシピエント対象)での発現のために、コード最適化され得る。ある実施態様において、コード配列を含む核酸は、1以上のイントロンも含む。ある実施態様において、コード配列を含む核酸は、イントロンを含まない。ある実施態様において、核酸は、天然源からの単離、相補性テンプレートに基づく重合による酵素合成(ある実施態様において、インピボ；ある実施態様において、インピトロ)、組み換え細胞または系での複製および化学合成の1以上により調製される。ある実施態様において、核酸は、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、19

10

20

30

40

50

0、20、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000またはそれ以上の残基長である。

【0091】

特異的：用語「特異的」は、活性を有する薬剤を参照してここで使用するとき、薬剤が潜在的標的物体または状態を区別することを意味すると当業者により理解される。例えば、ある実施態様において、薬剤は、1以上の競合する別の標的の存在下、標的に優先的に結合するならば、その標的に「特異的に」結合すると言い得る。多くの実施態様において、特異的相互作用は、標的物体の特定の構造的特性の存在に依存する(例えば、エピトープ、間隙、結合部位)。特異的は絶対的である必要がないことは理解される。ある実施態様において、特異的は、1以上の他の潜在的標的物体(例えば、競合剤)の結合剤との比較で評価し得る。ある実施態様において、特異的は、参照特異的結合剤との比較で評価し得る。ある実施態様において、特異的は参照非特異的結合剤との比較で評価し得る。ある実施態様において、薬剤または物体は、標的物体と結合する条件下で、競合する別の標的に検出可能に結合しない。ある実施態様において、結合剤は、競合する別の標的と比較して、標的物体に高オンレート、低オフレート、増加した親和性、減少した解離および/または増加した安定性で結合する。

10

【0092】

安定な：用語「安定」は、ここでの組成物に適用されるとき、組成物が指定された一連の条件下で、一定期間にわたり物理的構造および/または活性の1以上の態様を維持することを意味する。ある実施態様において、期間は、約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月、7カ月、8カ月、9カ月、10カ月、11カ月、12カ月またはそれ以上を含む少なくとも約1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間またはそれ以上である；ある実施態様において、指定された一連の条件は、低温閾値より高い温度であるかまたはそれを含む。ある実施態様において、低温閾値は約-80、-70、-50、-30、-20、0、2、4、8、15、20、30、40またはそれ以上である。ある実施態様において、組成物は、脂質ナノ粒子(LNP)を含むコロイド状内容物の維持に基づき、安定であると考えられる。ある実施態様において、組成物は、1以上のLNP特徴(例えば、そのZ平均および/または多分散指数(PDI)を含むが、これらに限定されない)の維持に基づき、安定であると考えられる。ある実施態様において、組成物は、核酸完全性、核酸封入の程度(例えば、パーセント)および/または核酸発現度(例えば、例えば関連参照レベルのパーセントとして表され得るコード化ポリペプチドの発現レベル)の維持に基づき、安定であると考えられる。ある実施態様において、ここに記載する組成物は、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、関連参照レベルと比較して、そのような組成物内の脂質ナノ粒子がZ平均の約20nm未満の変化(Z平均の、例えば、19nm、18nm、17nm、16nm、15nm、14nm、13nm、12nm、11nm未満またはそれ以下の変化を含む)を示すならば、安定と考えられる。ある実施態様において、ここに記載する組成物は、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、関連参照レベルと比較して、そのような組成物内の脂質ナノ粒子がZ平均の約10nm未満の変化(Z平均の、例えば、9nm、8nm、7nm、6nm、5nm、4nm、3nm、2nm、1nm、0.5nm未満またはそれ以下の変化を含む)を示すならば、安定と考えられる。ある実施態様において、ここに記載する組成物は、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、関連参照レベルと比較して、核酸封入の少なくとも50%(例えば、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%、少なくとも98%、少なくとも99%またはそれ以上を含む)が、そのような組成物で維持されるならば、安定と考えられる。ある実施態様において、ここに記載する組成物は、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、関連参照レベルと比較して、コード化ポリペプチドの発現レベルが少なくとも50%(例えば、少なくとも60%、少なくとも70%、少

20

30

40

50

なくとも 80%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99% またはそれ以上を含む)維持されるならば、安定と考えられる。

【0093】

対象：ここで使用する用語「対象」または「患者」は、提供される組成物が、例えば、実験、診断、予防、美容および/または治療目的で投与されるまたは投与され得る、あらゆる生物をいう。典型的対象は、動物(例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類および/またはヒトなどの哺乳動物)である。ある実施態様において、対象はヒトである。ある実施態様において、対象 1 以上の障害または状態に罹患しているまたは易罹患性である。ある実施態様において、対象は障害または状態の 1 以上の症状を示す。ある実施態様において、患者は、1 以上の障害または状態を有すると診断されている。ある実施態様において、対象は、ウイルス感染またはウイルス感染と関連する疾患もしくは障害のリスクがある。

10

【0094】

実質的：ここで使用する用語「実質的」は、目的の特徴または性質の完全なまたはほぼ完全な範囲または程度を示す定性的状態をいう。生物学分野の当業者は、生物学および化学的現象が、完了まで進むおよび/または完全性に向かうまたは絶対的結果を達成もしくは回避するのは、皆無ではないにせよ、稀であることを理解する。用語「実質的」は、それ故に、ここでは、多くの生物学および化学的現象に内在的な完全性の欠失の可能性を捕捉するために使用する。

【0095】

治療有効量：ここで使用する用語「治療有効量」は、治療投与計画に従い、疾患、障害および/または状態に罹患しているまたは易罹患性の集団に投与したとき、疾患、障害および/または状態を処置するのに十分である量を意味する。ある実施態様において、治療有効量は、疾患、障害および/または状態の 1 以上の症状の発生頻度および/または重症度の低減および/または発症の遅延をする量である。当業者は、用語「治療有効量」が特定の個体で処置の成功の達成が実際に必要ではないことを認識する。むしろ、治療有効量は、そのような処置を必要とする患者に投与したとき、相当数の対象に特定の所望の薬理的応答を提供する量であり得る。特定の対象は、実際、「治療有効量」に「難治性」であり得ることは理解される。一例を挙げると、難治性対象は、臨床的有效性が得られないような低バイオアベイラビリティを有し得る。ある実施態様において、治療有効量の言及は、1 以上の特異的組織(例えば、疾患、障害または状態により影響を受ける組織)または流体(例えば、血液、唾液、血清、汗、涙、尿など)で測定される量を言及し得る。当業者は、ある実施態様において、治療有効量は、単一用量で製剤化および/または投与され得ることを認識する。ある実施態様において、治療有効量は、例えば、投与計画の一部として、複数の用量で製剤化および/または投与され得る。

20

30

【0096】

バリエーション：分子、例えば、核酸、タンパク質または小分子の文脈でここで使用する用語「バリエーション」は、参照分子と相当な構造的同一性を示すが、参照物体と比較して、例えば、1 以上の化学部分の存在または不在またはレベルにおいて、参照分子と構造的に異なる分子をいう。ある実施態様において、バリエーションはまた参照分子と機能的にも異なる。一般に、特定の分子が適切に参照分子の「バリエーション」として考えられるか否かは、参照分子との構造的同一性の程度に基づく。当業者により認識されたとおり、あらゆる生物学的または化学的参照分子は、ある特徴的構造要素を有する。ある実施態様において、バリエーションは、1 以上のそのような特徴的構造要素を共有するが、参照分子と少なくとも 1 個の態様が異なる別の分子である。

40

【0097】

いくつかの例を挙げると、ポリペプチドは、互いに対して直鎖状または三次元空間で指定された位置を有するおよび/または特定の構造的モチーフおよび/または生物学的機能に貢献する複数のアミノ酸からなる特徴的配列要素を有し得る；核酸は、互いに対して直鎖状または三次元空間で指定された位置を有する複数のヌクレオチド残基からなる特徴的

50

配列要素を有し得る。ある実施態様において、バリエーションポリペプチドまたは核酸は、アミノ酸またはヌクレオチド配列の1以上の差異および/またはポリペプチドまたは核酸の共有結合成分である(例えば、ポリペプチドまたは核酸主鎖に結合している)化学部分(例えば、炭水化物、脂質、リン酸基)の1以上の差異の結果として、参照ポリペプチドまたは核酸と異なり得る。ある実施態様において、バリエーションポリペプチドまたは核酸は、少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%または99%である、参照ポリペプチドまたは核酸との全体的配列同一性を示す。ある実施態様において、バリエーションポリペプチドまたは核酸は、参照ポリペプチドまたは核酸と少なくとも1個の特徴的配列要素を共有しない。ある実施態様において、参照ポリペプチドまたは核酸は、1以上の生物学的活性を有する。ある実施態様において、バリエーションポリペプチドまたは核酸は、参照ポリペプチドまたは核酸の生物学的活性の1以上を共有する。ある実施態様において、バリエーションポリペプチドまたは核酸は、参照ポリペプチドまたは核酸の生物学的活性の1以上を欠く。ある実施態様において、バリエーションポリペプチドまたは核酸は、参照ポリペプチドまたは核酸と比較して、1以上の生物学的活性のレベルの低減を示す。ある実施態様において、目的のポリペプチドまたは核酸は、特定の位置の小数の配列改変以外、参照と同一であるアミノ酸またはヌクレオチド配列を有するならば、参照ポリペプチドまたは核酸の「バリエーション」と考えられる。

10

【0098】

ある実施態様において、典型的に、バリエーションにおける約20%、約15%、約10%、約9%、約8%、約7%、約6%、約5%、約4%、約3%または約2%より少ない残基が、参照と比較して置換、挿入または欠失されている。ある実施態様において、バリエーションポリペプチドまたは核酸は、参照と比較して、約10個、約9個、約8個、約7個、約6個、約5個、約4個、約3個、約2個または約1個の置換された残基を含む。ある実施態様において、バリエーションポリペプチドまたは核酸は、参照に比して、ごく少数(例えば、約5個、約4個、約3個、約2個または約1個より少ない)の置換、挿入または欠失、機能的残基(すなわち、特定の生物学的活性に参加する残基)を含む。ある実施態様において、バリエーションポリペプチドまたは核酸は、参照と比較して、約5個、約4個、約3個、約2個または約1個を超えない付加または欠失を含み、ある実施態様において、付加または欠失を含まない。ある実施態様において、バリエーションポリペプチドまたは核酸は、参照と比較して、約25個、約20個、約19個、約18個、約17個、約16個、約15個、約14個、約13個、約10個、約9個、約8個、約7個、約6個より少ない、一般的に約5個、約4個、約3個または約2個より少ない付加または欠失を含む。ある実施態様において、参照ポリペプチドまたは核酸は、天然で見られるものである。ある実施態様において、参照ポリペプチドまたは核酸は、ヒトポリペプチドまたは核酸である。

20

30

【0099】

ある実施態様において、アミノ酸配列(ペプチド、タンパク質またはポリペプチド)の「バリエーション」は、アミノ酸挿入バリエーション、アミノ酸付加(すなわち、末端付加)バリエーション、アミノ酸欠失バリエーションおよび/またはアミノ酸置換バリエーションであるかまたはそれを含んでよい。

40

【0100】

ある実施態様において、「バリエーション」は、変異体、スプライスバリエーション、翻訳後修飾バリエーション、配座、アイソフォーム、アレルバリエーション、種バリエーションおよび種ホモログ、特に天然に生ずるものであるかまたはそれを含んでよい。ある実施態様において、用語「バリエーション」は、特に、アミノ酸配列のフラグメントを含む。

【0101】

ある実施態様において、アミノ酸挿入バリエーションは、単一または2以上の、アミノ酸の挿入により、関連参照ポリペプチドと異なる。

【0102】

ある実施態様において、アミノ酸付加バリエーションは、1、2、3、5、10、20、3

50

0、50 またそれ以上のアミノ酸など、1 以上のアミノ酸のアミノおよび/またはカルボキシ末端融合(すなわち、伸長)を含み得る。

【0103】

ある実施態様において、アミノ酸欠失バリエーションは、1、2、3、5、10、20、30、50 またはそれ以上のアミノ酸の除去など、配列かの1 以上のアミノ酸の除去により特徴づけられる。ある実施態様において、欠失は、1 以上のN末端アミノ酸、1 以上のC末端アミノ酸、1 以上の内部アミノ酸またはそれらの組み合わせであり得る。

【0104】

ある実施態様において、アミノ酸置換バリエーションは、配列における少なくとも1 個の残基が除去され、その場所に他の残基が挿入されることにより特徴づけられる。ある実施態様において、置換は、例えば、1 以上の共通モチーフ(例えば、特徴的配列要素)および/または機能を共有する、関連ポリペプチド間で高度に保存されているものではない、残基のものである。ある実施態様において、置換は、元の残基およびその置換体が、1 以上の構造的または機能的属性または性質(例えば、荷電の同一性および/またはタイプまたはその不在; 側鎖の疎水性または親水性、側鎖の三次元的かさ高さ、側鎖の直鎖または分枝鎖特徴、側鎖におけるヘテロ原子の存在および/またはタイプなど)を共有する点で、「保存的」置換である。例えば、ある実施態様において、置換は、酸性(アスパラギン酸、グルタミン酸)、塩基性(リシン、アルギニン、ヒスチジン)、非極性(アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン)、非荷電極性(グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、スレオニン、チロシン)、芳香族アミノ(フェニルアラニン、トリプトファン、チロシン)などのファミリー内の残基の交換が関与するならば、保存的である。ある実施態様において、次の群内の保存的アミノ酸置換は、保存的置換と考えられる: グリシン、アラニン; バリン、イソロイシン、ロイシン; アスパラギン酸、グルタミン酸; アスパラギン、グルタミン; セリン、スレオニン; リシン、アルギニン; およびフェニルアラニン、チロシン。

【0105】

ある実施態様において、バリエーションは、小数の成分が改変されている、例えば、ある成分が存在するかまたは不在であるまたはある成分の濃度が違う以外同一である、組成物(例えば、緩衝液)をいい得る。

【0106】

野生型: ここで使用する用語「野生型」または「WT」または「天然」は、「正常」(変異された、罹患した、改変されたなどと対照的に)状態または状況で、天然に見られる構造および/または活性を有する物体をいう、当分野で理解される意味を有する。野生型遺伝子およびポリペプチドは、しばしば複数の異なる形態(例えば、アレル)で存在することを、当業者は認識する。多くの実施態様において、ここで使用する「野生型」は、アレルバリエーションを含む、天然に見られるアミノ酸配列を言い得る。野生型アミノ酸配列、ペプチドまたはタンパク質は、意図的に修飾されていないアミノ酸配列を有する。

【図面の簡単な説明】

【0107】

【図1】図1A~1Fは、本発明のある製剤の産生のための例示的ワークフローをいう。例示的第一緩衝液系において、有機溶媒(例えば、エタノール)に懸濁された粒子形成脂質および水性緩衝液(例えば、クエン酸緩衝液)に懸濁された核酸(例えば、mRNA)を、一定期間(A)核酸含有脂質粒子(例えば、LNP)が形成されるまで、攪拌する(B)。ある実施態様において、このような核酸含有脂質粒子を濃縮および/または保護剤(例えば、スクロース、トレハロースなど)を含む第二緩衝液系に移動し得る(C)。ある実施態様において、次いで、脂質粒を貯蔵するかまたは使用のために希釈もしくは乾燥するか(例えば、凍結乾燥または他の乾燥方法により)(D)または凍結するか(E)または乾燥後凍結(F)し得る。ある実施態様において、乾燥および/または凍結後、脂質粒子を貯蔵および/または使用のために解凍および/または希釈し得る。

【0108】

【図 2】図 2 A ~ 2 B は、本発明のある例示的製剤 (A) および本発明の製剤のために設計されたある例示的サイクル (B) を示す。

【0109】

【図 3】図 3 A ~ 3 B は、例示的スクロースおよびトレハロース製剤の種々の時点および温度での例示的コロイド安定性データを示す。

【0110】

【図 4】図 4 A ~ 4 B は、例示的スクロースおよびトレハロース製剤の種々の時点および温度での例示的 % 封入データを示す。

【0111】

【図 5】図 5 は、例示的スクロースおよびトレハロース製剤の水含量の例示的グラフを示す。 10

【0112】

【図 6】図 6 A ~ 6 C は、例示的スクロースおよびトレハロース製剤の種々の時点および温度の例示的 % 発現データを示す。

【0113】

【図 7】図 7 A ~ 7 D は、例示的本発明の製剤を特徴づける例示的データを示す。

【0114】

【図 8】図 8 A ~ 8 B は、例示的スクロースおよびトレハロース製剤の種々の時点および温度での例示的コロイド安定性データを示す。

【発明を実施するための形態】 20

【0115】

ある実施態様の詳細な記載

本発明は、とりわけ、核酸 / 脂質ナノ粒子 (LNP) 組成物および特に治療 RNA / LNP 組成物などの RNA / LNP 組成物に関するテクノロジーを提供する。

【0116】

当業者は、核酸 / LNP 製剤および特に RNA / LNP 製剤についてしばしば遭遇する一つの障害が、長期安定性を維持するために低温貯蔵が必要であることを認識する。種々の報告は、-90 °C もの低温の必要性を記載し；その他は、-80 °C、-70 °C または -60 °C より低い温度の必要性を記載した。-20 °C 程度の高い温度は、しばしば短期間 (例えば、1 日、2 日、3 日、4 日 ~ 数日) しか耐えられない。凍結より高い温度 (例えば、約 0 °C を超える) および / または冷蔵により達成される温度 (例えば、約 1 °C ~ 約 8 °C または約 2 °C ~ 約 8 °C または約 2 °C ~ 約 6 °C または約 2 °C ~ 約 4 °C の範囲) は、しばしば数時間乃至 1 ~ 2 日しか耐えられない。室温貯蔵および特に長期室温貯蔵 (例えば、少なくとも 1 ~ 2 日および望ましくは 1 カ月、2 カ月、3 カ月、4 カ月、5 カ月、6 カ月、7 カ月、8 カ月、9 カ月、10 カ月、11 カ月、12 カ月またはそれ以上を含む 1 週間、2 週間、3 週間、4 週間、5 週間、6 週間またはそれ以上) は目標のままである。 30

【0117】

ある実施態様において、本発明は、特定の成分 (例えば、保護剤および / または緩衝液成分) を含むおよび / または特定の方法に従い調製された、参照製剤と異なり、参照製剤に比して 1 以上の性質が修飾 (例えば、改善) された、核酸 / LNP 製剤および特に RNA / LNP 製剤を提供する。例えば、ある実施態様において、提供される製剤は、同じ脂質および核酸を含むが、保護剤および / または緩衝液および / またはある製造または処理工程が異なる参照製剤に比して、改善されている。 40

【0118】

ある実施態様において、提供されるテクノロジーは、乾燥製剤または乾燥に適している (例えば、安定な) 組成物の調製を達成する。

【0119】

ある実施態様において、提供される組成物は、同じ程度に乾燥した参照製剤、例えば、NaCl を、例えば、約 5 ~ 10 mg / ml の範囲内の濃度 (例えば、約 6 mg / ml) で含む緩衝液を使用して産生された以外同一の製剤が必要であるより短い凍結乾燥サイクルを使 50

用して、効率的に乾燥され得る。

【0120】

ある実施態様において、提供されるテクノロジーは、凍結製剤または凍結に適している(例えば、安定な)組成物の調製を達成する。

【0121】

ある実施態様において、提供されるテクノロジーは、低温閾値を超える温度で少なくとも特定の期間貯蔵に安定である、組成物の調製を達成する。ある実施態様において、特定の期間は、約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月、7カ月、8カ月、9カ月、10カ月、11カ月、12カ月またはそれ以上を含む少なくとも約1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間またはそれ以上であり得る。ある実施態様において、低温閾値は、約-80、-70、-50、-30、-20、0、2、4、8、15°、20、30、40またはそれ以上であり得る。

10

【0122】

ある実施態様において、提供されるテクノロジーは、例えば、ここに記載する脂質に封入されたペイロードを含むLNPの投与により、対象に核酸ペイロードを送達するのに適する；ある実施態様において、脂質は、カチオン性脂質、中性脂質、ポリマーコンジュゲート脂質およびステロイドを含む。ある実施態様において、本発明で使用するためのLNPは((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)、2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)、ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)およびコレステロールから形成され、それぞれ約8:1:1.5:3~約9:1:2:3.5の範囲内の相対的質量比で組み合わせられる。

20

【0123】

ある実施態様において、核酸ペイロードはRNAおよび/またはDNAであるかまたはそれを含む；ある実施態様において、核酸ペイロードポリペプチド産物(例えば、対象で必要であるまたは所望の活性を、例えば、補うまたは置き換える、機能的ポリペプチドまたは対象における所望の免疫応答または活性を、例えば、誘導または増強し得る、免疫調節性ポリペプチド)をコードし得る。

【0124】

ある実施態様において、提供される組成物は、LNP(すなわち、核酸/LNP)、保護剤および緩衝液を含む。ある実施態様において、緩衝液はナトリウムイオンを含まない。ある実施態様において、緩衝液は塩を含まない。ある実施態様において、緩衝液は、ここに記載するHEPES緩衝液、Tris緩衝液またはHis緩衝液である。ある実施態様において、緩衝液は、NaClを使用せずに製造したリン酸緩衝化食塩水バリエーションである。ある実施態様において、緩衝液は、NaCl、KCl、Na₂HPO₄およびKH₂PO₄を含む参照PBSと比較してナトリウムイオンレベルが低いPBSバリエーションである；ある実施態様において、このような参照PBSは、137mM NaCl(すなわち、8g/L NaCl)、2.7mM KCl(すなわち、0.2g/L KCl)、10mM Na₂HPO₄(すなわち、1.44g/L Na₂HPO₄)および1.8mM KH₂PO₄(すなわち、0.24g/L KH₂PO₄)を含む(またはからなる)「標準的」PBSである。ある実施態様において、本発明で利用する緩衝液は、このような参照標準的PBSで見られるより低いレベルのナトリウムイオンを有する、PBSバリエーションである。

30

40

【0125】

ある実施態様において、本発明で利用する保護剤は二糖を含む。ある実施態様において、本発明で利用する保護剤は、スクロースおよび/またはトレハロースであるかまたはそれを含む。

【0126】

ある実施態様において、保護剤は、マンニトールであるかまたはそれを含む。ある実施態様において、保護剤はマンニトールを実質的に含まない。

50

【0127】

ある実施態様において、本発明は、LNP製剤(すなわち、核酸/LNP製剤および特にRNA/LNP製剤)が製造、次いで貯蔵、凍結および/または乾燥されるテクノロジーを提供する。ある実施態様において、凍結組成物が貯蔵される。ある実施態様において、乾燥組成物が貯蔵される。

【0128】

ある実施態様において、乾燥組成物は再懸濁され、次いで対象に投与される。ある実施態様において、凍結組成物は解凍され、次いで対象に投与される。ある実施態様において、組成物を、1回以上の凍結および解凍、1回以上の乾燥および再懸濁および/または1回以上の凍結および解凍およびまた1回以上の乾燥および再懸濁に付し得る。

10

【0129】

ある実施態様において、組成物は投与前に希釈される。

【0130】

核酸ペイロード

本発明は、とりわけ、核酸ペイロードを含むLNP組成物(すなわち、核酸-LNP組成物)を提供する。

【0131】

ある実施態様において、核酸ペイロードは、例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド(例えば、RNAseH分解および/またはエクソスキッピングを促進し得るものなど)、リボザイム、gRNA、miRNAおよびshRNA、siRNAなどの、機能的核酸を含むかまたはコード化し得る。

20

【0132】

ある実施態様において、核酸ペイロードは1以上のポリペプチドをコードし得る(例えば、さらに下に記載するとおり)。

【0133】

ある実施態様において、本発明で利用する核酸ペイロードは、1以上の天然核酸残基または全体に天然核酸残基であるかまたはそれを含む。ある実施態様において、核酸は1以上の非天然核酸残基(すなわち、1以上の核酸アナログ)であるか、それを含むかまたはそれからなるかまたは全体に非天然核酸残基である。

【0134】

ある実施態様において、本発明で利用する核酸ペイロードは、1以上のホスホジエステル結合ではないヌクレオチド間結合を含む。例えば、ある実施態様において、核酸は、ホスホジエステル結合ではなく、1以上のホスホロチオエートおよび/または5'-N-ホスホロアミダイト結合を有する。ある実施態様において、核酸は、いくつかのホスホジエステル結合およびいくつかの非ホスホジエステル結合を含む。

30

【0135】

ある実施態様において、核酸は、1以上の天然ヌクレオシド(例えば、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、ウリジン、デオキシアデノシン、デオキシチミジン、デオキシグアノシンおよびデオキシシチジン)であるかまたはそれを含む。ある実施態様において、核酸は、1以上のヌクレオシドアナログ(例えば、2-アミノアデノシン、2-チオチミジン、イノシン、ピロロ-ピリミジン、3-メチルアデノシン、5-メチルシチジン、C5-プロピニル-シチジン、C5-プロピニル-ウリジン、2-アミノアデノシン、C5-プロモウリジン、C5-フルオロウリジン、C5-ヨードウリジン、C5-プロピニル-ウリジン、C5-プロピニル-シチジン、C5-メチルシチジン、2-アミノアデノシン、7-デアザアデノシン、7-デアザグアノシン、8-オキソアデノシン、8-オキソグアノシン、O(6)-メチルグアニン、2-チオシチジン、メチル化塩基、介在塩基およびそれらの組み合わせ)であるか、それを含むかまたはそれからなる。

40

【0136】

ある実施態様において、核酸は、天然核酸と比較して、1以上の修飾糖(例えば、2'-フルオロリボース、リボース、2'-デオキシリボース、アラビノースおよびヘキソース)

50

を含む。

【0137】

ある実施態様において、核酸は1以上のペプチド核酸であるかまたはそれを含む。

【0138】

本発明のある実施態様において、核酸は、1以上の望ましい特徴、例えば、増強された安定性、効力などをもたらす、ここに記載する修飾で修飾される。

【0139】

RNAペイロード

ある実施態様において、本発明で使用するための核酸ペイロードは、RNA(例えば、mRNA)である。ある実施態様において、RNAはテンプレート化された合成により産生される。ある実施態様において、RNAは、酵素合成により、例えば、インビトロ転写により(例えば、DN鋳型から)、産生される。ある実施態様において、RNAは化学合成により産生される。

【0140】

ある実施態様において、RNAは「レプリコンRNA」または単に「レプリコン」、特に「自己複製RNA」または「自己増幅RNA」である。ある実施態様において、レプリコンまたは自己複製RNAは、ssRNAウイルス、特にアルファウイルスなどのプラス鎖ssRNAウイルスに由来するか、それ由来の要素を含む。アルファウイルスはプラス鎖RNAウイルスの典型的代表例である。アルファウイルスは、感染細胞の細胞質で複製する(アルファウイルスライフサイクルのレビューのために、Jose et al., *Future Microbiol.*, 2009, vol. 4, pp. 837-856参照)。多くのアルファウイルスの総ゲノム長は典型的に11,000~12,000ヌクレオチドの範囲であり、ゲノムRNAは、典型的に5'キャップおよび3'ポリ(A)テイルを有する。アルファウイルスのゲノムは、非構造的タンパク質(ウイルスRNAの転写、修飾および複製ならびにタンパク質修飾に関与)および構造的タンパク質(ウイルス粒子形成)をコードする。ゲノムには典型的に2個のオープンリーディングフレーム(ORF)がある。4個の非構造的タンパク質(nsP1-nsP4)は、典型的に一体となってゲノムの5'末端付近から始まる第一ORFによりコードされ、一方アルファウイルス構造的タンパク質は、一体となって、第一ORFの下流に見られ、ゲノムの3'末端近辺に伸びる第二ORFによりコードされる。典型的に、第一ORFは第二ORFより大きく、比はおおよそ2:1である。アルファウイルスにより感染された細胞において、非構造的タンパク質をコードする核酸配列のみがゲノムRNAから翻訳され、一方構造的タンパク質をコードする遺伝情報は、真核生物メッセンジャーRNA(mRNA)を模倣するRNA分子であるサブゲノム転写物から翻訳可能である(Gould et al., 2010, *Antiviral Res.*, vol. 87 pp. 111-124)。感染後、すなわちウイルスライフサイクルの初期段階に、(+)鎖ゲノムRNAは、非構造的ポリ-タンパク質(nsP1234)をコードするオープンリーディングフレームの翻訳のために、メッセンジャーRNAのように直接作用する。アルファウイルス由来ベクターは、標的細胞または標的生物への外来遺伝情報の送達について提案されている。単純なアプローチで、アルファウイルス構造的タンパク質をコードするオープンリーディングフレームは、目的のタンパク質をコードするオープンリーディングフレームに置換される。アルファウイルスベースのトランス複製系は、一方はウイルスレプリカーゼをコードし、他方の核酸分子は、該レプリカーゼによりトランスで複製され得る、2個の別々の核酸分子上のアルファウイルスヌクレオチド配列要素に依存する(故に命名トランス複製系)。トランス複製は、ある宿主細胞におけるこれら核酸分子の両者の存在を必要とする。レプリカーゼによりトランスで複製され得る核酸分子は、アルファウイルスレプリカーゼによる認識およびRNA合成を可能とするあるアルファウイルス配列要素を含まなければならない。

【0141】

ある実施態様において、本発明で使用するためのRNAは、1以上の修飾ヌクレオシドを含み得る。ある実施態様において、本発明は、少なくとも1個のウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含むRNAを提供する。ある実施態様において、修飾ヌクレオシドは、

RNAにおける全ウリジンの代わりである。ある実施態様において、少なくとも1個のウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、シュードウリジン()、N1-メチル-シュードウリジン(m1)および5-メチル-ウリジン(m5U)またはそれらの組み合わせを含むが、これらに限定されない。ある実施態様において、RNAの少なくとも1個、例えば、全ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、次の1以上のいずれでもよい：3-メチル-ウリジン(m³U)、5-メトキシ-ウリジン(m^o5U)、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(s²U)、4-チオ-ウリジン(s⁴U)、4-チオ-シュードウリジン、2-チオ-シュードウリジン、5-ヒドロキシ-ウリジン(h^o5U)、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romo-ウリジン)、ウリジン5-オキシ酢酸(c^mo⁵U)、ウリジン5-オキシ酢酸メチルエステル(m^cm^o5U)、5-カルボキシメチル-ウリジン(c^m5U)、1-カルボキシメチル-シュードウリジン、5-カルボキシヒドロキシメチル-ウリジン(c^hm⁵U)、5-カルボキシヒドロキシメチル-ウリジンメチルエステル(m^ch^m5U)、5-メトキシカルボニルメチル-ウリジン(m^cm⁵U)、5-メトキシカルボニルメチル-2-チオ-ウリジン(m^cm⁵s²U)、5-アミノメチル-2-チオ-ウリジン(n^m5s²U)、5-メチルアミノメチル-ウリジン(mⁿm⁵U)、1-エチル-シュードウリジン、5-メチルアミノメチル-2-チオ-ウリジン(mⁿm⁵s²U)、5-メチルアミノメチル-2-セレノ-ウリジン(mⁿm⁵s^e2U)、5-カルバモイルメチル-ウリジン(nc^m5U)、5-カルボキシメチルアミノメチル-ウリジン(cmⁿm⁵U)、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオ-ウリジン(cmⁿm⁵s²U)、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(m⁵U)、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(m⁵s²U)、1-タウリノメチル-4-チオ-シュードウリジン)、5-メチル-2-チオ-ウリジン(m⁵s²U)、1-メチル-4-チオ-シュードウリジン(m¹s⁴)、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(m³)、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、1-メチル-1-deアザ-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-1-de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(m⁵D)、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(a^cp³U)、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(a^cp³)、5-(イソペンテニルアミノメチル)ウリジン(iⁿm⁵U)、5-(イソペンテニルアミノメチル)-2-チオ-ウリジン(iⁿm⁵s²U)、 -チオ-ウリジン、2'-O-メチル-ウリジン(U^m)、5,2'-O-ジメチル-ウリジン(⁵mU^m)、2'-O-メチル-シュードウリジン(m)、2-チオ-2'-O-メチル-ウリジン(²sU^m)、5-メトキシカルボニルメチル-2'-O-メチル-ウリジン(m^cm⁵U^m)、5-カルバモイルメチル-2'-O-メチル-ウリジン(nc^m5U^m)、5-カルボキシメチルアミノメチル-2'-O-メチル-ウリジン(cmⁿm⁵U^m)、3,2'-O-ジメチル-ウリジン(m³U^m)、5-(イソペンテニルアミノメチル)-2'-O-メチル-ウリジン(iⁿm⁵U^m)、1-チオ-ウリジン、デオキシチミジン、2'-F-ara-ウリジン、2'-F-ウリジン、2'-OH-ara-ウリジン、5-(2-carboメトキシビニル)ウリジン、5-[3-(1-E-プロペニルアミノ)ウリジンまたは当分野で知られるあらゆるその他修飾ウリジン。

【0142】

ある実施態様において、本発明で使用するためのRNAは、5'キャップを含む。ある実施態様において、本発明のRNAは、キャップのない5'-三リン酸を有しない。ある実施態様において、RNA5'キャップアナログにより修飾され得る。用語「5'キャップ」は、mRNA分子の5'末端に見られる構造をいい、一般に5'-5'-三リン酸結合 50

を介して mRNA に結合したグアノシヌクレオチドからなる。ある実施態様において、このようなグアノシンは 7 位でメチル化される。RNA に 5' キャップまたは 5' キャップアナログを付することは 5' キャップまたは 5' キャップアナログが RNA 鎖で共転写的に発現されるインビトロ転写により達成できまたはキャッピング酵素を使用して、転写後 RNA に結合できる。ある実施態様において、RNA の 5' キャップは、 $m_2^{7,3'}\text{-}^{\text{O}}\text{Gppp}(m_1^{2'}\text{-}^{\text{O}}\text{ApG}(m_2^{7,3'}\text{-}^{\text{O}}\text{G}(5'))\text{ppp}(5'))^{\text{m}'}\text{-}^{\text{O}}\text{ApG}$ と称することもある)である。ある実施態様において、本発明の RNA の 5' キャップは、アナログアンチリバースキャップ (ARCA キャップ ($m_2^{7,3'}\text{-}^{\text{O}}\text{G}(5')\text{ppp}(5')\text{G}$)) である。ある実施態様において、5' キャップはベータ-S-ARCA ($m_2^{7,2'}\text{-}^{\text{O}}\text{G}(5')\text{ppSp}(5')\text{G}$) である。ある実施態様において、5' キャップはベータ-S-ARCA(D1) ($m_2^{7,2'}\text{-}^{\text{O}}\text{GppSpG}$) または $m_2^{7,3'}\text{-}^{\text{O}}\text{Gppp}(m_1^{2'}\text{-}^{\text{O}}\text{ApG}$) である。

【0143】

ある実施態様において、本発明で使用するための RNA は 5' - UTR および / または 3' - UTR を含む。用語「非翻訳領域」または「UTR」は、転写されるが、アミノ酸配列に翻訳されない DNA 分子における領域または mRNA 分子などの RNA 分子における対応する領域に関し得る。UTR は、オープンリーディングフレームの 5' (上流) (5' - UTR) および / またはオープンリーディングフレームの 3' (下流) (3' - UTR) に存在し得る。5' - UTR は、存在するならば、5' 末端、タンパク質コード化領域の開始コドンの上流に位置する。5' - UTR は、5' キャップ (存在するならば) の下流であり、例えば 5' キャップに直接隣接する。3' - UTR は、存在するならば、3' 末端、タンパク質コード化領域の停止コドンの下流に位置するが、用語「3' - UTR」は、好ましくはポリ(A)配列を含まない。故に、3' - UTR は、ポリ(A)配列 (存在するならば) の上流、例えばポリ(A)配列に直接隣接する。

【0144】

ここで使用する用語「ポリ(A)配列」または「ポリ-Aテイル」は、典型的に RNA 分子の 3' 末端に位置する、アデニル酸残基の中断されていないまたは中断された配列をいう。ポリ(A)配列は当業者に知られ、ここに記載する RNA の 3' - UTR に続き得る。中断されていないポリ(A)配列は、連続的アデニル酸残基により特徴づけられる。本来、中断されていないポリ(A)配列が典型的である。ここに開示する RNA は、転写後鋳型非依存 RNA ポリメラーゼにより RNA の遊離 3' 末端に結合されたポリ(A)配列または DNA によりコードされ、鋳型依存性 RNA ポリメラーゼにより転写されるポリ(A)配列を有し得る。約 120 Aヌクレオチドのポリ(A)配列がトランスフェクト真核生物細胞の RNA のレベルおよびポリ(A)配列の上流 (5') に存在するオープンリーディングフレームから翻訳されるタンパク質のレベルに有益な影響を有することが示されている (Holtkamp et al., 2006, Blood, vol. 108, pp. 4009-4017)。

【0145】

異なる実施態様において、ポリ(A)配列は長さが異なってよい。ある実施態様において、ポリ(A)配列は、少なくとも 20、少なくとも 30、少なくとも 40、少なくとも 80 または少なくとも 100 Aヌクレオチドを含むか、本質的にそれからなるかまたはそれからなる。ある実施態様において、ポリ(A)配列は、最大 500、最大 400、最大 300、最大 200 または最大 150 Aヌクレオチドを含むか、本質的にそれからなるかまたはそれからなる。ある実施態様において、ポリ(A)配列は、約 120 Aヌクレオチドを含む。この文脈で、「本質的にからなる」は、ポリ(A)配列の大部分のヌクレオチド、典型的にポリ(A)配列のヌクレオチド数の少なくとも 75%、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 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99% が Aヌクレオチドであるが、残りのヌクレオチドが Uヌクレオチド (ウリジル酸)、Gヌクレオチド (グアニル酸) または Cヌクレオチド (シチジル酸) などの Aヌクレオチド以外のヌクレオチドであることを許容する。この文脈で、「からなる」は、ポリ(A)配列における全ヌクレオチド、すなわち、ポリ(A)配列のヌクレオチド数の 100% が Aヌクレオチドであることを意味する。用語「Aヌクレオ

チド」または「A」はアデニル酸をいう。

【0146】

ある実施態様において、ポリ(A)配列は、コード鎖に相補性の鎖における反復dTヌクレオチド(デオキシチミジル酸)を含むDNAテンプレートに基づき、RNA転写中、例えば、インビトロ転写RNAの調製中に結合される。ポリ(A)配列をコードするDNA配列(コード鎖)はポリ(A)カセットと称する。ある実施態様において、DNAのコード鎖に存在するポリ(A)カセットは、本質的にdAヌクレオチドからなるが、4ヌクレオチド(dA、dC、dGおよびdT)のランダム配列により中断される。このようなランダム配列は、5~50、10~30または10~20ヌクレオチド長であり得る。このようなカセットは、本明細書に引用により包含させるWO2016/005324A1に開示される。WO2016/005324A1に開示されるあらゆるポリ(A)カセットを本発明で使用し得る。本質的にdAヌクレオチドからなるが、4ヌクレオチド(dA、dC、dG、dT)が等しく分布するランダム配列により中断され、例えば、5~50ヌクレオチド長を有するポリ(A)カセットは、DNAレベルで、大腸菌におけるプラスミドDNAの一定増殖を示し、なお、RNAレベルで、RNA安定性の支持および翻訳効率が包含される点に関して、有益な性質と関連する。結果として、ある実施態様において、ここに記載するRNA分子に含まれるポリ(A)配列は、本質的にAヌクレオチドからなるが、4ヌクレオチド(A、C、G、U)のランダム配列で中断される。このようなランダム配列は、5~50、10~30または10~20ヌクレオチド長であり得る。

10

【0147】

ある実施態様において、Aヌクレオチド以外のヌクレオチドが3'末端でポリ(A)配列と隣接せず、すなわち、ポリ(A)配列はマスクさせずまたはその3'末端でA以外のヌクレオチドが続かない。

20

【0148】

ある実施態様において、ポリ(A)配列は、少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも80または少なくとも100および最大500、最大400、最大300、最大200または最大150ヌクレオチドを含み得る。ある実施態様において、ポリ(A)配列は本質的に少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも80または少なくとも100および最大500、最大400、最大300、最大200または最大150ヌクレオチドからなり得る。ある実施態様において、ポリ(A)配列は少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも80または少なくとも100および最大500、最大400、最大300、最大200または最大150ヌクレオチドからなり得る。ある実施態様において、ポリ(A)配列は少なくとも100ヌクレオチドを含む。ある実施態様において、ポリ(A)配列は約150ヌクレオチドを含む。ある実施態様において、ポリ(A)配列は約120ヌクレオチドを含む。

30

【0149】

ある実施態様において、本発明で使用するための核酸がコドン最適化されているおよび/またはグアノシン/シトシン(G/C)含量が野生型コード配列と比較して増加する。コード配列の1以上の配列領域がコドン最適化されているおよび/または野生型コード配列の対応する配列領域と比較してG/C含量が増加した実施態様も含む。ある実施態様において、コドン最適化および/またはG/C含量の増加は、コードされるアミノ酸配列の配列を変化させない。

40

【0150】

G/C含量

本発明のある実施態様において、ここに記載するコード領域(例えば、RNA)のG/C含量は、対応するWTコード配列のG/C含量と比較して増加し、ここで、コードされるアミノ酸配列は、そのような対応するWT配列と比較して修飾されない。ある実施態様において、G/C含量の増加は、そのようにG/C含量が増加したRNAの翻訳効率を増加させ得る。G/C含量が増加した配列は、アデノシン/ウラシル(A/U)含量が増加した配列より安定であると報告されていることを当業者は認識する。

50

【0151】

数コドンが全く同一のアミノ酸をコードするとの事実に関して(いわゆる遺伝コードの縮絨)、安定性のために最も好都合なコドンが決定され得る(いわゆる代替コドン使用頻度)。RNAによりコードされるべき所望のアミノ酸に依存して、野生型配列と比較して、該RNA配列の修飾に種々の可能性がある。特に、Aおよび/またはUヌクレオチドを含むコドンを、同じアミノ酸をコードするが、Aおよび/またはUを含まないまたはAおよび/またはUヌクレオチド含量が低い他のコドンにこれらのコドンを置換することにより、修飾し得る。

【0152】

種々の実施態様において、本発明により利用するRNAのコード領域のG/C含量は、野生型RNAのコード領域のG/C含量と比較して、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%またはそれ以上増加される。

10

【0153】

コードされるポリペプチド

ここに記載するとおり、ある実施態様において、核酸ペイロード(例えば、RNA)はポリペプチドをコードする。

【0154】

ある実施態様において、コードされるポリペプチドは、抗体剤またはポリペプチド鎖または機能的そのフラグメントであるかまたはそれを含む。ある実施態様において、抗体剤は、scFc、ラクダ類抗体などなどの一本鎖抗体剤であるかまたはそれを含む。

20

【0155】

ある実施態様において、コードされるポリペプチドは、サイトカイン、増殖因子、アポトーシス因子、分化誘導因子、細胞-表面受容体、リガンド、ホルモンなどであるか、またはそれを含む。

【0156】

ある実施態様において、コードされるポリペプチドは酵素である。

【0157】

ある実施態様において、コードされるポリペプチドは、転写因子、シャペロンなどの制御ポリペプチドである。

30

【0158】

ある実施態様において、コードされるポリペプチドは、その発言が対象で低減または欠失している活性に置き換わるまたは活性化するポリペプチドであるかまたはそれを含む。

【0159】

ある実施態様において、コードされるポリペプチドは、対象における免疫応答を誘導および/または増強するポリペプチドであるかまたはそれを含む。ある実施態様において、コードされるポリペプチドは、少なくとも1個のエピトープ *that is* 特異的に結合 *by an* 免疫グロブリン *agent* (例えば、抗体および/またはT細胞受容体など)であるかまたはそれを含む。

【0160】

ある実施態様において、コードされるポリペプチドは、抗原(またはそのエピトープ)であるかまたはそれを含む。ある実施態様において、抗原は、特定の疾患、障害または状態に特徴的であり得る。例えば、抗原は、腫瘍抗原(例えば、ネオ抗原)および/または感染因子(例えば、ウイルスまたは細菌または真菌などの微生物)と関連する抗原であるかまたはそれを含むことができる。ある実施態様において、感染因子と関連する抗原は、そのような感染因子の表面に示されるおよび/またはそのような因子による感染に介在し得る(例えば、レシピエント細胞の受容体との相互作用に参加することにより)抗原であり得る。

40

【0161】

ある実施態様において、抗原は、ウイルス抗原、例えば、アデノウイルス、サイトメガ

50

ロウイルス、ヘルペスウイルス、ヒトパピローマウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、コロナウイルス、呼吸器多核体ウイルス、インフルエンザウイルスおよびムンプスウイルスからなる群から選択されるウイルスと関連する抗原であるかまたはそれを含むことができる。ある実施態様において、抗原は、ボルティモア分類システムに基づき、第I群、第II群、第III群、第IV群、第V群、第VI群または第VII群ウイルスから選択されるウイルスと関連するウイルス抗原であるかまたはそれを含んでよい。ある実施態様において、抗原は、ウイルスファミリーアデノウイルス科、パポウイルス科、パルボウイルス科、ヘルペスウイルス科、ポックスウイルス科、アネロウイルス科、プレオリポウイルス科、レオウイルス科、ピコルナウイルス科、カリシウイルス科、トガウイルス科、アレナウイルス科、フラビウイルス科、オルトミクソウイルス科、パラミクソウイルス科、ブニヤウイルス科、ラプトウイルス科、フィロウイルス科、コロナウイルス科、アストロウイルス科、ボルナウイルス科、アルテリウイルス科およびヘベウイルス科から選択されるウイルスと関連するウイルス抗原であるかまたはそれを含むことができる。ある特定の実施態様において、ウイルス抗原はコロナウイルス抗原であり得る。

10

【0162】

ある特定の実施態様において、ウイルス抗原は、SARS-CoV-2タンパク質配列由来の抗原であり得る(例えば、そのような配列、そのフラグメントまたはいずれかのバリエーションであるかまたはそれを含んでよい)。ある実施態様において、本発明は、SARS-CoV-2タンパク質配列由来の抗原配列を有するポリペプチドを提供する。ある実施態様において、ポリペプチドは、SARS-CoV-2タンパク質配列の受容体結合ドメイン(RBD)由来の抗原配列であるかまたはそれを含む。

20

【0163】

ある実施態様において、ここに記載するペイロードは、LNPの脂質部分と関連するまたは封入される。ある実施態様において、ここに記載するペイロードはLNPの脂質部分と関連する。ある実施態様において、ここに記載するペイロードはLNPの脂質部分に封入される。ある実施態様において、そのような脂質部分との関連(例えば、封入)は、例えば、一定期間にわたりおよび/または特定の条件下、ペイロード分解(例えば、酵素分解)の感受性を低減する。

【0164】

ある実施態様によると、シグナルペプチドは、抗原ペプチドまたはタンパク質に、直接またはリンカーを介して融合される。ある実施態様において、本発明で使用するためのシグナルペプチドは、典型的に約15~約30アミノ酸長を示し、抗原ペプチドまたはタンパク質のN末端に位置する配列であるが、これらに限定されない。ある実施態様において、ここに定義するシグナルペプチドは、RNAによりコードされる抗原ペプチドまたはタンパク質を、規定した細胞区画、例えば、細胞表面、小胞体(ER)またはエンドソーム-リソソーム区画に輸送することを可能とする。

30

【0165】

本発明のある実施態様により利用され得るシグナルペプチド配列は、例えば、免疫グロブリンのシグナルペプチド配列、例えば、免疫グロブリン重鎖可変領域のシグナルペプチド配列であるかまたはそれを含んでよく、ここで、免疫グロブリンはヒト免疫グロブリンであり得る。

40

【0166】

本発明で使用するためのシグナルペプチドは、コードされた抗原ペプチドまたはタンパク質の分泌を促進するために使用される。ある実施態様において、ここに定義するシグナルペプチドは、ここに定義するコードされた抗原ペプチドまたはタンパク質に融合する。ある実施態様において、ここに記載するRNAは、抗原ペプチドまたはタンパク質およびシグナルペプチドをコードする少なくとも1個のコード領域を含み、ここで、該シグナルペプチドは、抗原ペプチドまたはタンパク質、例えば、ここに記載する抗原ペプチドまたはタンパク質のN末端に融合する。

【0167】

50

ある実施態様において、三量化ドメインは、抗原ペプチドまたはタンパク質に、直接またはリンカー、例えば、グリシン/セリンリンカーを介して、融合される。ある実施態様において、三量化ドメインは、抗原ペプチドまたはタンパク質に、直接またはリンカー、例えば、グリシン/セリンリンカーを介して、融合され、それはまたここに記載するシグナルペプチドにも融合する。

【0168】

ある実施態様において、このような三量化ドメインは、抗原ペプチドまたはタンパク質に位置するが、それに限定されない。ここに定義する三量化ドメインは、RNAによりコードされる抗原ペプチドまたはタンパク質の三量化を可能にする。ここに定義する三量化ドメインの例は、T4フィブリチンの天然三量化ドメインであるフォルドンを含むが、それらに限定されない。T4フィブリチン(フォルドン)のC末端ドメインはフィブリチン三量体構造およびの形成に必須であり、人工三量化ドメインとして使用され得る。

10

【0169】

ある実施態様において、膜貫通ドメインは、抗原ペプチドまたはタンパク質に、直接またはリンカー、例えば、グリシン/セリンリンカーを介して、融合される。従って、ある実施態様において、膜貫通ドメインは、抗原ペプチドまたはタンパク質に、直接またはリンカー、例えば、グリシン/セリンリンカーを介して、融合され、それはまたここに定義するシグナルペプチドおよび/または三量化ドメインに融合される。

【0170】

多くの実施態様において、本発明で利用する膜貫通ドメインは、抗原ペプチドまたはタンパク質のC末端に位置するが、これに限定されない。ある実施態様において、このような膜貫通ドメインは、存在するならば、三量化ドメインのC末端に位置するが、これに限定されない。ある実施態様において、三量化ドメインは、SARS-CoV-2 Sタンパク質、そのバリエーションまたはそのフラグメント、すなわち、抗原ペプチドまたはタンパク質と膜貫通ドメインの間に存在する。

20

【0171】

ある実施態様において、本発明で利用する膜貫通ドメインは、RNAによりコードされる抗原ペプチドまたはタンパク質の細胞膜への固定を可能とし得る

【0172】

コロナウイルス

コロナウイルスは、エンベロープ、ポジティブセンス、一本鎖RNA((+) ssRNA)ウイルスである。既知RNAウイルスの中で最大ゲノム(26~32 kb)を有し、系統発生的に4属(、、および)に分けられ、ベータコロナウイルスがさらに4分化系列(A、B、CおよびD)に細分化される。コロナウイルスは、ヒトを含む広範なトリおよび哺乳動物種に関連する。一部ヒトコロナウイルスは、一般に軽度呼吸器疾患を引き起こすが、乳幼児、高齢者および免疫低下者では重症度が大きくなり得る。それぞれベータコロナウイルス分化系列CおよびBに属する中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)および重症急性呼吸器症候群コロナウイルス(SARS-CoV)は、高度病原性である。両ウイルスとも、最近15年以内に病原体保有動物からヒト集団に出現し、高い症例致死率の大流行を引き起こした。非定型肺炎(コロナウイルス疾患2019; COVID-19)を引き起こす重症急性呼吸器症候群コロナウイルス-2(SARS-CoV-2)の大流行が、2019年12月半ばから中国で始まり、国際的に懸念される公衆衛生緊急事態に発展している。SARS-CoV-2(MN908947.3)はベータコロナウイルス系統Bに属する。SARS-CoVと少なくとも70%配列類似性を有する。

30

40

【0173】

一般に、コロナウイルスは、4個の構造的タンパク質、すなわち、エンベロープ(E)、膜(M)、ヌクレオカプシド(N)およびスパイク(S)を有する。EおよびMタンパク質はウイルス集合に重要な機能を有し、Nタンパク質はウイルスRNA合成に必要である。重要な糖タンパク質Sはウイルス結合および標的細胞への侵入を担う。Sタンパク質は、一本鎖不活性前駆体として合成され、産生細胞でフーリン様宿主プロテアーゼにより2個の非

50

共有結合で会合されたサブユニット、S 1 および S 2 に開裂される。S 1 サブユニットは、宿主 - 細胞受容体を認識する受容体結合ドメイン(RBD)を含む。S 2 サブユニットは、融合ペプチド、2 個の7アミノ酸反復および膜貫通ドメインを含み、その全て大型立体構造再構成を受けることによりウイルスおよび宿主 - 細胞膜の融合の介在に必要である。S 1 および S 2 サブユニットは三量化して大型融合前スパイクを形成する。

【0174】

SARS - CoV - 2 の S 前駆体タンパク質は、S 1 (685 aa) および S 2 (588 aa) サブユニットにタンパク質分解により開裂される。S 1 サブユニットは受容体結合ドメイン(RBD)からなり、それは、宿主アンジオテンシン - 変換酵素 2 (ACE 2) 受容体を介する感受性細胞へのウイルス侵入に介在する。

10

【0175】

SARS - CoV - 2 コロナウイルス完全長スパイク(S)タンパク質は1273アミノ酸からなる(配列番号1参照)。

【0176】

ある実施態様において、本発明は、対象におけるコロナウイルスSタンパク質、特にSARS - CoV - 2 Sタンパク質に対する免疫応答を誘導するために、少なくともエプITO P SARS - CoV - 2 Sタンパク質を含むペプチドまたはタンパク質をコードするRNAを利用する。ある実施態様において、本発明のRNAは、SARS - CoV - 2 Sタンパク質、SARS - CoV - 2 Sタンパク質の免疫原性フラグメントまたはその免疫原性バリエーションを含むアミノ酸配列をコードする。

20

【0177】

ある実施態様において、配列番号1の完全長スパイク(S)タンパク質は、プロトタイプ融合前立体構造が安定化されるように修飾される。融合前立体構造の安定化は、完全長スパイクタンパク質におけるAS残基986および987への2個の連続的プロリン置換の導入により得られ得る。特異的に、スパイク(S)タンパク質安定化タンパク質バリエーションは、986位のアミノ酸残基がプロリンに交換され、987位のアミノ酸残基もプロリンに交換されるような方法で得られる。ある実施態様において、SARS - CoV - 2 Sタンパク質バリエーションは、配列番号7に示すアミノ酸配列を含む。

【0178】

ある実施態様において、ここに記載するワクチン抗原は、SARS - CoV - 2 のスパイクタンパク質(S)、そのバリエーションまたはそのフラグメントを含むか、本質的にそれからなるかまたはそれからなる。

30

【0179】

ある実施態様において、ワクチン抗原をコードするRNAは、(i)配列番号2、8または9のヌクレオチド49 ~ 3819のヌクレオチド配列、配列番号2、8または9のヌクレオチド49 ~ 3819のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するヌクレオチド配列または配列番号2、8または9のヌクレオチド49 ~ 3819のヌクレオチド配列もしくは配列番号2、8または9のヌクレオチド49 ~ 3819のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するヌクレオチド配列のフラグメントを含む；および/または(ii)配列番号1または7のアミノ酸17 ~ 1273のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号1または7のアミノ酸17 ~ 1273のアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するアミノ酸配列または配列番号1または7のアミノ酸17 ~ 1273のアミノ酸配列またはもしくは配列番号1または7のアミノ酸17 ~ 1273のアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するアミノ酸配列の免疫原性フラグメントをコードする。ある実施態様において、ワクチン抗原をコードするRNAは、(i)配列番号2、8または9のヌクレオチド49 ~ 3819のヌクレオチド配列を含む；および/または(ii)配列番号1または7のアミノ酸17 ~ 1273のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列をコードする。

40

50

【0180】

ある実施態様において、ワクチン抗原は、SARS-CoV-2スパイクS1フラグメント(S1)(SARS-CoV-2のスパイクタンパク質(S)のS1サブユニット)、そのバリエーションまたはそのフラグメントを含むか、本質的にそれからなるかまたはそれからなる。

【0181】

ある実施態様において、ワクチン抗原をコードするRNAは、(i)配列番号2、8または9のヌクレオチド49~2049のヌクレオチド配列、配列番号2、8または9のヌクレオチド49~2049のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するヌクレオチド配列または配列番号2、8または9のヌクレオチド49~2049のヌクレオチド配列もしくは配列番号2、8または9のヌクレオチド49~2049のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するヌクレオチド配列のフラグメントを含む；および/または(ii)配列番号1のアミノ酸17~683のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号1のアミノ酸17~683のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するアミノ酸配列または配列番号1のアミノ酸17~683のアミノ酸配列もしくは配列番号1のアミノ酸17~683のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するアミノ酸配列の免疫原性フラグメントをコードする。ある実施態様において、ワクチン抗原をコードするRNAは、(i)配列番号2、8または9のヌクレオチド49~2049のヌクレオチド配列を含む；および/または(ii)配列番号1のアミノ酸17~683のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列をコードする。

【0182】

ある実施態様において、ワクチン抗原をコードするRNAは、(i)配列番号2、8または9のヌクレオチド49~2055のヌクレオチド配列、配列番号2、8または9のヌクレオチド49~2055のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するヌクレオチド配列または配列番号2、8または9のヌクレオチド49~2055のヌクレオチド配列もしくは配列番号2、8または9のヌクレオチド49~2055のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するヌクレオチド配列のフラグメントを含む；および/または(ii)配列番号1のアミノ酸17~685のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号1のアミノ酸17~685のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するアミノ酸配列または配列番号1のアミノ酸17~685のアミノ酸配列もしくは配列番号1のアミノ酸17~685のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%または80%同一性を有するアミノ酸配列の免疫原性フラグメントをコードする。ある実施態様において、ワクチン抗原をコードするRNAは、(i)配列番号2、8または9のヌクレオチド49~2055のヌクレオチド配列を含む；および/または(ii)配列番号1のアミノ酸17~685のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列をコードする。

【0183】

ある実施態様において、ワクチン抗原は、SARS-CoV-2のスパイクタンパク質(S)のS1サブユニットの受容体結合ドメイン(RBD)、そのバリエーションまたはそのフラグメントを含むか、本質的にそれからなるかまたはそれからなる。配列番号327のアミノ酸327~528のアミノ酸配列、そのバリエーションまたはそのフラグメントは、ここでは「RBD」または「RBDドメイン」とも称する。

【0184】

ある実施態様において、ワクチン抗原をコードするRNAは、(i)配列番号2、8または9のヌクレオチド979~1584のヌクレオチド配列、配列番号2、8または9のヌ

10

20

30

40

50

クレオチド 979 ~ 1584 のヌクレオチド配列と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85% または 80% 同一性を有するヌクレオチド配列または配列番号 2、8 または 9 のヌクレオチド 979 ~ 1584 のヌクレオチド配列もしくは配列番号 2、8 または 9 のヌクレオチド 979 ~ 1584 のヌクレオチド配列と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85% または 80% 同一性を有するヌクレオチド配列のフラグメントを含む；および/または(ii)配列番号 1 のアミノ酸 327 ~ 528 のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号 1 のアミノ酸 327 ~ 528 のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85% または 80% 同一性を有するアミノ酸配列または配列番号 1 のアミノ酸 327 ~ 528 のアミノ酸配列もしくは配列番号 1 のアミノ酸 327 ~ 528 のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85% または 80% 同一性を有するアミノ酸配列の免疫原性フラグメントをコードする。ある実施態様において、ワクチン抗原をコードする RNA は、(i)配列番号 2、8 または 9 のヌクレオチド 979 ~ 1584 のヌクレオチド配列を含む；および/または(ii)配列番号 1 のアミノ酸 327 ~ 528 のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列をコードする。

10

【0185】

ある実施態様によると、シグナルペプチドは、SARS-CoV-2 タンパク質、そのバリエーションまたはそのフラグメント、すなわち、抗原ペプチドまたはタンパク質に、直接またはリンカーを介して融合される。従って、ある実施態様において、シグナルペプチドは、ここに記載するワクチン抗原に含まれる SARS-CoV-2 タンパク質または免疫原性そのフラグメント(抗原ペプチドまたはタンパク質)由来の上記アミノ酸配列に融合される。

20

【0186】

ある実施態様において、本発明で使用するためのシグナルペプチドは、典型的に約 15 ~ 約 30 アミノ酸長であり、抗原ペプチドまたはタンパク質の N 末端に位置する配列であるが、それに限定されない。ある実施態様において、ここに定義するシグナルペプチドは、RNA によりコードされる抗原ペプチドまたはタンパク質の規定した細胞区画、例えば、細胞表面、小胞体(ER)またはエンドソーム-リソソーム区画への輸送を可能とする。ある実施態様において、ここに定義するシグナルペプチド配列は、SARS-CoV-2 タンパク質のシグナルペプチド配列、特に配列番号 1 のアミノ酸 1 ~ 16 または 1 ~ 19 のアミノ酸配列を含む配列または機能的そのバリエーションを含むが、それらに限定されない。

30

【0187】

本発明のある実施態様により利用され得るシグナルペプチド配列は、例えば、免疫グロブリンのシグナルペプチド配列、例えば、免疫グロブリン重鎖可変領域のシグナルペプチド配列であるかまたはそれを含んでよく、ここで、免疫グロブリンはヒト免疫グロブリンであり得る。

【0188】

本発明で使用するためのシグナルペプチドは、コードされた抗原ペプチドまたはタンパク質の分泌を促進するために使用される。ある実施態様において、ここに定義するシグナルペプチドは、ここに定義するコードされた抗原ペプチドまたはタンパク質に融合する。ある実施態様において、ここに記載する RNA は、抗原ペプチドまたはタンパク質およびシグナルペプチドをコードする少なくとも 1 個のコード領域を含み、ここで、該シグナルペプチドは、抗原ペプチドまたはタンパク質、例えば、ここに記載する抗原ペプチドまたはタンパク質の N 末端に融合される。

40

【0189】

ある実施態様において、三量化ドメインは、直接またはリンカー、例えば、グリシン/セリンリンカーを介して、SARS-CoV-2 タンパク質、そのバリエーションまたはそのフラグメント、すなわち、抗原ペプチドまたはタンパク質に融合される。従って、ある実施態様において、三量化ドメインは、上記ワクチン抗原に含まれる SARS-CoV-

50

2 S タンパク質または免疫原性そのフラグメント(抗原ペプチドまたはタンパク質)由来の上記アミノ酸配列(これは所望によりここに記載するシグナルペプチドに融合され得る)に融合される。

【0190】

ある実施態様において、このような三量化ドメインは、抗原ペプチドまたはタンパク質に位置するが、それに限定されない。ここに定義する三量化ドメインは、RNAによりコードされる抗原ペプチドまたはタンパク質の三量化を可能にする。ここに定義する三量化ドメインの例は、T4フィブリチンの天然三量化ドメインであるフォルドンを含むが、それらに限定されない。T4フィブリチン(フォルドン)のC末端ドメインはフィブリチン三量体構造およびの形成に必須であり、人工三量化ドメインとして使用され得る。

10

【0191】

ある実施態様において、膜貫通ドメインは、直接またはリンカー、例えば、グリシン/セリンリンカーを介して、SARS-CoV-2タンパク質、そのバリエーションまたはそのフラグメント、すなわち、抗原ペプチドまたはタンパク質に融合される。従って、ある実施態様において、膜貫通ドメインは、上記ワクチン抗原に含まれるSARS-CoV-2タンパク質または免疫原性そのフラグメント(抗原ペプチドまたはタンパク質)由来の上記アミノ酸配列(これは所望によりここに記載するシグナルペプチドおよび/または三量化ドメイン融合され得る)に融合される。

【0192】

多くの実施態様において、本発明で利用する膜貫通ドメインは、抗原ペプチドまたはタンパク質のC末端に位置するが、これに限定されない。ある実施態様において、このような膜貫通ドメインは、存在するならば、三量化ドメインのC末端に位置するが、これに限定されない。ある実施態様において、三量化ドメインは、SARS-CoV-2タンパク質、そのバリエーションまたはそのフラグメント、すなわち、抗原ペプチドまたはタンパク質と膜貫通ドメインの間に存在する。

20

【0193】

ある実施態様において、本発明で利用する膜貫通ドメインは、RNAによりコードされる抗原ペプチドまたはタンパク質の細胞膜への固定を可能とし得る

【0194】

ある実施態様において、ここに定義する膜貫通ドメイン配列は、SARS-CoV-2タンパク質の膜貫通ドメイン配列、特に配列番号1のアミノ酸1207~1254のアミノ酸配列を含む配列または機能的そのバリエーションを含むが、それらに限定されない。

30

【0195】

ここに提供される三量化ドメインは、コードされた抗原ペプチドまたはタンパク質の三量化を促進するために使用される。ある実施態様において、ここに定義する三量化ドメインは、ここに定義する抗原ペプチドまたはタンパク質に融合される。ある実施態様において、ここに記載するRNAはここに定義する抗原ペプチドまたはタンパク質および三量化ドメインをコードする少なくとも1個のコード領域を含み、該三量化ドメイン抗原ペプチドまたはタンパク質、例えば、抗原ペプチドまたはタンパク質のC末端に融合される。

【0196】

ある実施態様において、ここに記載するワクチン抗原は、ここに記載するワクチン抗原に含まれるSARS-CoV-2タンパク質または免疫原性そのフラグメント(抗原ペプチドまたはタンパク質)由来の上記アミノ酸配列からなるかまたは本質的にそれからなるSARS-CoV-2コロナウイルススパイク(S)タンパク質の連続配列を含む。ある実施態様において、ここに記載するワクチン抗原は、220アミノ酸、215アミノ酸、210アミノ酸または205アミノ酸を超えないSARS-CoV-2コロナウイルススパイク(S)タンパク質の連続配列を含む。

40

【0197】

ある実施態様において、ワクチン抗原をコードするRNAは、BNT162b2(RBP020.1またはRBP020.2)としてここに記載するヌクレオシド修飾メッセンジ

50

ャーRNA(modRNA)である。ある実施態様において、ワクチン抗原をコードするRNAは、RBP020.2としてここに記載するヌクレオシド修飾メッセンジャーRNA(modRNA)である。

【0198】

ここに記載する、ヌクレオシド修飾メッセンジャーRNA(modRNA)の種々の実施態様は次のとおりである：

BNT162b2；RBP020.1(配列番号19；配列番号7)

構造：m27,3'-OGppp(m12'-O)ApG)-hAg-コザック-S1S2-PP-FI-A30L70

コードする抗原：SARS-CoV-2のウイルススパイクタンパク質(S1S2タンパク質)(S1S2完全長タンパク質、配列バリエーション) 10

BNT162b2；RBP020.2(配列番号20；配列番号7)

構造：m27,3'-OGppp(m12'-O)ApG)-hAg-コザック-S1S2-PP-FI-A30L70

コードする抗原：SARS-CoV-2のウイルススパイクタンパク質(S1S2タンパク質)(S1S2完全長タンパク質、配列バリエーション)

【0199】

RBP020.1のヌクレオチド配列

ヌクレオチド配列は、太字で示す個々の配列要素と共に示す。さらに、翻訳タンパク質の配列は、コードヌクレオチド配列の下に斜体で示す(* = 停止コドン)。 20

30

40

50

【化 2】

s タンパク質

663 673 683 693 703 713
 UUUAAAAUUU AUUCUAAAACA CACACCAAUU AAUUUAGUGA GAGAUCUGCC UCAGGGAAUUU
 F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

s タンパク質

723 733 743 753 763 773
 UCUGCUCUGG AACCCUCUGGU GGAUCUGCCA AUUGGCAUUA AUUUACAAG AUUUCAGACA
 S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

s タンパク質

783 793 803 813 823 833
 CUGCUGGCUC UGCACAGAUC UUAUCUGACA CCUGGAGAUU CUUCUUCUGG AUGGACAGCC
 L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

s タンパク質

843 853 863 873 883 893
 GGAGCUGCAG CUUAUUUAGU GGGCUAUCUG CAGCCAAGAA CAUUUCUGCU GAAAUAUAAU
 G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

s タンパク質

903 913 923 933 943 953
 GAAAUGGAA CAAUUACAGA UGCUGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGUC UGAAACAAAA
 E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

s タンパク質

963 973 983 993 1003 1013
 UGUACAUUAA AAUCUUUAC AGUGGAAAAA GGCAUUUUAUC AGACAUCUAA UUUUAGAGUG
 C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

s タンパク質

1023 1033 1043 1053 1063 1073
 CAGCCAACAG AAUCUAUUGU GAGAUUCCA AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA
 Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

s タンパク質

1083 1093 1103 1113 1123 1133
 GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU
 V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

s タンパク質

1143 1153 1163 1173 1183 1193
 UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU AGUGCUUCUU UUCCACAUU UAAAUGUUUU
 C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

s タンパク質

1203 1213 1223 1233 1243 1253
 GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU
 G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

s タンパク質

10

20

30

40

50

【化 3】

1263 1273 1283 1293 1303 1313
 GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAAU GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU
 V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D

s タンパク質

1323 1333 1343 1353 1363 1373
 UACAAUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU
 Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

s タンパク質

1383 1393 1403 1413 1423 1433
 UUAGAUCUA AAGUGGGAGG AAUUUACAAU UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAU
 L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

s タンパク質

1443 1453 1463 1473 1483 1493
 CUGAAACUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA GAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU
 L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

s タンパク質

1503 1513 1523 1533 1543 1553
 AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUUUUU CCAUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC
 N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

s タンパク質

1563 1573 1583 1593 1603 1613
 AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA
 N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

s タンパク質

1623 1633 1643 1653 1663 1673
 CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAAAAUCU ACAAUUUAG UGAAAAUAA AUGUGUGAAU
 P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

s タンパク質

1683 1693 1703 1713 1723 1733
 UUUAAUUUA AUGGAUUUAC AGGAACAGGA GUGCUGACAG AAUCUAAUAA AAAUUUCUG
 F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

s タンパク質

1743 1753 1763 1773 1783 1793
 CCUUUCAGC AGUUUGGAG AGAUUUGCA GAUACCACAG AUGCAGUGAG AGAUCCUCAG
 P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

s タンパク質

1803 1813 1823 1833 1843 1853
 ACAUUAGAAA UUCUGGAUUA UACACCUUGU UCUUUUGGG GUGUGUCUGU GAUUACACCU
 T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

s タンパク質

1863 1873 1883 1893 1903 1913

10

20

30

40

50

【化4】

GGAACAAAUA CAUCUAAUCA GGUGGCUGUG CUGUAUCAGG AUGUGAAUUG UACAGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

s タンパク質

1923 1933 1943 1953 1963 1973

CCAGUGGCAA UUCAUGCAGA UCAGCUGACA CCAACAUGGA GAGUGUAUUC UACAGGAUCU

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

s タンパク質

1983 1993 2003 2013 2023 2033

AAUGUGUUUC AGACAAGAGC AGGAUGUCUG AUUGGAGCAG AACAUUGUGAA UAAUUCUUAU

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

s タンパク質

2043 2053 2063 2073 2083 2093

GAAUGUGAUA UUCAAUUGG AGCAGGCAU UGUGCAUCUU AUCAGACACA GACAAAUCC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

s タンパク質

2103 2113 2123 2133 2143 2153

CCAAGGAGAG CAAGAUCUGU GGCAUCUCAG UCUAUUAUUG CAUACACCAU GUCUCUGGGA

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

s タンパク質

2163 2173 2183 2193 2203 2213

GCAGAAAUAU CUGUGGCAUA UUCUAAUAAU UCUAUUGCUA UUCAACAAA UUUUACCAU

A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

s タンパク質

2223 2233 2243 2253 2263 2273

UCUGUGACAA CAGAAAUUUU ACCUGUGUCU AUGACAAAA CAUCUGUGGA UUGUACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

s タンパク質

2283 2293 2303 2313 2323 2333

UACAUUGUG GAGAUUCUAC AGAAUGUUCU AAUCUGCUGC UGCAGUAUGG AUCUUUUUGU

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

s タンパク質

2343 2353 2363 2373 2383 2393

ACACAGCUGA AUAGAGCUUU AACAGGAAU GCUGUGGAAC AGGAUAAAAA UACACAGGAA

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

s タンパク質

2403 2413 2423 2433 2443 2453

GUGUUUGCUC AGGUGAAACA GAUUUACAAA ACACCACCAA UUAAGAUAUU UGGAGGAUUU

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

s タンパク質

2463 2473 2483 2493 2503 2513

AAUUUAGCC AGAUUCUGCC UGAUCCUUCU AAACCUUCUA AAAGAUCUUU UAUUGAAGAU

10

20

30

40

50

【化5】

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

s タンパク質

2523 2533 2543 2553 2563 2573

CUGCUGUUUA AUAAGUGAC ACUGGCAGAU GCAGGAUUUA UUAACAGUA UGGAGAUUGC

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

s タンパク質

2583 2593 2603 2613 2623 2633

CUGGGUGAUA UUGCUGCAAG AGAUCUGAAU UGUGCUCAGA AAUUAAUGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

s タンパク質

2643 2653 2663 2673 2683 2693

CUGCCUCCUC UGCUGACAGA UGAAUUGAAU GCUCAGUACA CAUCUGCUUU ACUGGCUGGA

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

s タンパク質

2703 2713 2723 2733 2743 2753

ACAAUUAACA GCGGAUGGAC AUUUGGAGCU GGAGCUGCUC UGCAGAUUCC UUUUGCAAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

s タンパク質

2763 2773 2783 2793 2803 2813

CAGAUGGCUU ACAGAUUUUA UGAAUUGGA GUGACACAGA AUGUGUUUAU UGAAAUCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

s タンパク質

2823 2833 2843 2853 2863 2873

AAACUGAUUG CAAUCAGUU UAAUUCUGCA AUUGGCAAAA UUCAGGAUUC UCUGUCUUCU

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

s タンパク質

2883 2893 2903 2913 2923 2933

ACAGCUUCUG CUCUGGAAA ACUGCAGGAU GUGGUGAAUC AGAAUGCACA GGCACUGAAU

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

s タンパク質

2943 2953 2963 2973 2983 2993

ACUCUGGUGA AACAGCUGUC UAGCAAUUUU GGGGCAAUUU CUUCUGUGCU GAAUGAUUU

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

s タンパク質

3003 3013 3023 3033 3043 3053

CUGUCUAGAC UGGAUCCUCC UGAAGCUGAA GUGCAGAUUG AUAGACUGAU CACAGGAAGA

L S R L D P P E A E V Q I D R L I T G R

s タンパク質

3063 3073 3083 3093 3103 3113

CUGCAGUCUC UGCAGACUUA UGUGACACAG CAGCUGAUUA GAGCUGCUGA AAUAGAGCU

L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

10

20

30

40

50

【化 6】

s タンパク質

3123 3133 3143 3153 3163 3173
 UCUGCUAAUC UGGCUGCUAC AAAAAUGUCU GAAUGUGUGC UGGGACAGUC AAAAAGAGUG
 S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

s タンパク質

3183 3193 3203 3213 3223 3233
 GAUUUUUGUG GAAAAGGAUA UCAUCUGAUG UCUUUUCCAC AGUCUGCUCC ACAUGGAGUG
 D F C G K G Y H L M S F P Q S A P H G V

s タンパク質

3243 3253 3263 3273 3283 3293
 GUGUUUUUAC AUGUGACAUA UGUGCCAGCA CAGGAAAAGA AUUUUACCAC AGCACCAGCA
 V F L H V T Y V P A Q E K N F T T A P A

s タンパク質

3303 3313 3323 3333 3343 3353
 AUUUGUCAUG AUGGAAAAGC ACAUUUUCCA AGAGAAGGAG UGUUUGUGUC UAAUGGAACA
 I C H D G K A H F P R E G V F V S N G T

s タンパク質

3363 3373 3383 3393 3403 3413
 CAUUGGUUUG UGACACAGAG AAAUUUUUUAU GAACCUCAGA UUAUUACAAC AGAUAAUACA
 H W F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T

s タンパク質

3423 3433 3443 3453 3463 3473
 UUUUGUGUCAG GAAAUUGUGA UGUGGUGAUU GGAAUUGUGA AUAUACAGU GUAUGAUCCA
 F V S G N C D V V I G I V N N T V Y D P

s タンパク質

3483 3493 3503 3513 3523 3533
 CUGCAGCCAG AACUGGAUUC UUUUAAAGAA GAACUGGAUA AAUAAUUUAA AAAUCACACA
 L Q P E L D S F K E E L D K Y F K N H T

s タンパク質

3543 3553 3563 3573 3583 3593
 UCUCUGAUG UGGAUUUAGG AGAUUUUCU GGAAUCAUG CAUCUGUGGU GAAUUAUCAG
 S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

s タンパク質

3603 3613 3623 3633 3643 3653
 AAAGAAAUUG AUAGACUGAA UGAAGUGGCC AAAAAUCUGA AUGAAUCUCU GAUUGAUCUG
 K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

s タンパク質

3663 3673 3683 3693 3703 3713
 CAGGAACUUG GAAAAUAUGA ACAGUACAUU AAAUGGCCUU GGUACAUUUG GCUUGGAUUU
 Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

s タンパク質

10

20

30

40

50

【化 7】

3723 3733 3743 3753 3763 3773
 AUUGCAGGAU UAAUUGCAAU UGUGAUGGUG ACAAUUAUGU UAUGUUGUUAU GACAUCAUGU
I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S タンパク質

3783 3793 3803 3813 3823 3833
 UGUUCUUGUU UAAAAGGAUG UUGUUCUUGU GGAAGCUGUU GUAAAUUUGA UGAAGAUGAU
C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S タンパク質

3843 3853 3863 3873 3878
 UCUGAACCUG UGUUAAAAGG AGUGAAAUUG CAUUACACAU GAUGA
*S E P V L K G V K L H Y T * **

S タンパク質

3888 3898 3908 3918 3928 3938
 CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI 要素

3948 3958 3968 3978 3988 3998
 AGUCUCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI 要素

4008 4018 4028 4038 4048 4058
 UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI 要素

4068 4078 4088 4098 4108 4118
 CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI 要素

4128 4138 4148 4158 4168 4173
 GCUAUACUAA CCCGAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

FI 要素

4183 4193 4203 4213 4223 4233
 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

ポリ (A)

4243 4253 4263 4273 4283
 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

ポリ (A)

【 0 2 0 0 】

R B P 0 2 0 . 2 のヌクレオチド配列

ヌクレオチド配列は、太字で示す個々の配列要素と共に示す。さらに、翻訳タンパク質の配列は、コードヌクレオチド配列の下に斜体で示す (* = 停止コドン)。

10

20

30

40

50

【化 8】

10 20 30 40 50 53
 AGAAUAAACU AGUAUUCUUC UGGUCCCCAC AGACUCAGAG AGAACCCGCC ACC

hAg-コザック

63 73 83 93 103 113
 AUGUUCGUGU UCCUGGUGCU GCUGCCUCUG GUGUCCAGCC AGUGUGUGAA CCUGACCACC
 M F V F L V L L P L V S S Q C V N L T T

Sタンパク質

123 133 143 153 163 173
 AGAACACAGC UGCCUCCAGC CUACACCAAC AGCUUUACCA GAGGCGUGUA CUACCCCGAC
 R T Q L P P A Y T N S F T R G V Y Y P D

Sタンパク質

183 193 203 213 223 233
 AAGGUGUUCA GAUCCAGCGU GCUGCACUCU ACCCAGGACC UGUUCCUGCC UUUCUUCAGC
 K V F R S S V L H S T Q D L F L P F F S

Sタンパク質

243 253 263 273 283 293
 AACGUGACCU GGUUCCACGC CAUCCACGUG UCCGGCACCA AUGGCACCAA GAGAUUCGAC
 N V T W F H A I H V S G T N G T K R F D

Sタンパク質

303 313 323 333 343 353
 AACCCCGUGC UGCCUUCAA CGACGGGGUG UACUUUGCCA GCACCGAGAA GUCCAACAUC
 N P V L P F N D G V Y F A S T E K S N I

Sタンパク質

363 373 383 393 403 413
 AUCAGAGGCU GGAUCUUCGG CACCACACUG GACAGCAAGA CCCAGAGCCU GCUGAUCGUG
 I R G W I F G T T L D S K T Q S L L I V

Sタンパク質

423 433 443 453 463 473
 AACACGCCA CCAACGUGGU CAUCAAGUG UGCGAGUUC AGUUCUGCAA CGACCCUUC
 N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

Sタンパク質

483 493 503 513 523 533
 CUGGGCGUCU ACUACCACAA GAACAACAAG AGCUGGAUGG AAAGCGAGUU CCGGGUGUAC
 L G V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y

Sタンパク質

543 553 563 573 583 593
 AGCAGCGCCA ACAACUGCAC CUUCGAGUAC GUGUCCAGC CUUCCUGAU GGACCGGAA
 S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E

Sタンパク質

603 613 623 633 643 653
 GGCAAGCAGG GCAACUCAA GAACCUGCGC GAGUUCGUGU UUAAGAACAU CGACGGCUAC
 G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

10

20

30

40

50

【化 9】

S タンパク質

663 673 683 693 703 713
 UUCAAGAUCU ACAGCAAGCA CACCCCUAUC AACCCUCGUGC GCGAUCUGCC UCAGGGCUUC
 F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S タンパク質

723 733 743 753 763 773
 UCUGCUCUGG AACCCUGGU GGAUCUGCCC AUCGGCAUCA ACAUCACCCG GUUUCAGACA
 S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S タンパク質

783 793 803 813 823 833
 CUGCUGGCCC UGCACAGAAG CUACCUGACA CCUGGCGAUA GCAGCAGCGG AUGGACAGCU
 L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S タンパク質

843 853 863 873 883 893
 GGUGCCGCCG CUUACUAUGU GGGCUACCUG CAGCCUAGAA CCUCCUGCU GAAGUACAAC
 G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

S タンパク質

903 913 923 933 943 953
 GAGAAGGCA CCAUCACCGA CGCCGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGAG CGAGACAAAG
 E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

S タンパク質

963 973 983 993 1003 1013
 UGCACCCUGA AGUCCUUCAC CGUGGAAAAG GGCAUCUACC AGACCAGCAA CUUCCGGGUG
 C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S タンパク質

1023 1033 1043 1053 1063 1073
 CAGCCACCG AAUCAUCGU GCGGUUCCCC AAUAUCACCA AUCUGUGCCC CUUCGGCGAG
 Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

S タンパク質

1083 1093 1103 1113 1123 1133
 GUGUCAAUG CCACCAGAUU CGCCUCUGUG UACGCCUGGA ACCGGAAGCG GAUCAGCAAU
 V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S タンパク質

1143 1153 1163 1173 1183 1193
 UGCGUGGCCG ACUACUCUGU GCUGUACAAC UCCGCCAGCU UCAGCACCUU CAAGUGCUAC
 C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S タンパク質

1203 1213 1223 1233 1243 1253
 GCGUGUCCG CUACCAAGCU GAACGACCUG UGCUUCACAA ACGUGUACGC CGACAGCUUC
 G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S タンパク質

10

20

30

40

50

【化 1 0】

1263 1273 1283 1293 1303 1313
 GUGAUCCGGG GAGAUGAAGU GCGGCAGAAU GCCCCUGGAC AGACAGGCAA GAUCGCCGAC
 V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D

S タンパク質

1323 1333 1343 1353 1363 1373
 UACAACUACA AGCUGCCCGA CGACUUCACC GGCUGUGUGA UUGCCUGGAA CAGCAACAAC
 Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S タンパク質

1383 1393 1403 1413 1423 1433
 CUGGACUCCA AAGUCGGCGG CAACUACAAU UACCUGUACC GGCUGUCCG GAAGUCCA
 L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S タンパク質

1443 1453 1463 1473 1483 1493
 CUGAAGCCCU UCGAGCGGGA CAUCUCCACC GAGAUCUAUC AGGCCGGCAG CACCCUUGU
 L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S タンパク質

1503 1513 1523 1533 1543 1553
 AACGGCGUGG AAGGCUUCA CUGCUACUUC CCACUGCAGU CCUACGGCUU UCAGCCCACA
 N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S タンパク質

1563 1573 1583 1593 1603 1613
 AAUGGGGUGG GCUAUCAGCC CUACAGAGUG GUGGUGCUGA GCUUCGAACU GCUGCAUGCC
 N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S タンパク質

1623 1633 1643 1653 1663 1673
 CCUGCCACAG UGUGCGGCC UAAGAAAAGC ACCAAUCUCG UGAAGAACAA AUGCGUGAAC
 P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S タンパク質

1683 1693 1703 1713 1723 1733
 UUCAACUUCA ACGGCCUGAC CGGCACCGGC GUGCUGACAG AGAGCAACAA GAAGUCCUG
 F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S タンパク質

1743 1753 1763 1773 1783 1793
 CCAUCCAGC AGUUUGCCG GGAUAUCGCC GAUACCACAG ACGCCGUUAG AGAUCCCAG
 P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S タンパク質

1803 1813 1823 1833 1843 1853
 ACACUGGAAA UCCUGGACAU CACCCUUGC AGCUUCGGCG GAGUGUCUGU GAUCACCCCU
 T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S タンパク質

1863 1873 1883 1893 1903 1913

10

20

30

40

50

【化 1 1】

GGCACCAACA CCAGCAAUCA GGUGGCAGUG CUGUACCAGG ACGUGAACUG UACCGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S タンパク質

1923 1933 1943 1953 1963 1973

CCCUGGCCA UUCACGCCGA UCAGCUGACA CCUACAUGGC GGGUGUACUC CACCGGCAGC

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S タンパク質

1983 1993 2003 2013 2023 2033

AAUGUGUUUC AGACCAGAGC CGGCUGUCUG AUCGGAGCCG AGCACGUGAA CAAUAGCUAC

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S タンパク質

2043 2053 2063 2073 2083 2093

GAGUGCGACA UCCCCAUCGG CGCUGGAAUC UGCGCCAGCU ACCAGACACA GACAAACAGC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S タンパク質

2103 2113 2123 2133 2143 2153

CCUCGGAGAG CCAGAAGCGU GGCCAGCCAG AGCAUCAUUG CCUACACAAU GUCUCUGGGC

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S タンパク質

2163 2173 2183 2193 2203 2213

GCCGAGAACA GCGUGGCCUA CUCCAACAAC UCUAUCGCUA UCCCCACCAA CUUCACCAUC

A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S タンパク質

2223 2233 2243 2253 2263 2273

AGCGUGACCA CAGAGAUCU GCCUGUGUCC AUGACCAAGA CCAGCGUGGA CUGCACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S タンパク質

2283 2293 2303 2313 2323 2333

UACAUCUGCG GCGAUUCCAC CGAGUGCUC AACCUGCUGC UGCAGUACGG CAGCUUCUGC

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S タンパク質

2343 2353 2363 2373 2383 2393

ACCCAGCUGA AUAGAGCCU GACAGGGAUC GCCGUGGAAC AGGACAAGAA CACCCAAGAG

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S タンパク質

2403 2413 2423 2433 2443 2453

GUGUUCGCC AAGUGAAGCA GAUCUACAAG ACCCCUCCUA UCAAGGACUU CGGCGGCUUC

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S タンパク質

2463 2473 2483 2493 2503 2513

AAUUUCAGCC AGAUUCUGCC CGAUCCUAGC AAGCCCAGCA AGCGGAGCUU CAUCGAGGAC

10

20

30

40

50

【化 1 2】

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S タンパク質

2523 2533 2543 2553 2563 2573

CUGCUGUUCA ACAAAGUGAC ACUGGCCGAC GCCGGCUUCA UCAAGCAGUA UGGCGAUUGU

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

S タンパク質

2583 2593 2603 2613 2623 2633

CUGGGCGACA UUGCCGCCAG GGAUCUGAAU UGCGCCCAGA AGUUUAACGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S タンパク質

2643 2653 2663 2673 2683 2693

CUGCCUCCUC UGCUGACCGA UGAGAUGAUC GCCCAGUACA CAUCUGCCCU GCUGGCCGGC

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S タンパク質

2703 2713 2723 2733 2743 2753

ACAAUCACAA GCGGCUGGAC AUUUGGAGCA GCGGCCGCUC UGCAGAUCCC CUUUGCUAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S タンパク質

2763 2773 2783 2793 2803 2813

CAGAUGCCU ACCGGUCAA CGGCAUCGGA GUGACCCAGA AUGUGCUGUA CGAGAACCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S タンパク質

2823 2833 2843 2853 2863 2873

AAGCUGAUCG CCAACCAGUU CAACAGCGCC AUCGGCAAGA UCCAGGACAG CCUGAGCAGC

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S タンパク質

2883 2893 2903 2913 2923 2933

ACAGCAAGCG CCCUGGGAAA GCUGCAGGAC GUGGUCAACC AGAAUGCCCA GGCACUGAAC

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S タンパク質

2943 2953 2963 2973 2983 2993

ACCCUGGUCA AGCAGCUGUC CUCCAACUUC GGCGCCAUCA GCUCUGUGCU GAACGAUAUC

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S タンパク質

3003 3013 3023 3033 3043 3053

CUGAGCAGAC UGGACCCUCC UGAGGCCGAG GUGCAGAUCG ACAGACUGAU CACAGGCAGA

L S R L D P P E A E V Q I D R L I T G R

S タンパク質

3063 3073 3083 3093 3103 3113

CUGCAGAGCC UCCAGACAUA CGUGACCCAG CAGCUGAUA GAGCCGCCGA GAUUGAGCC

L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

10

20

30

40

50

【化 1 3】

S タンパク質

3123 3133 3143 3153 3163 3173
 UCUGCCAAUC UGGCCGCCAC CAAGAUGUCU GAGUGUGUGC UGGCCAGAG CAAGAGAGUG
 S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

S タンパク質

3183 3193 3203 3213 3223 3233
 GACUUUUGCG GCAAGGGCUA CCACCUGAUG AGCUUCCUC AGUCUGCCCC UCACGGCGUG
 D F C G K G Y H L M S F P Q S A P H G V

S タンパク質

3243 3253 3263 3273 3283 3293
 GUGUUUCUGC ACGUGACAUA UGUGCCCGCU CAAGAGAAGA AUUUCACCAC CGCUCCAGCC
 V F L H V T Y V P A Q E K N F T T A P A

S タンパク質

3303 3313 3323 3333 3343 3353
 AUCUGCCACG ACGGCAAAGC CCACUUUCCU AGAGAAGGCG UGUUCGUGUC CAACGGCACC
 I C H D G K A H F P R E G V F V S N G T

S タンパク質

3363 3373 3383 3393 3403 3413
 CAUUGGUUCG UGACACAGCG GAACUUCUAC GAGCCCCAGA UCAUCACCAC CGACAACACC
 H W F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T

S タンパク質

3423 3433 3443 3453 3463 3473
 UUCGUGUCUG GCAACUGCGA CGUCGUGAUC GGCAUUGUGA ACAAUACCGU GUACGACCCU
 F V S G N C D V V I G I V N N T V Y D P

S タンパク質

3483 3493 3503 3513 3523 3533
 CUGCAGCCCG AGCUGGACAG CUUCAAGAG GAACUGGACA AGUACUUUAA GAACCACACA
 L Q P E L D S F K E E L D K Y F K N H T

S タンパク質

3543 3553 3563 3573 3583 3593
 AGCCCCGACG UGGACCUGGG CGAUAUCAGC GGAAUCAUG CCAGCGUCGU GAACAUCAG
 S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

S タンパク質

3603 3613 3623 3633 3643 3653
 AAAGAGAUCG ACCGGCUGAA CGAGGUGGCC AAGAAUCUGA ACGAGAGCCU GAUCGACCUG
 K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

S タンパク質

3663 3673 3683 3693 3703 3713
 CAAGAACUGG GGAAGUACGA GCAGUACAUC AAGUGGCCCU GGUACAUCUG GCUGGGCUUU
 Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S タンパク質

10

20

30

40

50

【化 1 4】

3723 3733 3743 3753 3763 3773
 AUCGCCGGAC UGAUUGCCAU CGUGAUGGUC ACAAUCAUGC UGUGUUGCAU GACCAGCUGC
 I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S タンパク質

3783 3793 3803 3813 3823 3833
 UGUAGCUGCC UGAAGGGCUG UUGUAGCUGU GGCAGCUGCU GCAAGUUCGA CGAGGACGAU
 C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S タンパク質

3843 3853 3863 3873 3878
 UCUGAGCCCG UGCUGAAGGG CGUGAAACUG CACUACACAU GAUGA
 S E P V L K G V K L H Y T * *

S タンパク質

3888 3898 3908 3918 3928 3938
 CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI 要素

3948 3958 3968 3978 3988 3998
 AGUCUCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI 要素

4008 4018 4028 4038 4048 4058
 UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI 要素

4068 4078 4088 4098 4108 4118
 CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAACGAAA GUUUAACUAA

FI 要素

4128 4138 4148 4158 4168 4173
 GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAUUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

FI 要素

4183 4193 4203 4213 4223 4233
 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

ポリ(A)

4243 4253 4263 4273 4283
 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

ポリ(A)

【 0 2 0 1】

脂質ナノ粒子(LNP)

ある実施態様において、ここに記載する 1 以上の核酸(例えば、RNA)は、LNP の形態で製剤化および/または投与される。ある実施態様において、本発明の LNP は、当分野で知られるおよび/またはここで脂質粒子を産生することが確立されている 1 以上の脂質を含む。ある実施態様において、本発明の LNP は、カチオン性脂質、中性脂質、ポリマーコンジュゲート脂質およびそれらの組み合わせからなる群から選択される 1 以上の脂質を含む。ある実施態様において、本発明の LNP は、コレステロールまたはその誘導体などのステロイドを含む。

10

20

30

40

50

【0202】

ここで使用する「中性脂質」は、選択 pH で非荷電または中性双性イオン形態で存在する脂質種をいう。ある実施態様において、付加的脂質は、次の中性脂質要素の一つを含む：(1)リン脂質、(2)コレステロールまたはその誘導体；または(3)リン脂質とコレステロールまたはその誘導体の混合物。ある実施態様において、リン脂質は、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、ホスファチジン酸、ホスファチジルセリンまたはスフィンゴミエリンを含み得るが、これらに限定されない。このようなリン脂質 include 特にジアシルホスファチジルコリン、このような as ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)、ジオレオイルホスファチジルコリン(DOPC)、ジミリストイルホスファチジルコリン(DMPC)、ジペンタデカノイルホスファチジルコリン、ジラウロイルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)、ジアラキドイルホスファチジルコリン(DAPC)、ジベヘノイルホスファチジルコリン(DBPC)、ジトリコサノイルホスファチジルコリン(DTPC)、ジリグノセロイルホスファチジルコリン(DLPC)、パルミトイルオレオイル - ホスファチジルコリン(POPC)、1,2 - ジ - O - オクタデセニル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン(18 : 0 Diether PC)、1 - オレオイル - 2 - コレステリルヘミスクシノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン(OChemSPC)、1 - ヘキサデシル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン(C16 Lyso PC)およびホスファチジルエタノールアミン、特にジアシルホスファチジルエタノールアミン、例えばジオレオイルホスファチジルエタノールアミン(DOPE)、ジステアロイル - ホスファチジルエタノールアミン(DSPE)、ジパルミトイル - ホスファチジルエタノールアミン(DPPE)、ジミリストイル - ホスファチジルエタノールアミン(DMPE)、ジラウロイル - ホスファチジルエタノールアミン(DLPE)、ジフィタノイル - ホスファチジルエタノールアミン(DPyPE)および種々の疎水性鎖を有するさらなるホスファチジルエタノールアミン脂質を含む。

10

20

【0203】

コレステロール誘導体の例は、コレスタノール、コレスタノン、コレステノン、コプロスタノール、コレステリル - 2' - ヒドロキシエチルエーテル、コレステリル - 4' - ヒドロキシブチルエーテル、トコフェロールおよびその誘導体およびこれらの混合物を含むが、これらに限定されない。

30

【0204】

用語「カチオン性脂質」は、生理学的 pH (例えば、約 7.0 の pH) などの選択 pH で正味の正荷電を有する、多数の脂質種の何れかをいう。カチオン性脂質の例は、1,2 - ジオレオイル - 3 - トリメチルアンモニウムプロパン(DOTAP)；N,N - ジメチル - 2,3 - ジオレイルオキシプロピルアミン(DODMA)、1,2 - ジ - O - オクタデセニル - 3 - トリメチルアンモニウムプロパン(DOTMA)、3 - (N - (N',N' - ジメチルアミノエタン) - カルバモイル)コレステロール(DC - Chol)、ジメチルジオクタデシルアンモニウム(DDAB)；1,2 - ジオレオイル - 3 - ジメチルアンモニウム - プロパン(DODAP)；1,2 - ジアシルオキシ - 3 - ジメチルアンモニウムプロパン；1,2 - ジアルキルオキシ - 3 - ジメチルアンモニウムプロパン；ジオクタデシルジメチル塩化アンモニウム(DODAC)、1,2 - ジステアリルオキシ - N,N - ジメチル - 3 - アミノプロパン(DSDMA)、2,3 - ジ(テトラデコキシ)プロピル - (2 - ヒドロキシエチル) - ジメチルアザニウム(DMRIE)、1,2 - ジミリストイル - sn - グリセロ - 3 - エチルホスホコリン(DMEPC)、1,2 - ジミリストイル - 3 - トリメチルアンモニウムプロパン(DMTAP)、1,2 - ジオレイルオキシプロピル - 3 - ジメチル - ヒドロキシエチルアンモニウムプロマイド(DORIE)および2,3 - ジオレオイルオキシ - N - [2(スペルミンカルボキサミド)エチル] - N,N - ジメチル - 1 - プロパナミウムトリフルオロアセテート(DOSPA)、1,2 - ジリノレイルオキシ - N,N - ジメチルアミノプロパン(DLinDMA)、1,2 - ジリノレニルオキシ - N,N - ジメチルアミノプロパン(DLenDMA)、ジオクタデシルアミドグリシルスペルミン(DOGS)、3 - ジメチルアミノ

40

50

- 2 - (コレスト - 5 - エン - 3 - ベータ - オキシブタン - 4 - オキシ) - 1 - (cis, cis - 9, 12 - オクタデカジエンオキシ)プロパン(CLiNDMA)、2 - [5' - (コレスト - 5 - エン - 3 - ベータ - オキシ) - 3' - オキサベントキシ) - 3 - ジメチル - 1 - (cis, cis - 9', 12' - オクタデカジエンオキシ)プロパン(CpLiNDMA)、N, N - ジメチル - 3, 4 - ジオレイルオキシベンジルアミン(DMOBA)、1, 2 - N, N' - ジオレイルカルバミル - 3 - ジメチルアミノプロパン(DOcarbDAP)、2, 3 - ジリノレオイルオキシ - N, N - ジメチルプロピルアミン(DLiNDAP)、1, 2 - N, N' - ジリノレイルカルバミル - 3 - ジメチルアミノプロパン(DLin carbDAP)、1, 2 - ジリノレイルカルバミル - 3 - ジメチルアミノプロパン(DLinCDAP)、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)、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 - K - XTC2 - 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)、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)ブタノアート(DLin - MC3 - DMA)、N - (2 - ヒドロキシエチル) - N, N - ジメチル - 2, 3 - ビス(テトラデシルオキシ) - 1 - プロパンアミニウムプロマイド(DMRIE)、(±) - N - (3 - アミノプロピル) - N, N - ジメチル - 2, 3 - ビス(cis - 9 - テトラデセニルオキシ) - 1 - プロパンアミニウムプロマイド(GAP - DMORIE)、(±) - N - (3 - アミノプロピル) - N, N - ジメチル - 2, 3 - ビス(ドデシルオキシ) - 1 - プロパンアミニウムプロマイド(GAP - DLRIE)、(±) - N - (3 - アミノプロピル) - N, N - ジメチル - 2, 3 - ビス(テトラデシルオキシ) - 1 - プロパンアミニウムプロマイド(GAP - DMRIE)、N - (2 - アミノエチル) - N, N - ジメチル - 2, 3 - ビス(テトラデシルオキシ) - 1 - プロパンアミニウムプロマイド(AE - DMRIE)、N - (4 - カルボキシベンジル) - N, N - ジメチル - 2, 3 - ビス(オレオイルオキシ)プロパン - 1 - アミニウム(DOBAQ)、2 - ({8 - [(3) - 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)、1, 2 - ジミリストイル - 3 - ジメチルアンモニウム - プロパン(DMDAP)、1, 2 - ジパルミトイル - 3 - ジメチルアンモニウム - プロパン(DPDAP)、N1 - [2 - ((1S) - 1 - [(3 - アミノプロピル)アミノ] - 4 - [ジ(3 - アミノ - プロピル)アミノ]ブチルカルボキサミド)エチル] - 3, 4 - ジ[オレイルオキシ] - ベンズアミド(MVL5)、1, 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - エチルホスホコリン(DOEP C)、2, 3 - ビス(ドデシルオキシ) - N - (2 - ヒドロキシエチル) - N, N - ジメチルプロパン - 1 - アモニウムプロマイド(DLRIE)、N - (2 - アミノエチル) - N, N - ジメチル - 2, 3 - ビス(テトラデシルオキシ)プロパン - 1 - アミニウムプロマイド(DMORIE)、ジ((Z) - ノン - 2 - エン - 1 - イル) 8, 8' - (((2(ジメチルアミノ)エチル)チオ)カルボニル)アザンジイル)ジオクタノエート(ATX)、N, N - ジメチル - 2, 3 - ビス(ドデシルオキシ)プロパン - 1 - アミン(DLDM A)、N, N - ジメチル - 2, 3 - ビス(テトラデシルオキシ)プロパン - 1 - アミン(DMDMA)、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)、N - ドデシル - 3 - ((2 - ドデシルカルバモイル - エチル) - {2 - [(2 - ドデシルカルバモイル - エチル) - 2 - {(2 - ドデシルカルバモイル - エチル) - [2 - (2 - ドデシルカルバモイル - エチルアミノ) - エチル] - アミノ} - エチルアミノ)プロピオンアミド(リピドイド98N12 - 5)、1 - [2 - [ビス(2 - ヒドロキシドデシル)アミノ]エチル - [2 - [4 - [2 - [ビス(2ヒドロキシドデシル)アミノ]エチル]ピペラジン - 1 - イル]エチル]アミノ]ドデカン - 2 - オール(リピドイドC12 - 200)を含むが、これらに限定されない。

【0205】

ある実施態様において、カチオン性脂質は、WO2017/075531に開示する化学構造を有し、そのいくつかを下表Aに示す：

10

20

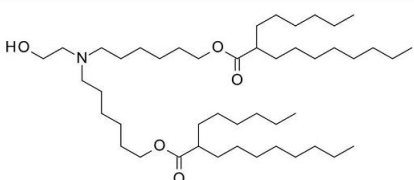
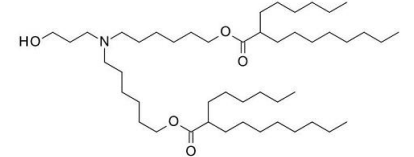
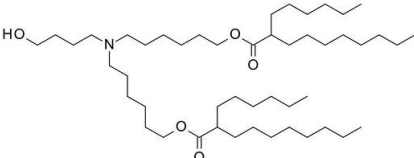
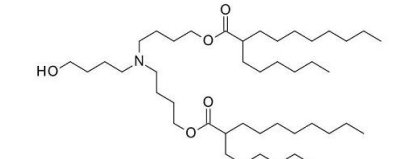
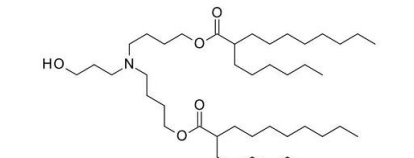
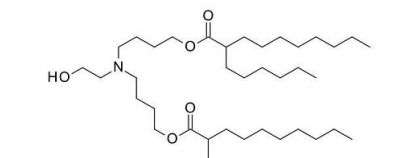
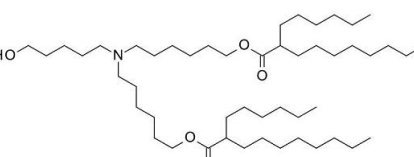
30

40

50

【表 1】

表A：例示のカチオン性脂質

番号	構造
I-1	
I-2	
I-3	
I-4	
I-5	
I-6	
I-7	

10

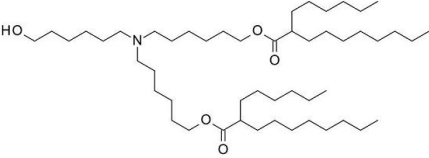
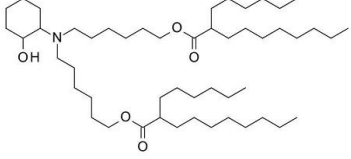
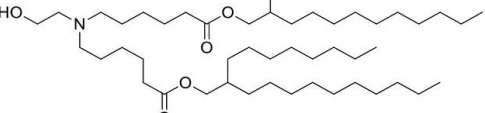
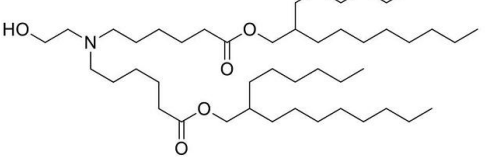
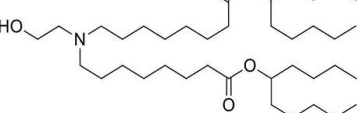
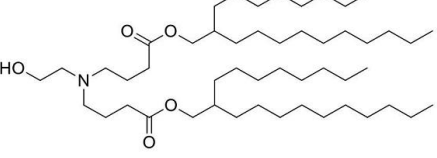
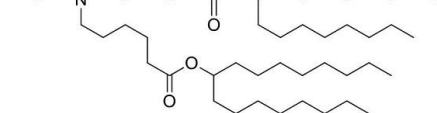
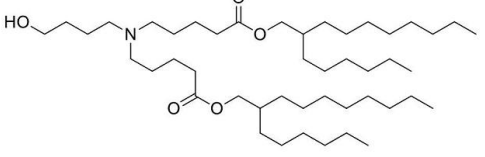
20

30

40

50

【表 2】

番号	構造
I-8	
I-9	
I-10	
I-11	
I-12	
I-13	
I-14	
I-15	

10

20

30

40

50

【表 3】

番号	構造
I-16	
I-17	
I-18	
I-19	
I-20	
I-21	
I-22	
I-23	

10

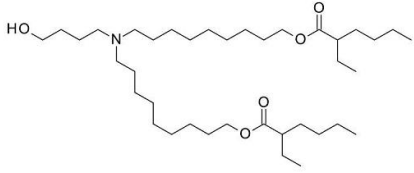
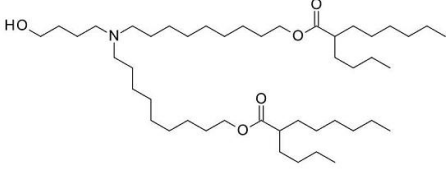
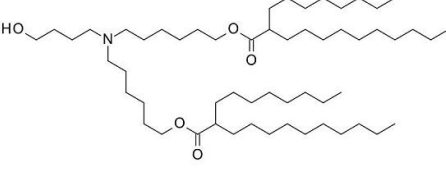
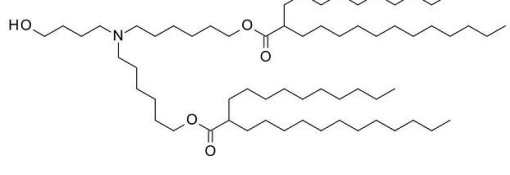
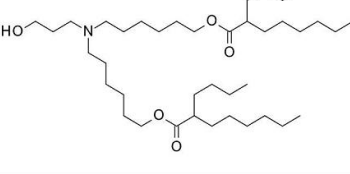
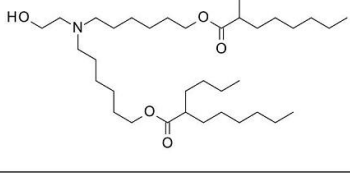
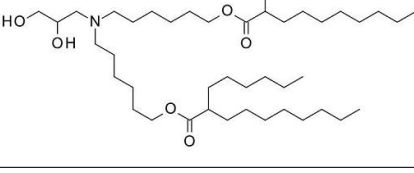
20

30

40

50

【表 4】

番号	構造
I-24	
I-25	
I-26	
I-27	
I-28	
I-29	
I-30	

10

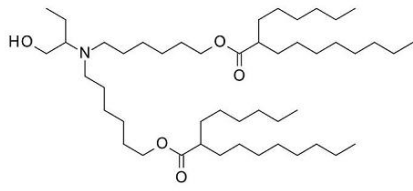
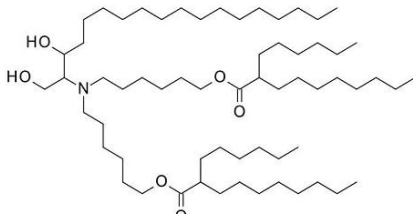
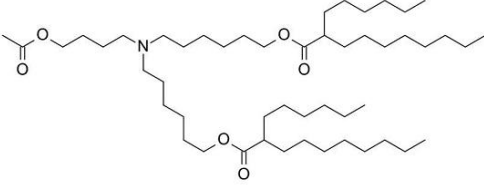
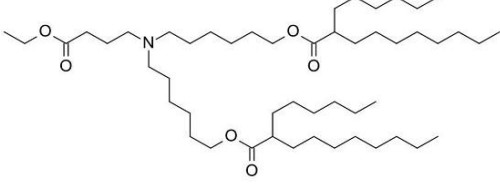
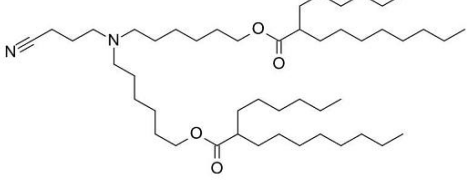
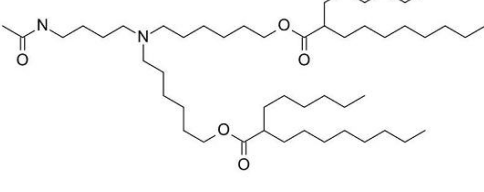
20

30

40

50

【表 5】

番号	構造
I-31	
I-32	
I-33	
I-34	
I-35	
I-36	

10

20

30

40

【0206】

さらなるカチオン性脂質の例を下表 B に示す。

50

【表 6】

表B：付加的例示的カチオン性脂質

番号	構造
A	
B	
C	
D	
E	
F	

10

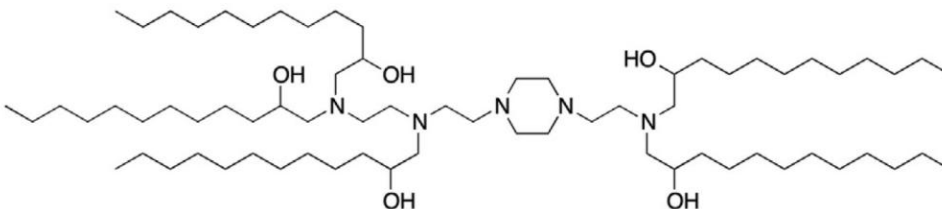
20

30

【0207】

ある実施態様において、カチオン性脂質は、イオン化可能脂質様物質(リピドイド)である。例示的リピドイドは、次の構造を有するC12-200である。

【化15】



40

【0208】

ある実施態様において、ここに記載する粒子は、ペグ化脂質などのポリマーコンジュゲート脂質を含む。用語「ペグ化脂質」は、脂質部分およびポリエチレングリコール部分両方を含む分子をいう。ペグ化脂質は当分野で知られる。

【0209】

ある実施態様において、本発明のLNPは、((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)を含

50

む。ある実施態様において、本発明のLNPは、2 - [(ポリエチレングリコール) - 2000] - N,N - ジテトラデシルアセトアミド(ALC - 0159)を含む。ある実施態様において、本発明は、ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)を含むLNPを提供する。ある実施態様において、本発明のLNPは、コレステロールを含む。ある実施態様において、本発明のLNPは、ALC - 0315、ALC - 0159、DSPCおよびコレステロールを含む脂質を含む。

【0210】

ある実施態様において、本発明のLNPは、約40～約55モルパーセント、約40～約50モルパーセント、約41～約49モルパーセント、約41～約48モルパーセント、約42～約48モルパーセント、約43～約48モルパーセント、約44～約48モルパーセント、約45～約48モルパーセント、約46～約48モルパーセント、約47～約48モルパーセントまたは約47.2～約47.8モルパーセントのALC - 0315を含む。ある実施態様において、LNPは、約47.0、約47.1、約47.2、約47.3、約47.4、約47.5、約47.6、約47.7、約47.8、約47.9または約48.0モルパーセントのALC - 0315を含む。

【0211】

ある実施態様において、本発明のLNPは、約6mg/ml～約9mg/ml、約6mg/ml～約8mg/ml、約6mg/ml～約7mg/ml、約7mg/ml～約9mg/ml、約8mg/ml～約9mg/mlまたは約7mg/ml～約8mg/mlのALC - 0315を含む。ある実施態様において、LNPは、約7mg/ml～約8mg/mlのALC - 0315を含む。ある実施態様において、ALC - 0315は、約7.17mg/mlの濃度で存在する。

【0212】

ある実施態様において、本発明のLNPは、約5～約15モルパーセント、約7～約13モルパーセントまたは約9～約11モルパーセントDSPCを含む。ある実施態様において、DSPCは、約9.5、約10または約10.5モルパーセントの濃度で存在する。

【0213】

ある実施態様において、本発明のLNPは、約1mg/ml～約2.5mg/ml、約1mg/ml～約2mg/mlまたは約1mg/ml～約1.5mg/mlのDSPCを含む。ある実施態様において、LNPは、約1.5mg/ml～約2mg/mlのDSPCを含む。ある実施態様において、ALC - 0315は、約1.56mg/mlの濃度で存在する。

【0214】

ある実施態様において、コレステロールは、約30～約50モルパーセント、約35～約45モルパーセントまたは約38～約43モルパーセントの範囲の濃度で存在する。ある実施態様において、コレステロールは、約40、約41、約42、約43、約44、約45または約46モルパーセントの濃度で存在する。

【0215】

ある実施態様において、コレステロールは、約2mg/ml～約4mg/ml、約2mg/ml～約3.5mg/ml、約2mg/ml～約3mg/ml、約2mg/ml～約2.5mg/ml、約2.5mg/ml～約4mg/ml、約3mg/ml～約4mg/mlまたは約3.5mg/ml～約4mg/mlの濃度で存在する。ある実施態様において、コレステロールは、約3mg/ml～約3.5mg/mlの濃度で存在する。ある実施態様において、コレステロールは、約3.1mg/mlの濃度で存在する。

【0216】

ある実施態様において、ALC - 0159は、約1～約10モルパーセント、約2～約8モルパーセント、約4～約8モルパーセント、約4～約6モルパーセント、約1～約5モルパーセントまたは約1～約3モルパーセントの範囲の濃度で存在する。

【0217】

ある実施態様において、ALC - 0159は、約0.5mg/ml～約2.5mg/ml、約1mg/ml～約2.5mg/ml、約1.5mg/ml～約2.5mg/ml、約2mg/ml～約2.5mg/ml、約0.5mg/ml～約2mg/ml、約0.5mg/ml～約1.5mg/mlまたは

約 0.5 mg/ml ~ 約 1 mg/ml の範囲の濃度で存在する。ある実施態様において、ALC - 0159 は、約 0.5 mg/ml ~ 約 1 mg/ml の濃度で存在する。ある実施態様において、ALC - 0159 は、約 0.89 mg/ml の濃度で存在する。

【0218】

ある実施態様において、モルパーセントここに記載する LNP に存在する脂質の総モルに基づき決定される。

【0219】

ある実施態様において、本発明は、約 8 : 1 : 1.5 : 3 ~ 約 9 : 1 : 2 : 3.5 の範囲の質量比で存在する ALC - 0315、ALC - 0159、DSPC および コレステロールを含む脂質を含む LNP を提供する。

10

【0220】

ある実施態様において、本発明の脂質粒子(例えば、LNP)は、少なくとも 30 nm、少なくとも 40 nm、少なくとも 50 nm、少なくとも 60 nm、少なくとも 70 nm、少なくとも 80 nm、少なくとも 90 nm、少なくとも 100 nm、少なくとも 200 nm、少なくとも 300 nm、少なくとも 400 nm、少なくとも 500 nm または少なくとも 1000 nm の平均直径を有し得る。ある実施態様において、本発明の脂質粒子(例えば、LNP)は、最大 30 nm、最大 40 nm、最大 50 nm、最大 60 nm、最大 70 nm、最大 80 nm、最大 90 nm、最大 100 nm、最大 200 nm、最大 300 nm、最大 400 nm、最大 500 nm、最大 1000 nm または最大 1200 nm の平均直径を有し得る。ある実施態様において、本発明の脂質粒子(例えば、LNP)は、約 30 nm ~ 約 1000 nm、約 50 nm ~ 約 1000 nm、約 70 nm ~ 約 1000 nm、約 30 nm ~ 約 500 nm、約 30 nm ~ 約 100 nm または約 30 nm ~ 約 80 nm の範囲の平均直径を有し得る。

20

【0221】

ここに記載する核酸は、少なくとも 1 個のカチオン性またはカチオンのイオン化可能な脂質または脂質様物質および/または少なくとも 1 個のカチオン性ポリマーからコロイドを得て、コロイドと核酸を混合して脂質粒子(例えば、RNA/LNP)を得ることを含み得る、広範な方法、例えば、フィルム水和方法、逆相蒸発、エタノール注射技術)を使用して、脂質(例えば、RNA/LNP)に包装され得る。

【0222】

ある実施態様において、RNA は、脂質を含むエタノール溶液を針を介して水溶液に急速に注入する、エタノール注射技術を使用して、脂質粒子(例えば、LNP)に包装される。従って、ある実施態様において、核酸含有脂質粒子(例えば、RNA/LNP)は、次のとおり製造する：カチオン性脂質および付加的脂質(例えば、ここに記載する脂質組成物)などの脂質を含むエタノール溶液を、核酸(例えば、RNA)を含む水溶液に、組み合わせた溶液の攪拌または振盪下に注入する。この方法により製造した、調製された脂質粒子中の核酸を、さらに処理、例えば、濃縮、1 以上の異なる緩衝液系に移すなどできる。

30

【0223】

ある実施態様において、ここに記載する RNA は、ここに記載する LNP 形成方法により、該 RNA と粒子形成脂質(例えば、ここに記載するもの)の混合により、脂質粒子(例えば、LNP)に包装される。ある実施態様において、RNA 含有 LNP (RNA/LNP) は、第一緩衝液系で調製され、その後、貯蔵および/または使用のために第二緩衝液系に交換される。

40

【0224】

ある実施態様において、第一緩衝液系は、水性緩衝液、例えば、PBS 緩衝液、Tris 緩衝液、HEPES 緩衝液、His 緩衝液などを含む。ある実施態様において、第一緩衝液系は、PBS 緩衝液を含む。本発明のある実施態様において、第一緩衝液系は、約 5 mg/ml ~ 約 7 mg/ml、約 6 mg/ml ~ 約 7 mg/ml または約 5 mg/ml ~ 約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む。ある実施態様において、第一緩衝液系約 6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む。ある実施態様において、第一緩衝液系は塩化ナトリウムを実質的に含まない。この文脈での実質的に含まないとは、塩化ナトリウムが添加されないことを意味し、ナ

50

トリウムおよび/または塩化物イオンがこのような製剤中の他の要素によりなお存在してよいことを当業者は理解する。従って、ある実施態様において、本発明のPBS緩衝液は、塩化ナトリウムが実質的に存在せず、0.15 g/L KCl、1.08 g/L Na₂HPO₄および0.15 g/L KH₂PO₄を含む、PBS緩衝液である。ある実施態様において、本発明のPBSは、6 g/L NaCl、0.15 g/L KCl、1.08 g/L Na₂HPO₄および0.15 g/L KH₂PO₄を含む。

【0225】

ある実施態様において、第一緩衝液系は、保護剤、例えば、スクロース、トレハロースまたはそれらの組み合わせを含む。ある実施態様において、第一緩衝液系の保護剤はスクロースおよび/またはトレハロースである。ある実施態様において、スクロースは約10% w/vの濃度である。ある実施態様において、スクロースは約5%の濃度である。ある実施態様において、トレハロースは約10% w/vの濃度である。ある実施態様において、トレハロースは約5%の濃度である。

10

【0226】

ある実施態様において、本発明の第二緩衝液系は、水性緩衝液、例えば、PBS緩衝液、Tris緩衝液、HEPES緩衝液、His緩衝液などを含む。ある実施態様において、第二緩衝液系はPBSを含む。ある実施態様において、本発明のPBSは、6 g/L NaCl、0.15 g/L KCl、1.08 g/L Na₂HPO₄および0.15 g/L KH₂PO₄を含む。ある実施態様において、本発明のPBSは、塩化ナトリウムを実質的に含まず(ここに定義するとおり)、0.15 g/L KCl、1.08 g/L Na₂HPO₄および0.15 g/L KH₂PO₄を含むPBS緩衝液である。ある実施態様において、第二緩衝液系はTris緩衝液を含む。ある実施態様において、第二緩衝液系は、約10 mMの濃度でTris緩衝液を含む。ある実施態様において、Tris緩衝液は塩化ナトリウムを実質的に含まない。ある実施態様において、Tris緩衝液は、約6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む。ある実施態様において、第二緩衝液系はHis緩衝液を含む。ある実施態様において、第二緩衝液系は、約10 mMの濃度でHis緩衝液を含む。ある実施態様において、His緩衝液は塩化ナトリウムを実質的に含まない。ある実施態様において、His緩衝液は、約6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む。ある実施態様において、第二緩衝液系はHEPES緩衝液を含む。ある実施態様において、第二緩衝液系は、約10 mMの濃度でHEPES緩衝液を含む。ある実施態様において、HEPES緩衝液は塩化ナトリウムを実質的に含まない。ある実施態様において、HEPES緩衝液は、約6 mg/ml 塩化ナトリウムを含む。

20

30

【0227】

ある実施態様において、RNA-LNPは、約0.4 mg/ml~約0.6 mg/ml、約0.4 mg/ml~約0.5 mg/mlまたは約0.5 mg/ml~約0.6 mg/ml mRNAを含む。ある実施態様において、RNA-LNPは、約0.5 mg/ml mRNAを含む。

【0228】

製剤

本発明は、とりわけ、RNA治療の製剤および特に、核酸(例えば、mRNA)ペイロードを含む、LNP製剤に関するテクノロジーを提供する。このようなRNA/LNP製剤は、参照製剤と異なり、参照製剤に対して1以上の性質を修飾(例えば、改善する、特定の成分(例えば、保護剤および/または緩衝液成分)を含むおよび/または特定の方法により製造される。例えば、ある実施態様において、提供される製剤は、同じ脂質および核酸を含むが、保護剤および/または緩衝液および/またはある製造または処理工程が異なる参照製剤に対して改善を示す。

40

【0229】

ある実施態様において、本発明は、乾燥に適するおよび/または乾燥されている組成物を提供する。ある実施態様において、ここに記載する組成物は、凍結乾燥により乾燥される。

【0230】

50

ある実施態様において、ここに記載する組成物は、水を実質的に含まないまたは水を実質的に含まなくなるまで乾燥される。ある実施態様において、組成物は、0.8%未満、0.7%未満、0.6%未満、0.5%未満、0.4%未満または0.3% w/w未満の水を含む。ある実施態様において、ここに記載する組成物は、一定期間、例えば、1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月、7カ月、8カ月、9カ月、10カ月、11カ月、12カ月またはそれ以上を含む約1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間またはそれ以上およびある低温閾値より高い、例えば、約-80、-70、-50、-30、-20、0、2、4、8、15°、20、30、40またはそれ以上で、0.8%未満、0.7%未満、0.6%未満、0.5%未満、0.4%未満または0.3% w/w未満の水を維持する。

10

【0231】

本発明のある実施態様において、組成物は、乾燥(例えば、凍結乾燥)中、アニールされる。ある実施態様において、組成物は、乾燥中、アニールされない。

【0232】

ある実施態様において、低温閾値を超える温度で、少なくとも特定の期間貯蔵に安定である、組成物が提供される。ある実施態様において、ここに提供する組成物は、約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月、7カ月、8カ月、9カ月、10カ月、11カ月、12カ月またはそれ以上を含む少なくとも約1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間またはそれ以上の一定期間、貯蔵に安定である。ある実施態様において、ここに提供する組成物は、少なくとも約12週間貯蔵に安定である。ある実施態様において、組成物約-80、-70、-50、-30、-20、0、2、4、8、15°、20、30、40またはそれ以上であり得る低温閾値より高い温度で、貯蔵に安定である。ある実施態様において、組成物は、約0、2、5、8、25、40またはそれ以上の温度で、貯蔵に安定である。ある実施態様において、ここに提供する組成物は、約2~約40、2~約30、約2~約20、約2~約10、約8~約40、約20~約40または約30~約40の温度範囲で、少なくとも約12週間の一定期間、貯蔵に安定である。

20

【0233】

ある実施態様において、ここに記載する組成物は、脂質ナノ粒子(LNP)を含むコロイド状内容物の維持に基づき、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、LNP特徴(例えば、そのZ平均および/または多分散指数(PDI))を含むが、これらに限定されない)の維持に基づき、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、核酸完全性、核酸封入の程度(例えば、パーセント)および/または核酸発現度(例えば、例えば関連参照レベルのパーセントとして表され得るコード化ポリペプチドの発現レベル)の維持に基づき、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、関連参照レベルと比較して、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、そのような組成物内の脂質ナノ粒子がZ平均の約20nm未満の変化(Z平均の、例えば、19nm、18nm、17nm、16nm、15nm、14nm、13nm、12nm、11nm未満またはそれ以下の変化を含む)を示すならば、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、関連参照レベルと比較して、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、そのような組成物内の脂質ナノ粒子がZ平均の約10nm未満の変化(Z平均の、例えば、9nm、8nm、7nm、6nm、5nm、4nm、3nm、2nm、1nm、0.5nm未満またはそれ以下の変化を含む)を示すならば、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、関連参照レベルと比較して、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、そのような組成物内の脂質ナノ粒子が多分散指数(PDI)の0.1未満の変化(例えば、PDIの0.09、0.08、0.07、0.06、0.05、0.04、0.03またはそれより少ない変化を含む)を示すならば、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、関連参照レベルと比較して、指定され

30

40

50

た一連の条件下で、一定期間にわたり、そのような組成物に少なくとも50% (例えば、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%、少なくとも98%、少なくとも99%またはそれ以上を含む)の核酸封入が維持されるならば、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、関連参照レベルと比較して、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、コード化ポリペプチドの発現レベルの少なくとも50% (例えば、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%、少なくとも98%、少なくとも99%またはそれ以上を含む)が維持されるならば、安定と考えられる。

【0234】

10

ある実施態様において、ここに記載する組成物(例えば、LNP組成物)は、第一緩衝液系に調製され、次いでここに記載する第二緩衝液系に交換される。

【0235】

ある実施態様において、LNPここに記載する組成物は、1以上の粒子形成脂質を含む。ある実施態様において、粒子形成脂質は、((4-ヒドロキシブチル)アザンジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)(ALC-0315)、2-[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミド(ALC-0159)、ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)およびコレステロールを含む。

【0236】

20

ある実施態様において、LNP組成物は、それぞれ、約8:1:1.5:3~約9:1:2:3.5の範囲の相対的質量比で存在する、ALC-0315、ALC-0159、DSPCおよびコレステロールを含む。

【0237】

ある実施態様において、LNPここに記載する組成物は、それぞれ、7.17 mg/ml、0.89 mg/ml、1.56 mg/mlおよび3.1 mg/ml濃度で、ALC-0315、ALC-0159、DSPCおよびコレステロールを含む。

【0238】

本発明のある実施態様は、1以上の保護剤を利用する。ある実施態様において、保護剤は、スクロース、トレハロースまたはそれらの組み合わせであるかまたはそれを含む。ある実施態様において、スクロースは本発明の組成物または方法において約10% w/v濃度である。ある実施態様において、トレハロースは本発明の組成物または方法において約10% w/v濃度である。ある実施態様において、本発明の組成物または方法において、スクロースは約5% w/v濃度であり、トレハロースは約5% w/v濃度である。

30

【0239】

ある実施態様において、凍結保護剤が、凍結工程または乾燥工程前に、組成物に添加され、所望の濃度(例えば、ここに記載するもの)にされる。

【0240】

ある実施態様において、保護剤は、例えば、ここに記載するとおり、LNPが調製される、第一緩衝液系に添加される。ある実施態様において、保護剤は第一緩衝液系および第二緩衝液系両方に添加される。保護剤が第一緩衝液系および第二緩衝液系両方に添加される実施態様において、各緩衝液系に異なる保護剤を使用しても、同じ保護剤を使用してもよい。保護剤が第一緩衝液系および第二緩衝液系両方に添加される実施態様において、保護剤の異なる濃度を使用しても、同じ濃度を使用してもよい。

40

【0241】

本発明のある実施態様は、1以上の緩衝液系を利用する。ある実施態様において、第一および第二緩衝液系が利用される。

【0242】

ある実施態様において、提供される組成物の調製および/または使用は、例えば、ある実施態様において、例えば、希釈されたLNP組成物に含まれる緩衝液系などの先に使用し

50

た緩衝液系と同じであり得て、他の実施態様において、異なり得る、緩衝液系の添加による、希釈の工程を含み得る。

【0243】

ある実施態様において、利用する緩衝液(例えば、ここに記載する緩衝液系で利用する緩衝液)は塩化ナトリウムを実質的に含まない。この文脈での実質的に含まないとは、ある実施態様において、ナトリウムおよび/または塩化物イオンがこのような製剤中の他の要素によりなお存在し得るとしても、塩化ナトリウムが添加されないことを意味することを、当業者は理解する。

【0244】

ある実施態様において、提供される組成物は、LNP(すなわち、核酸/LNP)、保護剤および緩衝液を含む。ある実施態様において、緩衝液はナトリウムイオンを含まない。ある実施態様において、緩衝液は塩を含まない。ある実施態様において、緩衝液は、ここに記載するHEPES緩衝液、Tris緩衝液またはHis緩衝液である。ある実施態様において、緩衝液は、NaClを使用せずに製造したリン酸緩衝化食塩水バリエーションである。ある実施態様において、緩衝液は、NaCl、KCl、Na₂HPO₄およびKH₂PO₄を含む参照PBSと比較してナトリウムイオンレベルが低いPBSバリエーションである;ある実施態様において、このような参照PBSは、137mM NaCl(すなわち、8g/L NaCl)、2.7mM KCl(すなわち、0.2g/L KCl)、10mM Na₂HPO₄(すなわち、1.44g/L Na₂HPO₄)および1.8mM KH₂PO₄(すなわち、0.24g/L KH₂PO₄)を含む(またはそれからなる)「標準的」PBSである。ある実施態様において、本発明で利用する緩衝液は、このような参照標準的PBSで見られるより低いレベルのナトリウムイオンを有する、PBSバリエーションである。ある実施態様において、本発明で利用する緩衝液は、約10mMのTris緩衝液である。ある実施態様において、本発明で利用する緩衝液は、約10mMのHis緩衝液である。ある実施態様において、本発明で利用する緩衝液は、約10mMのHEPES緩衝液である。ある実施態様において、本発明で利用する緩衝液は、6mg/ml 塩化ナトリウムが補われる。

10

20

【0245】

ある実施態様において、本発明の組成物は、緩衝液での希釈により投薬形態に調製される。

30

【0246】

使用

ここに記載する本発明により提供されるテクノロジー1以上の核酸/LNP(例えば、RNA/LNP)組成物の製剤および/または投与に関連するおよび/またはそれに有用である。

【0247】

ある実施態様において、ここに記載するテクノロジーは、約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月、7カ月、8カ月、9カ月、10カ月、11カ月、12カ月またはそれ以上を含む少なくとも約1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間またはそれ以上の一定期間、貯蔵に安定であるLNP組成物(例えば、LNP/RNA組成物)を提供する。ある実施態様において、本発明のテクノロジーは、少なくとも約12週間貯蔵に安定であるLNP組成物を提供する。ある実施態様において、提供される組成物約-80、-70、-50、-30、-20、0、2、4、8、15°、20、30、40またはそれ以上であり得る低温閾値より高い温度で、貯蔵に安定である。ある実施態様において、提供される組成物は、約0、2、5、8、25、40またはそれ以上の温度で、貯蔵に安定である。ある実施態様において、LNPここに提供する組成物は、約2~約40、2~約30、約2~約20、約2~約10、約8~約40、約20~約40または約30~約40の温度範囲で、少なくとも約12週間の一定期間、貯蔵に安定である。

40

50

【0248】

ここに記載する提供される組成物は、脂質ナノ粒子(LNP)を含むコロイド状内容物の維持に基づき、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、LNP特徴(例えば、そのZ平均および/または多分散指数(PDI)を含むが、これらに限定されない)の維持に基づき、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、核酸完全性、核酸封入の程度(例えば、パーセント)および/または核酸発現度(例えば、例えば関連参照レベルのパーセントとして表され得るコード化ポリペプチドの発現レベル)の維持に基づき、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、関連参照レベルと比較して、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、そのような組成物内の脂質ナノ粒子がZ平均の約20nm未満の変化(Z平均の、例えば、19nm、18nm、17nm、16nm、15nm、14nm、13nm、12nm、11nm未満またはそれ以下の変化を含む)を示すならば、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、関連参照レベルと比較して、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、そのような組成物内の脂質ナノ粒子がZ平均の約10nm未満の変化(Z平均の、例えば、9nm、8nm、7nm、6nm、5nm、4nm、3nm、2nm、1nm、0.5nm未満またはそれ以下の変化を含む)を示すならば、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、関連参照レベルと比較して、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、そのような組成物内の脂質ナノ粒子が多分散指数(PDI)の0.1未満の変化(例えば、PDIの0.09、0.08、0.07、0.06、0.05、0.04、0.03またはそれより少ない変化を含む)を示すならば、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、関連参照レベルと比較して、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、そのような組成物に少なくとも50%(例えば、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%、少なくとも98%、少なくとも99%またはそれ以上を含む)の核酸封入が維持されるならば、安定と考えられる。ある実施態様において、提供されるここに記載する組成物は、関連参照レベルと比較して、指定された一連の条件下で、一定期間にわたり、コード化ポリペプチドの発現レベルの少なくとも50%(例えば、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%、少なくとも98%、少なくとも99%またはそれ以上を含む)が維持されるならば、安定と考えられる。

10

20

30

【0249】

ある実施態様において、ここに提供されるテクノロジーは、ウイルス抗原、例えば、アデノウイルス、サイトメガロウイルス、ヘルペスウイルス、ヒトパピローマウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、コロナウイルス、呼吸器多核体ウイルス、インフルエンザウイルスおよびムンプスウイルスからなる群から選択されるウイルスと関連する抗原であるかまたはそれを含むことができる抗原を利用する。ある実施態様において、抗原は、ボルティモア分類システムに基づき、第I群、第II群、第III群、第IV群、第V群、第VI群または第VII群ウイルスから選択されるウイルスと関連するウイルス抗原であるかまたはそれを含んでよい。ある実施態様において、ここに記載するテクノロジーは、対象にウイルスファミリーアデノウイルス科、パポバウイルス科、パルボウイルス科、ヘルペスウイルス科、ボックスウイルス科、アネロウイルス科、プレオリポウイルス科、レオウイルス科、ピコルナウイルス科、カリシウイルス科、トガウイルス科、アレナウイルス科、フラビウイルス科、オルトミクソウイルス科、パラミクソウイルス科、プニヤウイルス科、ラプトウイルス科、フィロウイルス科、コロナウイルス科、アストロウイルス科、ボルナウイルス科、アルテリウイルス科またはヘペウイルス科から選択されるウイルスからの免疫を提供するウイルス。ある実施態様において、ここに記載するテクノロジーは、対象にウイルス感染に対する免疫を提供する。ある実施態様において、ここに記載するテクノロジーは、対象にコロナウイルス、コロナウイルス感染またはコロナウイルスと関連する疾患または障害に対する免疫を提供する。故に、本発明は、コロナウイルスと関連する感染、疾患または障害の処置または予防のための組成物および方法を提供する。

40

50

【 0 2 5 0 】

ある実施態様において、ここに記載するテクノロジーは、コロナウイルスと関連する感染、疾患または障害を有する対象に投与される L N P 組成物を提供する。ある実施態様において、ここに記載するテクノロジーは、コロナウイルスと関連する感染、疾患または障害を発症するリスクのある対象に投与するための L N P 組成物を提供する。例えば、ここに記載するテクノロジーは、コロナウイルスと接触するリスクのある対象に投与し得る、L N P 組成物を提供する。ある実施態様において、ここに記載するテクノロジーは、コロナウイルスが蔓延している地理的領域に住んでいる、旅行するまたは旅行が予測される対象に投与する L N P 組成物を提供する。ある実施態様において、ここに記載するテクノロジーは、地理的領域に住んでいる、旅行するまたは旅行が予測される他人と接触するまたは摂食が予測される対象に投与する L N P 組成物を提供する。ある実施態様において、ここに記載するテクノロジーは、職業またはその他の接触を介してコロナウイルスにさらされていることが知られる対象に投与する L N P 組成物を提供する。ある実施態様において、コロナウイルスは S A R S - C o V - 2 である。

10

【 0 2 5 1 】

ある実施態様において、ここに記載するテクノロジーは、疾患または障害に罹患しているまたは発症するリスクのある(または易罹患性である)対象に、予防的(すなわち、疾患または障害の予防のため)または治療的(すなわち、疾患または障害の処置のため)に投与され得る組成物を提供する。このような対象は、標準的臨床的方法を使用して同定される。本発明の状況において、予防的投与は、疾患または障害が予防される(例えば、疾患死亡率または罹病率の負担を減少する)またはそれとは別にその進行を遅延するように、疾患の明白な臨床的症状の顕在化前に行う。

20

【 0 2 5 2 】

投与

ここに提供されるのは、ペイロード(例えば、m R N A)を、そのようなペイロードを必要とする対象の細胞に送達するための組成物(例えば、医薬組成物)および方法である。ある実施態様において、提供される組成物は、ウイルス感染に対する予防目的および/またはウイルス感染を処置する治療目的で投与される。ある実施態様において、本発明のテクノロジーは、コロナウイルス、例えば、S A R S - C o V - 2 の処置のための治療剤または予防剤として使用できる組成物を提供する。

30

【 0 2 5 3 】

本発明の医薬組成物は、例えば、特定の疾患、障害または状態の診断がされていないおよび/または1以上の特定の症状または特徴を示していない対象に、予防目的で投与され得る。ある実施態様において、ここに提供される医薬組成物は、免疫予防有効量の量で、対象の細胞または組織に投与される。ここに提供される医薬組成物は、他の治療または予防化合物と共に投与し得る。

【 0 2 5 4 】

ある実施態様において、医薬組成物は、例えば、特定の疾患、障害または状態の診断がされているおよび/または1以上の特定の症状または特徴を示している対象に、治療的に投与される。ある実施態様において、ここに提供される医薬組成物は、対象の細胞または組織に、治療有効量の量で投与される。このようなここに提供される医薬組成物は、他の治療または予防化合物と共に投与し得る。

40

【 0 2 5 5 】

予防および/または治療目的に必要な提供される医薬組成物(例えば、R N A / L N P 組成物)の正確な量は、数ある考慮事項の中で、対象の種、年齢および一般的状態、疾患の重症度、投与方法および活性のモードに依存して、対象毎に異なる。しかしながら、提供される組成物の使用は、合理的な医学的判断の範囲内で、処置医により決定され得ることは理解される。従って、特定の患者に対する特定の治療および/または予防有効用量は、処置する障害および障害の重症度、用いる特定の組成物の活性または効力、患者の年齢、体重、一般的健康、性別および食習慣、投与時間、投与経路および用いる特定の化合物

50

の排泄速度、処置期間；用いる具体的化合物と組み合わせるまたは同時に使用される薬物および医学分野で周知の類似因子を含む、多様な因子に依存する。

【0256】

ある実施態様において、提供される医薬組成物は、他の治療を受けている、受けるまたは将来受ける対象に投与される。ある実施態様において、他の治療は、提供される治療で処置される疾患、障害または状態の1以上の症状または性質に対処する、他の治療と、例えば、同時にまたは交互レジメンで、投与される。それとは別にまたはそれに加えて、ある実施態様において、他の治療は、異なる疾患の1以上の症状または性質に対処する。一例を挙げると、種々の実施態様において、複数の予防治療(例えば、予防ワクチン)を、実質的に同時に投与するのが望ましいことがあり得る。

10

【0257】

ここに記載する医薬組成物は、1以上のアジュバントを含んでよくまたは1以上のアジュバントと組み合わせで投与し得る(すなわち、それを受けている、受けるまたは受ける予定である対象に投与し得る)。本発明で利用するアジュバントは、免疫応答を延長、増強または加速するあらゆる化合物に関し得る。アジュバントは、油エマルジョン(例えば、フロイントアジュバント)、鉱物化合物(例えば、ミョウバン)、細菌産物(例えば、百日咳毒素)または免疫刺激複合体などの化合物の異種群を含む。アジュバントの例は、LP S、GP96、CpGオリゴデオキシヌクレオチド、増殖因子およびサイトカイン、例えばモノカイン、リンホカイン、インターロイキン、ケモカインを含むが、これらに限定されない。本発明で利用されるサイトカインは、IL1、IL2、IL3、IL4、IL5、IL6、IL7、IL8、IL9、IL10、IL12、IFN、IFN、GM-CSF、LT-aまたはそれらの組み合わせであり得る。本発明で使用され得るさらに知られるアジュバントは、水酸化アルミニウム、フロイントアジュバントまたは油、例えば、Montanide(登録商標)ISA51である。本発明で使用するための他の適当なアジュバントは、Pam3Cysなどのリポペプチドを含む。

20

【0258】

ここに記載する医薬組成物は、例えば、約0.50mg/mLの濃度で、注射用溶液のための凍結濃縮物として提供され得る。ある実施態様において、注射用溶液の製剤のために、製剤を、例えば、一工程希釈法で、等張塩化ナトリウム溶液(例えば、0.9%NaCl、食塩水)で、解凍および希釈および/または再水和および希釈する。最終注射用溶液の濃度は、投与される各用量レベルに依存して変わる。

30

【0259】

ある実施態様において、0.1 μ g~300 μ g、0.5 μ g~200 μ gまたは1 μ g~100 μ g、例えば約1 μ g、約3 μ g、約10 μ g、約30 μ g、約50 μ gまたは約100 μ gのここに記載するRNAの量を、用量あたり投与し得る。ある実施態様において、ここに記載される開示される組成物は単一用量で投与される。ある実施態様において、ここに記載する組成物は、プライミング用量、続いて1以上のブースター用量で投与される。ある実施態様において、ブースター用量または第一ブースター用量を、プライミング用量の投与後、7~28日または14~24日に投与し得る。

40

【0260】

ある実施態様において、60 μ g以下、50 μ g以下、40 μ g以下、30 μ g以下、20 μ g以下、10 μ g以下、5 μ g以下、2.5 μ g以下または1 μ g以下のここに記載するRNAの量を、用量あたり投与し得る。

【0261】

ある実施態様において、少なくとも0.25 μ g、少なくとも0.5 μ g、少なくとも1 μ g、少なくとも2 μ g、少なくとも3 μ g、少なくとも4 μ g、少なくとも5 μ g、少なくとも10 μ g、少なくとも20 μ g、少なくとも30 μ gまたは少なくとも40 μ gのここに記載するRNAの量を、用量あたり投与し得る。

【0262】

ある実施態様において、0.25 μ g~60 μ g、0.5 μ g~55 μ g、1 μ g~50 μ g

50

、5 µg ~ 40 µg または 10 µg ~ 30 µg のここに記載する RNA の量を、用量あたり投与し得る。

【0263】

ある実施態様において、約 30 µg のここに記載する RNA の量を、用量あたり投与する。ある実施態様において、このような用量を少なくとも 2 回投与する。例えば、2 回目の投与は、最初の投与後約 21 日に投与し得る。

【0264】

ある実施態様において、上記のとおり投与される RNA は、BNT162b2 (RBP020.1 または RBP020.2) としてここに記載するヌクレオシド修飾メッセンジャー RNA (modRNA) である。ある実施態様において、上記のとおり投与される RNA は、RBP020.2 としてここに記載するヌクレオシド修飾メッセンジャー RNA (modRNA) である。

【0265】

ある実施態様において、本発明の免疫原性組成物またはワクチンの投与は、単一投与で実施しても、複数投与によりブーストしてもよい。

【0266】

配列表

配列番号 1

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Pro Leu Val Ser Gln Cys Val	
1 5 10 15	20
Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe	
20 25 30	
Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu	
35 40 45	
His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp	
50 55 60	
Phe His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp	
65 70 75 80	
Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu	
85 90 95	30
Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser	
100 105 110	
Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile	
115 120 125	
Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr	
130 135 140	
Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr	
145 150 155 160	
Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu	
165 170 175	40
Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe	
180 185 190	
Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr	
195 200 205	
Pro Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu	
210 215 220	
Pro Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr	
225 230 235 240	
Leu Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser	
245 250 255	50

Gly Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro
 260 265 270
 Arg Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala
 275 280 285
 Val Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys
 290 295 300
 Ser Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val
 305 310 315 320
 Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys
 325 330 335 10
 Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala
 340 345 350
 Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu
 355 360 365
 Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro
 370 375 380
 Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe
 385 390 395 400
 Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly
 405 410 415 20
 Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys
 420 425 430
 Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn
 435 440 445
 Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe
 450 455 460
 Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys
 465 470 475 480
 Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly
 485 490 495 30
 Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val
 500 505 510
 Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys
 515 520 525
 Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn
 530 535 540
 Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu
 545 550 555 560
 Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val
 565 570 575 40
 Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe
 580 585 590
 Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val
 595 600 605
 Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile
 610 615 620
 His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser
 625 630 635 640
 Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val
 645 650 655 50

Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala		
660	665 670	
Ser Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala		
675	680 685	
Ser Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser		
690	695 700	
Val Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile		
705	710 715 720	
Ser Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val		
725	730 735	10
Asp Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu		
740	745 750	
Leu Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr		
755	760 765	
Gly Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln		
770	775 780	
Val Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe		
785	790 795 800	
Asn Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser		
805	810 815	20
Phe Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly		
820	825 830	
Phe Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp		
835	840 845	
Leu Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu		
850	855 860	
Leu Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly		
865	870 875 880	
Thr Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile		
885	890 895	30
Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr		
900	905 910	
Gln Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn		
915	920 925	
Ser Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala		
930	935 940	
Leu Gly Lys Leu Gln Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn		
945	950 955 960	
Thr Leu Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val		
965	970 975	40
Leu Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln		
980	985 990	
Ile Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val		
995	1000 1005	
Thr Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn		
1010	1015 1020	
Leu Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys		
1025	1030 1035	
Arg Val Asp Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro		
1040	1045 1050	50

Gln Ser Ala Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val	
1055	1060 1065
Pro Ala Gln Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His	
1070	1075 1080
Asp Gly Lys Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn	
1085	1090 1095
Gly Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln	
1100	1105 1110
Ile Ile Thr Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val	
1115	1120 1125
Val Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro	10
1130	1135 1140
Glu Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn	
1145	1150 1155
His Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn	
1160	1165 1170
Ala Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu	
1175	1180 1185
Val Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu	
1190	1195 1200
Gly Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu	20
1205	1210 1215
Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met	
1220	1225 1230
Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys	
1235	1240 1245
Ser Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro	
1250	1255 1260
Val Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr	
1265	1270

【 0 2 6 7 】

配列番号 2

```

auguuugugu uucuugugcu gcugccucu gugucuucuc agugugugaa uuugacaac
a      60
agaacacagc ugccaccagc uuauacaaau ucuuuuacca gaggagugua uuauccugau
120
aaaguguuuu gaucuucugu gcugcacagc acacaggacc uguuucugcc auuuuuuagc
180
aaugugacau gguuucaugc aaaucaugug ucuggaacaa auggaacaaa aagauuugau
240
aauccugugc ugccuuuuua ugauggagug uauuuugcuu caacagaaaa gucaaaauuu
300
auuagaggau ggauuuuugg aacaacacug gauucuaaaa cacagucucu gcugauugug
360
aauaaugcaa caaauuguggu gauuaaagug ugugaauuuc aguuuuguaa ugauccuuu
u      420
cugggagugu auuauacaaa aaauaaauaaa ucuuggaugg aaucugaauu uagaguguau
480
uccucugcaa auaauuguac auuugaauau gugucucagc cuuuucugau ggaucuggaa
540

```

ggaaaacagg gcaauuuuaa aaaucugaga gaauuugugu uuaaaaaauu ugauggauau
 600
 uuaaaaauuu auucuaaaca cacaccaauu aauuuaguga gagaucugcc ucagggauuu
 660
 ucugcucugg aaccucuggu ggaucugcca auuggcauua auauuacaag auuucagaca
 720
 cugcuggcuc ugcacagauc uuaucugaca ccuggagauu cuucuucugg auggacagcc
 780
 ggagcugcag cuuauuaugu gggcuauucug cagccaagaa cauucugcu gaaauuaau
 840
 gaaaauggaa caauuacaga ugcuguggau ugugcucugg auccucuguc ugaacaacaaa
 900
 uguacauuaa aaucuuuuac aguggaaaaa ggcauuuauc agacaucuaa uuuuagagug
 960
 cagccaacag aaucuauugu gagauuucca aaauuacaa aucugugucc auuuggagaa
 1020
 guguuuaaug caacaagauu ugcaucugug uaugcaugga auagaaaaag aauuucuaau
 1080
 uguguggcug auuauucugu gcuguaauau agugcuucuu uuuccacaau uaaauguua
 u 1140
 ggagugucuc caacaaaauu aaaugauuuu uguuuuacaa auguguaugc ugaucuuuu
 u 1200
 gugaucagag gugaugaagu gagacagauu gccccggac agacaggaaa aaugcugau
 1260
 uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca ggauguguga uugcuuggaa uucuaauauu
 1320
 uuagauucua aagugggagg aaauuacaa uaucuguaca gacuguuuag aaaaucaaa
 1380
 cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaaca gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu
 1440
 aauggagugg aaggauuuua uuguuauuuu ccauuacaga gcuauggauu ucagccaacc
 1500
 aauggugugg gauaucagcc auauagagug guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca
 1560
 ccugcaacag uguguggacc uaaaaaaaauc acaauuuuag ugaaaaauaa augugugauu
 1620
 uuaauuuuuu auggauuaac aggaacagga gugcugacag auucuaauaa aaaauuucug
 1680
 ccuuuucagc aguuuggcag agauauugca gauaccacag augcagugag agauccucag
 1740
 acauuagaaa uucuggauau uacaccuugu uuuuuuggg gugugucugu gauuacaccu
 1800
 ggaacaaaua caucuaauca gguggcugug cuguaucagg augugaaug uacagaagug
 1860
 ccaguggcaa uucaugcaga ucagcugaca ccaacaugga gaguguauc uacaggauc
 1920
 aauguguuuc agacaagagc aggaugucug auuggagcag acaugugaa uauuucuuu
 1980
 gaaugugaua uuccaaauug agcaggcauu ugugcaucuu aucagacaca gacaaaaucc
 2040

10

20

30

40

50

ccaaggagag caagaucugu ggcaucucag ucuauuauug cauacaccau gucucuggga
 2100
 gcagaaaauu cuguggcaua uucuaauauu ucuauugcua uuccaacaaa uuuuaccauu
 2160
 ucugugacaa cagaaauuuu accugugucu augacaaaa caucugugga uuguaccaug
 2220
 uacauuugug gagauucua acagauguucu aaucugcugc ugcaguaugg aucuuuuug
 u 2280
 acacagcuga auagagcuuu aacaggaauu gcuguggaac aggauaaaa uacacaggaa
 2340
 guguuugcuc aggugaaaca gauuuacaaa acaccaccaa uuaaagauuu uggaggauuu
 2400
 aauuuuagcc agauucugcc ugaucuuucu aaaccuucua aaagaucuuu uauugaagau
 2460
 cugcuguuuu auaaagugac acuggcagau gcaggauuuu uuaaacagua uggagauugc
 2520
 cugggugaua uugcugcaag agaucugauu ugugcucaga aauuuauugg acugacagug
 2580
 cugccuccuc ugcugacaga ugaaaugauu gcucaguaca caucugcuuu acuggcugga
 2640
 acauuuacaa gcggauggac auuuggagcu ggagcugcuc ugcagauucc uuuugcaaug
 2700
 cagauggcuu acagauuuua uggauuugga gugacacaga auguguuua ugaaaaucag
 2760
 aaacugauug caaaucaguu uaaucugca auuggcaaaa uucaggauuc ucugucuucu
 2820
 acagcuucug cucugggaaa acugcaggau guggugaauc agaaugcaca ggcacugaau
 2880
 acucugguga aacagcuguc uagcauuuu ggggcauuu cuucugugcu gaaugauuu
 2940
 cugucuagac uggauaaagu ggaagcugaa gugcagauug auagacugau cacaggaaga
 3000
 cugcagucuc ugcagacuua ugugacacag cagcugauua gagcugcuga aauuagagcu
 3060
 ucugcuauuc uggcugcuac aaaaugucu gaaugugugc ugggacaguc aaaaagagug
 3120
 gauuuuugug gaaaaggaua ucaucugaug ucuuuuccac agucugcucc acauggagug
 3180
 guguuuuuac augugacaua ugugccagca caggaaaaga auuuuaccac agcaccagca
 3240
 auuugucaug auggaaaagc acauuuucca agagaaggag uguuuguguc uaauggaaca
 3300
 cauugguuug ugacacagag aaauuuuuu gaaccucaga uuaauacaac agauaaucac
 3360
 uuugugucag gaaauuguga uguggugauu ggaauuguga auaaucagug gaaugauuc
 a 3420
 cugcagccag aacuggauuc uuuuaaagaa gaacuggaua auuuuuuuu aaucacaca
 3480
 ucuccugaug uggauuuagg agauuuuucu ggaaucaaug caucuguggu gaaauuucag
 3540

10

20

30

40

50

aaagaaaauug auagacugaa ugaaguggcc aaaaaucuga augaaucucu gauugaucug
 3600
 caggaacuug gaaaauuga acaguacauu aaauuggccuu gguacauuug gcuuggauuu
 3660
 auugcaggau uaaauugcaau ugugauggug acaauuaugu uauguuguau gacaucaug
 u 3720
 uguucuuguu uaaaaggaug uuguucuugu ggaagcuguu guaaaauuga ugaagauga
 u 3780
 ucugaaccug uguuaaaagg agugaaauug cauuacaca 3819

【 0 2 6 8 】

10

配列番号 7

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val
 1 5 10 15
 Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe
 20 25 30
 Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu
 35 40 45
 His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp
 50 55 60
 Phe His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp 20
 65 70 75 80
 Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu
 85 90 95
 Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser
 100 105 110
 Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile
 115 120 125
 Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr
 130 135 140
 Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr 30
 145 150 155 160
 Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu
 165 170 175
 Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe
 180 185 190
 Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr
 195 200 205
 Pro Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu
 210 215 220
 Pro Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr 40
 225 230 235 240
 Leu Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser
 245 250 255
 Gly Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro
 260 265 270
 Arg Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala
 275 280 285
 Val Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys
 290 295 300
 Ser Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val 50

305 310 315 320
 Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys
 325 330 335
 Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala
 340 345 350
 Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu
 355 360 365
 Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro
 370 375 380
 Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe 10
 385 390 395 400
 Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly
 405 410 415
 Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys
 420 425 430
 Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn
 435 440 445
 Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe
 450 455 460
 Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys 20
 465 470 475 480
 Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly
 485 490 495
 Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val
 500 505 510
 Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys
 515 520 525
 Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn
 530 535 540
 Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu 30
 545 550 555 560
 Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val
 565 570 575
 Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe
 580 585 590
 Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val
 595 600 605
 Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile
 610 615 620
 His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser 40
 625 630 635 640
 Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val
 645 650 655
 Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala
 660 665 670
 Ser Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala
 675 680 685
 Ser Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser
 690 695 700
 Val Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile 50

705	710	715	720	
Ser Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val				
	725	730	735	
Asp Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu				
	740	745	750	
Leu Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr				
	755	760	765	
Gly Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln				
	770	775	780	
Val Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe				10
785	790	795	800	
Asn Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser				
	805	810	815	
Phe Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly				
	820	825	830	
Phe Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp				
	835	840	845	
Leu Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu				
	850	855	860	
Leu Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly				20
865	870	875	880	
Thr Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile				
	885	890	895	
Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr				
	900	905	910	
Gln Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn				
	915	920	925	
Ser Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala				
	930	935	940	
Leu Gly Lys Leu Gln Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn				30
945	950	955	960	
Thr Leu Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val				
	965	970	975	
Leu Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Pro Pro Glu Ala Glu Val Gln				
	980	985	990	
Ile Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val				
	995	1000	1005	
Thr Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn				
	1010	1015	1020	
Leu Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys				40
1025	1030	1035		
Arg Val Asp Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro				
	1040	1045	1050	
Gln Ser Ala Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val				
	1055	1060	1065	
Pro Ala Gln Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His				
	1070	1075	1080	
Asp Gly Lys Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn				
	1085	1090	1095	
Gly Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln				50

1100	1105	1110	
Ile Ile Thr Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val			
1115	1120	1125	
Val Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro			
1130	1135	1140	
Glu Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn			
1145	1150	1155	
His Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn			
1160	1165	1170	
Ala Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu			10
1175	1180	1185	
Val Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu			
1190	1195	1200	
Gly Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu			
1205	1210	1215	
Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met			
1220	1225	1230	
Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys			
1235	1240	1245	
Ser Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro			20
1250	1255	1260	
Val Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr			
1265	1270		

【 0 2 6 9 】

配列番号 8

```

auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc agugugugaa uuugacaac
a      60
agaacacagc ugccaccagc uuauacaaau ucuuuuacca gaggagugua uuauccugau
120
aaaguguuua gaucuucugu gcugcacagc acacaggacc uguuucugcc auuuuuuagc 30
180
aaugugacau gguuucaugc aaaucaugug ucuggaacaa auggaacaaa aagauuugau
240
aauccugugc ugccuuuuua ugauggagug uauuuugcuu caacagaaaa gucaaaauuu
300
auuagaggau ggauuuuugg aacaacacug gauucuaaaa cacagucucu gcugauugug
360
aauaaugcaa caaauugugg gauuaaagug ugugaauuuc aguuuuguaa ugauccuuu
u      420
cugggagugu auuauacaaa aaauaauaaa ucuuggaugg aaucugaauu uagaguguau 40
480
uccucugcaa auaauuguac auuugaauau gugucucagc cuuuucugau ggaucuggaa
540
ggaaaacagg gcaauuuuaa aaaucugaga gaauuugugu uuaaaaaauu ugauggauau
600
uuuaaaauuu auucuaaaca cacaccaauu aauiuaguga gagaucugcc ucagggauuu
660
ucugcucugg aaccucuggu ggaucugcca auuggcauua auauuacaag auuucagaca
720
cugcuggcuc ugcacagauc uauucugaca ccuggagauu cuucuucugg auggacagcc 50

```

780

ggagcugcag cuuauuaugu gggcuaucug cagccaagaa cauucugcu gaaauuaau

840

gaaaauaggaa caauacaga ugcuguggau ugugcucugg auccucuguc ugaacaaaa

900

uguacauuaa aaucuuuac aguggaaaaa ggcauuuauc agacaucuaa uuuuagagug

960

cagccaacag aaucuaauugu gagauuucca aaauuacaa aucugugucc auuuggagaa

1020

guguuuuaug caacaagauu ugcaucugug uaugcaugga auagaaaaag aaauucuaau

1080

uguguggcug auuauucugu gcuguauaa agugcuucuu uuuccacauu uaaauguua

u 1140

ggagugucuc caacaaaauu aaaugauua uguuuuacaa auguguaugc ugaauucuuu

u 1200

gugaucagag gugaugaagu gagacagauu gccccggac agacaggaaa aaaugcugau

1260

uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca ggauguguga uugcuuggaa uucuaauaa

1320

uuagauucua aagugggagg aaauuacaa uaucuguaca gacuguuuag aaaaucaaa

1380

cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaca gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu

1440

aauggagugg aaggauuaa uuguuauuuu ccuuuacaga gcuauggauu ucagccaacc

1500

aauggugugg gauaucagcc auauagagug guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca

1560

ccugcaacag uguguggacc uaaaaaaucu acaaaauuag ugaaaaauaa augugugaau

1620

uuuaauuuua auggauuaac aggaacagga gugcugacag aaucuaauaa aaaaauucug

1680

ccuuuucagc aguuuggcag agauauugca gauaccacag augcagugag agauccucag

1740

acauuagaaa uucuggauau uacaccuugu ucuuuugggg gugugucugu gauuacaccu

1800

ggaacaaaua caucuaauca gguggcugug cuguaucagg augugaauug uacagaagug

1860

ccaguggcaa uucaugcaga ucagcugaca ccaacaugga gaguguauuc uacaggauuc

1920

aauguguuuc agacaagagc aggaugucug auuggagcag acaugugaa uauuucuuu

1980

gaaugugaua uucaauugg agcaggcauu ugugcaucuu aucagacaca gacaaaaucc

2040

ccaaggagag caagaucugu ggcaucucag ucuauuauug cauacaccau gucucuggga

2100

gcagaaaauu cuguggcaua uucuaauaa ucuauugcua uucaacaaa uuuuaccauu

2160

ucugugacaa cagaaauuuu accugugucu augacaaaa caucugugga uuguaccaug

2220

uacauuugug gagauucua agaauguucu aaucugcugc ugcaguaugg aucuuuuug

50

10

20

30

40

u 2280
 acacagcuga auagagcuuu aacaggaauu gcuguggaac aggauaaaa uacacaggaa
 2340
 guguuugcuc aggugaaaca gauuuacaaa acaccaccaa uuaaagauuu uggaggauuu
 2400
 aauuuuagcc agauucugcc ugaucuuucu aaaccuucua aaagaucuuu uauugaagau
 2460
 cugcuguuuu auaaagugac acuggcagau gcaggauuuu uuaaacagua uggagauugc
 2520
 cugggugaua uugcugcaag agaucugauu ugugcucaga aauuuuauugg acugacagug 10
 2580
 cugccuccuc ugcugacaga ugaaaugauu gcucaguaca caucugcuuu acuggcugga
 2640
 acauuuacaa gcggauggac auuuggagcu ggagcugcuc ugcagauucc uuuugcaaug
 2700
 cagauggcuu acagauuuua uggaaauugga gugacacaga auguguuua ugaaaaucag
 2760
 aaacugauug caaaucaguu uaaucugca auuggcaaaa uucaggauuc ucugucuucu
 2820
 acagcuucug cucugggaaa acugcaggau guggugaauc agaaugcaca ggcacugaau 20
 2880
 acucugguga aacagcuguc uagcauuuu ggggcauuu cuucugugcu gaaugauuu
 2940
 cugucuagac uggauccucc ugaagcugaa gugcagauug auagacugau cacaggaaga
 3000
 cugcagucuc ugcagacuua ugugacacag cagcugauua gagcugcuga aauuagagcu
 3060
 ucugcuuauc uggcugcuac aaaaugucu gaaugugugc ugggacaguc aaaaagagug
 3120
 gauuuuugug gaaaaggaua ucaucugaug ucuuuuccac agucugcucc acauggagug 30
 3180
 guguuuuuac augugacaua ugugccagca caggaaaaga auuuuaccac agcaccagca
 3240
 auuugucaug auggaaaagc acauuuucca agagaaggag uguuuguguc uaauggaaca
 3300
 cauugguuug ugacacagag aauuuuuuau gaaccucaga uuauuacaac agauauaca
 3360
 uuugugucag gaaauuguga uguggugauu ggaauuguga auauuacagu guaugaucc
 a 3420
 cugcagccag aacuggauuc uuuuaaagaa gaacuggaua auuuuuuaa aaucacaca 40
 3480
 ucuccugaug uggauuuagg agauuuucu ggaaucaaug caucuguggu gaauuuucag
 3540
 aaagaaaauug auagacugaa ugaaguggcc aaaaucuga augaaucucu gauugaucug
 3600
 caggaacuug gaaaauauga acaguacauu aaauggccuu gguacauuug gcuuggauuu
 3660
 auugcaggau uaaauugcau ugugauggug acauuuangu uauguuguau gacaucaug
 u 3720
 uguucuuguu uaaaaggauug uuguucuugu ggaagcuguu guaaauuuga ugaagauga 50

u 3780

ucugaaccug uguuaaaagg agugaaauug cauuacaca 3819

【 0 2 7 0 】

配列番号 9

auguucgugu uccuggugcu gcugccucug guguccagcc agugugugaa ccugaccacc
60

agaacacagc ugccuccagc cuacaccaac agcuuuacca gaggcgugua cuaccccgac
120

aagguguuca gauccagcgu gcugcacucu acccaggacc uguuccugcc uuucuucagc
180

10

aacgugaccu gguuccacgc cauccacgug uccggcacca auggcaccaa gagauucgac
240

aaccccgugc ugcccuucaa cgacggggug uacuuugcca gcaccgagaa guccaacauc
300

aucagaggcu ggaucuucgg caccacacug gacagcaaga cccagagccu gcugaucgug
360

aacaacgcca ccaacguggu caucaaagug ugcgaguucc aguucugcaa cgaccccuuc
420

cugggugucu acuaccacaa gaacaacaag agcuggaugg aaagcgaguu ccggguguac
480

20

agcagcgcca acaacugcac cuucgaguac gugucccagc cuuuccugau ggaccuggaa
540

ggcaagcagg gcaacucaa gaaccugcgc gaguucgugu uuaagaacau cgacggcuac
600

uucaagaucu acagcaagca caccuccauc aaccucgugc gggaucugcc ucagggcuuc
660

ucugcucugg aaccucuggu ggaucugccc aucggcauca acaucacccg guuucagaca
720

cugcuggccc ugcacagaag cuaccugaca ccuggcgaua gcagcagcgg auggacagcu
780

30

ggugccgccc cuuacuaugu gggcuaccug cagccuagaa ccuuccugcu gaaguacaac
840

gagaacggca ccaucaccga cgccguggau ugugcucugg auccucugag cgagacaaag
900

ugcaccuga aguccuucac cguggaaaag ggcaucuacc agaccagcaa cuuccgggug
960

cagcccaccg aauccaucgu gcgguucccc aaauacacca aucugugccc cuucggcgag
1020

guguucaaug ccaccagauu cgccucugug uacgccugga accggaagcg gaucagcaau
1080

40

ugcguggccc acuacuccgu gcuguacaac uccgccagcu ucagcaccuu caagugcuac
1140

ggcgugucc cuaccaagcu gaacgaccug ugcuucacaa acguguacgc cgacagcuuc
1200

gugaucggg gagaugaagu gcggcagauu gcccuggac agacaggcaa gaucgccgac
1260

uacaacuaca agcugcccga cgacuucacc ggcuguguga uugccuggaa cagcaacaac
1320

cuggacuca aagucggcgg caacuacaau uaccuguacc ggcuguuccg gaaguccaau
1380

50

cugaagcccu ucgagcggga caucuccacc gagaucuauc aggccggcag caccuccuugu
 1440
 aacggcgugg aaggcuucaa cugcuacuuc ccacugcagu ccuacggcuu ucagcccaca
 1500
 aauggcgugg gcuaucagcc cuacagagug guggugcuga gcuucgaacu gcugcaugcc
 1560
 ccugccacag ugugcggccc uaagaaaagc accaaucucg ugaagaacaa augcgugaac
 1620
 uucaacuua acggccugac cggcaccggc gugcugacag agagcaacaa gaaguuccug
 1680
 ccauuccagc aguuuggccg ggauaucgcc gauaccacag acgccguuag agauccccag
 1740
 acacuggaaa uccuggacau caccuccuugc agcuucggcg gagugucugu gaucaccccu
 1800
 ggcaccaaca ccagcaauca gguggcagug cuguaccagg acgugaacug uaccgaagug
 1860
 cccguggcca uucacgccga ucagcugaca ccuacauggc ggguguacuc caccggcagc
 1920
 aauguguuuc agaccagagc cggcugucug aucggagccg agcacgugaa caauagcuac
 1980
 gagugcgaca ucccacucgg cgcuggaauc ugcgccagcu accagacaca gacaaacagc
 2040
 ccucggagag ccagaagcgu ggccagccag agcaucauug ccuacacaau gucucugggc
 2100
 gccgagaaca gcguggccua cuccaacaac ucuaucgcuu ucccaccaa cuucaccauc
 2160
 agcgugacca cagagauccu gccugugucc augaccaaga ccagcgugga cugcaccaug
 2220
 uacaucugcg gcgauuccac cgagugcucc aaccugcugc ugcaguacgg cagcuucugc
 2280
 acccagcuga auagagcccu gacagggauc gccguggaac aggacaagaa cacccaagag
 2340
 guguucgccc aagugaagca gaucuacaag accccuccua ucaaggacuu cggcggcuuc
 2400
 aauuucagcc agauucugcc cgauccuagc aagcccagca agcggagcuu caucgaggac
 2460
 cugcuguuca acaaagugac acuggccgac gccggcuuca ucaagcagua uggcgauugu
 2520
 cuggggcaca uugccgccag ggauucgauu ugcgcccaga aguuuaacgg acugacagug
 2580
 cugccuccuc ugcugaccga ugagaugauc gcccaguaca caucugcccu gcuggccggc
 2640
 acaaucacaa gcggcuggac auuuggagca ggcgccgcuc ugcagaucce cuuugcuau
 2700
 cagauggccu accgguucaa cggcaucgga gugaccaga augugcugua cgagaaccag
 2760
 aagcugaucg ccaaccaguu caacagcgcc aucggcaaga uccaggacag ccugagcagc
 2820
 acagcaagcg cccugggaaa gcugcaggac guggucaacc agaaugccca ggcacugaac
 2880

10

20

30

40

50

acccugguca agcagcuguc cuccaacuuc ggcgccauca gcucugugcu gaacgauauc
 2940
 cugagcagac uggacccucc ugaggccgag gugcagaucg acagacugau cacaggcaga
 3000
 cugcagagcc uccagacaaua cgugacccag cagcugauca gagccgccga gauuagagcc
 3060
 ucugccaauc uggccgccac caagaugucu gagugugugc ugggccagag caagagagug
 3120
 gacuuuugcg gcaagggcua ccaccugaug agcuucccuc agucugcccc ucacggcgug
 3180
 guguuucugc acgugacaaua ugugcccgcu caagagaaga auuucaccac cgcuccagcc
 3240
 aucugccacg acggcaaagc ccacuuccu agagaaggcg uguucguguc caacggcacc
 3300
 cauugguucg ugacacagcg gaacuucuac gagccccaga ucaucaccac cgacaacacc
 3360
 uucgugucug gcaacugcga cgucgugauc ggcauuguga acaauaccgu guacgaccu
 3420
 cugcagcccc agcuggacag cuucaagag gaacuggaca aguacuuuaa gaaccacaca
 3480
 agccccgacg uggaccuggg cgauaucagc ggaaucaug ccagcgucgu gaacauccag
 3540
 aaagagaucg accggcugaa cgagguggcc aagaaucuga acgagagccu gaucgaccug
 3600
 caagaacugg ggaaguacga gcaguacauc aaguggcccu gguacaucug gcugggcuuu
 3660
 aucgccggac ugauugccau cgugaugguc acaaucaugc uguguugcau gaccagcugc
 3720
 uguagcugcc ugaagggcug uuguagcugu ggcagcugcu gcaaguucga cgaggacgau
 3780
 ucugagcccc ugcugaaggg cgugaaacug cacuacaca 3819

10

20

30

【 0 2 7 1 】

配列番号19

agaauaaacu aguauucuuc ugguccccac agacucagag agaaccgcc accauguuug
 60
 uguuucuugu gcugcugccu cuugugucuu cucagugugu gaauuugaca acaagaacac
 120
 agcugccacc agcuuauaca aaucuuuuu ccagaggagu guauuauccu gauaaagugu
 180
 uuagauucuuc ugugcugcac agcacacagg accuguuucu gccauuuuuu agcaauguga
 240
 caugguuuca ugcaauucau gugucuggaa caaauggaac aaaaagauuu gauaauccug
 300
 ugcugccuuu uaaugaugga guguauuuug cuucaacaga aaagucaaa auuauuagag
 360
 gauggauuuu uggaacaaca cuggauucua aaacacaguc ucugcugauu gugaauaaug
 420
 caacaaaugu ggugauuaaa gugugugaau uucaguuuug uaaugauccu uuucuggga
 g 480

40

50

540

caauuaauug uacauuugaa uaugugucuc agccuuuucu gauggaucug gaaggaaaac

600

agggcauuu uaaaaaucug agagaauuug uguuuaaaaa uauugaugga uauuuuaaa

a 660

uuuaauucuaa acacacacca auuaauuuag ugagagaucu gccucagggga uuuucugcuc

720

uggaaccucu gguggaucug ccaauuggca uuaauuuac aagauuucag acacugcugg

780

cucugcacag aucuuaucug acaccuggag auucuucuuc uggauggaca gccggagcug

840

cagcuuauua ugugggcuau cugcagccaa gaacauuucu gcugaaauau aaugaaaug

900

gaacaauuac agaugcugug gauugugcuc uggauccucu gucugaaaca aaauguacau

960

uaaaaucuuu uacaguggaa aaaggcauuu aucagacauc uauuuuuga gugcagccaa

1020

cagaaucuau ugugagauuu ccaauauua caaaucugug uccaauugga gaaguguuuu

1080

augcaacaag auuugcaucu guguaugcau ggaauagaaa aagaauuucu aaugugugg

1140

cugauuauuc ugugcuguau aaugugcuu cuuuuuccac auuuuuuugu uauuggagug

u 1200

cuccaacaaa auuuuuuugu uuauguuuuu caaauugugua ugcugauucu uuugugauc

1260

gaggugauga agugagacag auugcccccg gacagacagg aaaaauugcu gauuacaau

1320

acaaacugcc ugaugauuuu acaggauugug ugauugcuug gaauucuaau auuuuagau

1380

cuaaaguggg aggaaaauac aaauaucugu acagacuguu uagaaaauca aaucugaaac

1440

cuuuugaaag agauuuuua acagaaaauu aucaggcugg aucaacaccu uguaauggag

1500

uggaaggauu uaauguuuau uuuccauuac agagcuauug auuucagcca accauggug

1560

ugggauauca gccauuuga gugguggugc ugucuuuuga acugcugcau gcaccugcaa

1620

cagugugugg accuaaaaaa ucuacaaau uagugaaaaa uaaaugugug auuuuuuuu

1680

uuauuggauu aacaggaaca ggagugcuga cagaaucuua uaaaaauuu cugccuuuuc

1740

agcaguugg cagagauuu gcagauacca cagaugcagu gagagaucuu cagacauuag

1800

aaauucugga uauuacaccu uguucuuuug gggguguguc ugugauuaca ccuggaaca

1860

auacaucuaa ucagguggcu gugcuguauc aggaugugaa uuguacagaa gugccagugg

1920

caauucaugc agaucagcug acaccaacau ggagagugua uucuaacagga ucuaaugugu

1980

uucagacaag agcaggaugu cugauuggag cagaacaugu gaauaaucuu uauugaugug

50

10

20

30

40

2040

auauuccaau uggagcaggc auuugugcau cuuaucaaac acagacaaa uccccaagga

2100

gagcaagauc uguggcaucu cagucuauua uugcauacac caugucucug ggagcagaaa

2160

auucuguggc auauucuaau aaauucuaug cuauuccaac aaauuuuacc auuucuguga

2220

caacagaaa uuuaccugug ucuauagaca aaacaucugu ggauuguacc auguacauuu

2280

guggagauuc uacagaaugu ucuaaucugc ugcugcagua uggauuuuu uguacacagc

2340

ugaauagagc uuuaacagga auugcugugg aacaggauaa aaauacacag gaaguguuug

2400

cucaggugaa acagauuuac aaaacaccac caauuaaaga uuuuggagga uuuaauuuua

2460

gccagauucu gccugauccu ucuaaacuu cuaaaagauc uuuuauugaa gaucugcugu

2520

uuauuaaagu gacacuggca gaugcaggau uuauuaaaca guauggagau ugccugggug

2580

auauugcugc aagagaucug auuugugcuc agaaauuuua uggacugaca gugcugccuc

2640

cucugcugac agauggaaug auugcucagu acacaucugc uuuacuggcu ggaacaauua

2700

caagcggau gacauuugga gcuggagcug cucugcagau uccuuuugca augcagaugg

2760

cuuacagau uauuggaau ggagugacac agaauuguu auaugaaaau cagaaacuga

2820

uugcaaaauca guuuauuucu gcaauuggca aaauucagga uucucugucu ucuacagcuu

2880

cugcucuggg aaaacugcag gaugugguga aucagaaugc acaggcacug aaucucugg

2940

ugaaacagcu gucuagcaau uuuggggcaa uuucuucugu gcugaaugau auucugucua

3000

gacuggaucc uccugaagcu gaagugcaga uugauagacu gaucacagga agacugcagu

3060

cucugcagac uauugugaca cagcagcuga uuagagcugc ugaaauuaga gcuucugcua

3120

aucuggcugc uacaaaaaug ucugaauugug ugcugggaca gucaaaaaga guggauuuuu

3180

guggaaaagg auaucaucug augucuuuuc cacagucugc uccacaugga gugguguuuu

3240

uacaugugac auauugucca gcacaggaaa agaauuuuac cacagcacca gcauuuuguc

3300

augauggaaa agcacauuuu ccaagagaag gaguguuuugu gucuauugga acacauuggu

3360

uugugacaca gagaaauuuu uaugaaccuc agauuuuac aacagauauu acuuuugugu

3420

caggaaaauug ugauguggug auuggaauug ugaauuuuac aguguaugau ccacugcagc

3480

cagaacugga uucuuuuuuu gaagaacugg auuuuuuuu uaaaaucac acaucuccug

50

10

20

30

40

50

3540

auguggauuu aggagauuu ucuggaauc augcaucugu ggugaauuu cagaaagaaa

3600

uugauagacu gaaugaagug gccaaaaauc ugaaugaauuc ucugauugau cugcaggaac

3660

uuggaaaaua ugaacaguac auuaaauggc cuugguacau uuggcuugga uuuauugcag

3720

gauuaauugc aaugugaug gugacaaua uguuauguug uaugacauc uguuguucu

u 3780

guuaaaagg auguuguucu uguggaagcu guuguaaaau ugaugaagau gauucugaa

c 3840

cuguguuaaa aggagugaaa uugcauuaca caugaugacu cgagcuggua cugcaugcac

3900

gcaaugcuag cugcccccuu cccguccugg guaccccag ucuccccga ccucgggucc

3960

cagguaugcu cccaccucca ccugccccac ucaccaccuc ugcuaguucc agacaccucc

4020

caagcacgca gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acaccccac gggaaacagc

4080

agugauuaac cuuuagcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccagggguugg

4140

ucaauuucgu gccagccaca cccuggagcu agcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

4200

aaagcauug acuaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

4260

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa

4283

【 0 2 7 2 】

配列番号 2 0

agaauaaacu aguauucuuc ugguccccac agacucagag agaaccgccc accauguucg

60

uguuccuggu gcugcugccu cuggugucca gccagugugu gaaccugacc accagaacac

120

agcugccucc agccuacacc aacagcuuua ccagaggcgu guacuacccc gacaaggugu

180

ucagauccag cgugcugcac ucuaccagg accuguuccu gccuucuuc agcaacguga

240

ccugguucca cgccauccac guguccggca ccaauggcac caagagauuc gacaaccccg

300

ugcugcccuu caacgacggg guguacuug ccagcaccga gaaguccaac aucaucagag

360

gcuggaucuu cggcaccaca cuggacagca agaccagag ccugcugauc gugaacaacg

420

ccaccaacgu ggucaucaaa gugugcgagu uccaguucug caacgacccc uuccugggcg

480

ucuacuacca caagaacaac aagagcugga uggaaagcga guuccgggug uacagcagcg

540

ccaacaacug caccuucgag uacguguccc agccuuuccu gauggaccug gaaggcaagc

600

agggcaacuu caagaaccug cgcgaguucg uguuaaagaa caucgacggc uacuucaaga

660

10

20

30

40

50

ucuacagcaa gcacaccccu aucaaccucg ugcgggaucu gccucagggc uucucugcuc
 720
 uggaaccccu gguggaucug cccaucggca ucaacaucac ccgguuucag acacugcugg
 780
 ccugcacag aagcuaccug acaccuggcg auagcagcag cggauaggaca gcuggugccg
 840
 ccgcuuacua ugugggcuac cugcagccua gaaccuuccu gcugaaguac aacgagaacg
 900
 gcaccaucac cgacgccgug gauugugcuc uggauccucu gagcgagaca aagugcacc
 960
 ugaaguccuu caccguggaa aagggcaucu accagaccag caacuuccgg gugcagccca
 1020
 ccgaauccau cgugcggguuc cccaauauca ccaaucugug ccccuucggc gagguguuca
 1080
 augccaccag auucgccucu guguacgccu ggaaccggaa gcggaucagc aaaugcgugg
 1140
 ccgacuacuc cgugcuguac aacuccgcca gcuucagcac cuucaagugc uacggcgugu
 1200
 cccuaccaa gcugaacgac cugugcuuca caaacgugua cgccgacagc uucgugauc
 1260
 ggggagauga agugcggcag auugccccug gacagacagg caagaucgcc gacuacaacu
 1320
 acaagcugcc cgacgacuuc accggcugug ugauugccug gaacagcaac aaccuggacu
 1380
 ccaaagucgg cggcaacuac aaauaccugu accggcuguu ccggaagucc aaucugaagc
 1440
 ccuucgagcg ggacaucucc accgagaucu aucaggccgg cagcaccuccu uguaacggcg
 1500
 uggaaggcuu caacugcuac uucccacugc aguccuacgg cuuucagccc aaaauggcg
 1560
 ugggcuauca gcccuacaga gugguggugc ugagcuucga acugcugcau gcccugcca
 1620
 cagugugcgg ccuaagaaa agcaccaauc ucgugaagaa caaaugcgug aacuucaacu
 1680
 ucaacggccu gaccggcacc ggcgugcuga cagagagcaa caagaaguuc cugccauucc
 1740
 agcaguugg ccgggauauc gccgauacca cagacgccgu uagagaucac cagacacugg
 1800
 aaauccugga caucaccccu ugcagcuucg gcggaguguc ugugaucacc ccuggcacca
 1860
 acaccagcaa ucagguggca gugcuguacc aggacgugaa cuguaccgaa gugcccugg
 1920
 ccauucacgc cgaucagcug acaccuacau ggcgggugua succaccggc agcaaugugu
 1980
 uucagaccag agccggcugu cugaucggag ccgagcacgu gaacaauagc uacgagugcg
 2040
 acaucccau cggcgcugga aucugcgcca gcuaccagac acagacaaac agcccucgga
 2100
 gagccagaag cguggccagc cagagcauca uugccuacac aaugucucug ggcgccgaga
 2160

10

20

30

40

50

acagcguggc cuacuccaac aacucuaucg cuaucuccac caacuucacc aucagcguga
2220
ccacagagau ccugccugug uccaugacca agaccagcgu ggacugcacc auguacaucu
2280
gcgggcgauc caccgagugc uccaaccugc ugcugcagua cggcagcuuc ugcacccagc
2340
ugaauagagc ccugacaggg aucgcccugg aacaggacaa gaacacccaa gagguguucg
2400
cccaagugaa gcagaucuac aagaccccuc cuaucaagga cuucggcggc uucaauuua
2460
gccagauucu gcccgauc cuagcaagcca gcaagcggag cuucaucgag gaccugcugu
2520
ucaacaaagu gacacuggcc gacgcccggcu ucaucaagca guauggcgau ugucuggggc
2580
acaaugccgc cagggaucug auuugcggc agaaguuaa cggacugaca gugcugccuc
2640
cucugcugac cgaugagaug aucgcccagu acacaucugc ccugcuggcc ggcacaauc
2700
caagcggcug gacauuugga gcagggcggc cucugcagau ccccuuugcu augcagaugg
2760
ccuaccgguu caacggcauc ggagugaccc agaauugcu guacgagaac cagaagcuga
2820
ucgccaacca guucaacagc gccaucggca agauccagga cagccugagc agcacagcaa
2880
gcgcccuggg aaagcugcag gacgugguca accagaaugc ccaggcacug aacaccucgg
2940
ucaagcagcu guccuccaac uucggcgcca ucagcucugu gcugaacgau auccugagca
3000
gacuggaccc uccugaggcc gaggugcaga ucgacagacu gaucacaggc agacugcaga
3060
gccuccagac auacgugacc cagcagcuga ucagagccgc cgagauuaga gccucugcca
3120
aucuggccgc caccaagaug ucugagugug ugcugggcca gagcaagaga guggacuuuu
3180
gcggaaggc cuaccaccug augagcuucc cucagucugc ccucacggc gugguguuuc
3240
ugcacgugac auaugugccc gcucaagaga agaauuucac caccgcucca gccaucugcc
3300
acgacggcaa agcccacuuu ccuagagaag gcguguucgu guccaacggc acccauuggu
3360
ucgugacaca gcggaacuuc uacgagcccc agaucaucac caccgacaac accuucgugu
3420
cuggcaacug cgacgucgug aucggcauug ugaacaauac cguguacgac ccucugcagc
3480
ccgagcugga cagcuuuaaa gaggaacugg acaaguacu uagaaccac acaagccccg
3540
acguggaccu gggcgauauc agcggaauc augccagcgu cgugaacauc cagaaagaga
3600
ucgaccggcu gaacgaggug gccaaagauc ugaacgagag ccugaucgac cugcaagaac
3660

10

20

30

40

50

uggggaagua cgagcaguac aucaaguggc ccugguacau cuggcugggc uuuaucgccg
 3720
 gacugauugc caucgugaug gucacaauca ugcuguguug caugaccagc ugcuguagcu
 3780
 gccugaaggg cuguuguagc uguggcagcu gcugcaaguu cgacgaggac gauucugagc
 3840
 ccgugcugaa gggcgugaaa cugcacuaca caugaugacu cgagcuggua cugcaugcac
 3900
 gcaaugcuag cugcccuuu cccguccugg guaccccgag ucucucccca ccucgggucc
 3960
 cagguaugcu cccaccucca ccugccccac ucaccaccuc ugcuaguucc agacaccucc
 4020
 caagcacgca gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acacccccac gggaaacagc
 4080
 agugauuaac cuuuagcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccagggguugg
 4140
 ucaauuucgu gccagccaca cccuggagcu agcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 4200
 aaagcauau acuaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 4260
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 4283

10

20

【実施例】

【0273】

次の実施例は説明のために提供され、いかなる方法でも本発明の範囲を限定しない。当分野で一般的な実務に従い、ここに記載するある設計および選択基準が変化し得ることを、当業者は認識する。

【0274】

実施例1：例示的組成物および特徴づけ

本実施例は、本発明によるあるRNA/LNP組成物の開発および/または特徴づけを記載する。

30

【0275】

本実施例で利用するRNAペイロードは、4283ヌクレオチド残基を含む点で、修飾RNAペイロードであった。本実施例で利用するRNAペイロードは、ウイルス抗原、特にSARS-CoV-2タンパク質をコードした。具体的に、本実施例で利用するRNAペイロードは、ここに記載するRBP020.2(v9)により表されるBNT162b2構築物であった。

【0276】

本実施例は、ある保護剤(特に二糖保護剤スクロースおよびトレハロース)および特定の緩衝液(例えば、Trisおよびヒスチジン緩衝液などの非リン酸緩衝液および/またはNaClを含まない緩衝液)を保護した。

40

【0277】

何らかの特定の理論に拘束されることを願わないが、等張性が望ましいはずであると考えられた；ある評価した組成物は、ほぼ等張溶液を生じるため、10%w/v濃度で保護剤を含んだ。

【0278】

緩衝液濃度は、組成物のpHの維持に十分であるよう選択した。

【0279】

評価した組成物はマンニトールを含まなかった。

【0280】

この実施例で、組成物は、乾燥前に凍結させなかった(例えば、約2 ~ 約8 の範囲

50

内の温度に維持した)。この実施例で、乾燥を、フリーズドライ(具体的に、凍結乾燥)により実施した。

【0281】

組成物の電気伝導率を測定し、低温DSC実験をフリーズドライの開始前に実施した。LNPサイズおよび多分散性を、動的光散乱法を使用して、2 ~ 8 温度維持後かつ凍結乾燥前に決定した。

【0282】

下表1は、ある評価した組成物を示す；見られるとおり、(i)保護剤のタイプおよび濃度を変えた；別の製造手順を、製造中評価した(特にスクロース含有製剤について、RNA原液を、クエン酸のみ緩衝液ではなく、スクロース-クエン酸緩衝液に希釈した)；(ii) NaClを欠く緩衝液を評価した；そして(iii)非リン酸緩衝液(例えば、Tris、His、HEPES)を評価した。

【表7】

表1. 凍結乾燥評価のための製剤組成

製剤番号	緩衝液	保護剤	備考	体積、mL
1	10 mM Tris, pH 7.4	10% w/v スクロース	別の製造手順	15+15=30*
2	10 mM Tris, pH 7.4	10% w/v トレハロース	—	15+15=30*
3	10 mM Tris, pH 7.4	5% w/v スクロース 5% w/v トレハロース	—	15+15=30*15+15=30*
4	10 mM His, pH 7.4	10% w/v スクロース	別の製造手順	15+15=30*

* 各15 mLの2個のアリコートを、凍結中にアニールを伴うおよび伴わない凍結乾燥サイクルのために、別々に調製し、貯蔵しなければならない。

【0283】

利用した凍結乾燥手順は、0.5 /分で実施した、凍結工程中の冷却および加温勾配を含んだ。製剤を、関連製剤のTgを下回る温度で凍結した。何らかの特定の理論に拘束されることを願わないが、-10 のアニール温度を選択し、製剤の融点未満の温度に製品を維持しながら、等温保持中のオストヴァルト熟成を最大化し(そしてそれにより氷結晶のサイズを増大し)、ケーキ抵抗を減少した。二次乾燥への傾斜率は0.2 /分であった。

10

20

30

40

50

【 図 画 】
【 図 1 】

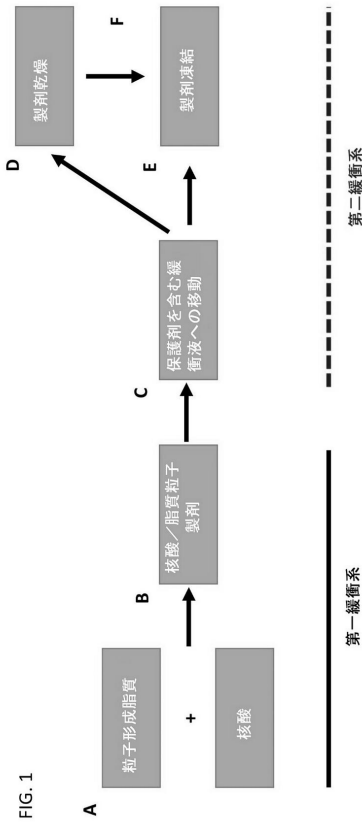


FIG. 1

【 図 2 B 】

処理パラメータ		サイクル1	サイクル2	サイクル3	サイクル4
処理工程	サイクル1 (ケース1) からの底抗、凍2を総用した、目標温度 4.0℃	1309分まででOK 45℃で60分 26℃で60分	1309分まででOK 45℃で60分 26℃で60分	1309分まででOK 45℃で60分 26℃で60分	1309分まででOK 45℃で60分 26℃で60分
	サイクル2 (ケース2) からの底抗、凍2を総用した、目標温度 4.0℃	1309分まででOK 45℃で60分 26℃で60分	1309分まででOK 45℃で60分 26℃で60分	1309分まででOK 45℃で60分 26℃で60分	1309分まででOK 45℃で60分 26℃で60分
凍結	凍結	7.33 10℃で180分まででOK	7.33 10℃で180分まででOK	7.33 10℃で180分まででOK	7.33 10℃で180分まででOK
	凍結	8.50 70分まででOK	8.50 70分まででOK	8.50 70分まででOK	8.50 70分まででOK
凍結	凍結	9.50 45℃で60分まででOK	9.50 45℃で60分まででOK	9.50 45℃で60分まででOK	9.50 45℃で60分まででOK
	凍結	10.50 50℃、Pch=40mT	10.50 50℃、Pch=40mT	10.50 50℃、Pch=40mT	10.50 50℃、Pch=50mT
一次乾燥	一次乾燥	11.03 149分まででOK 30℃で300分	11.03 149分まででOK 30℃で300分	11.03 149分まででOK 30℃で300分	11.03 149分まででOK 30℃で300分
	一次乾燥	41.03 149分まででOK 30℃で300分	41.03 149分まででOK 30℃で300分	41.03 149分まででOK 30℃で300分	41.03 149分まででOK 30℃で300分
二次乾燥	二次乾燥	45.95 149分まででOK 30℃で480分	45.95 149分まででOK 30℃で480分	45.95 149分まででOK 30℃で480分	45.95 149分まででOK 30℃で480分
	二次乾燥	53.95 149分まででOK 30℃で480分	53.95 149分まででOK 30℃で480分	53.95 149分まででOK 30℃で480分	53.95 149分まででOK 30℃で480分

FIG. 2B

R-勾配、H-保持
サイクルパラメータを1.50のエッジ強度を仮定して計算したことは留意すべきである。また、チャートバーの圧を、40%市販凍結乾燥機の凍結にしたとき(17570ハイアルの性能)に基づき選択した。圧力設定点は、凍結される各サイクルで最小制御可能圧(抵抗スケール係数)より少なくとも0.01高かった。Yostar 111のPminの計算も、圧力が560ハイアル(1トレイ凍結)がYostar 111に転せられたとき制御できることを確実にするために行った。

コロイド安定性

【 図 3 】

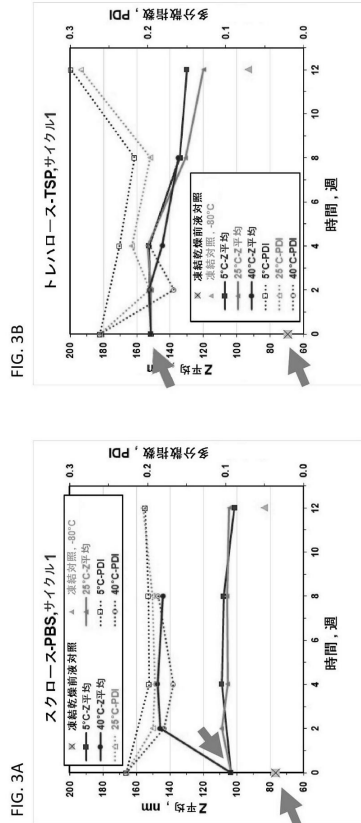


FIG. 3A

FIG. 3B

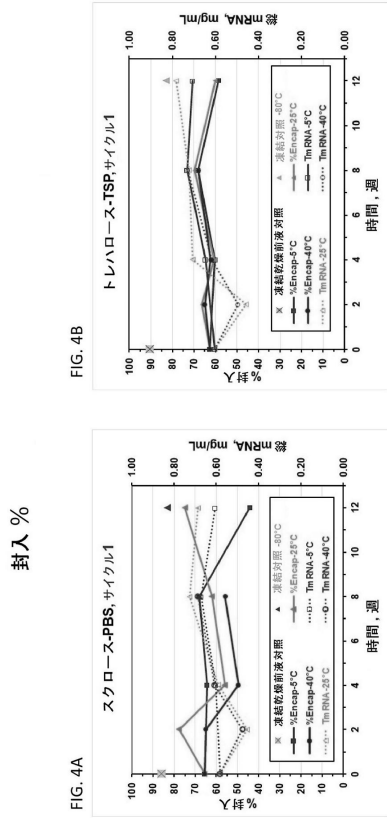
【 図 2 A 】

#	Cryo/LyoP	緩衝液	塩(V/V) ^A	アニーリング(V/N)
F1	10% スクロース			No-サイクル3 (NA) Yes-サイクル4 (A)
F2	10% トレハロース	10 mM Tris	No	No-サイクル3 (NA) Yes-サイクル4 (A)
F3	5% スクロース-5% トレハロース			
F4	10% スクロース	10 mM Tris	Yes	No-サイクル1 (NA) Yes-サイクル2 (A)
F5	10% トレハロース			
F6	5% スクロース-5% トレハロース			
F7	10% スクロース	10 mM His	No	Yes-サイクル4 (A)
F8	10% トレハロース			
F9	5% スクロース-5% トレハロース			
F10	10% スクロース	10 mM HEPES	No	Yes-サイクル4 (A)
F11	10% トレハロース			
F12	5% スクロース-5% トレハロース			
F13	10% スクロース	NaCl 不含 PBS	No	Yes-サイクル4 (A)
F15	10% スクロース**	10 mM Tris	No	Yes-サイクル4 (A)
F16	10% スクロース**	10 mM Tris	No	Yes-サイクル4 (A)
F17	10% スクロース	NaCl PBS	Yes	No-サイクル1 (NA) Yes-サイクル2 (A)
F18	10% スクロース			

FIG. 2A

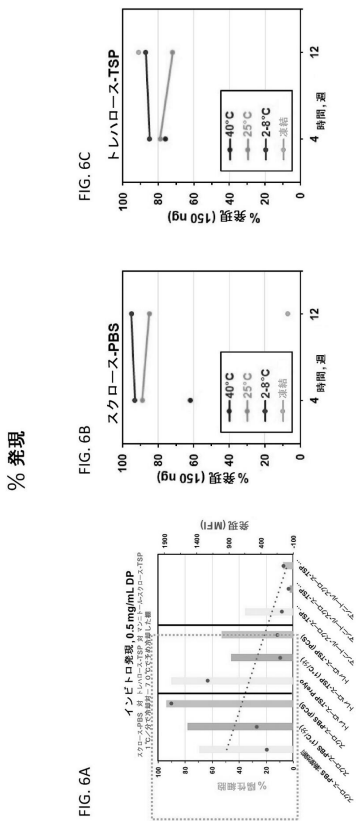
^A 塩を含む緩衝液は6 mg/ml NaClを含む; 塩を含む緩衝液は添加されたNaClがない
** 第一緩衝系にスクロース添加

【 図 4 】



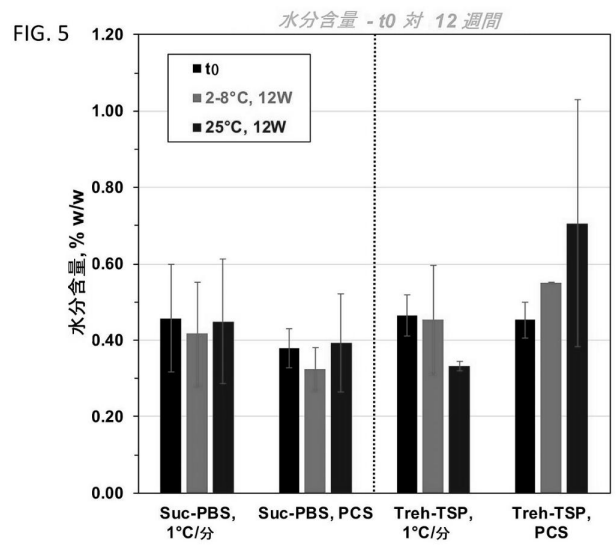
封入 %

【 図 6 】

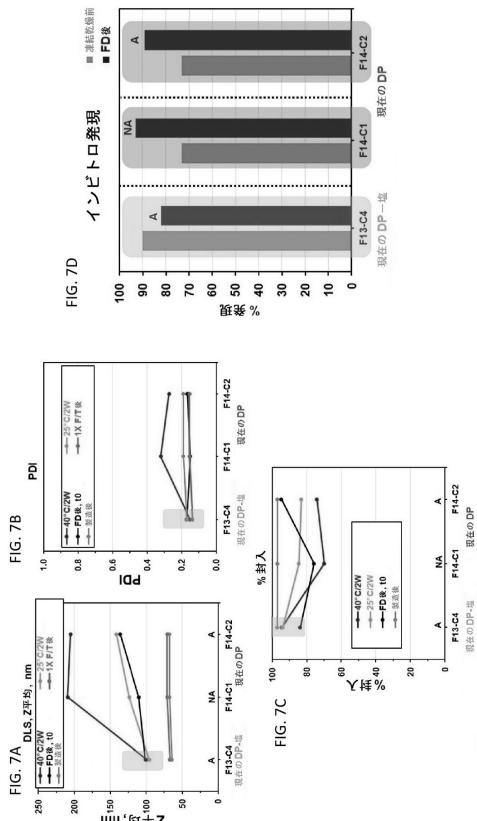


% 発現

【 図 5 】



【 図 7 】



10

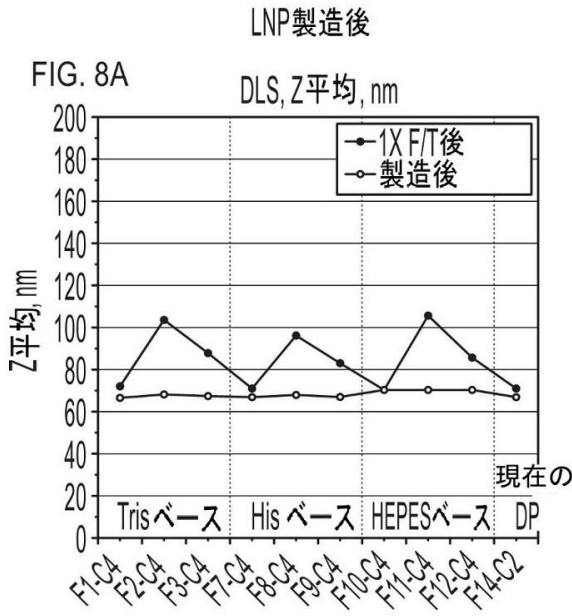
20

30

40

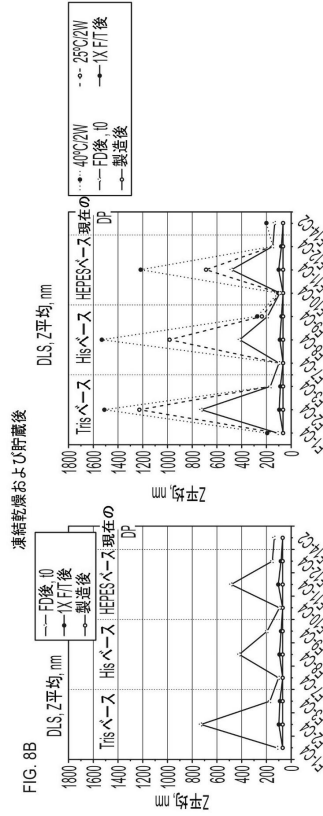
50

【 図 8 A 】



- F1, F7, F10・スクロースベース;塩不含;アニール
- F2, F8, F11・トレハロースベース;塩不含;アニール
- F3, F9, F12・スクロース+トレハロースベース;塩不含;アニール
- F14・現在のDP;アニール

【 図 8 B 】



10

20

30

40

50

【 配列表 】

2023549265000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2021/081674

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. forming part of the international application as filed:

in the form of an Annex C/ST.25 text file.

on paper or in the form of an image file.

b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/081674

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. **A61K9/51 A61K9/19 A61K39/00 A61P31/14**
 ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2017/218704 A1 (MODERNATX INC [US]) 21 December 2017 (2017-12-21) table 1 examples 1-4 claims 1-19	1-178
A	WO 2020/072605 A1 (INTELLIA THERAPEUTICS INC [US]) 9 April 2020 (2020-04-09) example 52 table 1	1-178
A	WO 2017/075531 A1 (ACUITAS THERAPEUTICS INC [CA]) 4 May 2017 (2017-05-04) example 1 table 1	1-178
	----- -/-	

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search: **23 February 2022**

Date of mailing of the international search report: **04/03/2022**

Name and mailing address of the ISA/
 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer:
Sindel, Ulrike

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/081674

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WO 2018/078053 A1 (CUREVAC AG [DE]; ACUITAS THERAPEUTICS INC [CA]) 3 May 2018 (2018-05-03) claims 1-10 example 1</p> <p>-----</p>	1-178
A	<p>Alex K.K. Leung ET AL: "Lipid Nanoparticles for Short Interfering RNA Delivery" In: "Advances in Genetics", 1 January 2014 (2014-01-01), Academic Press, US, XP055540398, ISSN: 0065-2660 vol. 88, pages 71-110, DOI: 10.1016/B978-0-12-800148-6.00004-3, figures 4.7, 4.8</p> <p>-----</p>	1-178

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2021/081674

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017218704	A1	21-12-2017	AU 2017286606 A1	13-12-2018
			CA 3027201 A1	21-12-2017
			EP 3468537 A1	17-04-2019
			JP 2019525901 A	12-09-2019
			US 2020069599 A1	05-03-2020
			WO 2017218704 A1	21-12-2017

WO 2020072605	A1	09-04-2020	AU 2019351917 A1	29-04-2021
			BR 112021006270 A2	06-07-2021
			CA 3114032 A1	09-04-2020
			CN 113039174 A	25-06-2021
			CO 2021005774 A2	30-07-2021
			EA 202190916 A1	09-07-2021
			EP 3860972 A1	11-08-2021
			JP 2022501412 A	06-01-2022
			KR 20210093871 A	28-07-2021
			PH 12021550701 A1	03-11-2021
			SG 11202102921W A	29-04-2021
			TW 202028170 A	01-08-2020
			US 2022009878 A1	13-01-2022
			WO 2020072605 A1	09-04-2020

WO 2017075531	A1	04-05-2017	AU 2016343803 A1	26-04-2018
			AU 2021206881 A1	19-08-2021
			CA 3003055 A1	04-05-2017
			CN 108368028 A	03-08-2018
			CN 113636947 A	12-11-2021
			EP 3368507 A1	05-09-2018
			IL 258501 A	31-10-2021
			JP 2018533573 A	15-11-2018
			US 2017119904 A1	04-05-2017
			US 2019314524 A1	17-10-2019
			US 2020121809 A1	23-04-2020
WO 2017075531 A1	04-05-2017			

WO 2018078053	A1	03-05-2018	AU 2017350488 A1	02-05-2019
			BR 112019008481 A2	03-03-2020
			CA 3040337 A1	03-05-2018
			CN 110352071 A	18-10-2019
			EP 3532094 A1	04-09-2019
			JP 2020504764 A	13-02-2020
			KR 20190093816 A	26-08-2019
			SG 11201903460Q A	30-05-2019
			US 2020163878 A1	28-05-2020
			US 2021251898 A1	19-08-2021
			WO 2018078053 A1	03-05-2018

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	47/24 (2006.01)	A 6 1 K	47/24
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00
A 6 1 P	31/14 (2006.01)	A 6 1 P	31/14
A 6 1 K	39/215(2006.01)	A 6 1 K	39/215
C 1 2 N	15/88 (2006.01)	C 1 2 N	15/88
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13
C 1 2 N	15/50 (2006.01)	C 1 2 N	15/50

Z

Z N A

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,
LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,
RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
W

ドイツ 5 5 1 3 1 マインツ、アン・デア・ゴルトグルーベ 1 2、ピオンテック・ソシエタス・エウ
ロペア内

(72)発明者

タンキ, カウシク

ドイツ 5 5 1 3 1 マインツ、アン・デア・ゴルトグルーベ 1 2、ピオンテック・ソシエタス・エウ
ロペア内

(72)発明者

ソマニ, スクルート

ドイツ 5 5 1 3 1 マインツ、アン・デア・ゴルトグルーベ 1 2、ピオンテック・ソシエタス・エウ
ロペア内

(72)発明者

チェサロフ, セルゲイ エイ

アメリカ合衆国 0 1 8 1 0 マサチューセッツ州アンドーバー、バート・ロード 1、ファイザー・
インコーポレイテッド内

(72)発明者

バトナガル, バクル スポド

アメリカ合衆国 0 1 8 1 0 マサチューセッツ州アンドーバー、バート・ロード 1、ファイザー・
インコーポレイテッド内

(72)発明者

ダルヴァリ, ラミン

アメリカ合衆国 0 1 8 1 0 マサチューセッツ州アンドーバー、バート・ロード 1、ファイザー・
インコーポレイテッド内

(72)発明者

ルトラ, スミト

アメリカ合衆国 0 1 8 1 0 マサチューセッツ州アンドーバー、バート・ロード 1、ファイザー・
インコーポレイテッド内

F ターム (参考)

4C076 AA65 BB11 CC06 DD23 DD51 DD63 DD67 DD70 EE23 FF01

FF36

4C084 AA13 MA38 NA03 NA13 ZB09

4C085 AA03 BA71 CC08 CC21 DD61 EE01 GG01

4C086 AA01 AA02 EA16 MA03 MA05 MA38 MA66 NA03 NA13 ZB09