

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】令和 2 年 4 月 2 日 (2020.4.2)

【公開番号】特開 2019-218349 (P2019-218349A)

【公開日】令和 1 年 12 月 26 日 (2019.12.26)

【年通号数】公開・登録公報 2019-052

【出願番号】特願 2019-113819 (P2019-113819)

【国際特許分類】

A 6 1 K 47/46 (2006.01)

A 6 1 K 47/24 (2006.01)

A 6 1 K 47/28 (2006.01)

A 6 1 K 47/18 (2006.01)

A 6 1 K 47/14 (2006.01)

C 1 2 N 15/88 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 K 31/711 (2006.01)

A 6 1 K 33/242 (2019.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/38 (2006.01)

A 6 1 K 38/42 (2006.01)

A 6 1 K 47/69 (2017.01)

A 6 1 K 49/00 (2006.01)

A 6 1 K 9/127 (2006.01)

A 6 1 K 9/51 (2006.01)

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

【 F I 】

A 6 1 K 47/46

A 6 1 K 47/24

A 6 1 K 47/28

A 6 1 K 47/18

A 6 1 K 47/14

C 1 2 N 15/88 Z

A 6 1 K 31/713

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 31/711

A 6 1 K 33/242

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 38/38

A 6 1 K 38/42

A 6 1 K 47/69

A 6 1 K 49/00

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 9/51

C 1 2 N 15/113 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 2 月 20 日 (2020.2.20)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ハイブリッド生体適合性担体（ハイブリッドソーム）を製造する方法であって、前記方法が、

（a）膜を含む第一の小胞を提供する工程であって、前記小胞はインビトロで生産され、前記小胞は、膜融合性のイオン化可能なカチオン性脂質を含む、工程と、

（b）インビボで生産されて、細胞外環境中に放出される、脂質二重膜を含む自然に分泌される第二の小胞を提供する工程と、

（c）前記第一の小胞を前記第二の小胞と、7.4より低いpHおよび0～60の間の温度にてバッファー中で接触させて、それにより前記第一の小胞を前記第二の小胞と統合させて、前記ハイブリッドソームを生産する工程と

を含み、膜融合性の前記イオン化可能なカチオン性脂質が生理学的pH以下のpHで正に荷電し、かつ生理学的pHを超えると中性である、方法。

【請求項 2】

下記方法により製造されたハイブリッドソームであって、前記方法が、

（a）膜を含む第一の小胞を提供する工程であって、前記小胞はインビトロで生産され、前記小胞は、膜融合性のイオン化可能なカチオン性脂質を含む、工程と、

（b）インビボで生産されて、細胞外環境中に放出される、脂質二重膜を含む自然に分泌される第二の小胞を提供する工程と、

（c）前記第一の小胞を前記第二の小胞と、7.4より低いpHおよび0～60の間の温度にてバッファー中で接触させて、それにより前記第一の小胞を前記第二の小胞と統合させて、前記ハイブリッドソームを生産する工程と

を含み、膜融合性の前記イオン化可能なカチオン性脂質が生理学的pH以下のpHで正に荷電し、かつ生理学的pHを超えると中性である、ハイブリッドソーム。

【請求項 3】

第一の小胞の脂質合計に対し少なくとも30%のモル濃度で含む、請求項2に記載のハイブリッドソーム。

【請求項 4】

請求項2又は3に記載のハイブリッドソームを含む医薬組成物。

【請求項 5】

第一の小胞が生理活性剤を含む、請求項1に記載の方法、請求項2に記載のハイブリッドソーム又は請求項4に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記生理活性剤が治療薬である、請求項5に記載の、方法、ハイブリッドソーム又は医薬組成物。

【請求項 7】

前記治療薬が下記（a）～（c）のいずれかである、請求項6に記載の、方法、ハイブリッドソーム又は医薬組成物。

（a）薬物または医薬的に許容可能なその塩もしくは誘導体、

（b）抗体に基づいた治療薬、

（c）ペプチド、タンパク質、および核酸

【請求項 8】

治療薬または診断薬を細胞内に送達する方法であって、生理活性剤を含むハイブリッドソームと、前記細胞とを接触させることを含み、前記ハイブリッドソームが下記方法により製造される、方法。

（a）膜を含む第一の小胞を提供する工程であって、前記小胞はインビトロで生産され

、前記小胞は、膜融合性のイオン化可能なカチオン性脂質及び前記生理活性剤を含む、工程と、

(b) インビボで生産されて、細胞外環境中に放出される、脂質二重膜を含む自然に分泌される第二の小胞を提供する工程と、

(c) 前記第一の小胞を前記第二の小胞と、7.4より低いpHおよび0 ~ 6.0の間の温度にてバッファー中で接触させて、それにより前記第一の小胞を前記第二の小胞と統合させて、前記ハイブリッドソームを生産する工程と

を含み、膜融合性の前記イオン化可能なカチオン性脂質が生理学的pH以下のpHで正に荷電し、かつ生理学的pHを超えると中性である。

【請求項9】

第一の小胞の脂質合計に対し少なくとも30%のモル濃度で含む、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記生理活性剤が標的細胞へのさらなるハイブリッドソームの標的化及び/又はトランスフェクションを容易にする機能的ポリペプチドを生産するのに適する、請求項8又は9に記載の方法。

【請求項11】

前記生理活性剤が治療薬である、請求項8又は9に記載の方法。

【請求項12】

前記治療薬が下記(a) ~ (c)のいずれかである、請求項11に記載の方法。

(a) 薬物または医薬的に許容可能なその塩もしくは誘導体、

(b) 抗体に基づいた治療薬、

(c) ペプチド、タンパク質、および核酸

【請求項13】

前記細胞が、白血球、グリア細胞、又はエクスピボ(ex vivo)増殖中の細胞である、請求項8 ~ 11のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

前記接触工程が、

(a) pH 4 ~ 6のバッファー中で、および/または

(b) 約37の反応温度で

実施される、請求項1に記載の方法、請求項2に記載のハイブリッドソーム、請求項4に記載の医薬組成物又は請求項8に記載の方法。

【請求項15】

生理学的pHが7.4である、請求項1に記載の方法、請求項2に記載のハイブリッドソーム、請求項4に記載の医薬組成物又は請求項8に記載の方法。

【請求項16】

前記第一の小胞が、脂質系ナノ粒子(LNP)、リボソーム、ポリマー安定化LNP、セラソーム、スフィンゴソーム、ポリマーソーム、合成ナノ粒子安定化LNP、天然膜由来LNP、および天然膜でコーティングされたLNPからなる群より選択され、

前記第二の小胞がエキソソーム、エクソソーム、微小胞、およびアポトーシス小体からなる群より選択される、請求項1に記載の方法、請求項2に記載のハイブリッドソーム、請求項4に記載の医薬組成物又は請求項8に記載の方法。

【請求項17】

前記イオン化可能なカチオン性脂質が、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)、2,2-ジリノレイル-4-(2-ジメチルアミノエチル)-[1,3]-ジオキサラン(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)ブタノエート(DLiN-MC3-DMA)、ジオクタデシル-ジメチルアンモニウム(DODMA)、ジステアリルジメチルアンモニウム(DSDMA)、N,N-ジオレイル-N,N-ジメチル-塩化アンモニウム(DODAC); N-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピ

ル) - N, N, N - トリメチル - 塩化アンモニウム (DOTMA) ; 1, 2 - ジオレオイル - 3 - ジメチルアンモニウム - プロパン (DODAP)、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)、YSK05、4 - ( (2, 3 - ビス (オレオイルオキシ) プロピル) - (メチル) アミノ) メチル) 安息香酸 (DOBAT)、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)、3 - ( (2, 3 - ビス (オレオイルオキシ) プロピル) (メチル) アミノ) プロパン酸 (DOPAT)、N - (2 - カルボキシプロピル) - 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 (DOMPAQ)、N - カルボキシメチル) - 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 (DOAAQ)、アルニー (Alny) - 100、3 - (ジメチルアミノ) - プロピル (12Z, 15Z) - 3 - [ (9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イル] - ヘニコサ - 12, 15 - ジエノエート (DMAP - BLP)、および、イオン化可能なアミノ脂質の誘導体からなる群より選択される、請求項 1 に記載の方法、請求項 2 に記載のハイブリドソーム、請求項 4 に記載の医薬組成物又は請求項 8 に記載の方法。

#### 【請求項 18】

前記第一の小胞が、標的化部分を含み、前記標的化部分が、抗体またはその断片、抗体様分子、ペプチド、タンパク質、アプタマー、オリゴヌクレオチド、およびポリサッカライドからなる群より選択される、請求項 1 に記載の方法、請求項 2 に記載のハイブリドソーム、請求項 4 に記載の医薬組成物又は請求項 8 に記載の方法。

#### 【請求項 19】

前記第一の小胞が、PEG - リン脂質、PEG - 修飾ホスファチジルエタノールアミン (PEG - PE)、PEG - 修飾セラミド、PEG - 修飾ジアルキルアミン、PEG - 修飾ジアシルグリセロール、ポリエチレングリコールジバルミトイルグリセロール (PEG - DPG)、PEG - 修飾ジアルキルグリセロール (メトキシポリエチレングリコール) - ジミリスティルグリセロール (PEG - s - DMG)、PEG - ジアルキルオキシプロピル (DAA)、R - 3 - [ ( - メトキシ - ポリ (エチレングリコール) 2000 ) カルバモイル ] - 1, 2 - ジミリスティルオキシプロピル - 3 - アミン (PEG - c - DOMG)、および N - アセチルガラクトサミン - ( (R) - 2, 3 - ビス (オクタデシルオキシ) プロピル - 1 - (メトキシ - ポリ (エチレングリコール) 2000 ) プロピルカルバメート ) (GalNAc - PEG - DSG) からなる群より選択される、PEG 修飾脂質を更に含む、請求項 1 に記載の方法、請求項 2 に記載のハイブリドソーム、請求項 4 に記載の医薬組成物又は請求項 8 に記載の方法。

#### 【請求項 20】

前記第二の小胞が、

(a) がんもしくは前がん患者の腫瘍細胞に由来するか、または、腫瘍もしくはがん細胞株に由来するか、

(b) グリオブラストーマ細胞またはマントル細胞リンパ腫細胞に由来するか、

(c) B 細胞、抗原提示細胞、リンパ球、血小板、好中球、活性化多形核好中球および白血球からなる群から選択される細胞に由来するか、

(d) 細菌病原体、アメーバ病原体、寄生虫病原体または真菌病原体に由来するか、あるいは

(e) 病原体感染細胞に由来する、請求項 1 に記載の方法、請求項 2 に記載のハイブリドソーム、請求項 4 に記載の医薬組成物又は請求項 8 に記載の方法。

#### 【請求項 21】

前記第一の小胞が、低分子干渉 RNA (siRNA)、アンチセンス RNA、マイクロ RNA (miRNA)、スモールまたはショートヘアピン RNA (shRNA)、ガイド RNA (gRNA)、CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat) RNA (cr

R N A )、トランス活性化 C R I S P R R N A ( t r a c r R N A )、免疫刺激性オリゴヌクレオチド、プラスミド、アンチセンス核酸、およびリボザイムからなる群より選択される核酸を更に含む、請求項 1 に記載の方法、請求項 2 に記載のハイブリドソーム、請求項 4 に記載の医薬組成物又は請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 2 2】**

( a ) 前記第一の小胞が、少なくとも一つの抗原をコードする修飾核酸分子および / もしくは m R N A を含み、ならびに / または

( b ) 前記第二の小胞が、腫瘍関連抗原および病原体関連抗原から選択される疾患関連抗原を含む、請求項 1 に記載の方法、請求項 2 に記載のハイブリドソーム、請求項 4 に記載の医薬組成物又は請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 2 3】**

前記第一の小胞が、

( a )  $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{211}\text{As}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{211}\text{B}$ 、 $^{212}\text{Ba}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Br}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{109}\text{Cd}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{130}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{103}\text{Pd}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{89}\text{Sr}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{88}\text{Y}$ 、および  $^{90}\text{Y}$  からなる群より選択される放射性同位元素、

( b ) 量子ドット、ならびに金、銀、鉄および酸化鉄ナノ粒子から選択される金属ナノ粒子

から選択される剤を含む、請求項 1 に記載の方法、請求項 2 に記載のハイブリドソーム、請求項 4 に記載の医薬組成物又は請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 2 4】**

前記接触工程における pH を上昇させることにより前記統合工程を終了させることを更に含む、請求項 1 に記載の方法、請求項 2 に記載のハイブリドソーム、請求項 4 に記載の医薬組成物又は請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 2 5】**

治療薬を含む、ハイブリドソーム。

**【請求項 2 6】**

( a ) エキソソーム、エクトソーム、微小胞、およびアポトーシス小体からなる群より選択される構造的及び生理活性的要素、並びに

( b ) 脂質系ナノ粒子 ( L N P )、リポソーム、ポリマー安定化 L N P、セラソーム、スフィンゴソーム、ポリマーソーム、合成ナノ粒子安定化 L N P、天然膜由来 L N P、および天然膜でコーティングされた L N P からなる群より選択される構造的及び生理活性的要素を含み、L N P、リポソーム、ポリマー安定化 L N P、セラソーム、スフィンゴソーム、ポリマーソーム、合成ナノ粒子安定化 L N P、天然膜由来 L N P、および天然膜でコーティングされた L N P からなる群より選択される構造的及び生理活性的要素の脂質合計に対し少なくとも 30 % のモル濃度で膜融合性のイオン化可能なカチオン性脂質を含む、請求項 2 5 に記載のハイブリドソーム。

**【請求項 2 7】**

( a ) エキソソームの構造的及び生理活性的要素、並びに

( b ) L N P の構造的及び生理活性的要素を含み、L N P の脂質合計に対し少なくとも 30 % のモル濃度で膜融合性のイオン化可能なカチオン性脂質を含む、請求項 2 6 に記載のハイブリドソーム。

**【請求項 2 8】**

( a ) エキソソームの構造的及び生理活性的要素、並びに

( b ) L N P の構造的及び生理活性的要素を含み、L N P の脂質合計に対し少なくとも 30 % のモル濃度で膜融合性のイオン化可能なカチオン性脂質を含む、請求項 2 6 に記載のハイブリドソーム。

**【請求項 2 9】**

前記エキソソームが自然に分泌されたエキソソームである、請求項 2 7 又は 2 8 に記載のハイブリドソーム。

【請求項 3 0】

膜融合性のイオン化可能なカチオン性脂質を含む、請求項 2 5 に記載のハイブリドソーム。

【請求項 3 1】

エキソソーム、エクトソーム、微小胞又はアポトーシス小体の脂質を含む、請求項 2 5 又は 3 0 に記載のハイブリドソーム。

【請求項 3 2】

前記エキソソーム、エクトソーム、微小胞又はアポトーシス小体が、自然に分泌された、エキソソーム、エクトソーム、微小胞又はアポトーシス小体である、請求項 2 6 又は 3 1 に記載のハイブリドソーム。

【請求項 3 3】

前記ハイブリドソームが、抗体またはその断片、抗体様分子、ペプチド、タンパク質、アプタマー、オリゴヌクレオチド、糖、ポリサッカライド、及びビタミンからなる群より選択される標的化部分を更に含む、請求項 2 5 ～ 3 2 のいずれか 1 項に記載のハイブリドソーム。

【請求項 3 4】

前記標的化部分が標的となる細胞の表面上の部分に結合する、請求項 3 3 に記載のハイブリドソーム。

【請求項 3 5】

前記ハイブリドソームがその表面にアンカーされる融合ペプチドを更に含み、前記融合ペプチドが可溶性 N - エチルマレイミド感受性因子付着タンパク質受容体 ( S N A R E タンパク質 ) およびその合成模倣物から選択される、請求項 2 5 ～ 3 4 のいずれか 1 項に記載のハイブリドソーム。

【請求項 3 6】

前記ハイブリドソームが P E G 修飾脂質を更に含む、請求項 2 5 ～ 3 5 のいずれか 1 項に記載のハイブリドソーム。

【請求項 3 7】

前記治療薬が下記 ( a ) ～ ( c ) のいずれかである、請求項 2 5 ～ 3 6 のいずれか 1 項に記載のハイブリドソーム。

( a ) 薬物または医薬的に許容可能なその塩もしくは誘導体、

( b ) 抗体に基づいた治療薬、

( c ) ペプチド、タンパク質、および核酸