

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成 23 年 7 月 14 日 (2011.7.14)

【公開番号】特開 2010-184947 (P2010-184947A)

【公開日】平成 22 年 8 月 26 日 (2010.8.26)

【年通号数】公開・登録公報 2010-034

【出願番号】特願 2010-129251 (P2010-129251)

【国際特許分類】

A 6 1 K 9/127 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 K 47/24 (2006.01)

A 6 1 K 47/18 (2006.01)

A 6 1 K 47/28 (2006.01)

A 6 1 K 31/704 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 31/713

A 6 1 K 47/24

A 6 1 K 47/18

A 6 1 K 47/28

A 6 1 K 31/704

【手続補正書】

【提出日】平成 23 年 5 月 17 日 (2011.5.17)

【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】

内部に核酸を被包化する脂質小胞を製造するプロセスであって、

核酸を含む水溶液を第 1 のレザバに提供するステップと、

有機脂質溶液を第 2 のレザバに提供するステップであって、前記有機脂質溶液中に存在する脂質が、約 75 % v / v ~ 100 % v / v の濃度の低級アルカノール中に可溶化される、ステップと、

混合環境中にほぼ等しい流量で前記有機脂質溶液および前記水溶液を導入することによって、前記有機脂質溶液を前記水溶液と混合するステップと、

を含み、前記混合するステップが、前記低級アルカノールを 45 % v / v ~ 約 60 % v / v の間の濃度に希釈することによって、内部に核酸を被包化した脂質小胞を瞬時に産生し、そして、

前記混合環境が T コネクタを含み、前記水溶液および前記有機脂質溶液が、互いに約 180 ° 対向した流れとして T コネクタへ導入され、前記 T コネクタ内で混合される、プロセス。

【請求項 2】

前記脂質小胞を緩衝液で希釈するステップをさらに含み、前記脂質小胞をさらに安定させるために前記脂質小胞を連続的段階的に希釈する、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 3】

前記脂質小胞が約 3.5 ~ 約 8.0 の pH を有する溶液中に存在する、請求項 1 に記載の

プロセス。

【請求項 4】

前記脂質小胞が約 6 . 0 以下の pH を有する溶液中に存在し、前記脂質小胞が 5 0 % よりも大きい核酸被包化効率を有する、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 5】

前記脂質小胞が約 5 . 0 以下の pH を有する溶液中に存在し、前記脂質小胞が約 8 0 % と約 9 0 % との間の核酸被包化効率を有する、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 6】

前記脂質小胞の直径が約 1 5 0 nm 以下である、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 7】

前記脂質小胞は約 1 0 0 mM ~ 約 2 0 0 mM の塩濃度を有する溶液中に存在する、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 8】

前記核酸が、プラスミド、アンチセンスポリヌクレオチド、リボザイム、tRNA、snRNA、siRNA および前濃縮 DNA からなる群から選択される、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 9】

前記核酸が siRNA を含む、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 10】

前記低級アルカノールが、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、ペンタノール、それらの異性体およびこれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 11】

前記低級アルカノールがエタノールを含む、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 12】

前記有機脂質溶液中に存在する前記脂質が、約 8 0 % v / v ~ 約 9 0 % v / v の濃度の前記低級アルカノール中に可溶化される、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 13】

前記脂質小胞がリボソームである、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 14】

前記脂質小胞が、希釈後に前記低級アルカノールの 2 5 % 未満または 2 5 % v / v の濃度を有する溶液中に存在する、請求項 2 に記載のプロセス。

【請求項 15】

前記脂質小胞が、約 0 . 0 7 5 L / 分と約 0 . 3 L / 分との間の流量で生成される、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 16】

前記脂質小胞が、約 5 0 0 / s と約 3 3 0 0 / s との間の剪断速度で生成される、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 17】

前記第 1 のレザバおよび前記第 2 のレザバの一方または両方が温度コントロールされる、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 18】

前記第 1 のレザバおよび前記第 2 のレザバの一方または両方が、オーバーヘッドミキサーを装備したジャケット付ステンレス鋼容器を備える、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 19】

前記 T コネクタがポリプロピレンまたはステンレス鋼である、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 20】

前記有機脂質溶液中に存在する前記脂質が、リン脂質、コレステロール、PEG - 脂質およびカチオン性脂質を含む、請求項 1 に記載のプロセス。

**【請求項 2 1】**

接線流限外濾過によって前記脂質小胞を濃縮するステップをさらに含む、請求項 2 に記載のプロセス。

**【請求項 2 2】**

前記有機脂質溶液中に存在する前記脂質が、100% v/v の濃度の前記低級アルカノール中に可溶化される、請求項 1 に記載のプロセス。

**【請求項 2 3】**

内部に核酸を被包化する脂質小胞を製造する装置であって、

核酸を含む水溶液を保持するための第 1 のレザバと、

有機脂質溶液を保持するための第 2 のレザバであって、前記有機脂質溶液中に存在する脂質が、約 75% v/v ~ 100% v/v の濃度の低級アルカノール中に可溶化される、第 2 のレザバと、

混合環境中にほぼ等しい流量で前記水溶液および前記有機脂質溶液を送り込むように構成されたポンプ機構と、

を備え、前記低級アルカノールを 45% v/v ~ 約 60% v/v の間の濃度に希釈することによって、前記混合環境内で前記有機脂質溶液が前記水溶液と混ざって、内部に核酸を被包化した脂質小胞を瞬時に産生し、そして、

前記混合環境が T コネクタを含み、前記水溶液および前記有機脂質溶液が、互いに約 180° 対向した流れとして T コネクタへ導入され、前記 T コネクタ内で混合される、装置。

**【請求項 2 4】**

前記核酸が、プラスミド、アンチセンスポリヌクレオチド、リボザイム、tRNA、snRNA、siRNA および前濃縮 DNA からなる群から選択される、請求項 2 3 に記載の装置。

**【請求項 2 5】**

前記核酸が siRNA を含む、請求項 2 3 に記載の装置。

**【請求項 2 6】**

前記低級アルカノールが、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、ペンタノール、それらの異性体およびこれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項 2 3 に記載の装置。

**【請求項 2 7】**

前記低級アルカノールがエタノールを含む、請求項 2 3 に記載の装置。

**【請求項 2 8】**

前記脂質小胞がリボソームである、請求項 2 3 に記載の装置。

**【請求項 2 9】**

前記第 1 のレザバおよび前記第 2 のレザバの一方または両方が温度コントロールされる、請求項 2 3 に記載の装置。

**【請求項 3 0】**

前記第 1 のレザバおよび前記第 2 のレザバの一方または両方が、オーバーヘッドミキサーを装備したジャケット付ステンレス鋼容器を備える、請求項 2 3 に記載の装置。

**【請求項 3 1】**

前記 T コネクタがポリプロピレンまたはステンレス鋼である、請求項 2 3 に記載の装置。

**【請求項 3 2】**

前記有機脂質溶液中に存在する前記脂質が、リン脂質、コレステロール、PEG-脂質およびカチオン性脂質を含む、請求項 2 3 に記載の装置。

**【請求項 3 3】**

接線流限外濾過システムをさらに備える、請求項 2 3 に記載の装置。

**【請求項 3 4】**

前記有機脂質溶液中に存在する前記脂質が、100% v/v の濃度の前記低級アルカノール中に可溶化される、請求項 2 3 に記載の装置。