



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0109689
(43) 공개일자 2023년07월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/51 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/215 (2006.01) A61K 47/18 (2017.01)
A61K 47/26 (2017.01) A61K 9/19 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/5123 (2013.01)
A61K 39/215 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7020260
(22) 출원일자(국제) 2021년11월15일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년06월15일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/081674
(87) 국제공개번호 WO 2022/101469
국제공개일자 2022년05월19일
(30) 우선권주장
63/114,478 2020년11월16일 미국(US)
63/115,588 2020년11월18일 미국(US)

(71) 출원인
비온테크 에스이
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12
(72) 발명자
판즈너, 스테폰
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 내
라인쉬, 크리스티안
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
박장원

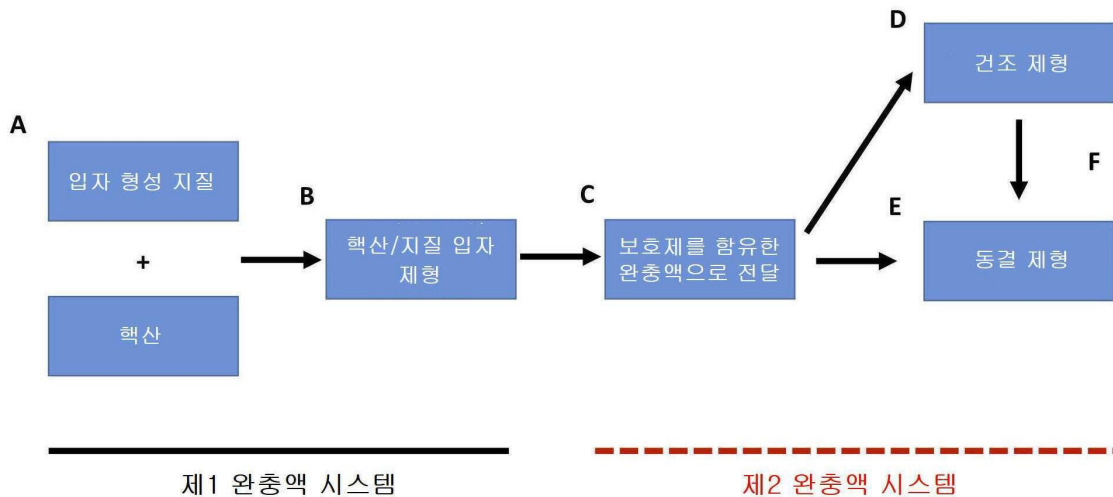
전체 청구항 수 : 총 178 항

(54) 발명의 명칭 지질 나노입자 mRNA 백신의 안정화를 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

본 발명은 지질 나노입자 mRNA 조성물 (예를 들어, 백신)의 안정화에 관한 기술을 제공한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 47/18 (2013.01)

A61K 47/26 (2013.01)

A61K 9/19 (2013.01)

A61P 31/14 (2018.01)

A61K 2039/53 (2013.01)

A61K 2039/55555 (2013.01)

C12N 2770/20034 (2013.01)

(72) 발명자

탄키, 카우석

독일 55131 마인츠 안 테어 골트그루베 12 비온테
크 에스이 내

소마니, 수크루트

독일 55131 마인츠 안 테어 골트그루베 12 비온테
크 에스이 내

체살로프, 세르게이 에이.

미국 매사추세츠 01810 앤도버 버트 로드 1 화이자
인코포레이티드 내

바트나가, 바쿨 수보드

미국 매사추세츠 01810 앤도버 버트 로드 1 화이자
인코포레이티드 내

다르바리, 라민

미국 매사추세츠 01810 앤도버 버트 로드 1 화이자
인코포레이티드 내

루트라, 수미트

미국 매사추세츠 01810 앤도버 버트 로드 1 화이자
인코포레이티드 내

명세서

청구범위

청구항 1

다음을 포함하는 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 2

다음을 포함하는 동결 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 3

다음을 포함하는 건조 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

(b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 4

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실

아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

- i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및
- ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.

청구항 5

제4항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

- c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 6

제4항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

- c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 7

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제1항의 제형을 회석하는 단계;
- b) 제2항의 제형을 해동 및 회석하는 단계; 및/또는
- c) 제3항의 제형을 재현탁 및 회석하는 단계.

청구항 8

제7항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 10

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

- a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
 - ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)(ALC-0315);
 - iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
 - v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
 - b) 약 10% w/v 농도로 수크로스;
 - c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 회석됨.

청구항 11

다음을 포함하는 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스; 및

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 12

다음을 포함하는 동결 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스; 및

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 13

다음을 포함하는 건조 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

(b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스; 및

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 14

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및

ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스.

청구항 15

제14항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 16

제14항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 17

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제11항의 제형을 희석하는 단계;
- b) 제12항의 제형을 해동 및 희석하는 단계; 및/또는
- c) 제13항의 제형을 재현탁 및 희석하는 단계.

청구항 18

제17항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 20

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

- a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
 - ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
 - iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
 - v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- b) 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.

청구항 21

다음을 포함하는 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- (d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 22

다음을 포함하는 동결 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;

(c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;

(d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 23

다음을 포함하는 건조 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;

(c) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;

(d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 24

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;

ii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스; 및

iii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스.

청구항 25

제24항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 26

제24항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 27

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제21항의 제형을 회석하는 단계;
- b) 제22항의 제형을 해동 및 회석하는 단계; 및/또는
- c) 제23항의 제형을 재현탁 및 회석하는 단계.

청구항 28

제27항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 30

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

- a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
 - ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
 - iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
 - v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
 - b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
 - c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
 - d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 회석됨.

청구항 31

다음을 포함하는 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- (c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 32

다음을 포함하는 동결 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 33

다음을 포함하는 건조 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 34

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;

ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.

청구항 35

제34항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 36

제34항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 37

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

a) 제31항의 제형을 희석하는 단계;

b) 제32항의 제형을 해동 및 희석하는 단계; 및/또는

c) 제33항의 제형을 재현탁 및 희석하는 단계.

청구항 38

제37항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 40

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;

ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);

iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);

iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);

v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;

b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;

여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.

청구항 41

다음을 포함하는 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 42

다음을 포함하는 동결 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스; 및

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 43

다음을 포함하는 건조 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 44

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

- i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및
- ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스.

청구항 45

제44항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 46

제44항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 47

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제41항의 제형을 회석하는 단계;
- b) 제42항의 제형을 해동 및 회석하는 단계; 및/또는
- c) 제43항의 제형을 재현탁 및 회석하는 단계.

청구항 48

제47항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 50

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
 - ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
 - iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
 - v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
 - b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
 - c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.

청구항 51

다음을 포함하는 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- (d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 52

다음을 포함하는 동결 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- (d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 53

다음을 포함하는 건조 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;

(c) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;

(d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 54

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;

ii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스; 및

iii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스.

청구항 55

제54항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 56

제54항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 57

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

a) 제51항의 제형을 회석하는 단계;

b) 제52항의 제형을 해동 및 회석하는 단계; 및/또는

c) 제53항의 제형을 재현탁 및 회석하는 단계.

청구항 58

제57항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 60

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;

ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)(ALC-0315);

- iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
 - v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
 - b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
 - c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스
 - d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.

청구항 61

다음에 포함하는 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및
- (c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 62

다음에 포함하는 동결 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및
- (c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 63

다음에 포함하는 건조 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및
- (c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 64

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

- i) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및
- ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.

청구항 65

제64항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

- c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 66

제64항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

- c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 67

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제61항의 제형을 희석하는 단계;
- b) 제62항의 제형을 해동 및 희석하는 단계; 및/또는
- c) 제63항의 제형을 재현탁 및 희석하는 단계.

청구항 68

제67항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 70

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

- a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
 - ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
 - iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
 - v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
 - b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
 - d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.

청구항 71

다음을 포함하는 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;

(c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 72

다음을 포함하는 동결 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;

(c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 73

다음을 포함하는 건조 제형이다:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;

(c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 74

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

i) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및

ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스.

청구항 75

제74항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 76

제74항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 77

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제71항의 제형을 회석하는 단계;
- b) 제72항의 제형을 해동 및 회석하는 단계; 및/또는
- c) 제73항의 제형을 재현탁 및 회석하는 단계.

청구항 78

제77항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 79

제78항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 80

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

- a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
 - ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
 - iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
 - v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
 - b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
 - d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 회석됨.

청구항 81

다음을 포함하는 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

- (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- (d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 82

다음에 포함하는 동결 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- (d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 83

다음에 포함하는 건조 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- (c) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- (d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 84

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

- a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
 - i) His 완충액, 여기서 his 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
 - ii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스; 및
 - iii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스.

청구항 85

제84항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 86

제84항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 87

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제81항의 제형을 회석하는 단계;
- b) 제82항의 제형을 해동 및 회석하는 단계; 및/또는
- c) 제83항의 제형을 재현탁 및 회석하는 단계.

청구항 88

제87항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 89

제88항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 90

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

- a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
 - ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)(ALC-0315);
 - iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
 - v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
 - b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
 - c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
 - d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 회석됨.

청구항 91

다음을 포함하는 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;
- (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- (c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 92

다음을 포함하는 동결 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

(c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 93

다음을 포함하는 건조 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

(c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 94

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

i) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및

ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.

청구항 95

제94항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 96

제94항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 97

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제91항의 제형을 회석하는 단계;
- b) 제92항의 제형을 해동 및 회석하는 단계; 및/또는
- c) 제93항의 제형을 재현탁 및 회석하는 단계.

청구항 98

제97항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 99

제98항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 100

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

- a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
 - ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
 - iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
 - v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
 - b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
 - d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 회석됨.

청구항 101

다음을 포함하는 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- (c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 102

다음을 포함하는 동결 제형:

- (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;

(c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 103

다음을 포함하는 건조 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;

(c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 104

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

i) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및

ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스.

청구항 105

제104항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 106

제104항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 107

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

a) 제101항의 제형을 희석하는 단계;

b) 제102항의 제형을 해동 및 희석하는 단계; 및/또는

c) 제103항의 제형을 재현탁 및 희석하는 단계.

청구항 108

제107항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 109

제108항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 110

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;

ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);

iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);

iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);

v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;

b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;

d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;

여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.

청구항 111

다음을 포함하는 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;

(c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;

(d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 112

다음을 포함하는 동결 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;

(c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;

(d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 113

다음을 포함하는 건조 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;

(c) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;

(d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

청구항 114

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

- i) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- ii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스; 및
- iii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스.

청구항 115

제114항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 116

제114항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 117

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제111항의 제형을 희석하는 단계;
- b) 제112항의 제형을 해동 및 희석하는 단계; 및/또는
- c) 제113항의 제형을 재현탁 및 희석하는 단계.

청구항 118

제117항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 119

제118항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 120

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;

ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);

iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);

iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);

v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;

b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;

c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;

d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.

청구항 121

다음을 포함하는 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

(c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유임.

청구항 122

다음을 포함하는 동결 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

(c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유임.

청구항 123

다음을 포함하는 건조 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

- (b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- (c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유임.

청구항 124

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

- a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
 - ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
 - i) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유임; 및
 - ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.

청구항 125

제124항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

- c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 126

제124항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

- c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 127

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제121항의 제형을 회석하는 단계;
- b) 제122항의 제형을 해동 및 회석하는 단계; 및/또는
- c) 제123항의 제형을 재현탁 및 회석하는 단계.

청구항 128

제127항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 129

제128항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 130

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

- a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
 - ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
 - iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);

- v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
 - b) 약 10% w/v 농도로 수크로스;
 - c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유임;
- 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.

청구항 131

다음에 포함하는 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

(c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 제형 내에서 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함.

청구항 132

다음에 포함하는 동결 제형:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

(c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 제형 내에서 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함.

청구항 133

다음에 포함하는 건조 제형이다:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

(b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

(c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 건조 전에 제형 내에서 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함.

청구항 134

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실

아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

- i) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 제형 내에서 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함; 및
- ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.

청구항 135

제134항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

- c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 136

제134항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

- c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 137

다음 단계를 포함하는, 투여형을 제조하는 방법:

- a) 제131항의 제형을 회석하는 단계;
- b) 제132항의 제형을 해동 및 회석하는 단계; 및/또는
- c) 제133항의 제형을 재현탁 및 회석하는 단계.

청구항 138

제137항에 있어서, 그를 필요로 하는 대상체에게 투여형을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 139

제138항에 있어서, 대상체는 mRNA 발현 생성물을 필요로 하는 것인 방법.

청구항 140

제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함하는 방법:

- a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
 - ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)(ALC-0315);
 - iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
 - iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
 - v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
 - b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
 - c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함;
- 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 회석됨.

청구항 141

다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법:

- a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
 - i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

i) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 제형 내에서 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함; 및

ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스, 여기서 제1 완충액 시스템은 약 10% w/v 농도로 수크로스를 포함함.

청구항 142

제141항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 동결하는 단계.

청구항 143

제141항에 있어서, 다음 단계를 더 포함하는 것인 방법:

c) 제형을 건조하는 단계.

청구항 144

전술한 항들 중 어느 하나의 항에 기술된 제형을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 세포 내로 핵산을 전달하는 방법.

청구항 145

전술한 항들 중 어느 하나의 항에 기술된 제형을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 146

제145항에 있어서, 면역 반응은 mRNA에 의하여 인코딩되는 바이러스 항원, 또는 그의 에피토프에 대한 것인 방법.

청구항 147

제146항에 있어서, 바이러스 항원은 코로나바이러스의 항원인 것인 방법.

청구항 148

제147항에 있어서, 코로나바이러스는 SARS-CoV2 바이러스인 것인 방법.

청구항 149

제147항 또는 제148항에 있어서, 항원은 S 단백질이거나 그를 포함하는 것인 방법.

청구항 150

제형은, 그것이 실질적으로 물을 무함유할 때까지 건조되는 것인,

제3항, 제13항, 제23항, 제33항, 제43항, 제53항, 제63항, 제73항, 제83항, 제93항, 제103항, 제113항, 제123항, 또는 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제6항, 제16항, 제26항, 제36항, 제46항, 제56항, 제66항, 제76항, 제86항, 제96항, 제106항, 제116항, 제126항, 제136항, 또는 제143항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 151

제형은 동결건조에 의하여 건조되는 것인,

제3항, 제13항, 제23항, 제33항, 제43항, 제53항, 제63항, 제73항, 제83항, 제93항, 제103항, 제113항, 제123

항, 제133항, 또는 제150항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제6항, 제16항, 제26항, 제36항, 제46항, 제56항, 제66항, 제76항, 제86항, 제96항, 제106항, 제116항, 제126항, 제136항, 제143항, 또는 제150항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 152

제형은, 그것이 0.8% 미만 0.7% 미만, 0.6% 미만, 0.5% 미만, 0.4% 미만 또는 0.3% w/w 미만의 물을 포함할 때까지 건조되는 것인,

제3항, 제13항, 제23항, 제33항, 제43항, 제53항, 제63항, 제73항, 제83항, 제93항, 제103항, 제113항, 제123항, 제133항, 제150항, 또는 제151항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제6항, 제16항, 제26항, 제36항, 제46항, 제56항, 제66항, 제76항, 제86항, 제96항, 제106항, 제116항, 제126항, 제136항, 제143항, 제150항, 또는 제151항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 153

제형은, 건조 동안 어닐링되는 것인,

제3항, 제13항, 제23항, 제33항, 제43항, 제53항, 제63항, 제73항, 제83항, 제93항, 제103항, 제113항, 제123항, 제133항, 제150항, 제151항, 또는 제152항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제6항, 제16항, 제26항, 제36항, 제46항, 제56항, 제66항, 제76항, 제86항, 제96항, 제106항, 제116항, 제126항, 제136항, 제143항, 제150항, 제151항, 또는 제152항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 154

제형은, 건조 동안 어닐링되지 않는 것인,

제3항, 제13항, 제23항, 제33항, 제43항, 제53항, 제63항, 제73항, 제83항, 제93항, 제103항, 제113항, 제123항, 제133항, 제150항, 제151항, 또는 제152항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제6항, 제16항, 제26항, 제36항, 제46항, 제56항, 제66항, 제76항, 제86항, 제96항, 제106항, 제116항, 제126항, 제136항, 제143항, 제150항, 제151항, 또는 제152항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 155

제형은, 약 2℃ 내지 약 25℃ 범위의 온도에서 적어도 12주 동안 0.8% 미만 0.7% 미만, 0.6% 미만, 0.5% 미만, 0.4% 미만 또는 0.3% w/w 미만의 물을 유지하는 것인,

제150항-제154항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제150항-제154항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 156

하나 이상의 mRNA가 하나 이상의 폴리펩티드를 인코딩하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 157

제156항에 있어서, 하나 이상의 폴리펩티드가 대상체에서 항원에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 에피토프이거

나 이를 포함하는 것인 제형.

청구항 158

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 있어서, 하나 이상의 mRNA는 대상체에서 항원에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 에피토프이거나 이를 포함하는 것인 제형.

청구항 159

하나 이상의 RNA는 자가-증폭 RNA 분자이거나 이를 포함하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 제131항 내지 제133항, 또는 제158항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 160

하나 이상의 RNA는 변형된 RNA 분자, 또는 비-변형된 RNA 분자이거나 이를 포함하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 제131항 내지 제133항, 제158항, 또는 제159항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 제141항 내지 제149항, 또는 제159항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 161

하나 이상의 RNA는 비-변형된 우리딘 RNA 분자이거나 이를 포함하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 제131항 내지 제133항, 또는 제158항 내지 제160항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 제141항 내지 제149항, 제159항, 또는 제160항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 162

하나 이상의 RNA는 뉴클레오시드 변형된 RNA 분자이거나 이를 포함하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 제131항 내지 제133항, 또는 제158항 내지 제161항

중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 제141항 내지 제149항, 제159항 내지 제161항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 163

하나 이상의 폴리펩티드 중 적어도 하나는 SEQ ID NO: 1 또는 7의 SARS-COV-2 S 단백질로부터 유래되는 것인,

제156항에 기재된 제형, 또는

제156항에 기재된 방법.

청구항 164

하나 이상의 폴리펩티드 중 적어도 하나는 SEQ ID NO: 1 또는 7의 SARS-COV-2 S 단백질에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 포함하는 것인,

제156항에 기재된 제형, 또는

제156항에 기재된 방법.

청구항 165

하나 이상의 폴리펩티드 중 적어도 하나는 SEQ ID NO: 1 또는 7의 전장 SARS-COV-2 S 단백질이거나 이를 포함하는 것인,

제156항에 기재된 제형, 또는

제156항에 기재된 방법.

청구항 166

하나 이상의 폴리펩티드 중 적어도 하나는 SEQ ID NO: 1 또는 7의 SARS-COV-2 S 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD)에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 포함하는 것인,

제156항에 기재된 제형, 또는

제156항에 기재된 방법.

청구항 167

하나 이상의 폴리펩티드 중 적어도 하나는 SEQ ID NO: 1 또는 7의 SARS-COV-2 S 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD)이거나 이를 포함하는 것인,

제156항에 기재된 제형, 또는

제156항에 기재된 방법.

청구항 168

하나 이상의 mRNA가 LNP와 결합되거나 또는 그 안에 캡슐화되는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항

중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 169

제형은 25℃를 초과하는 온도에서 적어도 12주의 기간 동안 저장된 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 170

제형은 약 2-40℃ 범위의 온도에서 적어도 12주의 기간 동안 저장된 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 171

제형은, 약 2-8℃의 온도에서 적어도 12주의 기간 동안 저장되었을 때, 대조군 제형과 비교하여 지질 나노입자가 Z-평균에 있어서 20 nm 미만의 변화를 나타내는 것을 특징으로 하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 172

제형은, 약 25℃의 온도에서 적어도 12주의 기간 동안 저장되었을 때, 대조군 제형과 비교하여 지질 나노입자가 Z-평균에 있어서 20 nm 미만의 변화를 나타내는 것을 특징으로 하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 173

제형은, 약 2-8℃의 온도에서 적어도 12주의 기간 동안 저장되었을 때, 대조군 제형과 비교하여 지질 나노입자가 다분산 지수(PDI)에 있어서 0.1 미만의 변화를 나타내는 것을 특징으로 하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 174

제형은, 약 25℃의 온도에서 적어도 12주의 기간 동안 저장되었을 때, 대조군 제형과 비교하여 지질 나노입자가 다분산 지수(PDI)에 있어서 0.1 미만의 변화를 나타내는 것을 특징으로 하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 175

제형은, 약 2-8℃의 온도에서 적어도 12주의 기간 동안 저장되었을 때, 대조군 제형과 비교하여 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상 또는 90% 이상의 %mRNA 캡슐화를 특징으로 하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 176

제형은, 약 25℃의 온도에서 적어도 12주의 기간 동안 저장되었을 때, 대조군 제형과 비교하여 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상 또는 90% 이상의 mRNA 캡슐화%를 특징으로 하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항

중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 177

제형은, 약 2-8℃의 온도에서 적어도 12주의 기간 동안 저장되었을 때, 대조군 제형과 비교하여 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상 또는 90% 이상의 %mRNA 발현을 특징으로 하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

청구항 178

제형은, 약 25℃의 온도에서 적어도 12주의 기간 동안 저장되었을 때, 대조군 제형과 비교하여 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상 또는 90% 이상의 %mRNA 발현을 특징으로 하는 것인,

제1항 내지 제3항, 제11항 내지 제13항, 제21항 내지 제23항, 제31항 내지 제33항, 제41항 내지 제43항, 제51항 내지 제53항, 제61항 내지 제63항, 제71항 내지 제73항, 제81항 내지 제83항, 제91항 내지 제93항, 제101항 내지 제103항, 제111항 내지 제113항, 제121항 내지 제123항, 또는 제131항 내지 제133항 중 어느 하나의 항에 기재된 제형, 또는

제4항 내지 제9항, 제14항 내지 제19항, 제24항 내지 제29항, 제34항 내지 제39항, 제44항 내지 제49항, 제54항 내지 제59항, 제64항 내지 제69항, 제74항 내지 제79항, 제84항 내지 제89항, 제94항 내지 제99항, 제104항 내지 제109항, 제114항 내지 제119항, 제124항 내지 제129항, 제134항 내지 제139항, 또는 제141항 내지 제149항 중 어느 하나의 항에 기재된 방법.

발명의 설명

기술 분야

배경 기술

[0001] [1] 메신저 RNA (mRNA)는 흥미진진한 치료 방식임이 입증되었으며 최근 특히 백신 분야에서 상당한 관심을 받고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0002] 요약

[0003] [2] 본 발명은 RNA(예를 들어, mRNA) 치료제의 제형, 특히 RNA(예를 들어, mRNA) 페이로드를 포함하는 지질 나노입자(LNP) 제형에 관한 기술을 제공한다. 무엇보다도, 본 발명은 약 -80℃ 초과, 또는 심지어 약 -70℃, 약 -60℃, 약 -50℃, 약 -40℃, 약 -30℃, 또는 약 -20℃ 초과 온도에서 보관 및/또는 취급이 용이한(예를 들어, 안전한) 치료용 RNA 제형(즉, LNP 제형)을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 제형은 어느점 이상의 온도(예를 들어, 약 0℃ 이상), 표준 냉장 온도(예를 들어, 약 1℃ 내지 약 8℃, 또는 약 2℃ 내지 약 8℃, 또는 약 2℃ 내지 약 6℃, 또는 약 2℃ 내지 약 4℃ 범위 내)에서, 및/또는 실온(예를 들어, 약 15도 내지 약 25℃, 또는 약

20℃ 내지 약 23℃ 범위 내)에서 보관 및/또는 취급이 가능할 수 있다.

- [0004] [3] 일부 구현예에서, 본 발명은 건조가 가능한 및/또는 건조된 제형을 제공한다(예를 들어, 동결건조된 제형임).
- [0005] [4] 본 발명은 특히 백신으로서 (및/또는 백신의 제조에 있어서) 유용한 특정 제형을 제공한다.
- [0006] [5] 일부 구현예에서, 본 발명은 바이러스 항원(예를 들어, 그의 S-단백질 또는 에피토프와 같은 SARS-CoV2 항원)을 인코딩하는 RNA의 제형(및 구체적으로 LNP 제형)을 제공한다. 구체적인 예시 제형은 BNT162 구축물인 RNA 구축물(예를 들어, 각각의 내용이 여기에 설명된 목적을 위해 참조로 포함되는 [Walsh, E. *et al.* RNA-Based COVID-19 Vaccine BNT162b2 Selected for a Pivotal Efficacy Study. *medRxiv* (2020)], 예를 들어 BNT162b2; 및 [2020년 11월 12일 출원되고 표제 "Coronavirus Vaccine"인 PCT 출원 번호 PCT/EP2020/081981])을 포함한다.
- [0007] [6] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 제형은 다음을 포함한다:
- [0008] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0009] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0010] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;
- [0011] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및
- [0012] (c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0013] [7] 일부 구현예에서, 본원에 제공되는 제형은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0014] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0015] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0016] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;
- [0017] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및
- [0018] (c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0019] [8] 일부 구현예에서, 본원에 제공되는 제형은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0020] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0021] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0022] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;
- [0023] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및
- [0024] (c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0025] [9] 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0026] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0027] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0028] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디

일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및

ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.

[10] 일부 구현예에서, 다음 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

제형의 투여형을 투여하는 단계로, 제형은 다음을 포함함:

a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;

ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);

iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);

iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);

v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;

b) 약 10% w/v 농도로 수크로스;

c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;

여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.

[11] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스; 및

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

[12] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

(b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스; 및

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

[13] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실

아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

(b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스; 및

(c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

[14] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:

a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및

ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스.

[15] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:

a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;

ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);

iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);

iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);

v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;

b) 약 10% w/v 농도로 트레할로스;

c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;

여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.

[16] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 제형은 다음을 포함한다:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;

(b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;

(c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;

(d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.

[17] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 제형은 다음을 포함하는 동결 제형이다:

(a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

- [0088] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;
- [0089] (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0090] (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0091] (d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0092] [18] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 제형은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0093] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0094] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0095] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤;
- [0096] (b) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0097] (c) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0098] (d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0099] [19] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0100] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0101] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0102] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0103] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0104] i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0105] ii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스; 및
- [0106] iii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스.
- [0107] [20] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0108] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0109] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0110] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0111] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0112] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0113] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0114] b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0115] c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0116] d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;

- [0117] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0118] [21] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 제형은 다음을 포함한다:
- [0119] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0120] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0121] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0122] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0123] (c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0124] [22] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 제형은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0125] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0126] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0127] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0128] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0129] (c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0130] [23] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 제형은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0131] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0132] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0133] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0134] (b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0135] (c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0136] [24] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0137] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0138] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0139] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0140] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0141] i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0142] ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.
- [0143] [25] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0144] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- [0145] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0146] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0147] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0148] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0149] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0150] b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0151] c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0152] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0153] [26] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:
- [0154] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0155] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0156] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0157] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0158] (c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0159] [27] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0160] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0161] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0162] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0163] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스; 및
- [0164] (c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0165] [28] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0166] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0167] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0168] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0169] (b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0170] (c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0171] [29] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0172] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0173] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;

- [0174] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0175] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0176] i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및
- [0177] ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스.
- [0178] [30] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0179] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0180] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0181] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)(ALC-0315);
- [0182] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0183] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0184] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0185] b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0186] c) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0187] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0188] [31] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:
- [0189] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0190] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0191] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0192] (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0193] (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0194] (d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0195] [32] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0196] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0197] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0198] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0199] (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0200] (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0201] (d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0202] [33] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0203] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- [0204] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0205] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0206] (b) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0207] (c) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0208] (d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0209] [34] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0210] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0211] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0212] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0213] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0214] i) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0215] ii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스; 및
- [0216] iii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스.
- [0217] [35] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0218] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0219] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0220] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0221] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0222] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0223] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0224] b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0225] c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스
- [0226] d) Tris 완충액, 여기서 Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함하고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0227] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0228] [36] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:
- [0229] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0230] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0231] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0232] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및

- [0233] (c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0234] [37] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0235] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0236] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0237] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0238] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및
- [0239] (c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0240] [38] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0241] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0242] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0243] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0244] (b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스; 및
- [0245] (c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0246] [39] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0247] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0248] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0249] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0250] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0251] i) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및
- [0252] ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.
- [0253] [40] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0254] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0255] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0256] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0257] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0258] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0259] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0260] b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0261] d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;

- [0262] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0263] [41] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:
- [0264] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0265] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0266] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0267] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0268] (c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0269] [42] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0270] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0271] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0272] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0273] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0274] (c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0275] [43] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0276] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0277] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0278] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0279] (b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0280] (c) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0281] [44] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0282] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0283] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0284] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0285] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0286] i) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및
- [0287] ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스.
- [0288] [45] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0289] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:

- [0290] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0291] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0292] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0293] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0294] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0295] b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0296] d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0297] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0298] [46] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:
- [0299] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0300] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0301] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0302] (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0303] (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0304] (d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0305] [47] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0306] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0307] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0308] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0309] (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0310] (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0311] (d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0312] [48] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0313] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0314] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0315] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0316] (b) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0317] (c) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0318] (d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0319] [49] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서,

본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:

- [0320] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0321] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0322] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0323] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0324] i) His 완충액, 여기서 his 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0325] ii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스; 및
- [0326] iii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스.
- [0327] [50] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0328] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0329] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0330] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0331] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0332] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0333] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0334] b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0335] c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0336] d) His 완충액, 여기서 His 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0337] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0338] [51] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:
- [0339] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0340] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0341] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0342] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0343] (c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0344] [52] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0345] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0346] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0347] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0348] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;

- [0349] (c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0350] [53] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0351] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0352] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0353] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0354] (b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0355] (c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0356] [54] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0357] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0358] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0359] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0360] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0361] i) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및
- [0362] ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.
- [0363] [55] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0364] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0365] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0366] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0367] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0368] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0369] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0370] b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0371] d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0372] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0373] [11] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:
- [0374] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0375] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0376] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

- [0377] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0378] (c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0379] [57] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0380] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0381] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0382] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0383] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0384] (c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0385] [58] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0386] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0387] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0388] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0389] (b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0390] (c) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0391] [59] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0392] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0393] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0394] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0395] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0396] i) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임; 및
- [0397] ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스.
- [0398] [60] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0399] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0400] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0401] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0402] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0403] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0404] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;

- [0405] b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 트레할로스;
- [0406] d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0407] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0408] [61] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:
- [0409] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0410] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0411] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0412] (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0413] (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0414] (d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0415] [62] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0416] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0417] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0418] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0419] (b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0420] (c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0421] (d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0422] [63] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0423] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0424] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0425] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0426] (b) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0427] (c) 건조 전에 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0428] (d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 건조 전에 제형 내에서 약 10 mM의 농도임.
- [0429] [64] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0430] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0431] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0432] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실 아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0433] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:

- [0434] i) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0435] ii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스; 및
- [0436] ii) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스.
- [0437] [65] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0438] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0439] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0440] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0441] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0442] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0443] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0444] b) 제형 중 약 5% w/v 농도로 수크로스;
- [0445] c) 제형 중 약 5% w/v 농도로 트레할로스;
- [0446] d) HEPES 완충액, 여기서 HEPES 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고 제형 내에서 약 10 mM의 농도임;
- [0447] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0448] [66] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:
- [0449] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0450] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0451] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0452] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0453] (c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유임.
- [0454] [67] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0455] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0456] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0457] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0458] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0459] (c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유임.
- [0460] [68] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0461] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0462] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0463] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

- [0464] (b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0465] (c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유임.
- [0466] [69] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0467] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0468] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0469] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0470] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0471] i) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유임; 및
- [0472] ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.
- [0473] [70] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0474] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0475] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0476] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0477] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0478] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0479] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0480] b) 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0481] c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유임;
- [0482] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0483] [71] 한 측면에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 제형이다:
- [0484] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0485] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0486] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0487] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0488] (c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 제형 내에서 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함.
- [0489] [72] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 동결 제형이다:
- [0490] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0491] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0492] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

- [0493] (b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0494] (c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 제형 내에서 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함.
- [0495] [73] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음을 포함하는 건조 제형이다:
- [0496] (a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0497] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0498] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0499] (b) 건조 전에 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0500] (c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 건조 전에 제형 내에서 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함.
- [0501] [74] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0502] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0503] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0504] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및
- [0505] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0506] i) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 제형 내에서 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함; 및
- [0507] ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스.
- [0508] [75] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 제형의 투여형을 투여하는 단계를 포함하는 방법으로, 제형은 다음을 포함한다:
- [0509] a) 지질 나노입자(LNP), 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0510] i) 약 0.5 mg/ml 농도로 mRNA;
- [0511] ii) 약 7.17 mg/ml 농도로 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315);
- [0512] iii) 약 0.89 mg/ml 농도로 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159);
- [0513] iv) 약 1.56 mg/ml 농도로 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC);
- [0514] v) 약 3.1 mg/ml 농도로 콜레스테롤;
- [0515] b) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스;
- [0516] c) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함;
- [0517] 여기서, 제형은, 투여 전에 투여형 내로 희석됨.
- [0518] [76] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이러한 제형을 제공하는 방법도 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은 다음 단계를 포함하는 제형을 제조하는 방법이다:
- [0519] a) 제1 완충액 시스템에서 지질 나노입자(LNP)를 제조하는 단계로, 여기서 LNP는 다음을 포함함:
- [0520] i) 하나 이상의 mRNA이거나 이를 포함하는 페이로드;
- [0521] ii) 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 다음을 포함하는 지질: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노에이트)(ALC-0315); 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 및 콜레스테롤; 및

- [0522] b) 제1 완충액 시스템을 제2 완충액 시스템으로 교환하는 단계로, 여기서 제2 완충액 시스템은 다음을 포함함:
- [0523] i) PBS 완충액, 여기서 PBS 완충액은 제형 내에서 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함함; 및
- [0524] ii) 제형 중 약 10% w/v 농도로 수크로스, 여기서 제1 완충액 시스템은 약 10% w/v 농도로 수크로스를 포함함.
- [0525] [77] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 전술한 청구항 중 임의의 것에 기술된 바와 같은, 제형을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 세포 내로 핵산을 전달하는 방법이다.
- [0526] [78] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 것은, 전술한 청구항 중 임의의 것에 기술된 바와 같은, 대상체에게 제형을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 면역 반응을 유도하는 방법이다.
- [0527] **정의**
- [0528] [79] 본 출원에서, 문맥상 달리 명확하지 않은 한, (i) 용어 "a"는 "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해될 수 있고, (ii) 용어 "또는"은 "및/또는"을 의미하는 것으로 이해될 수 있고, (iii) 용어 "포함하는(comprising)" 및 "포함하는(including)"은 그 자체로, 또는 하나 이상의 추가 구성요소 또는 단계와 함께 제시되는, 항목별 구성요소 또는 단계를 포함하는 것으로 이해될 수 있으며, (iv) 용어 "약" 및 "대략"은 당업자가 이해하는 바와 같이 표준 변형을 허용하는 것으로 이해될 수 있고, (v) 범위가 제공되는 경우 종말점이 포함된다.
- [0529] [80] 투여: 본원에서 사용되는 용어 "투여"는 대상체에게 조성물을 투여하는 것을 의미한다. 예시적인 투여 경로는 기관지(기관지 점적에 의한 것을 포함함), 협측, 장내, 피내(interdermal), 동맥내, 피내(intradermal), 위내, 골수내, 근육내, 비강내, 복강내, 척수강내, 정맥내, 심실내, 점막, 비강, 경구, 직장, 피하, 설하, 국소, 기관(기관내 점적 포함), 경피, 질 및 유리체를 포함할 수 있다. 많은 구현예에서, 제공된 기술은, 근육내 주사에 의해 투여되는 LNP 조성물(예를 들어, BNT162 작제물을 포함함)에 관한 것이다. 일부 구현예에서, LNP 조성물은 제1 투여에 이어 1회 이상의 투여(예를 들어, 하나 이상의 부스터 투여)가 뒤따른다. 일부 구현예에서, 기간, 예를 들어 약 24, 48, 72, 96시간 이상, 예컨대 약 1, 2, 3, 4주 또는 그 이상, LNP 조성물의 각 투여, 예를 들어 제1 투여 및 제2 투여 사이를 분리한다. 일부 구현예에서, 투여를 분리하는 기간은 약 3주(예를 들어, 약 21일)이다.
- [0530] [81] 항체 제제: 본원에서 사용되는 용어 "항체 제제"는 특정 항원에 특이적으로 결합하는 제제를 의미한다. 일부 구현예에서, 용어는 특이적 결합을 부여하기에 충분한 면역글로불린 구조 요소를 포함하는 임의의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체를 포함한다. 예시적인 항체 작용제는 단클론 항체 또는 다클론 항체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 항체 제제는 마우스, 래빗, 영장류 또는 인간 항체의 특징인, 하나 이상의 불변 영역 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 제제는 당업계에 공지된 바와 같이 인간화, 영장류화, 키메라 등의 하나 이상의 서열 요소를 포함할 수 있다. 많은 구현예에서, 용어 "항체 제제"는 항체의 구조적 및 기능적 특징을 대안적인 표현으로 활용하기 위하여 당업계에 공지되거나 개발된 작제물 또는 형식 중 하나 이상을 지칭하는 데 사용된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 이용되는 항체 제제는, 온전한 IgA, IgG, IgE 또는 IgM 항체; 이중- 또는 다중-특이적 항체(예: Zybodies®, 등); Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편, Fd' 단편, Fd 단편, 및 이들의 분리된 CDR 또는 세트와 같은 항체 단편; 단일 사슬 Fvs; 폴리펩티드-Fc 융합체; 단일 도메인 항체(예를 들어, IgNAR 또는 이의 단편과 같은 상어 단일 도메인 항체); 카멜로이드 항체; 마스킹된 항체(예: Probodyes®); Small Modular Immunopharmaceuticals("SMIPs™"); 단일 사슬 또는 Tandem 디아바디(TandAb®); VHs; Anticalins®; Nanobodies® 미니바디; BiTE®; 안키린 반복 단백질 또는 DARPINs®; Avimers®; DARTs; TCR-유사 항체, Adnectins®; Affilins®; Trans-bodies®; Affibodies®; TrimerX®; MicroProteins; Fynomers®, Centyrins®; 및 KALBITOR® 중에서 선택되는 형식의 것이나, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 항체는, 자연적으로 생성되는 경우 가질 공유 변형(예를 들어, 글리칸의 부착)이 결합될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 공유 변형(예를 들어, 글리칸, 페이로드[예를 들어, 검출가능한 모이어티, 치료 모이어티, 촉매 모이어티 등], 또는 다른 펜던트 그룹[예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 등]의 부착)을 포함할 수 있다. 많은 구현예에서, 항체 제제는, 그의 아미노산 서열이 상보성 결정 영역(CDR)으로서 당업자에 의해 인식되는 하나 이상의 구조적 요소를 포함하는 폴리펩티드이거나 이를 포함하고; 일부 구현예에서, 항체 제제는 그의 아미노산 서열이 참조 항체에서 발견되는 것과 실질적으로 동일한 하나 이상의 CDR(예를 들어, 하나 이상의 중쇄 CDR 및/또는 하나 이상의 경쇄 CDR)을 포함하는 폴리펩티드이거나 그를 포함한다. 일부 구현예에서, 포함된 CDR은, 참조 CDR과 비교하여, 그것이 서열상 동일하거나 1-5개의 아미노산 치환을 함유한다는 점에서, 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 포함된 CDR은, 참조 CDR과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 보인다는 점에서 참조 CDR과 실

질적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 포함된 CDR은, 참조 CDR과 적어도 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 보인다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 포함된 CDR은, 참조 CDR과 비교하여 그 포함된 CDR 내의 적어도 하나의 아미노산이 결실, 부가 또는 치환되지만, 그 외에는 참조 CDR의 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 포함된 CDR은, 참조 CDR과 비교하여 그 포함된 CDR 내의 1-5개의 아미노산이 결실, 부가 또는 치환되지만, 그 외에는 참조 CDR의 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 포함된 CDR은, 참조 CDR과 비교하여 그 포함된 CDR 내의 1-5개의 아미노산이 결실, 부가 또는 치환되지만, 그 외에는 참조 CDR의 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 항체 제제는 그의 아미노산 서열이 면역글로불린 가변 도메인으로서 당업자에 의해 인식되는 구조적 요소를 포함하는 폴리펩티드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 제제는 면역글로불린-결합 도메인과 상동성인 또는 대체로 상동성인 결합 도메인을 갖는 폴리펩티드 단백질이다.

[0531] [82] 항원: 본원에서 사용되는 용어 "항원"은 면역 반응을 유도하는; 및/또는 항체에 의하여 또는 T 세포 수용체에 특이적으로 결합되는(예를 들어, MHC 분자에 의해 제시될 때) 제제 또는 모이어티를 지칭한다. 일부 구현예에서, 항원은 체액성 반응(예를 들어, 항원-특이적 항체의 생산을 수반하거나 포함할 수 있음)을 유발하고; 일부 구현예에서, 항원은 세포 반응(예를 들어, 그의 수용체가 항원과 특이적으로 상호작용하는 T-세포를 수반하거나 포함할 수 있음)을 유도한다. 일부 구현예에서, 항원은 항체에 결합하고, 유기체에서 특정 생리학적 반응을 유도하거나 유도하지 않을 수 있다. 일반적으로, 항원은, 예를 들어 소분자, 핵산, 폴리펩티드, 탄수화물, 지질, 중합체(일부 구현예에서, 생물학적 중합체 외[예를 들어, 핵산 또는 아미노산 중합체 외] 등)과 같은 임의의 화학적 실체이거나 그를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원은 폴리펩티드 또는 이의 에피토프이거나 이를 포함한다. 일부 실시예에서, 항원은 재조합 항원이다.

[0532] [83] 연관된: 본원에서 그 용어가 사용되는 바, 어느 하나의 존재, 수준, 정도, 유형 및/또는 형태가 다른 하나와 상관 관계가 있는 경우, 두 개의 이벤트 또는 실체는 서로 "연관"된다. 예를 들어, 특정 엔터티(예: 폴리펩티드, 유전자 서명, 대사산물, 미생물 등)는, 그 존재, 수준 및/또는 형태가 그 질병, 장애 또는 병태의 발생률 및/또는 그에 대한 감수성과 상관 관계가 있다면성(예: 관련 인구 전체에 걸쳐), 그 특정 질병, 장애 또는 병태와 관련이 있는 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 실체는 그들이 직접적으로 또는 간접적으로 상호작용하여 서로 물리적으로 근접하고 및/또는 그렇게 유지하는 경우 서로 물리적으로 "연관"된다. 일부 구현예에서, 서로 물리적으로 연관된 2 이상의 실체는 서로 공유 결합되는 것이며; 일부 구현예에서, 서로 물리적으로 서로 연관된 2 이상의 실체는, 서로 공유 결합되지 않지만, 예를 들어 수소 결합, 반 데르 발스 상호작용, 소수성 상호작용, 자성 및 이들의 조합에 의해 비공유적으로 결합되는 것이다.

[0533] [84] 조합 요법: 본원에서 사용되는 용어 "조합 요법" 또는 "조합으로" 투여되는 제제에 대한 언급은, 대상체가 2 이상의 치료 요법(예를 들어, 2 이상의 치료제 또는 치료 방식)에 동시에 노출되는 상황을 지칭한다. 일부 구현예에서, 2 이상의 요법은 동시에 투여될 수 있고; 일부 구현예에서, 이러한 요법은 순차적으로 투여될 수 있으며(예를 들어, 제1 요법의 모든 "용량"은 제2 요법의 임의 용량의 투여 전에 투여됨); 일부 구현예에서, 이러한 제제는 중복 투여 요법으로 투여된다. 일부 구현예에서, 조합 요법의 "투여"는 다른 제제(들) 또는 방식(들)을 투여받는 대상체에게, 하나 이상의 제제(들) 또는 방식(들)을 조합하여 투여하는 것을 포함할 수 있다. 명확히 하기 위해, 조합 요법은, 일부 구현예에서, 2 이상의 제제 또는 이들의 활성 모이어티가 조합 조성물로 또는 심지어 조합 화합물로(예: 단일한 화학적 복합체 또는 공유 실체의 일부로서) 함께 투여될 수 있음에도, 각각의 제제가 단일 조성물로 함께(또는 심지어 반드시 동시에) 투여될 것을 요구하지 않는다,

[0534] [85] 발현: 본원에서 사용되는 바와 같이, 핵산 서열의 "발현"은 다음 사건 중 하나 이상을 의미한다: (1) 상보적 핵산의 주형화된 합성(예를 들어, DNA 서열로부터 RNA 주형의 생성, 예를 들어 전사에 의함); (2) 예를 들어, mRNA를 생성하기 위한 RNA 전사체의 프로세싱(예를 들어, 스플라이싱, 편집, 5' 캡 형성 및/또는 3' 말단 형성에 의함); (3) RNA(예: mRNA)의 폴리펩티드 또는 단백질로의 번역; 및/또는 (4) 폴리펩티드 또는 단백질의 번역-후 변형. 당업자는, 일부 상황에서 "발현"이 주형화된 합성의 여러 단계(예를 들어, DNA 가닥을 생성하기 위한 RNA의 역전사에 이어, 이러한 DNA 가닥의 전사 및/또는 선택적으로 예를 들어 이중 가닥 DNA를 생성하기 위해 상보적인 DNA 가닥의 합성)를 포함할 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0535] [86] 제형: "제형"은 본원에 기재된 바와 같이 제조 및/또는 제공되는 조성물이다. 많은 구현예에서, 용어 "제형"은 LNP 조성물, 즉, 본원에 인용된 RNA(특히 mRNA와 같은 치료용 RNA) 및 지질을 포함하는 LNP 조성물을 지

칭하기 위해 사용된다.

- [0536] [87] 단편: 본원에 기재된 바와 같은 물질 또는 실체의 "단편"은, 전체 중 별개의 부분을 포함하지만, 전체 중 에서 발견되는 하나 이상의 모이어티가 결여된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 단편은 이러한 별개의 부분으 로 구성된다. 일부 구현예에서, 단편은 전체 중에서 발견되는 특징적인 구조적 요소 또는 모이어티로 구성되거 나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 중합체 단편은, 전체 중합체에서(예: 연속 결합에서) 발견되는 바, 적어도 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, 500개 또는 그 이상의 단량체 단위(예: 잔기)를 포함하거 나 그로 구성된다. 일부 구현예에서, 중합체 단편은, 전체 중합체에서 발견되는, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 단량체 단위(예: 잔기)를 포함하거나 그로 구성된다. 전체 물질 또는 실체는, 일부 구현예에서 단편의 "모체(parent)"로 지칭될 수 있다.
- [0537] [88] 기능적: 본원에서 사용되는 용어 "기능적"은 특정한 특성 및/또는 활성을 나타내는 실체의 형태 또는 단편 을 지칭하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 이러한 "기능적" 단편의 특성 및/또는 활성은 그의 전체와 유사하 다.
- [0538] [89] 동일성: 본원에서 사용되는 용어 "동일성"은 중합체적 분자 사이, 예를 들어 핵산 분자(예: DNA 분자 및/ 또는 RNA 분자) 사이 및/또는 폴리펩티드 분자 사이의 전반적인 관련성을 의미한다. 일부 구현예에서, 중합체 분자는, 그들의 서열이 적어도 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일하다면, 서로 "실질적으로 동일"한 것으로 간주된다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 서로 다른 서 열에서 어떤 잔기들이 서로 "대응"하는지를 고려할 때, 한 서열에서 다른 서열에 대해 지정된 길이의 갭을 허용 하는 것에 의함을 포함하여, 그들의 상동성 정도를 결정하기 위해 서열들의 비교를 허용하는 다양한 알고리즘을 이용할 수 있다. 예를 들어, 2개의 핵산 서열 사이의 퍼센트 동일성의 계산은 최적의 비교 목적을 위해 2개의 서열을 정렬함으로써 수행될 수 있다(예를 들어, 최적 정렬을 위해 제1 및 제2 핵산 서열 중 하나 또는 둘 다에 갭이 도입될 수 있고, 비-대응 시퀀스는 비교 목적으로 무시할 수 있다.) 특정 구현예에서, 비교 목적을 위해 정렬된 서열의 길이는 참조 서열 길이의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 실질적으로 100%이다. 그런 다음 대응하는 뉴클레오티드 위치의 뉴클레오티 드를 비교한다. 제1 서열에서의 한 위치가 제2 서열에서의 대응 위치와 동일한 뉴클레오티드에 의해 점유되면, 그 분자들은 그 위치에서 동일하다. 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성은, 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입 되어야 하는 갭의 수 및 각 갭의 길이를 고려하여, 그 서열들에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다. 2 개의 뉴클레오티드 서열 간의 퍼센트 동일성을 결정하는데 유용한 대표적인 알고리즘 및 컴퓨터 프로그램은, 예 를 들어, PAM120 웨이트 잔기 표, 12의 갭 길이 페널티 및 4의 갭 페널티를 사용하는 ALIGN 프로그램(버전 2. 0)에 포함된 Meyers and Miller 알고리즘(CABIOS, 1989, 4:11-17)을 포함한다. 대안으로, 2개 뉴클레오티드 서 열 간 퍼센트 동일성은 예를 들어 NWSgapdna.CMP 매트릭스를 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0539] [90] 핵산: 본원에서 사용되는 용어 "핵산"은 가장 넓은 의미에서 올리고뉴클레오티드 사슬에 혼입되거나 혼입 될 수 있는 임의의 화합물 및/또는 물질을 지칭한다. 일부 구현예에서, 핵산은 포스포디에스테르 결합을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬에 혼입되거나 혼입될 수 있는 화합물 및/또는 물질이다. 문맥상 명백한 바와 같이, 일 부 구현예에서 "핵산"은 각각의 핵산 잔기(예: 뉴클레오티드 및/또는 뉴클레오시드)를 의미하고; 일부 구현예에 서 "핵산"은 각각의 핵산 잔기를 포함하는 올리고뉴클레오티드 사슬을 의미한다. 일부 구현예에서, "핵산"은 RNA이거나 RNA를 포함하며; 일부 구현예에서, "핵산"은 DNA이거나 DNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산은 하 나 이상의 천연 핵산 잔기이거나, 이를 포함하거나, 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 핵산은 하나 이상의 핵산 유사체이거나, 이를 포함하거나, 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 핵산 유사체는, 포스포디에스테르 백본을 이 용하지 않는다는 점에서 핵산과 상이하다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 핵산은 하나 이상의 "펩티드 핵산"이거나, 이를 포함하거나, 이로 구성되는데, "펩티드 핵산"은 당업계에 공지되어 있고 백본에서 포스포디에스테르 결합 대신에 펩티드 결합을 갖는 것이며, 이것이 본 발명의 범위 내에서 고려된다. 대안으로 또는 추가로, 일부 구현예에서, 핵산은 포스포디에스테르 결합보다는 하나 이상의 포스포로티오에이트 및/또는 5'-N-포스포르아미 다이트 연결을 갖는다. 일부 구현예에서, 핵산은 하나 이상의 천연 뉴클레오시드(예를 들어, 아데노신, 티미딘, 구아노신, 시티딘, 우라실, 테옥시아데노신, 테옥시티미딘, 테옥시구아노신, 및 테옥시시티딘)이거나, 이를 포 함하거나, 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 핵산은 하나 이상의 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 2-아미노아데

노신, 2-티오티미딘, 이노신, 피롤로-피리미딘, 3-메틸 아데노신, 5-메틸시티딘, C-5 프로피닐-시티딘, C-5 프로피닐-우리딘, 2-아미노아데노신, C5-브로모우리딘, C5-플루오로우리딘, C5-요오도우리딘, C5-프로피닐-우리딘, C5-프로피닐-시티딘, C5-메틸시티딘, 2-아미노아데노신, 7-데아자아데노신, 7-데아자구아노신, 8-옥소아데노신, 8-옥소구아노신, 0(6)-메틸구아닌, 2-티오시티딘, 메틸화된 염기, 삽입 염기 및 이들의 조합)이거나, 이를 포함하거나, 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 핵산은 천연 핵산과 비교하여 하나 이상의 변형된 당(예를 들어, 2'-플루오로리보스, 리보스, 2'-데옥시리보스, 아라비노스 및 핵소스)을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산은 RNA 또는 폴리펩티드와 같은 기능적 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 가지며; 일부 구현예에서, 이러한 뉴클레오타이드 서열은 특정 숙주에서(예를 들어, 수혜자 대상체에서) 발현을 위해 최적화된 코돈일 수 있다. 일부 구현예에서, 코딩 서열을 포함하는 핵산은 또한 하나 이상의 인트론을 포함한다. 일부 구현예에서, 코딩 서열을 포함하는 핵산은 인트론을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 핵산은 다음 중 하나 이상에 의해 제조된다: 천연 공급원으로부터의 분리, 상보적 주형에 기초한 중합에 의한 효소적 합성(일부 구현예에서는 생체내; 일부 구현예에서는 시험관내), 재조합 세포 또는 시스템에서의 재생산, 및 화학적 합성. 일부 구현예에서, 핵산은 적어도 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, 190, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000개 또는 그 이상의 잔기 길이이다.

[0540] [91] 특이적인: 활성을 갖는 제제와 관련하여 본원에서 사용될 때 용어 "특이적인"은 그 제제가 잠재적인 표적 실체 또는 상태를 구별한다는 것을 의미하는 것으로 당업자에 의해 이해된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 제제는, 그것이 하나 이상의 경쟁적 대체 표적의 존재 하에 그 표적과 우선적으로 결합한다면 그의 표적에 "특이적으로" 결합한다고 일컬어진다. 많은 구현예에서, 특이적 상호작용은 표적 실체(예를 들어, 에피토프, 갈라진 틈, 결합 부위)의 특정한 구조적 특징의 존재에 의존한다. 특이성이 절대적일 필요는 없다는 것을 이해해야 한다. 일부 구현예에서, 특이성은 하나 이상의 다른 잠재적인 표적 실체(예를 들어, 경쟁자)에 대한 결합체의 특이성과 비교하여 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, 특이성은 참조 특이적 결합체의 그것에 대해 평가된다. 일부 구현예에서 특이성은 참조 비-특이적 결합체의 것에 대해 평가된다. 일부 구현예에서, 제제 또는 실체는, 그의 표적 실체에 결합하는 조건 하에서, 경쟁적 대체 표적에 검출가능하게 결합하지 않는다. 일부 구현예에서, 결합체는, 경쟁적 대체 표적(들)과 비교하여, 그의 표적 실체에 대해 더 높은 온-레이트(on-rate), 더 낮은 오프-레이트(off-rate), 증가된 친화성, 감소된 해리도 및/또는 증가된 안정성으로 결합한다.

[0541] [92] 안정한: 본원에서 조성물에 적용될 때 "안정한"이라는 용어는 그 조성물이 지정된 일련의 조건 하에서 일정 기간 동안 그들의 물리적 구조 및/또는 활성의 하나 이상의 측면을 유지함을 의미한다. 일부 구현예에서, 기간은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12주 또는 그 이상, 예컨대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 또는 그 이상이며; 일부 구현예에서, 지정된 조건 세트는 저온 문턱값 이상의 온도이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 저온 문턱값은 약 -80℃, -70℃, -50℃, -30℃, -20℃, 0℃, 2℃, 4℃, 8℃, 15℃, 20℃, 30℃, 40℃ 이상이거나 더 높다. 일부 구현예에서, 조성물은, 지질 나노입자(LNP)를 포함하는 콜로이드 함량의 유지에 기초하여 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 조성물은, 하나 이상의 LNP 특성(예를 들어, 그의 Z-평균 및/또는 다분산 지수(PDI)을 포함하지만 이에 제한되지 않음)의 유지에 기초하여 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 조성물은, 핵산 완전성, 핵산 캡슐화의 정도(예를 들어, 퍼센트), 및/또는 핵산 발현성(예를 들어 인코딩된 폴리펩티드의 발현 수준으로서, 이는 예를 들어 관련 참조 수준의 퍼센트로서 표현될 수 있음)의 유지에 기초하여 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은, 그러한 조성물 내의 지질 나노입자가 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 Z-평균에 있어서 약 20 nm 미만의 변화(예를 들어, Z-평균에 있어서 19 nm, 18 nm, 17 nm, 16 nm, 15 nm, 14 nm, 13 nm, 12 nm, 11 nm, 또는 그 미만의 변화를 포함함)를 나타내면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 조성물은, 그러한 조성물 내의 지질 나노입자가 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 Z-평균에 있어서 약 10 nm 미만의 변화(예를 들어, Z-평균에 있어서 9 nm, 8 nm, 7 nm, 6 nm, 5 nm, 4 nm, 3 nm, 2 nm, 1 nm, 0.5 nm, 또는 그 미만의 변화를 포함함)를 나타내면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은, 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 그러한 조성물에서 적어도 50%(예를 들어, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 이상을 포함함)의 핵산 캡슐화가 유지되면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은, 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 적어도 50%(예를 들어, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 이상을 포함함)의 인코딩되는 폴리펩티드의 발현 수준이 유지되면 안정한 것으로 간주된다.

- [0542] [93] 대상체: 본원에 사용된 용어 "대상체" 또는 "환자"는, 예를 들어 실험용, 진단적, 예방적, 미용적 및/또는 치료 목적을 위해, 제공되는 조성물이 투여되거나 투여될 수 있는 임의의 유기체를 지칭한다. 전형적인 대상체는 동물(예를 들어, 마우스, 래트, 래빗, 비-인간 영장류 및/또는 인간과 같은 포유동물)을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 대상체는 하나 이상의 장애 또는 병태를 앓고 있거나 이에 걸리기 쉽다. 일부 구현예에서, 대상체는 장애 또는 병태의 하나 이상의 증상을 나타낸다. 일부 구현예에서, 환자는 하나 이상의 장애 또는 병태로 진단되었다. 일부 구현예에서, 대상체는 바이러스 감염, 또는 바이러스 감염과 관련된 질병 또는 장애의 위험이 있다.
- [0543] [94] 실질적으로: 본원에 사용된 바, "실질적으로"라는 용어는 관심 대상 특징 또는 특성의 전체 또는 거의-전체 범위 또는 정도를 나타내는 질적 조건을 의미한다. 생물학 분야의 통상의 기술자는, 생물학적 및 화학적 현상이, 존재한다면, 완료까지 가고 및/또는 완전하게 진행하거나 절대적인 결과를 달성 또는 회피하는 것이 드물다는 것을 이해할 것이다. 따라서 용어 "실질적으로"는 많은 생물학적 및 화학적 현상에 내재된 완전성의 잠재적 결여를 포착하기 위해 본원에서 사용된다.
- [0544] [95] 치료적 유효량: 본원에서 사용되는 용어 "치료적 유효량"은, 치료적 투여 요법에 따라 질병, 장애 및/또는 병태를 앓고 있거나 이에 걸리기 쉬운 집단에 투여될 때, 상기 질병, 장애 및/또는 병태를 치료하는데 충분한 양을 의미한다. 일부 구현예에서, 치료적 유효량은 질병, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상의 발병 및/또는 중증도를 감소시키고 및/또는 개시를 지연시키는 양이다. 당업자는 "치료적 유효량"이라는 용어가, 실제로 특정 개체에서 성공적인 치료가 달성될 것을 요구하지 않는다는 것을 이해할 것이다. 오히려, 치료적 유효량은 그러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여될 때 상당한 수의 대상체에서 특정한 원하는 약리학적 반응을 제공하는 양일 수 있다. 특정 대상체는 사실상 "치료적 유효량"에 대해 "불응성"일 수 있다는 것이 특히 이해된다. 한 가지 예를 들자면, 난치성 대상체는 생체이용률이 낮아 임상적 효능을 얻을 수 없다. 일부 구현예에서, 치료적 유효량에 대한 언급은, 하나 이상의 특정 조직(예를 들어, 질병, 장애 또는 병태에 의해 영향을 받는 조직) 또는 체액(예를 들어, 혈액, 타액, 혈청, 땀, 눈물, 소변 등)에서 측정되는 양에 대한 언급일 수 있다. 당업자는 일부 구현예에서, 치료적 유효량이 단일 용량으로 제형화 및/또는 투여될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 일부 구현예에서, 치료적 유효량은 예를 들어 투여 요법의 일부로서 복수의 용량으로 제형화 및/또는 투여될 수 있다.
- [0545] [96] 변이체: 본원에 사용된 바와 같이, 분자, 예를 들어 핵산, 단백질 또는 소분자의 맥락에서 용어 "변이체"는, 예를 들어, 참조 실체와 비교하여 하나 이상의 화학적 모이어티의 존재 또는 부재하에서 또는 그의 수준에 있어서, 참조 분자와 상당한 구조적 동일성을 나타내지만 참조 분자와 구조적으로 다른 분자를 의미한다. 일부 구현예에서, 변이체는 또한, 그의 참조 분자와 기능적으로 상이하다. 일반적으로, 특정 분자가 참조 분자의 "변이체"로 적절히 간주되는지 여부는 참조 분자와의 구조적 동일성 정도에 기초한다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 임의의 생물학적 또는 화학적 참조 분자는 특정한 특징적인 구조적 요소를 갖는다. 일부 구현예에서, 변이체는 이러한 특징적인 구조적 요소를 하나 이상 공유하지만 적어도 하나의 측면에서 참조 분자와 다른, 별개의 분자이다.
- [0546] [97] 몇 가지 예를 들자면, 폴리펩티드는, 선형 또는 3-차원 공간에서 서로에 대해 지정된 위치를 갖고 및/또는 특정 구조적 모티프 및/또는 생물학적 기능에 기여하는 복수 개의 아미노산으로 구성된 특징적 서열 요소를 가질 수 있고; 핵산은 선형 또는 3-차원 공간에서 서로에 대해 지정된 위치를 갖는 복수 개의 뉴클레오타이드 잔기로 구성된 특징적 서열 요소를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 변이체 폴리펩티드 또는 핵산은, 아미노산 또는 뉴클레오타이드 서열에서의 하나 이상의 차이 및/또는 폴리펩티드 또는 핵산의 공유 구성요소인(예를 들어, 폴리펩티드 또는 핵산 백bone에 부착된) 화학적 모이어티(예를 들어, 탄수화물, 지질, 포스페이트기)에서의 하나 이상의 차이의 결과로서 참조 폴리펩티드 또는 핵산과 상이할 수 있다. 일부 구현예에서, 변이체 폴리펩티드 또는 핵산은, 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94 %, 95%, 96%, 97% 또는 99%인 참조 폴리펩티드 또는 핵산과의 총 서열 동일성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 변이체 폴리펩티드 또는 핵산은 참조 폴리펩티드 또는 핵산과 적어도 하나의 특징적인 서열 요소를 공유하지 않는다. 일부 구현예에서, 참조 폴리펩티드 또는 핵산은 하나 이상의 생물학적 활성을 갖는다. 일부 구현예에서, 변이체 폴리펩티드 또는 핵산은 참조 폴리펩티드 또는 핵산의 생물학적 활성 중 하나 이상을 공유한다. 일부 구현예에서, 변이체 폴리펩티드 또는 핵산은 참조 폴리펩티드 또는 핵산의 하나 이상의 생물학적 활성을 결여한다. 일부 구현예에서, 변이체 폴리펩티드 또는 핵산은, 참조 폴리펩티드 또는 핵산과 비교하여 감소된 수준의 하나 이상의 생물학적 활성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 관심 대상 폴리펩티드 또는 핵산은, 그것이 참조와 동일한 아미노산 또는 뉴클레오타이드 서열을 갖지만 특정 위치에서 적은 수의 서열 변경을 갖는 경우 참조 폴리펩티드 또는 핵산의 "변이체"로 간주된다.

- [0547] [98] 일부 구현예에서, 전형적으로, 변이체에서 잔기의 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 9%, 약 8%, 약 7%, 약 6%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 또는 약 2%보다 적은 수가 참조와 비교하여 치환, 삽입 또는 결실된다. 일부 구현예에서, 변이체 폴리펩티드 또는 핵산은, 참조와 비교하여 약 10개, 약 9개, 약 8개, 약 7개, 약 6개, 약 5개, 약 4개, 약 3개, 약 2개 또는 약 1개의 치환된 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서, 변이체 폴리펩티드 또는 핵산은, 참조에 대해서, 매우 적은 수(예를 들어, 약 5개, 약 4개, 약 3개, 약 2개 또는 약 1개 미만)의 치환, 삽입 또는 결실된 기능적 잔기(즉, 특정 생물학적 활성에 참여하는 잔기)를 포함한다. 일부 구현예에서, 변이체 폴리펩티드 또는 핵산은, 참조와 비교하여, 약 5개, 약 4개, 약 3개, 약 2개 또는 약 1개 이하의 부가 또는 결실을 포함하고, 일부 구현예에서는 어떠한 부가 또는 결실도 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 변이체 폴리펩티드 또는 핵산은, 참조와 비교하여, 약 25개, 약 20개, 약 19개, 약 18개, 약 17개, 약 16개, 약 15개, 약 14개, 약 13개, 약 10개, 약 9개, 약 8개, 약 7개, 약 6개보다 적은, 흔하게는 약 5개, 약 4개, 약 3개 또는 약 2개보다 적은 부가 또는 결실을 포함한다. 일부 구현예에서, 참조 폴리펩티드 또는 핵산은 자연에서 발견되는 것이다. 일부 구현예에서, 참조 폴리펩티드 또는 핵산은 인간 폴리펩티드 또는 핵산이다.
- [0548] [99] 일부 구현예에서, 아미노산 서열(펩티드, 단백질 또는 폴리펩티드)의 "변이체"는 아미노산 삽입 변이체, 아미노산 부가(즉, 말단 부가) 변이체, 아미노산 결실 변이체 및/또는 아미노산 치환 변이체이거나 그를 포함할 수 있다.
- [0549] [100] 일부 구현예에서, "변이체"는 돌연변이체, 스플라이스 변이체, 번역-후 변형된 변이체, 형태(conformations), 이소형, 대립형질 변이체, 중 변이체 및 중 상동체, 특히 자연 발생적인 것들이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 용어 "변이체"는 특히 아미노산 서열의 단편을 포함한다.
- [0550] [101] 일부 구현예에서, 아미노산 삽입 변이체는, 단일 또는 2개 이상의 아미노산(들)의 삽입에 의해 관련 참조 폴리펩티드와 상이하다.
- [0551] [102] 일부 구현예에서, 아미노산 부가 변이체는, 하나 이상의 아미노산, 예컨대 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 50개 또는 그 이상의 아미노산의 아미노- 및/또는 카르복시-말단 융합(즉, 연장)을 포함할 수 있다.
- [0552] [103] 일부 구현예에서, 아미노산 결실 변이체는, 서열로부터 하나 이상의 아미노산의 제거에 의하여, 예컨대 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 50개 또는 그 이상의 아미노산의 제거에 의하여 특징지어 진다. 일부 구현예에서, 결실은 하나 이상의 N-말단 아미노산, 하나 이상의 C-말단 아미노산, 하나 이상의 내부 아미노산 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [0553] [104] 일부 구현예에서, 아미노산 치환 변이체는 서열에서 적어도 하나의 잔기가 제거되고 다른 잔기가 그 자리에 삽입되는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 치환은 예를 들어 하나 이상의 공통 모티프(예를 들어, 특징적인 서열 요소) 및/또는 기능을 공유하는 관련 폴리펩티드 중에서 고도로 보존되지는 않는 잔기의 것이다. 일부 구현예에서, 치환은 원래의 잔기 및 그의 대체물이 하나 이상의 구조적 또는 기능적 속성 또는 특성(예를 들어, 전하의 동일성 및/또는 유형, 또는 그의 부재; 측쇄의 소수성 또는 친수성, 측쇄의 3차원 벌크성, 측쇄의 선형 또는 분지형 특징, 측쇄 내 헤테로원자의 존재 및/또는 유형 등)을 공유한다는 점에서 "보존적" 치환이다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 치환이 다음과 같은 패밀리 내 교체성 잔기를 포함한다면, 이는 보존적이다: 산성(아스파르트레이트, 글루타메이트), 염기성(리신, 아르기닌, 히스티딘), 비-극성(알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 비하전 극성(글리신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 티로신), 방향족 아미노(페닐알라닌, 트립토판, 티로신). 일부 구현예에서, 하기 그룹 내의 보존적 아미노산 치환은 보존적 치환인 것으로 간주된다: 글리신, 알라닌; 발린, 이소류신, 류신; 아스파르트산, 글루탐산; 아스파라긴, 글루타민; 세린, 트레오닌; 리신, 아르기닌; 및 페닐알라닌, 티로신.
- [0554] [105] 일부 구현예에서, 변이체는, 참조 조성물의 그것과 동일하지만 적은 수의 성분 변경, 예를 들어 특정 성분의 존재 또는 부재, 또는 특정 성분의 농도 차이가 있는 조성물(예를 들어, 완충액)을 지칭할 수 있다.
- [0555] [106] 야생형: 본원에서 사용되는 바와 같이, "야생형" 또는 "WT" 또는 "본래의"라는 용어는 "정상"(돌연변이, 유병된, 변형된 등과 대조됨) 상태 또는 맥락에서 천연으로 발견되는 구조 및/또는 활성을 갖는 실체를 지칭하는 당업계에서 이해되는 의미를 갖는다. 당업자는 야생형 유전자 및 폴리펩티드가 종종 다수의 상이한 형태(예를 들어, 대립유전자)로 존재한다는 것을 인식할 것이다. 많은 구현예에서, 본원에 사용된 "야생형"은 대립형질 변이를 포함하여 자연에서 발견되는 아미노산 서열을 지칭할 수 있다. 야생형 아미노산 서열, 펩티드 또는 단백질은 의도적으로 변형되지 않은 아미노산 서열을 갖는다.
- [0556] **도면의 간단한 설명**

- [0557] [107] 도 1A-1F는 본 발명의 특정 제형의 생산을 위한 예시적인 작업 흐름을 보여준다. 예시적인 제1 완충액 시스템에서, 유기 용매(예를 들어, 에탄올)에 현탁된 입자 형성 지질 및 수성 완충액(예를 들어, 시트레이트 완충액)에 현탁된 핵산(예를 들어, mRNA)은, 핵산 함유 지질 입자(예: LNP)가 형성될 때까지(B) 일정 시간 동안 혼합된다(A). 일부 구현예에서, 이러한 핵산 함유 지질 입자는 보호제(예를 들어, 수크로스, 트레할로스 등)을 포함하는 제2 완충액 시스템으로 농축 및/또는 전달될 수 있다(C). 일부 구현예에서, 지질 입자는 사용을 위해 저장 또는 희석되거나, 또는 건조되거나(예를 들어, 동결건조 또는 다른 건조 방법에 의해)(D), 또는 동결되거나(E), 또는 건조 후 동결될 수 있다(F). 일부 구현예에서, 건조 및/또는 동결 후, 지질 입자는 사용을 위해 저장되고 및/또는 해동되고 및/또는 희석될 수 있다.
- [0558] [108] 도 2a-2b는 본 발명의 특정한 예시적 제형(a) 및 본 발명의 제형을 위해 설계된 특정한 예시적 사이클(b)을 보여준다.
- [0559] [109] 도 3a-3b는 예시적인 수크로스 및 트레할로스 제형에 대한 다양한 시점 및 온도에서의 예시적인 콜로이드 안정성 데이터를 보여준다.
- [0560] [110] 도 4a-4b는 예시적인 수크로스 및 트레할로스 제형에 대한 다양한 시점 및 온도에서의 예시적인 % 캡슐화 데이터를 보여준다.
- [0561] [111] 도 5는 예시적인 수크로스 및 트레할로스 제형에 대한 예시적인 수분 함량 그래프를 보여준다.
- [0562] [112] 도 6a-6c는 예시적인 수크로스 및 트레할로스 제형에 대한 다양한 시점 및 온도에서의 예시적인 %발현 데이터를 보여준다.
- [0563] [113] 도 7a-7d는 본 발명의 예시적인 제형을 특징짓는 예시적인 데이터를 보여준다.
- [0564] [114] 도 8a-8b는 예시적인 수크로스 및 트레할로스 제형에 대한 다양한 시점 및 온도에서의 예시적인 콜로이드 안정성 데이터를 보여준다.
- [0565] **특정 구현예에 대한 상세한 설명**
- [0566] [115] 본 발명은 무엇보다도 핵산/지질 나노입자(LNP) 조성물, 특히 치료적 RNA/LNP 조성물과 같은 RNA/LNP 조성물에 관한 기술을 제공한다.
- [0567] [116] 당업자는, 핵산/LNP 제형, 특히 RNA/LNP 제형에서 종종 직면하는 한 가지 문제가, 이들이 시간이 지남에 따라 안정성을 유지하기 위해 저온 저장을 필요로 한다는 점이라는 것을 알고 있다. 다양한 보고서들은 -90℃만큼 낮은 온도가 요구된다고 설명하였고; 다른 보고서들은 -80℃, -70℃ 또는 -60℃ 미만의 온도를 언급한다. -20℃만큼 높은 온도는 종종 단시간(예: 1, 2, 3, 4일 내지 수일) 동안만 용인될 수 있다. 동결보다 높은 온도(예를 들어, 약 0℃ 초과) 및/또는 냉장에 의해 달성되는 온도(예를 들어, 약 1℃ 내지 약 8℃, 또는 약 2℃ 내지 약 8℃, 또는 약 2℃ 내지 약 6℃, 또는 약 2℃ 내지 약 4℃)는 종종 몇 시간 내지 1-2일 동안만 용인될 수 있다. 실온 보관, 특히 장기간 실온 보관(예: 적어도 1-2일 동안, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6주 또는 그 이상 동안, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 또는 그 이상 동안)은 목표로 남아있다.
- [0568] [117] 일부 구현예에서, 본 발명은, 특정 성분(예를 들어, 보호제 및/또는 완충액 성분)을 포함하고 및/또는 특정 공정에 따라 제조되고, 참조 제형과 다르며, 참조 제형에 비해 하나 이상의 특성을 변형(예: 개선)한, 핵산/LNP 제형, 특히 RNA/LNP 제형을 제공한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 제공된 제형은, 동일한 지질 및 핵산을 포함하지만 보호제 및/또는 완충액에 있어서 및/또는 특정 생산 또는 가공 단계에 있어서 상이한, 참조 제형에 비해 개선(들)을 나타낸다.
- [0569] [118] 일부 구현예에서, 제공되는 기술은, 건조 제형이거나, 건조에 적합한(예를 들어, 건조에 안정한) 조성물의 제조를 달성한다.
- [0570] [119] 일부 구현예에서, 제공되는 조성물은, 참조 제형, 예를 들어 NaCl을 포함하는, 예컨대 약 5 내지 10 mg/ml의 범위 내(예를 들어, 약 6 mg/ml) 농도로 NaCl을 포함하는 완충액을 사용하여 제조된, 그 외에는 동일한 제형을 비슷하게 건조시키는데 필요한 시간보다 짧은 동결건조 사이클을 이용하여 효과적으로 건조될 수 있다.
- [0571] [120] 일부 구현예에서, 제공되는 기술은 동결된 제형이거나 동결에 적합한(예를 들어, 동결에 안정한) 조성물의 제조를 달성한다.
- [0572] [121] 일부 구현예에서, 제공되는 기술은, 저온 문턱값 이상의 온도에서 적어도 특정 기간 동안 저장에 대해 안

정한 조성물의 제조를 달성한다. 일부 구현예에서, 특정 기간은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12주 또는 그 이상, 예컨대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 또는 그 이상 동안일 수 있다. 일부 구현예에서, 저온 문턱값은 약 -80°C , -70°C , -50°C , -30°C , -20°C , 0°C , 2°C , 4°C , 8°C , 15°C , 20°C , 30°C , 40°C 또는 그보다 높을 수 있다.

[0573] [122] 일부 구현예에서, 제공되는 기술은 예를 들어, 본 발명에 기술되는 바와 같은 지질에 의해 캡슐화된 페이로드를 포함하는 LNP의 투여에 의해 대상체에게 핵산 페이로드를 전달하는데 유용하고; 일부 구현예에서, 지질은 양이온성 지질, 중성 지질, 중합체 접합 지질 및 스테로이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 LNP는 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(핵산-6,1-디일)비스(2-핵실테카노에이트)(ALC-0315), 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159), 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC) 및 콜레스테롤로부터 형성되며, 각각 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위 내의 상대 질량비로 조합된다.

[0574] [123] 일부 구현예에서, 핵산 페이로드는 RNA 및/또는 DNA이거나 이를 포함하고; 일부 구현예에서, 핵산 페이로드는 폴리펩티드 산물(예를 들어, 기능적 폴리펩티드, 예를 들어 대상체에서 필요되거나 원하는 지는 활성을 보완하거나 대체할 수 있는 기능적 폴리펩티드, 또는 면역조절 폴리펩티드, 예를 들어 대상체에서 원하는 면역 반응 또는 활성을 유도 또는 강화할 수 있는 면역조절 폴리펩티드)을 인코딩할 수 있다.

[0575] [124] 일부 구현예에서, 제공되는 조성물은 LNP(즉, 핵산/LNP), 보호제 및 완충액을 포함한다. 일부 구현예에서, 완충액은 나트륨 이온을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서 완충액은 염을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 완충액은 본원에 기재된 바와 같은 HEPES 완충액, Tris 완충액 또는 His 완충액이다. 일부 구현예에서, 완충액은 NaCl 없이 제조된 포스페이트 완충액 식염수 변종이다. 일부 구현예에서, 완충액은 NaCl, KCl, Na_2HPO_4 , 및 KH_2PO_4 를 포함하는, 참조 PBS에 비해 감소된 수준의 나트륨 이온을 갖는 PBS 변종이고; 일부 구현예에서, 이러한 참조 PBS는 137 mM NaCl(즉, 8 g/L NaCl), 2.7 mM KCl(즉, 0.2 g/L KCl), 10 mM Na_2HPO_4 (즉, 1.44 g/L Na_2HPO_4) 및 1.8 mM KH_2PO_4 (즉, 0.24 g/L KH_2PO_4)를 포함하는(또는 이들로 이루어진) "표준" PBS이다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 완충액은 이러한 참조 표준 PBS에서 발견되는 것보다 더 낮은 수준의 나트륨 이온을 갖는 PBS 변이체이다.

[0576] [125] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 보호제는 이당류를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 보호제는 수크로스 및/또는 트레할로스가거나 이를 포함한다.

[0577] [126] 일부 구현예에서, 보호제는 만니톨이거나 만니톨을 포함한다. 일부 구현예에서, 보호제는 실질적으로 만니톨 무함유이다.

[0578] [127] 일부 구현예에서, 본 발명은 그에 의해 LNP 제조물(즉, 핵산/LNP 제조물, 및 특히 RNA/LNP 제조물)이 생성된 후, 저장, 동결 및/또는 건조되는 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 동결된 조성물이 저장된다. 일부 구현예에서, 건조된 조성물이 저장된다.

[0579] [128] 일부 구현예에서, 건조된 조성물은 재현탁된 후 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 동결된 조성물은 해동된 후 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물은 1회 이상의 동결 및 해동, 1회 이상의 건조 및 재현탁, 및/또는 1회 이상의 동결 및 해동 및 또한 1회 이상의 건조 및 재현탁을 거친다.

[0580] [129] 일부 구현예에서, 조성물은 투여되기 전에 희석된다.

[0581] 핵산 페이로드

[0582] [130] 본 발명은 특히 핵산 페이로드를 포함하는 LNP 조성물(즉, 핵산-LNP 조성물)을 제공한다.

[0583] [131] 일부 구현예에서, 핵산 페이로드는 기능적 핵산, 예를 들어 안티센스 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, RNaseH 분해 및/또는 엑손 스킵핑 등을 촉진할 수 있음), 리보자임, gRNA, miRNA, 및 shRNA, siRNA 등을 포함하거나 인코딩할 수 있다.

[0584] [132] 일부 구현예에서, 핵산 페이로드는 하나 이상의 폴리펩티드를 암호화할 수 있다(예를 들어, 이하에서 추가로 설명되는 바와 같음).

[0585] [133] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 핵산 페이로드는 하나 이상의 천연 핵산 잔기, 또는 전적으로 천연 핵산 잔기이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산은 하나 이상의 비-천연 핵산 잔기(즉, 하나 이상의 핵산 유사체)이거나, 이를 포함하거나, 이로 구성되거나, 완전히 비-천연 핵산 잔기이다.

- [0586] [134] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 핵산 페이로드는 포스포디에스테르 결합이 아닌 하나 이상의 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 핵산은 포스포디에스테르 결합보다는 하나 이상의 포스포리보에이트 및/또는 5'-N-포스포르아미다이트 연결을 갖는다. 일부 구현예에서, 핵산은 일부 포스포디에스테르 결합 및 일부 비-포스포디에스테르 결합을 포함한다.
- [0587] [135] 일부 구현예에서, 핵산은 하나 이상의 천연 뉴클레오타이드(예를 들어, 아데노신, 티미딘, 구아노신, 시티딘, 우리딘, 데옥시아데노신, 데옥시티미딘, 데옥시구아노신 및 데옥시시티딘)이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산은 하나 이상의 뉴클레오타이드 유사체(예: 2-아미노아데노신, 2-티오티미딘, 이노신, 피콜로-피리미딘, 3-메틸 아데노신, 5-메틸시티딘, C-5 프로피닐-시티딘, C-5-프로피닐-우리딘, 2-아미노아데노신, C5-브로모우리딘, C5-플루오로우리딘, C5-요오도우리딘, C5-프로피닐-우리딘, C5-프로피닐-시티딘, C5-메틸시티딘, 2-아미노아데노신, 7-테아자아데노신, 7-테아자구아노신, 8-옥소아데노신, 8-옥소구아노신, 0(6)-메틸구아닌, 2-티오시티딘, 메틸화된 염기, 삽입된 염기, 및 이들의 조합)이거나, 이들을 포함하거나, 또는 이로 구성된다.
- [0588] [136] 일부 구현예에서, 핵산은 천연 핵산의 그것과 비교하여, 하나 이상의 변형된 당(예를 들어, 2'-플루오로 리보스, 리보스, 2'-데옥시리보스, 아라비노스 및 핵소스)을 포함한다.
- [0589] [137] 일부 구현예에서, 핵산은 하나 이상의 펩티드 핵산이거나 이를 포함한다.
- [0590] [138] 본 발명의 일부 구현예에서, 핵산은, 하나 이상의 바람직한 특징, 예를 들어 향상된 안정성, 효능 등을 부여하는 본원에 기술된 변형으로 변형된다.
- [0591] RNA 페이로드
- [0592] [139] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 핵산 페이로드는 RNA(예를 들어, mRNA)이다. 일부 구현예에서, RNA는 주형화된 합성에 의해 생성된다. 일부 구현예에서, RNA는 효소적 합성, 예를 들어 시험관내 전사(예를 들어, DNA 주형으로부터)에 의해 생성된다. 일부 구현예에서, RNA는 화학적 합성에 의해 생성된다.
- [0593] [140] 일부 구현예에서, RNA는 "레플리콘 RNA" 또는 단순히 "레플리콘", 특히 "자가-복제 RNA" 또는 "자가-증폭 RNA"이다. 일부 구현예에서, 레플리콘 또는 자가-복제 RNA는 ssRNA 바이러스, 특히 알파바이러스와 같은 양-가닥(positive-stranded) ssRNA 바이러스로부터 유래되거나 그로부터 유래된 요소를 포함한다. 알파바이러스는 양-가닥 RNA 바이러스의 전형적인 대표이다. 알파바이러스는 감염된 세포의 세포질에서 복제된다(알파바이러스 수명 주기의 검토를 위해, [Jose et al., Future Microbiol., 2009, vol. 4, pp. 837-856] 참조). 많은 알파바이러스의 전체 게놈 길이는 일반적으로 11,000~12,000개의 뉴클레오타이드 범위이며, 게놈 RNA는 일반적으로 5'-캡과 3' 폴리(A) 꼬리를 가지고 있다. 알파바이러스의 게놈은 비-구조 단백질(바이러스 RNA의 전사, 변형 및 복제 및 단백질 변형에 수반됨) 및 구조 단백질(바이러스 입자 형성)을 인코딩한다. 게놈에는 일반적으로 두 개의 오픈 리딩 프레임(ORF)이 있다. 4개의 비-구조 단백질(nsP1-nsP4)은 일반적으로 게놈의 5' 말단 근처에서 시작하는 첫 번째 ORF에 의해 함께 인코딩되는 반면, 알파바이러스 구조 단백질은 첫 번째 ORF의 하류에서 발견되고 게놈의 3' 말단 근처로 확장되는 두 번째 ORF에 의해 함께 인코딩된다. 일반적으로 첫 번째 ORF는 두 번째 ORF보다 크며, 비율은 대략 2:1이다. 알파바이러스에 감염된 세포에서 비-구조 단백질을 인코딩하는 핵산 서열만이 게놈 RNA로부터 번역되는 반면, 구조 단백질을 인코딩하는 유전 정보는 서브게놈 전사체로부터 번역 가능한데, 이는 진핵생물 메신저 RNA와 유사한 RNA 분자이다(mRNA; Gould et al., 2010, Antiviral Res., vol. 87 pp. 111-124). 감염 후, 즉 바이러스 수명 주기의 초기 단계에서, (+) 가닥 게놈 RNA는 비-구조 폴리-단백질(nsP1234)을 인코딩하는 오픈 리딩 프레임의 번역을 위한 메신저 RNA처럼 직접 작용한다. 알파바이러스-유래 벡터는 외래의 유전 정보를 표적 세포 또는 표적 유기체로 전달하기 위해 제안되었다. 단순한 접근법에서, 알파바이러스 구조 단백질을 인코딩하는 오픈 리딩 프레임은 관심 대상 단백질을 인코딩하는 오픈 리딩 프레임에 의해 대체된다. 알파바이러스-기반 트랜스-복제 시스템은 두 개의 분리된 핵산 분자 상에 있는 알파바이러스 뉴클레오타이드 서열 요소에 의존한다: 하나의 핵산 분자는 바이러스 복제효소를 인코딩하고, 다른 핵산 분자는 트랜스로 상기 복제효소에 의해 복제될 수 있다(따라서 트랜스-복제 시스템이라 명명함). 트랜스-복제는 주어진 숙주 세포에서 이들 핵산 분자 둘 다의 존재를 필요로 한다. 복제효소에 의해 트랜스로 복제될 수 있는 핵산 분자는, 알파바이러스 복제효소에 의한 인식 및 RNA 합성을 가능하게 하는 특정 알파바이러스 서열 요소를 포함해야 한다.
- [0594] [141] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 RNA는 하나 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 적어도 하나의 우리딘 대신에 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA를 제공한다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 RNA에서 모든 우리딘을 대신하여 존재한다. 일부 구현예

서, 적어도 하나의 우리딘을 대체하는 변형된 뉴클레오시드는 슈도우리딘 (Ψ), N1-메틸-슈도우리딘 ($m1\Psi$), 및 5-메틸-우리딘 ($m5U$) 또는 이들의 조합을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, RNA에서, 적어도 하나의, 예를 들어 모든 우리딘을 대체하는 변형된 뉴클레오시드는 다음 중 임의의 하나 이상일 수 있다: 3-메틸-우리딘 (m^3U), 5-메톡시-우리딘 (mo^5U), 5-아자-우리딘, 6-아자-우리딘, 2-티오-5-아자-우리딘, 2-티오-우리딘 (s^2U), 4-티오-우리딘 (s^4U), 4-티오-슈도우리딘, 2-티오-슈도우리딘, 5-히드록시-우리딘 (ho^5U), 5-아미노알릴-우리딘, 5-할로-우리딘 (예컨대, 5-요오도-우리딘 or 5-브로모-우리딘), 우리딘 5-옥시아세트산 (cmo^5U), 우리딘 5-옥시아세트산 메틸 에스테르 ($mcmo^5U$), 5-카르복시메틸-우리딘 (cm^5U), 1-카르복시메틸-슈도우리딘, 5-카르복시히드록시메틸-우리딘 (chm^5U), 5-카르복시히드록시메틸-우리딘 메틸 에스테르 ($mchm^5U$), 5-메톡시카르보닐메틸-우리딘 (mcm^5U), 5-메톡시카르보닐메틸-2-티오-우리딘 (mcm^5s^2U), 5-아미노메틸-2-티오-우리딘 (nm^5s^2U), 5-메틸아미노메틸-우리딘 (mnm^5U), 1-에틸-슈도우리딘, 5-메틸아미노메틸-2-티오-우리딘 (mnm^5s^2U), 5-메틸아미노메틸-2-셀레노-우리딘 (mnm^5se^2U), 5-카르바모일메틸-우리딘 (ncm^5U), 5-카르복시메틸아미노메틸-우리딘 ($cmnm^5U$), 5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오-우리딘 ($cmnm^5s^2U$), 5-프로피닐-우리딘, 1-프로피닐-슈도우리딘, 5-토리노메틸-우리딘 (τm^5U), 1-토리노메틸-슈도우리딘, 5-토리노메틸-2-티오-우리딘 ($\tau m5s2U$), 1-토리노메틸-4-티오-슈도우리딘, 5-메틸-2-티오-우리딘 (m^5s^2U), 1-메틸-4-티오-슈도우리딘 ($m^1s^4\Psi$), 4-티오-1-메틸-슈도우리딘, 3-메틸-슈도우리딘 ($m^3\Psi$), 2-티오-1-메틸-슈도우리딘, 1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 2-티오-1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 디히드로우리딘 (D), 디히드로슈도우리딘, 5,6-디히드로우리딘, 5-메틸-디히드로우리딘 (m^5D), 2-티오-디히드로우리딘, 2-티오-디히드로슈도우리딘, 2-메톡시-우리딘, 2-메톡시-4-티오-우리딘, 4-메톡시-슈도우리딘, 4-메톡시-2-티오-슈도우리딘, N1-메틸-슈도우리딘, 3-(3-아미노-3-카르복시프로필)우리딘 (acp^3U), 1-메틸-3-(3-아미노-3-카르복시프로필)슈도우리딘 ($acp^3\Psi$), 5-(이소펜테닐아미노메틸)우리딘 (inm^5U), 5-(이소펜테닐아미노메틸)-2-티오-우리딘 (inm^5s^2U), α -티오-우리딘, 2'-O-메틸-우리딘 (Um), 5,2'-O-디메틸-우리딘 (m^5Um), 2'-O-메틸-슈도우리딘 (Ψm), 2-티오-2'-O-메틸-우리딘 (s^2Um), 5-메톡시카르보닐메틸-2'-O-메틸-우리딘 (mcm^5Um), 5-카르바모일메틸-2'-O-메틸-우리딘 (ncm^5Um), 5-카르복시메틸아미노메틸-2'-O-메틸-우리딘 ($cmnm^5Um$), 3,2'-O-디메틸-우리딘 (m^3Um), 5-(이소펜테닐아미노메틸)-2'-O-메틸-우리딘 (inm^5Um), 1-티오-우리딘, 데옥시티미딘, 2'-F-아라-우리딘, 2'-F-우리딘, 2'-OH-아라-우리딘, 5-(2-카르보메톡시비닐)우리딘, 5-[3-(1-E-프로페닐아미노)우리딘, 또는 이 기술 분야에 알려진 임의의 다른 변형된 우리딘.

[0595]

[142] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 RNA는 5'-캡을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 RNA는 캡핑되지 않은 5'-트리포스페이트를 갖지 않는다. 일부 구현예에서, RNA는 5-캡 유사체에 의해 변형될 수 있다. 용어 "5'-캡"은 mRNA 분자의 5'-말단에서 발견되는 구조를 말하며 일반적으로 5'에서 5'으로의 트리포스페이트 연결을 통해 mRNA에 연결된 구아노신 뉴클레오타이드로 구성된다. 일부 구현예에서, 이러한 구아노신은 7-위치에서 메틸화된다. 5'-캡 또는 5'-캡 유사체가 있는 RNA를 제공하는 것은 시험관내 전사에 의하여 달성될 수 있는데, 여기서 5'-캡 또는 5'-캡 유사체는 RNA 가닥으로 공동-전사적으로 발현되거나 또는 캡핑 효소를 사용하여 후-전사적으로 RNA에 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, RNA에 대한 5'-캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 이다(또한, 때때로 $m_2^{7,3'-0}G(5')ppp(5')m^{2'-0}ApG$ 라고도 칭함). 일부 구현예에서, 본 발명의 RNA에 대한 5'-캡은 아날로그 역전-방지 캡이다(ARCA Cap ($m_2^{7,3'-0}G(5')ppp(5')G$)). 일부 구현예에서, 5'-캡은 Beta-S-ARCA이다 ($m_2^{7,2'-0}G(5')ppSp(5')G$). 일부 구현예에서, 5'-캡은 베타-S-ARCA(D1) ($m_2^{7,2'-0}GppSpG$), 또는 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 이다.

[0596]

[143] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 RNA는 5'-UTR 및/또는 3'-UTR을 포함한다. "미번역 영역" 또는 "UTR"이라는 용어는 전사되지만 아미노산 서열로 번역되지 않는 DNA 분자 내의 영역, 또는 mRNA 분자와 같은 RNA 분자 내에서 그의 상응하는 영역에 관한 것일 수 있다. UTR은 오픈 리딩 프레임의 5'(업스트림)(5'-UTR) 및/또는 오픈 리딩 프레임의 3'(다운스트림)(3'-UTR)에 존재할 수 있다. 존재한다면, 5'-UTR은 5'말단, 단백질-인코딩 영역의 개시 코돈의 업스트림에 위치한다. 5'-UTR은, 5'-캡(존재하는 경우)의 다운스트림

에, 예를 들어 5'-캡에 직접 인접한다. 존재한다면, 3'-UTR은 3' 말단, 단백질 인코딩 영역의 종결 코돈의 다운스트림에 위치하나, 용어 "3'-UTR"은 바람직하게는 폴리(A) 서열을 포함하지 않는다. 따라서, 3'-UTR은 폴리(A) 서열(존재하는 경우)의 업스트림에, 예를 들어 폴리(A) 서열에 직접 인접한다.

[0597] [144] 본원에 사용되는 바 용어 "폴리(A) 서열" 또는 "폴리-A 꼬리"는 RNA 폴리뉴클레오타이드의 3'-말단에 전형적으로 위치하는 아데닐레이트 잔기의 단절되지 않거나 단절된 서열을 지칭한다. 폴리(A) 서열은 당업자에게 공지되어 있고 본원에 기재되는 RNA에서 3'-UTR에 이어질 수 있다. 단절되지 않은 폴리(A) 서열은 연속적인 아데닐레이트 잔기를 특징으로 한다. 자연에서, 단절되지 않는 폴리(A) 서열이 일반적이다. 본 발명에 개시되는 RNA는, 전사 후 주형-비의존성 RNA 폴리머라제에 의해 RNA의 자유 3'-말단에 부착된 폴리(A) 서열 또는 DNA에 의해 인코딩되고 주형-의존성 RNA 폴리머라제에 의해 전사된 폴리(A) 서열을 가질 수 있다. 약 120A 뉴클레오타이드로 이루어지는 폴리(A) 서열은 형질감염된 진핵 세포의 RNA 수준뿐만 아니라, 그 폴리(A) 서열의 업스트림(5')에 존재하는 오픈 리딩 프레임으로부터 번역되는 단백질 수준에 유의한 영향을 미친다는 것이 입증되었다.(*Holtkamp et al.*, 2006, *Blood*, vol. 108, pp. 4009-4017).

[0598] [145] 다른 구현예에서, 폴리(A) 서열은 여러 가지 길이일 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열은 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 80개 이상, 또는 100개 이상의 A 뉴클레오타이드를 포함하거나, 본질적으로 이로 이루어지거나, 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열은 500개 이하, 400개 이하, 300개 이하, 200개 이하, 또는 150개 이하의 A 뉴클레오타이드를 포함하거나, 본질적으로 이로 이루어지거나, 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열은 약 120개의 A 뉴클레오타이드를 포함한다. 이러한 맥락에서, "본질적으로 ~로 이루어진다"는 폴리(A) 서열에서 대부분의 뉴클레오타이드, 전형적으로 폴리(A) 서열 내 뉴클레오타이드 수로 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%가 A 뉴클레오타이드이지만 나머지 뉴클레오타이드가 A 뉴클레오타이드 이외의 뉴클레오타이드, 예컨대 U 뉴클레오타이드(우리딜레이트), G 뉴클레오타이드(구아닐레이트), 또는 C 뉴클레오타이드(시티딜레이트)임을 허용함을 의미한다. 이러한 맥락에서, "이루어진다"는 폴리(A) 서열 내 모든 뉴클레오타이드, 즉 폴리(A) 서열 내 뉴클레오타이드 수로 100%가 A 뉴클레오타이드임을 의미한다. 용어 "A 뉴클레오타이드" 또는 "A"는 아데닐레이트를 의미한다.

[0599] [146] 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열은, 코딩 가닥에 상보적인 가닥 내 반복된 dT 뉴클레오타이드(데옥시티미딜레이트)를 포함하는 DNA 주형에 기초하여, RNA 전사 동안, 예를 들어 시험관내 전사된 RNA의 제조 동안 부착된다. 폴리(A) 서열을 인코딩하는 DNA 서열(코딩 가닥) 폴리(A) 카세트에 지칭된다. 일부 구현예에서, DNA의 코딩 가닥에 존재하는 폴리(A) 카세트는 본질적으로 dA 뉴클레오타이드로 이루어지지만, 4가지 뉴클레오타이드(dA, dC, dG 및 dT)의 무작위 서열에 의해 단절된다. 이러한 무작위 서열은 길이가 5 내지 50개, 10 내지 30개, 또는 10 내지 20개 뉴클레오타이드일 수 있다. 이러한 카세트는 WO 2016/005324 A1에 개시되어 있으며, 이는 본원에 참조로서 포함된다. WO 2016/005324 A1에 개시된 임의의 폴리(A) 카세트가 본 발명에서 사용될 수 있다. 본질적으로 dA 뉴클레오타이드로 이루어지지만 4가지 뉴클레오타이드(dA, dC, dG, dT)의 동일한 분포를 갖고 예를 들어 5 내지 50개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 무작위 서열에 의해 단절된 폴리(A) 카세트는, DNA 수준에서, *E. coli* 내 플라스미드 DNA의 일정한 전파를 보여주며, RNA 수준에서, RNA 안정성 및 번역 효율을 지지함과 관련된 유의한 특성과 여전히 연관되어 있다. 결과적으로 일부 구현예에서, 본원에 기재되는 RNA 분자에 함유된 폴리(A) 서열은 본질적으로 A 뉴클레오타이드로 이루어지지만, 4가지 뉴클레오타이드(A, C, G, U)의 무작위 서열에 의해 단절된다. 이러한 무작위 서열은 길이가 5 내지 50개, 10 내지 30개, 또는 10 내지 20개 뉴클레오타이드일 수 있다.

[0600] [147] 일부 구현예에서, A 뉴클레오타이드 이외의 어떤 뉴클레오타이드도 그의 3'-말단에서 폴리(A) 서열의 측면으로 위치하지 않으며, 즉, 폴리(A) 서열은 그의 3'-말단에서 A 이외의 뉴클레오타이드에 의해 가려지거나 이어지지 않는다.

[0601] [148] 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열은 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 80개 이상, 또는 100개 이상 및 500개 이하, 400개 이하, 300개 이하, 200개 이하, 또는 150개 이하의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열은 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 80개 이상, 또는 100개 이상 및 500개 이하, 400개 이하, 300개 이하, 200개 이하, 또는 150개 이하의 뉴클레오타이드로 본질적으로 이루어질 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열은 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 80개 이상, 또는 100개 이상 및 500개 이하, 400개 이하, 300개 이하, 200개 이하, 또는 150개 이하의 뉴클레오타이드로 이루어질 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열은 100개 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열은 약 150개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열은 약 120개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0602] [149] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 핵산은 코돈-최적화되고 및/또는 구아노신/시토신(G/C)

함량은 야생형 코딩 서열에 비해 증가된다. 이것은 또한, 코딩 서열의 하나 이상의 서열 영역이 야생형 코딩 서열의 상응하는 서열 영역에 비해 코돈-최적화되고 및/또는 G/C 함량이 증가된 구현예를 포함한다. 일부 구현예에서, 코돈-최적화 및/또는 G/C 함량의 증가는 인코딩된 아미노산 서열의 서열을 변화시키지 않는다.

[0603] G/C 함량

[150] 본 발명의 일부 구현예에서, 본원에 기재된 코딩 영역의(예를 들어, RNA의) G/C 함량은, 상응하는 WT 코딩 서열의 G/C 함량에 비해 증가되며, 여기서 인코딩된 아미노산 서열은 이러한 상응하는 WT 서열과 비교하여 변형되지 않는다. 일부 구현예에서, G/C 함량의 증가는 이러한 증가된 G/C 함량을 포함하는 RNA의 번역 효율을 증가시킬 수 있다. 당업자는, 증가된 G/C 함량을 갖는 서열이, 증가된 아데노신/우라실(A/U) 함량을 갖는 서열보다 더 안정한 것으로 보고되었다는 것을 알고 있다.

[151] 몇몇 코돈이 하나의 동일한 아미노산을 코딩한다는 사실(소위 유전자 코드의 축퇴)과 관련하여, 안정성에 가장 유리한 코돈이 결정될 수 있다(소위 대체 코돈 사용). RNA에 의해 인코딩되는 원하는 아미노산에 따라, 야생형 서열과 비교하여, 상기 RNA 서열의 변형에 대한 다양한 가능성이 있다. 특히, A 및/또는 U 뉴클레오티드를 포함하는 코돈은, 동일한 아미노산을 코딩하지만 A 및/또는 U를 포함하지 않거나, 또는 A 및/또는 U 뉴클레오티드의 함량이 더 낮은 다른 코돈으로 이러한 코돈을 대체함으로써 변형될 수 있다.

[152] 다양한 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 RNA의 코딩 영역의 G/C 함량은 야생형 RNA의 코딩 영역의 G/C 함량과 비교하여 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 55%, 또는 그 이상 증가된다.

[0607] 인코딩된 폴리펩티드

[153] 본원에 기재된 바와 같이, 일부 구현예에서, 핵산 페이로드(예를 들어, RNA)는 폴리펩티드를 인코딩한다.

[154] 일부 구현예에서, 인코딩된 폴리펩티드는 항체 제제, 또는 그의 폴리펩티드 사슬 또는 기능적 단편이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 제제는 scFC, 낙타 항체(camelid antibody) 등과 같은 단일 사슬 항체 wp제이거나 이를 포함한다.

[155] 일부 구현예에서, 인코딩된 폴리펩티드는 사이토카인, 성장 인자, 세포사멸 인자, 분화-유도 인자, 세포-표면 수용체, 리간드, 호르몬 등이거나 이를 포함한다.

[156] 일부 구현예에서, 인코딩된 폴리펩티드는 효소이다.

[157] 일부 구현예에서, 인코딩된 폴리펩티드는 전사 인자, 샤페론 등과 같은 조절 폴리펩티드이다.

[158] 일부 구현예에서, 인코딩된 폴리펩티드는 그의 발현이 대상체에서 감소되거나 결여되어 있는 활성을 대체하거나 활성화시키는 폴리펩티드이거나 이를 포함한다.

[159] 일부 구현예에서, 인코딩된 폴리펩티드는 대상체에서 면역 반응을 유도 및/또는 증강시키는 폴리펩티드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 인코딩된 폴리펩티드는 면역글로불린 제제(예를 들어, 항체 및/또는 T 세포 수용체 등)에 의해 특이적으로 결합되는 적어도 하나의 에피토프이거나 이를 포함한다.

[160] 일부 구현예에서, 인코딩된 폴리펩티드는 항원(또는 이의 에피토프)이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원은 특정 질병, 장애 또는 병태의 특징일 수 있다. 예를 들어, 항원은 종양 항원(예: 신생항원) 및/또는 감염원(예: 바이러스 또는 박테리아 또는 진균과 같은 미생물)과 관련된 항원이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 감염 제제와 관련된 항원은 이러한 감염 제제의 표면에 표시되는 항원일 수 있고 및/또는 이러한 제제에 의한 감염을 매개할 수 있다(예를 들어, 수혜자 세포 상의 수용체와의 상호작용에 참여함으로써).

[161] 일부 구현예에서, 항원은 바이러스 항원, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스와 관련된 항원이거나 이를 포함할 수 있다: 아데노바이러스, 사이토메갈로바이러스, 헤르페스 바이러스, 인간 유두종 바이러스, 홍역 바이러스, 풍진 바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 인플루엔자 바이러스 및 볼거리 바이러스. 일부 구현예에서, 항원은 볼티모어 분류 시스템에 기초한 Class I, Class II, Class III, Class IV, Class V, Class VI, 또는 Class VII 바이러스로부터 선택된 바이러스와 관련된 바이러스 항원이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원은 다음 바이러스 패밀리로 부터 선택되는 바이러스와 연관된 바이러스 항원이거나 이를 포함할 수 있다: Adenoviridae, Papovaviridae, Parvoviridae, Herpesviridae, Poxviridae, Anelloviridae, Pleolipoviridae, Reoviridae, Picornaviridae, Caliciviridae, Togaviridae, Arenaviridae, Flaviviridae, Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae, Bunyaviridae, Rhabdoviridae,

Filoviridae, Coronaviridae, Astroviridae, Bornaviridae, Arteriviridae, 및 Hepeviridae. 일부 특정 실시예에서, 바이러스 항원은 코로나바이러스 항원일 수 있다.

- [0617] [162] 일부 특정 구현예에서, 바이러스 항원은 SARS-CoV-2 단백질 서열로부터 유래된 항원일 수 있다(예를 들어, 이러한 서열, 그의 단편, 또는 이들의 변이체일 수 있거나 이를 포함할 수 있음). 일부 구현예에서, 본 발명은 SARS-CoV-2 S 단백질 서열로부터 유래된 항원 서열을 갖는 폴리펩티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-2 S 단백질 서열의 수용체 결합 도메인(RBD)으로부터 유래된 항원 서열이거나 이를 포함한다.
- [0618] [163] 일부 구현예에서, 본 발명에 기술된 바와 같은 페이로드는 LNP의 지질 부분 내에 결합되거나 캡슐화된다. 일부 구현예에서, 본 발명에 기술된 바와 같은 페이로드는 LNP의 지질 부분 내에 결합된다. 일부 구현예에서, 본 발명에 기술된 바와 같은 페이로드는 LNP의 지질 부분 내에 캡슐화된다. 일부 구현예에서, 이러한 지질 부분과의 결합(예를 들어, 내부 캡슐화)는, 예를 들어 주어진 기간에 걸쳐 및/또는 특정 조건 하에서 페이로드 분해(예를 들어, 효소적 분해)의 민감성을 감소시킨다.
- [0619] [164] 일부 구현예에 따르면, 신호 펩티드는 직접적으로 또는 링커를 통해 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합된다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 신호 펩티드는, 전형적으로 약 15 내지 약 30개의 아미노산 길이를 나타내며 항원성 펩티드 또는 단백질의 N-말단에 위치할 수 있는 서열이나, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 정의된 바와 같은 신호 펩티드는 RNA에 의해 인코딩되는 항원성 펩티드 또는 단백질을 정의된 세포 구획, 예를 들어 세포 표면, 소포체(ER) 또는 엔도솜-리소솜 구획 내로 수송할 수 있게 한다.
- [0620] [165] 본 발명의 특정 구현예에 따라 이용될 수 있는 신호 펩티드 서열은 예를 들어 면역글로불린의 신호 펩티드 서열, 예를 들어 면역글로불린 중쇄 가변 영역의 신호 펩티드 서열이거나 이를 포함할 수 있는데, 여기서 면역글로불린은 인간 면역글로불린일 수 있다.
- [0621] [166] 본 발명에 따라 사용하기 위한 신호 펩티드는 인코딩된 항원성 펩티드 또는 단백질의 분비를 촉진하기 위해 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에 정의된 바와 같은 신호 펩티드는 본원에 정의된 바와 같은 인코딩된 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 RNA는 항원성 펩티드 또는 단백질 및 신호 펩티드를 인코딩하는 적어도 하나의 코딩 영역을 포함하며, 여기서 상기 신호 펩티드는 항원성 펩티드 또는 단백질, 예컨대 본원에 기술되는 바와 같은 항원성 펩티드 또는 단백질의 N-말단에 융합된다.
- [0622] [167] 일부 구현예에서, 삼량체화 도메인은 직접적으로 또는 링커, 예를 들어 글리신/세린 링커를 통해 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합된다. 일부 구현예에서, 삼량체화 도메인은 직접적으로 또는 링커, 예를 들어 글리신/세린 링커를 통해 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합되며, 이는 또한 본원에 기재된 바와 같은 신호 펩티드에 융합된다.
- [0623] [168] 일부 구현예에서, 이러한 삼량체화 도메인은 항원성 펩티드 또는 단백질의 C-말단에 위치하지만, 이에 제한되지 않는다. 본원에 정의된 바와 같은 삼량체화 도메인은 RNA에 의해 인코딩되는 항원성 펩티드 또는 단백질의 삼량체화를 가능하게 한다. 본원에 정의된 바와 같은 삼량체화 도메인의 예는 T4 피브리틴의 천연 삼량체화 도메인인 폴돈을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. T4 피브리틴의 C-말단 도메인(폴돈)은 피브리틴 삼량체 구조의 형성에 필수적이며 인공적인 삼량체화 도메인으로 사용될 수 있다.
- [0624] [169] 일부 구현예에서, 막횡단 도메인은 직접적으로 또는 링커, 예를 들어 글리신/세린 링커를 통해 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합된다. 따라서, 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 직접적으로 또는 링커, 예를 들어, 글리신/세린 링커를 통해 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합되며, 이는 또한 본원에 기재된 바와 같은 신호 펩티드 및/또는 삼량체화 도메인에 융합된다.
- [0625] [170] 많은 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 막횡단 도메인은 항원성 펩티드 또는 단백질의 C-말단에 위치하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 이러한 막관통 도메인은 존재하는 경우 삼량체화 도메인의 C-말단에 위치하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 삼량체화 도메인은, SARS-CoV-2 S 단백질, 그의 변이체 또는 그의 단편, 즉 항원성 펩티드 또는 단백질과 막횡단 도메인 사이에 존재한다.
- [0626] [171] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 막횡단 도메인은 RNA에 의해 인코딩되는 항원성 펩티드 또는 단백질의 세포막 내로의 고정을 허용할 수 있다.
- [0627] **코로나바이러스**
- [0628] [172] 코로나바이러스는 외피가 있는(enveloped), 포지티브-센스, 단일-가닥 RNA((+) ssRNA) 바이러스이다. 이

들은 알려진 RNA 바이러스 중 가장 큰 게놈(26-32 kb)을 가지고 있으며, 계통발생학적으로 4개의 속(α , β , γ 및 δ)로 나뉘며, 베타코로나바이러스는 다시 4개의 계통(A, B, C 및 D)으로 세분된다. 코로나바이러스는 광범위한 조류 및 인간을 포함한 포유류 종을 감염시킨다. 일부 인간 코로나바이러스는 일반적으로 경미한 호흡기 질환을 유발하지만, 영유아, 노인 및 면역력이 약한 사람에게는 중증도가 더 높을 수 있다. 중증호흡기증후군 코로나바이러스(MERS-CoV)와 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스(SARS-CoV)는 각각 베타코로나바이러스 계통 C와 B에 속하며 병원성이 매우 높다. 두 바이러스 모두 지난 15년 이내에 동물 병원소로부터 인간 집단으로 출현했으며 높은 치사율로 발생하였다. 비정형 폐렴(코로나바이러스 질병 2019; COVID-19)을 유발하는 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스-2(SARS-CoV-2)의 발병은 2019년 12월 중순 이후 중국에서 맹위를 떨쳤으며 국제적 공중보건 비상사태로 발전하였다. SARS-CoV-2(MN908947.3)는 베타코로나바이러스 계통 B에 속한다. 이는 SARS-CoV와 최소 70%의 서열 유사성을 가지고 있다.

- [0629] [173] 일반적으로 코로나바이러스는 외피(E), 막(M), 뉴클레오캡시드(N) 및 스파이크(S)의 4가지 구조 단백질을 갖는다. E 및 M 단백질은 바이러스 어셈블리에서 중요한 기능을 하며, N 단백질은 바이러스 RNA 합성에 필요하다. 중요한 당단백질 S는 바이러스 결합 및 표적 세포로의 진입을 담당한다. S 단백질은 생산 세포에서 플린-유사 숙주 프로테아제에 의해 2개의 비공유적으로 결합된 서브유닛인 S1 및 S2로 절단되는, 단일-사슬 비활성 전구체로서 합성된다. S1 소단위는 숙주 세포 수용체를 인식하는 수용체-결합 도메인(RBD)을 포함한다. S2 소단위는 융합 펩티드, 2개의 헵타드 반복체 및 막횡단 도메인을 포함하며, 이들 모두는 대규모의 구조적 재배열을 거쳐 바이러스 및 숙주-세포 막의 융합을 매개하는 데 필요하다. S1 및 S2 소단위체는 삼량체화하여 거대 예비융합(prefusion) 스파이크를 형성한다.
- [0630] [174] SARS-CoV-2의 S 전구체 단백질은 S1(685 aa) 및 S2(588aa) 서브유닛으로 단백질 분해에 의해 절단될 수 있다. S1 소단위는 수용체-결합 도메인(RBD)로 구성되는데, 이는 숙주 안지오텐신-전환 효소 2(ACE2) 수용체를 통해 민감 세포 내로 바이러스 진입을 매개한다.
- [0631] [175] SARS-CoV-2 코로나바이러스 정장 스파이크(S) 단백질은 1273개의 아미노산으로 구성된다(SEQ ID NO: 1 참조).
- [0632] [176] 일부 구현예에서, 본 발명은 대상체에서 코로나바이러스 S 단백질, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질에 대한 면역 반응을 유도하기 위해 적어도 하나의 에피토프 SARS-CoV-2 S 단백질을 포함하는 펩티드 또는 단백질을 인코딩하는 RNA를 이용한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 RNA는 SARS-CoV-2 S 단백질, SARS-CoV-2 S 단백질의 면역원성 단편, 또는 이들의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.
- [0633] [177] 일부 구현예에서, SEQ ID NO: 1에 따른 전장 스파이크(S) 단백질은 원형적 예비융합 형태가 안정화되는 방식으로 변형된다. 예비융합 형태의 안정화는 전장 스파이크 단백질의 AS 잔기 986 및 987에서 2개의 연속적인 프롤린 치환을 도입함으로써 얻을 수 있다. 구체적으로, 스파이크(S) 단백질 안정화 단백질 변이체는 986번 위치의 아미노산 잔기가 프롤린으로 교체되고 987번 위치의 아미노산 잔기도 프롤린으로 교체되는 방식으로 얻어진다. 일부 구현예에서, SARS-CoV-2 S 단백질 변이체는 SEQ ID NO: 7로 나타낸 아미노산 서열을 포함한다.
- [0634] [178] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 백신 항원은 SARS-CoV-2의 스파이크 단백질(S), 이의 변이체, 또는 이의 단편을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 그로 이루어진다.
- [0635] [179] 일부 구현예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는,
- [0636] (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열,
- [0637] 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는
- [0638] 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 상기 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하고; 및/또는
- [0639] (ii) SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열,
- [0640] 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는
- [0641] 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노

산 17 내지 1273의 아미노산 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 상기 아미노산 서열의 번역원성 단편을 인코딩한다. 일부 구현예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

- [0642] [180] 일부 구현예에서, 백신 항원은, SARS-CoV-2 스파이크 S1 단편(S1)(SARS-CoV-2의 스파이크 단백질(S)의 S1 서브유닛), 그의 변이체, 또는 그의 단편을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다.
- [0643] [181] 일부 구현예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는,
- [0644] (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열,
- [0645] 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는
- [0646] 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 상기 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하고; 및/또는
- [0647] (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열,
- [0648] 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는
- [0649] 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 상기 아미노산 서열의 번역원성 단편을 인코딩한다. 일부 구현예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.
- [0650] [182] 일부 구현예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는,
- [0651] (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열,
- [0652] 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는
- [0653] 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 상기 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하고; 및/또는
- [0654] (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열,
- [0655] 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는
- [0656] 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 상기 아미노산 서열의 번역원성 단편을 인코딩한다. 일부 구현예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.
- [0657] [183] 일부 구현예에서, 백신 항원은 SARS-CoV-2의 스파이크 단백질(S)의 S1 서브유닛의 수용체 결합 도메인(RBD), 그의 변이체 또는 그의 단편을 포함하거나, 본질적으로 이로 이루어지거나, 또는 이로 이루어진다. SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열, 그의 변이체, 또는 그의 단편은, 본원에서 "RBD" 또는 "RBD 도메인"으로도 지칭된다.
- [0658] [184] 일부 구현예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는,
- [0659] (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열,

- [0660] 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는
- [0661] 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 상기 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하고; 및/또는
- [0662] (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열,
- [0663] 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는
- [0664] 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 상기 아미노산 서열의 번역원성 단편을 인코딩한다. 일부 구현예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.
- [0665] [185] 일부 구현예에 따르면, 신호 펩티드는 직접적으로 또는 링커를 통해 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 변이체 또는 이의 단편, 즉 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합된다. 따라서, 일부 구현예에서, 신호 펩티드는, 본원에서 기술되는 백신 항원에 포함되는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 번역원성 단편(항원성 펩티드 또는 단백질)로부터 유래되는 상기 기술된 아미노산 서열에 융합된다.
- [0666] [186] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 신호 펩티드는, 그에 제한됨이 없이, 전형적으로 약 15 내지 약 30개 아미노산의 길이를 나타내고 항원성 펩티드 또는 단백질의 N-말단에 위치하는 서열이다. 일부 구현예에서, 본원에 정의된 바와 같은 신호 펩티드는 RNA에 의해 인코딩되는 항원성 펩티드 또는 단백질을 정의된 세포 구획, 예를 들어 세포 표면, 소포체(ER) 또는 엔도솜-리소솜 구획으로 수송할 수 있게 한다. 일부 구현예에서, 본원에 정의된 바와 같은 신호 펩티드 서열은 SARS-CoV-2 S 단백질의 신호 펩티드 서열, 특히 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16 또는 1 내지 19의 아미노산 서열을 포함하는 서열 또는 이의 기능적 변이체를 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0667] [187] 본 발명의 특정 구현예에 따라 이용될 수 있는 신호 펩티드 서열은 예를 들어 면역글로불린의 신호 펩티드 서열, 예를 들어 면역글로불린 중쇄 가변 영역의 신호 펩티드 서열이거나 이를 포함할 수 있고, 여기서 면역글로불린은 인간 면역글로불린일 수 있다.
- [0668] [188] 본 발명에 따라 사용하기 위한 신호 펩티드는 인코딩된 항원성 펩티드 또는 단백질의 분비를 촉진하기 위해 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에 정의된 바와 같은 신호 펩티드는 본원에 정의된 바와 같은 인코딩된 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 RNA는 항원성 펩티드 또는 단백질 및 신호 펩티드를 인코딩하는 적어도 하나의 코딩 영역을 포함하며, 여기서 상기 신호 펩티드는 항원성 펩티드 또는 단백질, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 항원성 펩티드 또는 단백질의 N-말단에 융합된다.
- [0669] [189] 일부 구현예에서, 삼량체화 도메인은 직접적으로 또는 링커, 예를 들어 글리신/세린 링커를 통해 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 변이체 또는 이의 단편, 즉, 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합된다. 따라서, 일부 구현예에서, 삼량체화 도메인은 상기 기술된 백신 항원에 포함되는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 번역원성 단편(항원성 펩티드 또는 단백질)로부터 유래되는 상기 기재된 아미노산 서열에 융합된다(선택적으로 본원에 기술된 바와 같은 신호 펩티드에 융합될 수 있음).
- [0670] [190] 일부 구현예에서, 이러한 삼량체화 도메인은 항원성 펩티드 또는 단백질의 C-말단에 위치하지만, 이에 제한되지 않는다. 본원에 정의된 바와 같은 삼량체화 도메인은 RNA에 의해 인코딩되는 항원성 펩티드 또는 단백질의 삼량체화를 가능하게 한다. 본원에 정의된 바와 같은 삼량체화 도메인의 예는 T4 피브리틴의 천연 삼량체화 도메인인 폴돈을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. T4 피브리틴의 C-말단 도메인(폴돈)은 피브리틴 삼량체 구조의 형성에 필수적이며 인공적인 삼량체화 도메인으로 사용될 수 있다.
- [0671] [191] 일부 구현예에서, 막횡단 도메인은 직접적으로 또는 링커, 예를 들어 글리신/세린 링커를 통해 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 변이체 또는 이의 단편, 즉, 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합된다. 따라서, 일부 구현예에서, 막횡단 도메인은 상기 기술되는 백신 항원에 포함되는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 번역원성 단편(항원성 펩티드 또는 단백질)로부터 유래되는 상기 기술된 아미노산 서열에 융합된다(선택적으로 본원에 기술된 바와

같은 신호 펩티드 및/또는 삼량체화 도메인에 융합될 수 있음).

- [0672] [192] 많은 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 막형단 도메인은 항원성 펩티드 또는 단백질의 C-말단에 위치하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 이러한 막관통 도메인은 존재하는 경우 삼량체화 도메인의 C-말단에 위치하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 삼량체화 도메인은 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 변이체 또는 이의 단편, 즉 항원성 펩티드 또는 단백질과 막형단 도메인 사이에 존재한다.
- [0673] [193] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 막형단 도메인은 RNA에 의해 인코딩되는 항원성 펩티드 또는 단백질의 세포막 내로의 고정을 허용할 수 있다.
- [0674] [194] 일부 구현예에서, 본원에 정의된 바와 같은 막형단 도메인 서열은 SARS-CoV-2 S 단백질의 막형단 도메인 서열, 특히 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열을 포함하는 서열, 또는 이의 기능적 변이체를 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0675] [195] 본원에 제시된 바와 같이, 삼량체화 도메인은 인코딩된 항원성 펩티드 또는 단백질의 삼량체화를 촉진하기 위해 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에 정의된 바와 같은 삼량체화 도메인은 본원에 정의된 바와 같은 항원성 펩티드 또는 단백질에 융합된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 RNA는 본원에 정의된 바와 같은 항원성 펩티드 또는 단백질 및 삼량체화 도메인을 코딩하는 적어도 하나의 코딩 영역을 포함하고, 상기 삼량체화 도메인은 항원성 펩티드 또는 단백질, 예를 들어 항원성 펩티드 또는 단백질의 C-말단에 융합된다.
- [0676] [196] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 백신 항원은 본원에 기술되는 백신 항원에 포함되는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 그의 면역원성 단편(항원성 펩티드 또는 단백질)로부터 유래되는 상기 기술되는 아미노산 서열로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어지는 SARS-CoV-2 코로나바이러스 스파이크(S) 단백질의 연속 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재되는 백신 항원은 220개 아미노산, 215개 아미노산, 210개 아미노산 또는 205개 아미노산 이하의 SARS-CoV-2 코로나바이러스 스파이크(S) 단백질의 연속 서열을 포함한다.
- [0677] [197] 일부 구현예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 본원에서 BNT162b2(RBP020.1 또는 RBP020.2)로 기술하는 뉴클레오타이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이다. 일부 구현예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 본원에서 RBP020.2로 기술하는 뉴클레오타이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이다.
- [0678] [198] 본원에서 기술하는 바, 뉴클레오타이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)의 여러 구현예는 다음과 같다:
- [0679] **BNT162b2; RBP020.1 (SEQ ID NO: 19; SEQ ID NO: 7)**
- [0680] 구조: m27,3'-OGppp(m12'-O)ApG)-hAg-Kozak-S1S2-PP-FI-A30L70
- [0681] 인코딩되는 항원: SARS-CoV-2(S1S2 전장 단백질, 서열 변이체)의 바이러스 스파이크 단백질(S1S2 단백질)
- [0682] **BNT162b2; RBP020.2 (SEQ ID NO: 20; SEQ ID NO: 7)**
- [0683] 구조: m27,3'-OGppp(m12'-O)ApG)-hAg-Kozak-S1S2-PP-FI-A30L70
- [0684] 인코딩되는 항원: SARS-CoV-2(S1S2 전장 단백질, 서열 변이체)의 바이러스 스파이크 단백질(S1S2 단백질)
- [0685] [199] **RBP020.1의 뉴클레오타이드 서열**
- [0686] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시되는 개별적인 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

```

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

          hAg-Kozak
63      73      83      93     103     113
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGAA UUUGACAACA
M F V F L V L L P L V S S Q C V N L T T

          S protein
123     133     143     153     163     173

```

AGAACACAGC UGCCACCAGC UUAUACAAAU UCUUUUACCA GAGGAGUGUA UUAUCCUGAU
R T Q L P P A Y T N S F T R G V Y Y P D

S protein

183 193 203 213 223 233

AAAGUGUUUA GAUCUUCUGU GCUGCACAGC ACACAGGACC UGUUUCUGCC AUUUUUUAGC
K V F R S S V L H S T Q D L F L P F F S

S protein

243 253 263 273 283 293

AAUGUGACAU GGUUUCAGC AAUUCAGUG UCUGGAACAA AUGGAACAAA AAGAUUUGAU
N V T W F H A I H V S G T N G T K R F D

S protein

303 313 323 333 343 353

AAUCCUGUGC UGCCUUUUAA UGAUGGAGUG UAUUUUGCUU CAACAGAAAA GUCAAAUAAU
N P V L P F N D G V Y F A S T E K S N I

S protein

363 373 383 393 403 413

AUUAGAGGAU GGAUUUUUGG AACACACUG GAUUCUAAAA CACAGUCUCU GCUGAUUGUG
I R G W I F G T T L D S K T Q S L L I V

S protein

423 433 443 453 463 473

AAUAAUGCAA CAAUGUGGU GAUUAAGUG UGUGAAUUC AGUUUUGUAA UGAUCCUUUU
N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

S protein

483 493 503 513 523 533

CUGGAGUGU AUUAUCACAA AAUUAUAAA UCUUGGAGG AAUCUGAAUU UAGAGUGUAA
L G V Y Y H K N N K S W M S S E F R V Y

S protein

[0688]

543 553 563 573 583 593
UCCUCUGCAA AUAUUUGUAC AUUUGAAUUAU GUGUCUCAGC CUUUUCUGAU GGAUCUGGAA
S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E

S protein

603 613 622 633 643 653
GGAACACAGG GCAUUUUUAA AAAUCUGAGA GAAUUUGUGU UUAUUUUUAU UGAUGGAUUA
G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S protein

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

S protein

723 733 743 753 763 773
UCUGCUCUGG AACUCUGGU GGAUCUGCCA AUUGGCAUUA AUAUUACAAG AUUCAGACA
S A L E F L V D L P I G I N I T R F Q T

S protein

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

S protein

843 853 863 873 883 893
GGAGCUGCAG CUUAUUUAUGU GGGCUAUCUG CAGCCAGAA CAUUUCUGCU GAAAUUAUAU
G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

S protein

903 913 923 933 943 953
GAAAUUGAA CAUUUACAGA UGCUGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGUC UGAACAAAA
E N G T I T D A V D C A L D F L S E T K

[0689]

S protein

963 973 983 993 1003 1013
 UGUACAUAUA AAUCUUUUAC AGUGGAAAAA GGCAUUUAUC AGACAUCUAA UUUUAGAGUG
 C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S protein

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

S protein

1083 1093 1103 1113 1123 1133
 GUGUUUAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG UAUGCAUGGA AUGAAAAAG AAUUCUAAU
 V F N A T R F A S V Y A F N R K R I S N

S protein

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

S protein

1203 1213 1223 1233 1243 1253
 GGAGUGUCUC CAACAAAUAU AAAGAUUUUA UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUU
 G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S protein

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

S protein

1323 1333 1343 1353 1363 1373
 UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU

[0690]

Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S protein

1383 1393 1403 1413 1423 1433

UUGAGUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S protein

1443 1453 1463 1473 1483 1493

CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUACAACA GAAAUUUUUC AGGCUUGAUC AACACCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S protein

1503 1513 1523 1533 1543 1553

AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUUUUU CCAUUACAGA GCUAUGGAU UCAGCCAACC

N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S protein

1563 1573 1583 1593 1603 1613

AAUGGUGUGG GAUACAGCC 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 protein

1623 1633 1643 1653 1663 1673

CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAAAAUUCU ACAAUUUAG UGAAAAAUAA AUGUGUGAAU

P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S protein

1683 1693 1703 1713 1723 1733

UUUAAUUUUA AUGGAUUUAC AGGAACAGGA GUGCUGACAG AAUCUAAUAA AAAAUUUCUG

F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S protein

1743 1753 1763 1773 1783 1793

[0691]

CCUUUUCAGC AGUUUGGCAG 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 protein

1803 1813 1823 1833 1843 1853
ACAUUAGAAA UUCUGGAUUAU UACACCUUGU UCUUUUGGGG GUGUGUCUGU GAUUVACACCU
T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S protein

1863 1873 1883 1893 1903 1913
GGAACAAUA 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 protein

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 protein

1983 1993 2003 2013 2023 2033
AAUGUGUUUC AGACAAGAGC AGGAUGUCUG AUUGGAGCAG AACAUUGAA UAAUUCUUAU
N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S protein

2043 2053 2063 2073 2083 2093
GAAUGUGAUA UUCCAAUUGG AGCAGGCAUU UGUGCAUCUU AUCAGACACA GACAAAUUCC
E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S protein

2103 2113 2123 2133 2143 2153
CCAAGGAGAG CAAGAUCUGU GGCAUCUCAG UCUAUUUAUG CAUACACCAU GUCUCUGGGA
P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S protein

[0692]

2163 2173 2183 2193 2203 2213
GCAGAAAAU CUGUGGCAUA UUCUAAUAAU UCUAUUGCUA UCCCAACAAA UUUUACCAUU
A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S protein

2223 2233 2243 2253 2263 2273
UCUGUGACAA CAGAAAUUUU ACCUGUGUCU AUGACAAAA CAUCUGUGGA UUGURCCAUG
S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S protein

2283 2293 2303 2313 2323 2333
UACAUUUGUG 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 protein

2343 2353 2363 2373 2383 2393
ACACAGCUGA AUAGAGCUUU AACAGGAAUU GCUGUGGAC AGGAUAAAA UACACAGGAA
T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S protein

2403 2413 2423 2433 2443 2453
GUGUUUGCUC AGGUGAARCA 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 protein

2463 2473 2483 2493 2503 2513
AAUUUUAGCC AGAUUCUGCC UGAUCCUUCU AAACCUUCUA AAAGAUCUUU UAUUGAAGAU
N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S protein

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

[0693]

S protein

2583 2593 2603 2613 2623 2633
 CUGGGUGAUA UUGCUGCAAG AGAUCUGAUU UGUGCUCAGA AAUUUAAUGG ACUGACAGUG
 L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S protein

2643 2653 2663 2673 2683 2693
 CUGCCUCCUC UGCUGACAGA UGAAAUGAUU GCUCAGUACA CAUCUGCUUU ACUGGCUGGA
 L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S protein

2703 2713 2723 2733 2743 2753
 ACAAUUACAA GCGGAUGSAC 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 protein

2763 2773 2783 2793 2803 2813
 CAGAUGGCUU ACAGAUUUUA UGGAAUUGGA GUGACACAGA AUGUGUUAUA UGAAAUCAG
 Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S protein

2823 2833 2843 2853 2863 2873
 AARUGAUUG CAAAUAGUU UAAUUCUGCA AUUGGCAGAA UUCAGGAUUC UCUGUCUUCU
 K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S protein

2883 2893 2903 2913 2923 2933
 ACAGCUUCUG CUCUGGGAAA ACUGCAGGAU GUGGUGAUC AGAAUGCACA GGCACUGAAU
 T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S protein

2943 2953 2963 2973 2983 2993
 ACUCUGGUGA AACAGCUGUC UAGCAAUUUU GGGGCRAUUU CUUCUGUGCU GAAUGAUUU

[0694]

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

S protein

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 protein

3063 3073 3083 3093 3103 3113

CUGCAGUCUC UGCAGACUUA UGUGACACAG CAGCUGAUUA GAGCUGCUGA AAUUGAGGU

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

S protein

3123 3133 3143 3153 3163 3173

UCUGCUAAUC UGGCUGCUAC AAAAUGUCU GAAUGUGUGC UGGGACAGUC AAAAGAGUG

S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

S protein

3183 3193 3203 3213 3223 3233

GAUUUUUGUG GAAAAGGAUA UCAUCUGAUG UCUUUUCCAC AGUCUCGUCC ACAUGGAGUG

D F C G K G Y H L M S F P Q S A P H G V

S protein

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 protein

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 protein

3363 3373 3383 3393 3403 3413

[0695]

CAUUGGUUUG UGACACAGAG AAUUUUUUUAU GAACCCUGA UUAUUACAAC AGAUAAUACA
H W F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T

S protein

3423 3433 3443 3453 3463 3473
UUUGUGUCAG 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 protein

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

S protein

3543 3553 3563 3573 3583 3593
UCUCCUGAUG UGGAUUUAGG AGAUUUUUUCU GGAAUCAUG CAUCUGUGGU GAAUAUUCAG
S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

S protein

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

S protein

3663 3673 3683 3693 3703 3713
CAGGAACUUG GAAAUUAUGA ACAGUACAUU AAUUGGCCUU GUACAUIUG GCUUGGAUUU
Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S protein

3723 3733 3743 3753 3763 3773
AUUGCAGGAU UAAUUGCAU UGUGAUGGUG ACRAUUAUGU UAUGUUGURU GACAUCAUGU
I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S protein

3783 3793 3803 3813 3823 3833

[0696]

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 protein

3843 3853 3863 3873 3878

UCUGAACCUUG UGUUAAAAGG AGUGAAAUUG CAUUACACAU GAUGA

S E P V L K G V K L H Y T * *

S protein

3888 3898 3908 3918 3928 3938

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI element

3948 3958 3968 3978 3988 3998

AGUCUCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI element

4008 4018 4028 4038 4048 4058

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCAGC CAGCAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI element

4068 4078 4088 4098 4108 4118

CCACACCCCG ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAAACUAA

FI element

4128 4138 4148 4158 4168 4173

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCUGGAG CUAGC

FI element

4183 4193 4203 4213 4223 4233

AAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

4243 4253 4263 4273 4283

AAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

[0697]

[0698]

[0699]

[200] RBP020.2의 뉴클레오티드 서열

뉴클레오티드 서열은 굵은 글씨로 표시되는 개별적인 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코딩 뉴클레오티드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

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

hAg-Kozak

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 protein

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 protein

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 protein

243 253 263 273 283 293
AAGGUGUCCA GGUUCCAGCG 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 protein

303 313 323 333 343 353
AAGGUGUCCA GGUUCCAGCG 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 protein

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

S protein

423 433 443 453 463 473
AACACGCGCA CCAACGUGGU CAUCAAAGUG UGCAGAUUCC AGUUCUGCAA CGACCCUUC
N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

S protein

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

S protein

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 protein

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

S protein

663 673 683 693 703 713
UUCAGAUUCU ACAGCAAGCA CACCCUUAUC AACUCUGGC GGAUCUGCC UCAGGGCUUC
F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S protein

723 733 743 753 763 773
UCUGCUCUGG AACCCUGGU GGAUCUGCC AUCGGCAUA ACAUACCCG GUUUCAGACA
S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

[0700]

[0701]

S protein

783 793 803 813 823 833
CUGCUGGGCC UGCACAGAAG CUACCUAGACA CCUGGCGGAUA GCAGCAGCGG AUGGACAGCU
L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S protein

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

S protein

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

S protein

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 protein

1023 1033 1043 1053 1063 1073
CAGCCCACCG AAUCCAUGU 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 protein

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 protein

1143 1153 1163 1173 1183 1193
UGCGUGGCCG ACUACUCUGU GCUGUACAAC UCCGCCAGCU UCAGCACCUI CAAGUGCUAC

[0702]

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S protein

1203 1213 1223 1233 1243 1253

GGCGUGUCCC CUACCAAGCU GAACGACCGC UGCUUCACAA ACGUGUACGC CGACAGCUUC

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S protein

1263 1273 1283 1293 1303 1313

GUGAUCCGGG GAGAUGAAGU GCGGCAGAUU GCGCCUGGAC AGACAGGCAA GAUCGCCGAC

V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D

S protein

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 protein

1383 1393 1403 1413 1423 1433

CUGGACUCCA AAGUCGGCGG CAACUACAAU UACCGUACCC GGCUGUCCG GAAGUCCAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S protein

1443 1453 1463 1473 1483 1493

CUGAAGCCCU UCGAGCGGGA CAUCUCCACC GAGAUUAUC AGGCGGGCAG CACCCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S protein

1503 1513 1523 1533 1543 1553

AACGGCGUGG AAGGCUUCAA 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 protein

1563 1573 1583 1593 1603 1613

[0703]

AAUGGCGUGG 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 protein

1623 1633 1643 1653 1663 1673

CCUGCCACAG UGUGCGGCCG URAGAAAAGC ACCAAUCUCG UGAAGAACAA AUGCGUGAAC
P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S protein

1683 1693 1703 1713 1723 1733

UUAACUUA ACGGCCUGAC CGGCACGGC GUGCUGACAG AGAGCAACAA GAAGUUCUG
F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S protein

1743 1753 1763 1773 1783 1793

CCAUUCCAGC AGUUUGGCCG GGAUAUCGCC GAUACCACAG ACGCCGUUAG AGAUCCACAG
P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S protein

1803 1813 1823 1833 1843 1853

ACACUGGAAA UCCUGGACAU CACCCCUUGC AGCUUCGGCG GAGUGUCUGU GAUCACCCCU
T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S protein

1863 1873 1883 1893 1903 1913

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 protein

1923 1933 1943 1953 1963 1973

CCCGUGSCCA UUCACGCCGA UCAGCUGACA CCUACAUGGC GSGUGUACUC CACGGGCAGC
P V A I H A D Q L T P T F R V Y S T G S

S protein

[0704]

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 protein

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 protein

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 protein

2163 2173 2183 2193 2203 2213
GCCGAGAAC GCGUGGCCUA CUCCAACAAC UCUAUCGCUA UCCCCACCA CUCACCAUC
A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S protein

2223 2233 2243 2253 2263 2273
AGCGUGACCA CAGAGAUCU GCCUGUGUCC AUGACCAAGA CCGCGUGGA CUGCACCAUG
S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S protein

2283 2293 2303 2313 2323 2333
UACUUCUGCG GCGAUCCAC CGAGUGCUCC AACCGUCUGC UGCAGUACGG CAGCUUCUGC
Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S protein

2343 2353 2363 2373 2383 2393
ACCCAGCUGA AUAGAGCCCU GACAGGGAUC GCCGUGGAC AGGACAGGA CACCCAGAG
T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

[0705]

S protein

2403 2413 2423 2433 2443 2453
GUGUUCGCCC AAGUGAAGCA GAUCUACAAAG ACCCCUCCUA UCAAGGACUU CGGCGGCUUC
V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S protein

2463 2473 2483 2493 2503 2513
AAUUUCAGCC AGAUUCUGCC CGAUCCUAGC AAGCCCAGCA AGCGGAGCUU CAUCGAGGAC
N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S protein

2523 2533 2543 2553 2563 2573
CUGCUGUUCA ACAAGUGAC 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 protein

2583 2593 2603 2613 2623 2633
CUGGGCGACA UUGCGGCCAG GGAUCUGAUU UGCGCCGAGA AGUUUACGG ACUGACAGUG
L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S protein

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 protein

2703 2713 2723 2733 2743 2753
ACAAUCACAA GCGGCGGAC AUUUGGAGCA GCGCGCGCUC UGCAGAUCCC CUUUGCUAUG
T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S protein

2763 2773 2783 2793 2803 2813
CAGAUGGCCU ACCGGUUCAA CGGCAUCGGA GUGACCCAGA AUGUGCUGUA CGAGAACCAG

[0706]

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

S protein

2823 2833 2843 2853 2863 2873

AAGCUGAUCG CCAACCAUU 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 protein

2883 2893 2903 2913 2923 2933

ACAGCAAGCG CCCUGGGAAA GCUGCAGGAC GUGGUCABCC AGAAUGCCCA GGCACUGAAC

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

S protein

2943 2953 2963 2973 2983 2993

ACCCUGGUCA AGCAGCUGUC CUCCAAUUC GGCGCCAUCA GCUCUGUGCU GAACGAUAUC

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

S protein

3003 3013 3023 3033 3043 3053

CUGAGCAGAC UGGACCCUCC UGAGGCGGAG GUGCAGAUCG ACAGACUGAU CACAGGCAGA

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

S protein

3063 3073 3083 3093 3103 3113

CUGCAGAGCC UCCAGACAUA CGUGACCCAG CAGCUGAUCA GAGCGCCGA GAUURAGAGCC

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

S protein

3123 3133 3143 3153 3163 3173

UCUGCCAAUC UGGCCGCCAC CAAGAUGUCU GAGUGUGUGC UGGGCCAGAG CAAGAGAGUG

S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

S protein

3183 3193 3203 3213 3223 3233

[0707]

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 protein
3243 3253 3263 3273 3283 3293
GUGUUUCUGC ACGUGACAUA UGUGCCCGCU CAAGAGAAGA AUUCACCCAC CGCUCCAGCC
V F L H V T Y V P A Q E K N F T T A P A
S protein
3303 3313 3323 3333 3343 3353
AUCUGCCACG ACGGCAAGC CCACUUUCCU AGAGAAGGCG UGUUCGUGUC CAACGGCACCC
I C H D G K A H F P R E G V F V S N G T
S protein
3363 3373 3383 3393 3403 3413
CAUUGGUUCG UGACACAGCG GAACUUCUAC GAGCCCCAGA UCAUCACCAC CGACAACACC
H F F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T
S protein
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 protein
3483 3493 3503 3513 3523 3533
CUGCAGCCCG AGCUGGACAG CUUCAAGAG GAACUGGACA AGUACUUUAA GAACACACA
L Q P E L D S F K E E L D K Y F K N H T
S protein
3543 3553 3563 3573 3583 3593
AGCCCCGACG UGGAOCUGGG CGAUAUCAGC GGAAUCAAG CCAGCGUCGU GAACAUCAG
S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q
S protein

[0708]

3603 3613 3623 3633 3643 3653
 AAAGAGAUCC 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 protein

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 protein

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

S protein

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 protein

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

S protein

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

FI element

3948 3958 3968 3978 3988 3998
 AGUCUCCCC GACCUCCGGU CCCAGSUAUG CUCOCACUUC CACCUGCCCC ACUACACCAC

FI element

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

FI element

4068 4078 4088 4098 4108 4118
 CCACACCCCC ACGGGAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUARCUAA

FI element

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

FI element

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

Poly(A)

4243 4253 4263 4273 4283
 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)**[0710]** 지질 나노입자(LNP)

[201] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 핵산(예를 들어, RNA)는 LNP의 형태로 제형화 및/또는 투여된다. 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는, 지질 입자를 생성하기 위해, 당업계에서 공지되고 및/또는 본원에서 확립된 하나 이상의 지질을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는, 양이온성 지질, 중성 지질, 중합체 접합 지질 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 지질을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는 콜레스테롤과 같은 스테로이드, 또는 이의 유도체를 포함한다.

[202] 본원에서 사용되는 바, "중성 지질"은 선택된 pH에서 전하를 띠지 않거나 중성의 양쪽성 이온 형태로 존재하는 지질 종을 의미한다. 일부 구현예에서, 추가적인 지질은 다음 중성 지질 성분 중 하나를 포함한다: (1) 인지질, (2) 콜레스테롤 또는 이의 유도체; 또는 (3) 인지질과 콜레스테롤의 혼합물 또는 이의 유도체. 일부 구

현예에서, 인지질은 다음을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다: 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜글리세롤, 포스파티딘산, 포스파티딜세린 또는 스펅고미엘린. 이러한 인지질은 특히 다음을 포함한다: 디아실포스파티딜콜린, 예컨대, 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 디올레오일포스파티딜콜린(DOPC), 디미리스토일포스파티딜콜린(DMPC), 디펜타데카노일포스파티딜콜린, 디라우로일포스파티딜콜린, 디팔미토일포스파티딜콜린(DPPC), 디아라키도일포스파티딜콜린(DAPC), 디베헤노일포스파티딜콜린(DBPC), 디트리코사노일포스파티딜콜린(DTPC), 디리그노세로일파티딜콜린(DLPC), 팔미토일올레오일-포스파티딜콜린(POPC), 1,2-디-0-옥타데세닐-sn-글리세로-3-포스포콜린(18:0 디에테르 PC), 1-올레오일-2-콜레스테릴헤미숙시노일-sn-글리세로-3-포스포콜린(OChemPC), 1-헥사데실-sn-글리세로-3-포스포콜린(C16 Lyso PC) 및 포스파티딜에탄올아민, 특히 디아실포스파티딜에탄올아민, 예컨대 디올레오일포스파티딜에탄올아민(DOPE), 디스테아로일-포스파티딜에탄올아민(DSPE), 디팔미토일-포스파티딜에탄올아민(DPPE), 디미리스토일-포스파티딜에탄올아민(DMPE), 디라우로일-포스파티딜에탄올아민(DLPE), 디피타노일-포스파티딜에탄올아민(DPyPE), 및 여러 소수성 사슬을 가지는 추가적인 포스파티딜에탄올아민 지질.

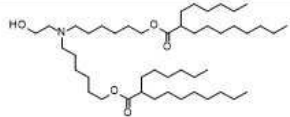
[0714] [203] 콜레스테롤 유도체의 예는 콜레스타놀, 콜레스타논, 콜레스테논, 코프로스타놀, 콜레스테릴-2'-히드록시 에틸 에테르, 콜레스테릴-4'-히드록시부틸 에테르, 토코페롤 및 이들의 유도체, 및 이들의 혼합물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

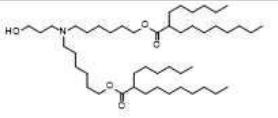
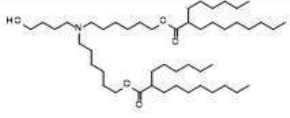
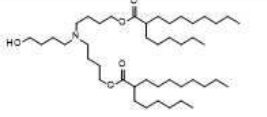
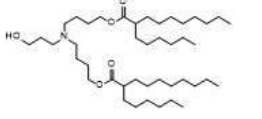
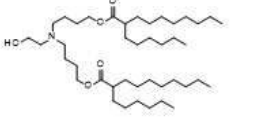
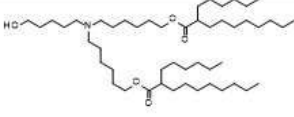
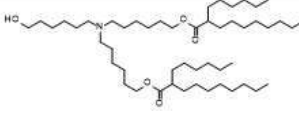
[0715] [204] 용어 "양이온성 지질"은 선택된 pH에서 순 양전하를 갖는 임의의 다수의 지질 종을 지칭한다. 예를 들어, 생리적 pH(예를 들어, pH 약 7.0). 양이온성 지질의 예는 다음을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다: 1,2-디올레오일-3-트리메틸암모늄 프로판(DOTAP); N,N-디메틸-2,3-디올레일옥시프로필아민(DODMA), 1,2-디-0-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판(DOTMA), 3-(N-(N',N'-디메틸아미노에탄)-카르바모일) 콜레스테롤(DC-Chol), 디메틸디옥타데실암모늄(DDAB); 1,2-디올레오일-3-디메틸암모늄-프로판(DODAP); 1,2-디아실옥시-3-디메틸암모늄 프로판; 1,2-디알킬옥시-3-디메틸암모늄 프로판; 디옥타데실디메틸 암모늄 클로라이드(DODAC), 1,2-디스테아릴옥시-N,N-디메틸-3-아미노프로판(DSDMA), 2,3-디(테트라데코시)프로필-(2-히드록시에틸)-디메틸아자늄(DMRIE), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린(DMEPC), 1,2-디미리스토일-3-트리메틸암모늄 프로판(DMTAP), 1,2-디올레일옥시프로필-3-디메틸-히드록시에틸 암모늄 브로마이드(DORIE), 및 2,3-디올레오일옥시-N-[2(스페르민 카르복사미드)에틸]-N,N-디메틸-1-프로파나늄 트리플루오로아세테이트(DOSPA), 1,2-디리놀레일옥시-N,N-디메틸아미노프로판(DLinDMA), 1,2-디리놀레닐옥시-N,N-디메틸아미노프로판(DLenDMA), 디옥타데실아미도글리실 스퍼민(DOGS), 3-디메틸아미노-2-(콜레스트-5-엔-3-베타-옥시부탄-4-옥시)-1-(시스,시스-9,12-옥타데카디엔옥시)프로판(CLindMA), 2-[5'-(콜레스트-5-엔-3-베타-옥시)-3'-옥사헥토시]-3-디메틸-1-(시스,시스-9',12'-옥타데카디엔옥시)프로판(CpLinDMA), N,N-디메틸-3,4-디올레일옥시벤질아민(DMOBA), 1,2-N,N'-디올레일카르바미-3-디메틸아미노프로판(DOcarbDAP), 2,3-디리놀레오일옥시-N,N- 디메틸프로필아민(DLinDAP), 1,2-N,N'-디리놀레일카르바미-3-디메틸아미노프로판(DLincarbDAP), 1,2-디리놀레오일카르바미-3-디메틸아미노프로판(DLinCDAP), 2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노메틸-[1,3]-디옥솔란(DLin-K-DMA), 2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란(DLin-K-XTC2-DMA), 2,2-디리놀레일-4-(2-디메틸아미노에틸)-[1,3]-디옥솔란(DLin-KC2-DMA), 헵타트리아콘타-6,9,28,31-테트라엔-19-일-4-(디메틸아미노)부타노에이트(DLin-MC3-DMA), N-(2-히드록시에틸)-N,N-디메틸-2,3-비스(테트라데실옥시)-1-프로판아미늄 브로마이드(DMRIE), (±)-N-(3-아미노프로필)-N,N-디메틸-2,3-비스(시스-9-테트라데세닐옥시)-1-프로파나미늄 브로마이드(GAP-DMORIE), (±)-N-(3-아미노프로필)-N,N-디메틸-2,3-비스(도데실옥시)-1-프로파나미늄 브로마이드 (GAP-DLRIE), (±)-N-(3-아미노프로필)-N,N-디메틸-2,3-비스(테트라데실옥시)-1-프로판아미늄 브로마이드(GAP-DMRIE), N-(2-아미노에틸)-N,N-디메틸-2,3-비스(테트라데실옥시)-1-프로판아미늄 브로마이드(βAE-DMRIE), N-(4-카르복시벤질)-N,N-디메틸-2,3-비스(올레오일옥시)프로판-1-아미늄(DOBAQ), 2-({8-[(3β)-콜레스트-5-엔-3-일옥시]옥시}-N,N-디메틸-3-[(9Z,12Z)-옥타데카-9,12-디엔-1-일옥시]프로판-1-아민(옥틸-CLindMA), 1,2-디미리스토일-3-디메틸암모늄-프로판(DMDAP), 1,2-디팔미토일-3-디메틸암모늄-프로판(DPDAP), N1-[2-((1S)-1-[(3-아미노프로필)아미노]-4-[디(3-아미노프로필)아미노]부틸카르복사아미도)에틸]-3,4-디[올레일옥시]-벤즈아미드 (MVL5), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린(DOEPIC), 2,3-비스(도데실옥시)-N-(2-히드록시에틸)-N,N-디메틸프로판-1-아미늄 브로마이드(DLRIE), N-(2-아미노에틸)-N,N-디메틸-2,3-비스(테트라데실옥시)프로판-1-아미늄 브로마이드(DMORIE), 디((Z)-논-2-엔-1-일) 8,8'-(((2(디메틸아미노)에틸)티오)카르보닐)아잔디일)디옥타노에이트(ATX), N,N-디메틸-2,3-비스(도데실옥시)프로판-1-아민(DLDMA), N,N-디메틸-2,3-비스(테트라데실옥시)프로판-1-아민(DMDMA), 디((Z)-논-2-엔-1-일)-9-((4-(디메틸아미노부타노일)옥시) 헵타데칸디오에이트(L319), N-도데실-3-((2-도데실카르바모일-에틸)-{2-[2-도데실카르바모일-에틸]-2-{(2-도데실카르바모일-에틸)-[2-(2-도데실카르바모일-에틸아미노)-에틸]-아미노}-에틸아미노)프로피온아미드(리피도이드 98N12-5), 1-[2-[비스(2-히드록시도데실)아미노]에틸]-2-[4-[2-[비스(2

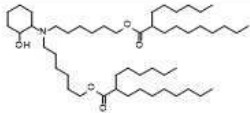
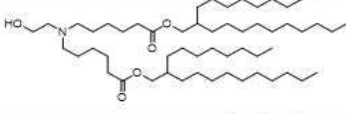
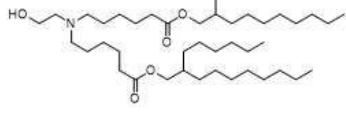
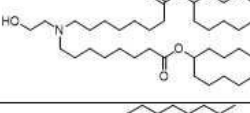
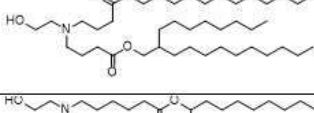
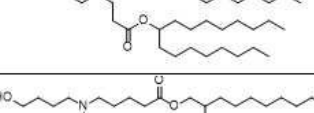
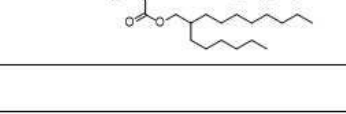
히드록시도데실)아미노]에틸]피페라진-1-일]에틸]아미노]도데칸-2-올(리피도이드 C12-200).

[205] 일부 구현예에서, 양이온성 지질은 WO 2017/075531에 개시된 바와 같은 화학 구조를 가지며, 그 중 일부는 하기 표 A에 제시되어 있다:

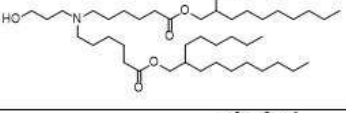
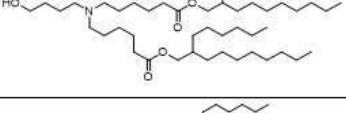
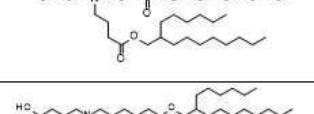
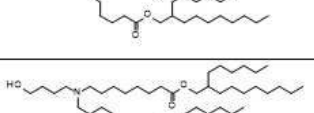
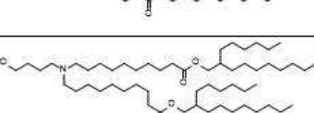
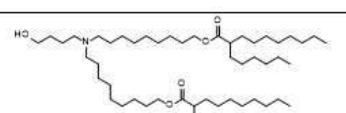
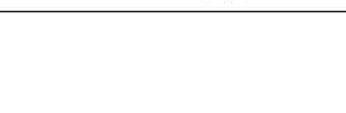
표 A: 예시적 양이온성 지질

No.	구조
I-1	

No.	구조
I-2	
I-3	
I-4	
I-5	
I-6	
I-7	
I-8	

No.	구조
I-9	
I-10	
I-11	
I-12	
I-13	
I-14	
I-15	

[0720]

No.	구조
I-16	
I-17	
I-18	
I-19	
I-20	
I-21	
I-22	

[0721]

No.	구조
I-23	
I-24	
I-25	
I-26	
I-27	
I-28	

[0722]

No.	구조
I-29	
I-30	
I-31	
I-32	
I-33	
I-34	

[0723]

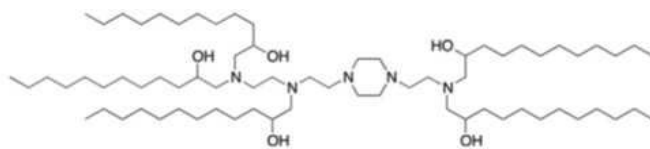
No.	구조
I-35	
I-36	

[206] 양이온성 지질의 추가적인 예시가 하기 표 B에 제시되어 있다.

표 B: 추가적인 예시적인 양이온성 지질

No.	구조
A	
B	
C	
D	
E	
F	

[207] 특정 구현예에서, 양이온성 지질은 이온화가능한 지질-유사 물질(리피도이드)이다. 예시적인 리피도이드는 C12-200이며, 이는 하기 구조를 갖는다:



[208] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 입자는 폐길화 지질과 같은 중합체 접합 지질을 포함한다. 용어 "폐길화 지질"은 지질 부분과 폴리에틸렌 글리콜 부분을 모두 포함하는 분자를 의미한다. 폐길화 지질은 당업계에 공지되어 있다.

[209] 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는 ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실테카노이트)(ALC-0315)를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159)를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC)을 포함하는 LNP를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는 콜레스테롤을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는: ALC-0315, ALC-0159, DSPC 및 콜레스테롤을 포함하는 지질을 포함한다.

[210] 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는 약 40 내지 약 55 몰%, 약 40 내지 약 50 몰%, 약 41 내지 약 49 몰%, 약 41 내지 약 48 몰%, 약 42 내지 약 48 몰%, 약 43 내지 약 48 몰%, 약 44 내지 약 48 몰%, 약 45 내지 약 48 몰%, 약 46 내지 약 48 몰%, 약 47 내지 약 48 몰%, 또는 약 47.2 내지 약 47.8 몰%의 ALC-0315를 포함

한다. 일부 구현예에서, LNP는 약 47.0, 약 47.1, 약 47.2, 약 47.3, 약 47.4, 약 47.5, 약 47.6, 약 47.7, 약 47.8, 약 47.9, 또는 약 48.0 몰%의 ALC-0315를 포함한다.

- [0733] [211] 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는 약 6 mg/ml 내지 약 9 mg/ml, 약 6 mg/ml 내지 약 8 mg/ml, 약 6 mg/ml 내지 약 7 mg/ml, 약 7 mg/ml 내지 약 9 mg/ml, 약 8 mg/ml 내지 약 9 mg/ml, 또는 약 7 mg/ml 내지 약 8 mg/ml의 ALC-0315를 포함한다. 일부 구현예에서, LNP는 약 7 mg/ml 내지 약 8 mg/ml의 ALC-0315를 포함한다. 일부 구현예에서, ALC-0315는 약 7.17 mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0734] [212] 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는 약 5 내지 약 15 몰%, 약 7 내지 약 13 몰%, 또는 약 9 내지 약 11 몰% DSPC를 포함한다. 일부 구현예에서, DSPC는 약 9.5, 약 10, 또는 약 10.5 몰%의 농도로 존재한다.
- [0735] [213] 일부 구현예에서, 본 발명의 LNP는 약 1 mg/ml 내지 약 2.5 mg/ml, 약 1 mg/ml 내지 약 2 mg/ml, 또는 약 1 mg/ml 내지 약 1.5 mg/ml의 DSPC를 포함한다. 일부 구현예에서, LNP는 약 1.5 mg/ml 내지 약 2 mg/ml의 DSPC를 포함한다. 일부 구현예에서, ALC-0315는 약 1.56 mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0736] [214] 일부 구현예에서, 콜레스테롤은 약 30 내지 약 50 몰%, 약 35 내지 약 45 몰%, 또는 약 38 내지 약 43 몰% 범위의 농도로 존재한다. 일부 구현예에서, 콜레스테롤은 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 또는 약 46 몰%의 농도로 존재한다.
- [0737] [215] 일부 구현예에서, 콜레스테롤은 약 2 mg/ml 내지 약 4 mg/ml, 약 2 mg/ml 내지 약 3.5 mg/ml, 약 2 mg/ml 내지 약 3 mg/ml, 약 2 mg/ml 내지 약 2.5 mg/ml, 약 2.5 mg/ml 내지 약 4 mg/ml, 약 3 mg/ml 내지 약 4 mg/ml, 또는 약 3.5 mg/ml 내지 약 4 mg/ml의 농도로 존재한다. 일부 구현예에서, 콜레스테롤은 약 3 mg/ml 내지 약 3.5 mg/ml의 농도로 존재한다. 일부 구현예에서, 콜레스테롤은 약 3.1 mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0738] [216] 일부 구현예에서, ALC-0159는 약 1 내지 약 10 몰%, 약 2 내지 약 8 몰%, 약 4 내지 약 8 몰%, 약 4 내지 약 8 몰%, 약 4 내지 약 6 몰%, 약 1 내지 약 5 몰%, 또는 약 1 내지 약 3 몰% 범위의 농도로 존재한다.
- [0739] [217] 일부 구현예에서, ALC-0159는 약 0.5 mg/ml 내지 약 2.5 mg/ml, 약 1 mg/ml 내지 약 2.5 mg/ml, 약 1.5 mg/ml 내지 약 2.5 mg/ml, 약 2 mg/ml 내지 약 2.5 mg/ml, 약 0.5 mg/ml 내지 약 2 mg/ml, 약 0.5 mg/ml 내지 약 1.5 mg/ml, 또는 약 0.5 mg/ml 내지 약 1 mg/ml 범위의 농도로 존재한다. 일부 구현예에서, ALC-0159는 약 0.5 mg/ml 내지 약 1 mg/ml의 농도로 존재한다. 일부 구현예에서, ALC-0159는 약 0.89 mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0740] [218] 일부 구현예에서, 몰%는 본원에 기술된 LNP에 존재하는 지질의 총 몰을 기준으로 결정된다.
- [0741] [219] 일부 구현예에서, 본 발명은 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 질량비로 존재하는, ALC-0315, ALC-0159, DSPC, 및 콜레스테롤을 포함하는 지질을 포함하는, LNP를 제공한다.
- [0742] [220] 일부 구현예에서, 본 발명의 지질 입자(예를 들어, LNP)는 적어도 30 nm, 적어도 40 nm, 적어도 50 nm, 적어도 60 nm, 적어도 70 nm, 적어도 80 nm, 적어도 90 nm, 적어도 100 nm, 적어도 200 nm, 적어도 300 nm, 적어도 400 nm, 적어도 500 nm, 또는 적어도 1000 nm의 평균 직경을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 지질 입자(예를 들어, LNP)는 최대 30 nm, 최대 40 nm, 최대 50 nm, 최대 60 nm, 최대 70 nm, 최대 80 nm, 최대 90 nm, 최대 100 nm, 최대 200 nm, 최대 300 nm, 최대 400 nm, 최대 500 nm, 최대 1000 nm 또는 최대 1200 nm의 평균 직경을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 지질 입자(예를 들어, LNP)는 약 30 nm 내지 약 1000 nm, 약 50 nm 내지 약 1000 nm, 약 70 nm 내지 약 1000 nm, 약 30 nm 내지 약 500 nm, 약 30 nm 내지 약 100 nm, 또는 약 30 nm 내지 약 80 nm 범위의 평균 직경을 가질 수 있다.
- [0743] [221] 본원에 기술된 핵산은, 적어도 하나의 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질 및/또는 적어도 하나의 양이온성 중합체로부터 콜로이드를 얻는 단계 및 상기 콜로이드를 핵산과 혼합하여 지질 입자(예를 들어, RNA/LNP)를 얻는 단계를 수반할 수 있는, 광범위한 방법(예를 들어, 필름 수화 방법, 역상 증발, 에탄올 주입 기술)을 사용하여 지질(예를 들어, RNA/LNP) 내로 패키징될 수 있다.
- [0744] [222] 일부 구현예에서, RNA는 에탄올 주입 기술을 사용하여 지질 입자(예를 들어, LNP) 내로 패키징되며, 여기서 지질을 포함하는 에탄올 용액은 니들을 통해 수용액 내로 빠르게 주입된다. 따라서, 일부 구현예에서, 핵산 함유 지질 입자(예를 들어, RNA/LNP)는 다음과 같이 제조된다: 양이온성 지질 및 추가적인 지질과 같은 지질을 포함하는 에탄올 용액(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 지질 조성물)을, 교반 배합된 용액의 진탕 하에서, 핵산(예를 들어, RNA)을 포함하는 수용액 내로 주입함. 이 방법으로부터 생성된 지질 입자 내의 제조된 핵산은,

추가로 프로세싱, 예를 들어 농축되고, 하나 이상의 상이한 완충액 시스템 등으로 전달될 수 있다.

- [0745] [223] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 RNA는, 본원에 기재된 LNP 형성 방법에 따라 상기 RNA를 입자 형성 지질(예를 들어, 본원에 기재된 것)과 혼합함으로써 지질 입자(예를 들어, LNP) 내로 패키징된다. 일부 구현예에서, LNP를 함유하는 RNA(RNA/LNP)는 저장 및/또는 사용을 위해 제2 완충액 시스템 내로 교환되기 전에 제1 완충액 시스템에서 제조된다.
- [0746] [224] 일부 구현예에서, 제1 완충액 시스템은 수성 완충액, 예를 들어 PBS 완충액, Tris 완충액, HEPES 완충액, His 완충액 등을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 완충액 시스템은 PBS 완충액을 포함한다. 본 발명의 일부 구현예에서, 제1 완충액 시스템은 약 5 mg/ml 내지 약 7 mg/ml, 약 6 mg/ml 내지 약 7 mg/ml, 또는 약 5 mg/ml 내지 약 6 mg/ml의 염화나트륨을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 완충액 시스템은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 완충액 시스템에는 염화나트륨이 실질적으로 없다. 당업자는, 문맥상 실질적으로 없다는 것이 염화나트륨이 첨가되지 않았음을 의미하며, 이러한 제형에서 다른 성분들로 인해 나트륨 및/또는 염화 이온이 여전히 존재할 수 있음을 이해할 것이다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 발명의 PBS 완충액은 실질적으로 염화나트륨 무함유이고, 0.15 g/L KCl, 1.08 g/L Na₂HPO₄, 및 0.15 g/L KH₂PO₄를 포함하는 PBS 완충액이다. 일부 구현예에서, 본 발명의 PBS는 6 g/L NaCl, 0.15 g/L KCl, 1.08 g/L Na₂HPO₄, 및 0.15 g/L KH₂PO₄를 포함한다.
- [0747] [225] 일부 구현예에서, 제1 완충액 시스템은 보호제, 예를 들어 수크로스, 트레할로스 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서 제1 완충액 시스템 내 보호제는 수크로스 및/또는 트레할로스이다. 일부 구현예에서, 수크로스는 약 10% w/v의 농도로 존재한다. 일부 구현예에서, 수크로스는 약 5%의 농도로 존재한다. 일부 구현예에서, 트레할로스는 약 10% w/v의 농도로 존재한다. 일부 구현예에서, 트레할로스는 약 5%의 농도로 존재한다.
- [0748] [226] 일부 구현예에서, 본 발명의 제2 완충액 시스템은 수성 완충액, 예를 들어 PBS 완충액, Tris 완충액, HEPES 완충액, His 완충액 등을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 완충액 시스템은 PBS를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 PBS는 6 g/L NaCl, 0.15 g/L KCl, 1.08 g/L Na₂HPO₄, 및 0.15 g/L KH₂PO₄를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 PBS는 실질적으로 염화나트륨(본원에 정의된 바와 같음) 무함유이고, 0.15 g/L KCl, 1.08 g/L Na₂HPO₄, 및 0.15 g/L KH₂PO₄를 포함 하는 PBS 완충액이다. 일부 구현예에서, 제2 완충액 시스템은 Tris 완충액을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 완충액 시스템은 약 10 mM 농도의 Tris 완충액을 포함한다. 일부 구현예에서, Tris 완충액에는 염화나트륨이 실질적으로 없다. 일부 구현예에서, Tris 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 완충액 시스템은 His 완충액을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 완충액 시스템은 약 10 mM 농도의 His 완충액을 포함한다. 일부 구현예에서, His 완충액에는 실질적으로 염화나트륨이 없다. 일부 구현예에서, His 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 완충액 시스템은 HEPES 완충액을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 완충액 시스템은 약 10 mM 농도의 HEPES 완충액을 포함한다. 일부 구현예에서, HEPES 완충액에는 실질적으로 염화나트륨이 없다. 일부 구현예에서, HEPES 완충액은 약 6 mg/ml 염화나트륨을 포함한다.
- [0749] [227] 일부 구현예에서, RNA-LNP는 약 0.4 mg/ml 내지 약 0.6 mg/ml, 약 0.4 mg/ml 내지 약 0.5 mg/ml, 또는 약 0.5 mg/ml 내지 약 0.6 mg/ml의 mRNA를 포함한다. 일부 구현예에서, RNA-LNP는 약 0.5 mg/ml의 mRNA를 포함한다.
- [0750] **제형**
- [0751] [228] 본 발명은 무엇보다도 RNA 치료제의 제형, 특히 핵산(예를 들어, mRNA) 페이로드를 포함하는 LNP 제형에 관한 기술을 제공한다. 이러한 RNA/LNP 제형은 특정 성분(예: 보호제 및/또는 완충액 성분)을 포함하고, 및/또는 참조 제형의 그것과는 다르고 그 참조 제형에 비해 하나 이상의 특성을 변형(예: 개선)하는 특정 공정에 따라 제조된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 제공되는 제형은, 동일한 지질 및 핵산을 포함하지만 보호제 및/또는 완충액에 있어서 및/또는 특정 생산 또는 프로세싱 단계에 있어서 상이한 참조 제형에 비해 개선(들)을 나타낸다.
- [0752] [229] 일부 구현예에서, 본 발명은 건조에 적합한 및/또는 건조되는 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 동결건조에 의해 건조된다.
- [0753] [230] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 조성물은 실질적으로 물을 함유하지 않거나, 실질적으로 물이 없을 때까지

지 건조된다. 일부 구현예에서, 조성물은 0.8% 미만, 0.7% 미만, 0.6% 미만, 0.5% 미만, 0.4% 미만 또는 0.3% w/w 미만의 물을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명에 기재된 바와 같은 조성물은 일정 기간 동안, 예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6주 또는 그 이상, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 또는 그 이상 동안, 및 특정 저온 문턱값 이상, 예컨대 약 -80℃, -70℃, -50℃, -30℃, -20℃, 0℃, 2℃, 4℃, 8℃, 15℃, 20℃, 30℃, 40℃ 또는 그보다 높은 온도 이상에서, 0.8% 미만, 0.7% 미만, 0.6% 미만, 0.5% 미만, 0.4% 미만, 또는 0.3% w/w 미만의 물을 유지한다.

[0754] [231] 본 발명의 일부 구현예에서, 조성물은 건조(예를 들어, 동결건조) 동안 어닐링된다. 일부 구현예에서, 조성물은 건조중에 어닐링되지 않는다.

[0755] [232] 일부 구현예에서, 저온 문턱값 이상의 온도에서 적어도 특정 기간 동안 저장에 대해 안정한 조성물이 제공된다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 조성물은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12주 또는 그 이상의 기간 동안, 예컨대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 또는 그 이상 동안 저장에 대해 안정하다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 조성물은 적어도 약 12주 동안 저장에 대해 안정하다. 일부 구현예에서, 조성물은 약 -80℃, -70℃, -50℃, -30℃, -20℃, 0℃, 2℃, 4℃, 8℃, 15℃, 20℃, 30℃, 40℃ 또는 그 이상일 수 있는 저온 문턱값 이상에서 저장에 대해 안정하다. 일부 구현예에서, 조성물은 약 0℃, 2℃, 5℃, 8℃, 25℃, 40℃ 또는 그 이상의 온도에서 저장에 대해 안정하다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 조성물은 약 2℃ 내지 약 40℃, 2℃ 내지 약 30℃, 약 2℃ 내지 약 20℃, 약 2℃ 내지 약 10℃, 약 8℃ 내지 약 40℃, 약 20℃ 내지 약 40℃, 또는 약 30℃ 내지 약 40℃의 온도 범위에서, 적어도 약 12주의 기간 동안 저장에 대해 안정하다.

[0756] [233] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 조성물은, 지질 나노입자(LNP)를 포함하는 콜로이드 함량의 유지에 기초하여 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 제공되는 조성물은 하나 이상의 LNP 특징(예를 들어, 그의 Z-평균 및/또는 다분산 지수(PDI)를 포함하지만 이에 제한되지 않음)의 유지에 기초하여 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에서 기술되는 제공되는 조성물은, 핵산 완전성의 유지, 핵산 캡슐화 정도(예를 들어, 퍼센트) 및/또는 핵산 발현성(예를 들어, 인코딩되는 폴리펩티드의 발현 수준, 예를 들어 관련 참조 수준의 백분율로 표현될 수 있음)의 유지에 기초하여 안정한 것으로 가중된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 제공되는 조성물은, 그러한 조성물 내의 지질 나노입자가 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 Z-평균에 있어서 약 20 nm 미만의 변화(예를 들어, Z-평균에 있어서 19 nm, 18 nm, 17 nm, 16 nm, 15 nm, 14 nm, 13 nm, 12 nm, 11 nm 또는 그 미만의 변화를 포함함)를 나타내면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 제공되는 조성물은, 그러한 조성물 내의 지질 나노입자가 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 Z-평균에 있어서 약 10 nm 미만의 변화(예를 들어, Z-평균에 있어서 9 nm, 8 nm, 7 nm, 6 nm, 5 nm, 4 nm, 3 nm, 2 nm, 1 nm, 0.5 nm 또는 그 미만의 변화를 포함함)를 나타내면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 제공되는 조성물은 이러한 조성물 내의 지질 나노입자가 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 다분산 지수(PDI)에 있어서 0.1 미만의 변화(예를 들어, PDI에 있어서 0.09, 0.08, 0.07, 0.06, 0.05, 0.04, 0.03 또는 그 미만의 변화를 포함함)를 나타내면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에서 기술되는 제공되는 조성물은 그러한 조성물 내에서 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 적어도 50%(예를 들어, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 그 이상을 포함함)의 핵산 캡슐화가 유지되면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에서 기술되는 제공되는 조성물은 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 적어도 50%(예를 들어, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 그 이상을 포함함)의 인코딩되는 폴리펩티드의 발현 수준이 유지되면 안정한 것으로 간주된다.

[0757] [234] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 조성물(예를 들어, LNP 조성물)은 제1 완충액 시스템에서 제조된 다음, 본원에 기재된 바와 같은 제2 완충액 시스템 내로 교환된다.

[0758] [235] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 LNP 조성물은 하나 이상의 입자 형성 지질을 포함한다. 일부 구현예에서, 입자 형성 지질은 다음을 포함한다: ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(핵산-6,1-디일)비스(2-핵실테카노에이트) (ALC-0315), 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라테실아세트아미드(ALC-0159), 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC) 및 콜레스테롤.

[0759] [236] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 각각 약 8:1:1.5:3 내지 약 9:1:2:3.5 범위의 상대 질량비로 존재하는, ALC-0315, ALC-0159, DSPC 및 콜레스테롤을 포함한다.

- [0760] [237] 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 LNP 조성물은 각각 7.17 mg/ml, 0.89 mg/ml, 1.56 mg/ml 및 3.1 mg/ml 농도로 ALC-0315, ALC-0159, DSPC 및 콜레스테롤을 포함한다.
- [0761] [238] 본 발명의 특정 구현예는 하나 이상의 보호제를 이용한다. 일부 구현예에서, 보호제는 수크로스, 트레할로스, 또는 이들의 조합이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 수크로스는 본 발명의 조성물 또는 방법에서 약 10% w/v의 농도로 존재한다. 일부 구현예에서, 트레할로스는 본 발명의 조성물 또는 방법에서 약 10% w/v의 농도로 존재한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 조성물 또는 방법에서 수크로스는 약 5% w/v의 농도로 존재하고 트레할로스는 약 5% w/v의 농도로 존재한다.
- [0762] [239] 특정 구현예에서, 동결보호제는, 동결 단계 또는 건조 단계 전에 조성물에 첨가되고 원하는 농도(예를 들어, 본 발명에 기재된 농도)가 된다.
- [0763] [240] 일부 구현예에서, 보호제는, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같이 LNP가 제조되는 제1 완충액 시스템에 첨가된다. 일부 구현예에서, 보호제는 제1 완충액 시스템과 제2 완충액 시스템 모두에 첨가된다. 보호제가 제1 완충액 시스템과 제2 완충액 시스템 모두에 추가되는 구현예에서, 각각의 완충액 시스템에 대해 상이한 보호제가 사용될 수 있거나, 동일한 보호제가 사용될 수 있다. 보호제가 제1 완충액 시스템과 제2 완충액 시스템 모두에 추가되는 구현예에서, 상이한 농도의 보호제가 사용될 수 있거나 동일한 농도가 사용될 수 있다.
- [0764] [241] 본 발명의 특정 구현예는 하나 이상의 완충액 시스템을 이용한다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 완충액 시스템이 이용된다.
- [0765] [242] 일부 구현예에서, 제공되는 조성물의 제조 및/또는 사용은, 예를 들어 완충액 시스템을 첨가함으로써 희석 단계를 포함할 수 있으며, 이는 일부 구현예에서 예를 들어, 희석되는 LNP 조성물에 포함된 완충액 시스템과 같은 이전에-사용된 완충액 시스템과 동일할 수 있고 다른 구현예에서는 이전에-사용된 완충액 시스템과 상이할 수 있다.
- [0766] [243] 일부 구현예에서, 이용되는 완충액(예를 들어, 본 발명에 기술된 완충액 시스템에서 이용되는 완충액)에는 염화나트륨이 실질적으로 없다. 당업자는, 문맥상 실질적으로 없다는 것이 어떠한 염화나트륨 염도 첨가되지 않았음을 의미하며, 일부 구현예에서 이러한 조성물 또는 제형에서 다른 성분들로 인해 나트륨 및/또는 염화 이온이 여전히 존재할 수 있음을 이해할 것이다.
- [0767] [244] 일부 구현예에서, 제공되는 조성물은 LNP(즉, 핵산/LNP), 보호제 및 완충액을 포함한다. 일부 구현예에서, 완충액은 나트륨 이온을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서 완충액은 염을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 완충액은 본원에 기재된 바와 같은 HEPES 완충액, Tris 완충액 또는 His 완충액이다. 일부 구현예에서, 완충액은 NaCl 없이 제조된 포스페이트 완충된 식염수 변종이다. 일부 구현예에서, 완충액은 NaCl, KCl, Na₂HPO₄, 및 KH₂PO₄를 포함하는, 참조 PBS에 비해 감소된 수준의 나트륨 이온을 갖는 PBS 변종이고; 일부 구현예에서, 이러한 참조 PBS는, 137 mM NaCl(즉, 8 g/L NaCl), 2.7 mM KCl(즉, 0.2 g/L KCl), 10 mM Na₂HPO₄(즉, 1.44 g/L Na₂HPO₄) 및 1.8 mM KH₂PO₄(즉, 0.24 g/L KH₂PO₄)를 포함하는(또는 이들로 이루어진) "표준" PBS이다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 완충액은 이러한 참조 표준 PBS에서 발견되는 것보다 더 낮은 수준의 나트륨 이온을 갖는 PBS 변종이다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 완충액은 약 10 mM의 Tris 완충액이다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 완충액은 약 10 mM의 His 완충액이다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 완충액은 약 10 mM의 HEPES 완충액이다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 이용되는 완충액은 6 mg/ml 염화나트륨으로 보충된다.
- [0768] [245] 일부 구현예에서, 본 발명의 조성물은 완충액으로 희석하여 투여형으로 제조된다.
- [0769] **용도**
- [0770] [246] 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명에 의해 제공되는 기술은, 하나 이상의 핵산/LNP(예를 들어, RNA/LNP) 조성물의 제조 및/또는 투여에 관한 것이고 및/또는 그에 유용한 것이다.
- [0771] [247] 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 기술은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12주 또는 그 이상, 예컨대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 또는 그 이상의 기간 동안 저장에 안정한 LNP 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 기술은 적어도 약 12주 동안 저장에 대해 안정한 LNP 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 조성물은 적어도 약 12주 동안 저장에 대해 안정하다. 일부 구현예에서, 제공되는 조성물은 약 -80℃, -70℃, -50℃, -30℃, -20℃, 0℃, 2℃, 4℃, 8℃, 15℃, 20℃, 30℃,

40℃ 또는 그 이상일 수 있는 저온 문턱값 이상에서 저장에 대해 안정하다. 일부 구현예에서, 제공되는 조성물은 약 0℃, 2℃, 5℃, 8℃, 25℃, 40℃ 또는 그 이상의 온도에서 저장에 대해 안정하다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 LNP 조성물은 약 2℃ 내지 약 40℃, 2℃ 내지 약 30℃, 약 2℃ 내지 약 20℃, 약 2℃ 내지 약 10℃, 약 8℃ 내지 약 40℃, 약 20℃ 내지 약 40℃, 또는 약 30℃ 내지 약 40℃의 온도 범위에서, 적어도 약 12주의 기간 동안 저장에 대해 안정하다.

[0772] [248] 본원에서 기술되는 제공되는 조성물은, 지질 나노입자(LNP)를 포함하는 콜로이드 함량의 유지에 기초하여 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 제공되는 조성물은 하나 이상의 LNP 특징(예를 들어, 그의 Z-평균 및/또는 다분산 지수(PDI)를 포함하지만 이에 제한되지 않음)의 유지에 기초하여 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에서 기술되는 제공되는 조성물은, 핵산 완전성의 유지, 핵산 캡슐화 정도(예를 들어, 퍼센트) 및/또는 핵산 발현성(예를 들어, 인코딩되는 폴리펩티드의 발현 수준, 예를 들어 관련 참조 수준의 백분율로 표현될 수 있음)의 유지에 기초하여 안정한 것으로 가중된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 제공되는 조성물은, 그러한 조성물 내의 지질 나노입자가 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 Z-평균에 있어서 약 20 nm 미만의 변화(예를 들어, Z-평균에 있어서 19 nm, 18 nm, 17 nm, 16 nm, 15 nm, 14 nm, 13 nm, 12 nm, 11 nm 또는 그 미만의 변화를 포함함)를 나타내면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 제공되는 조성물은, 그러한 조성물 내의 지질 나노입자가 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 Z-평균에 있어서 약 10 nm 미만의 변화(예를 들어, Z-평균에 있어서 9 nm, 8 nm, 7 nm, 6 nm, 5 nm, 4 nm, 3 nm, 2 nm, 1 nm, 0.5 nm 또는 그 미만의 변화를 포함함)를 나타내면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 제공되는 조성물은 이러한 조성물 내의 지질 나노입자가 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 다분산 지수(PDI)에 있어서 0.1 미만의 변화(예를 들어, PDI에 있어서 0.09, 0.08, 0.07, 0.06, 0.05, 0.04, 0.03 또는 그 미만의 변화를 포함함)를 나타내면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에서 기술되는 제공되는 조성물은 그러한 조성물 내에서 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 적어도 50%(예를 들어, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 그 이상을 포함함)의 핵산 캡슐화가 유지되면 안정한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 본원에서 기술되는 제공되는 조성물은 관련 참조 수준과 비교하여 지정된 조건 세트 하에서 일정 기간 동안 적어도 50%(예를 들어, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 그 이상을 포함함)의 인코딩되는 폴리펩티드의 발현 수준이 유지되면 안정한 것으로 간주된다.

[0773] [249] 일부 구현예에서, 본 발명에서 제공되는 기술은, 바이러스 항원, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스와 관련된 항원이거나 이를 포함할 수 있는 항원을 이용한다: 아데노바이러스, 사이토메갈로바이러스, 헤르페스 바이러스, 인간 유두종 바이러스, 홍역 바이러스, 풍진 바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 인플루엔자 바이러스 및 볼거리 바이러스. 일부 구현예에서, 항원은 볼티모어 분류 시스템에 기초한 Class I, Class II, Class III, Class IV, Class V, Class VI, 또는 Class VII 바이러스로부터 선택된 바이러스와 관련된 바이러스 항원이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 기술되는 기술은 다음 바이러스 패밀리로부터 선택되는 바이러스로부터 대상체에서의 면역성을 제공한다: Adenoviridae, Papovaviridae, Parvoviridae, Herpesviridae, Poxviridae, Anelloviridae, Pleolipoviridae, Reoviridae, Picornaviridae, Caliciviridae, Togaviridae, Arenaviridae, Flaviviridae, Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae, Bunyaviridae, Rhabdoviridae, Filoviridae, Coronaviridae, Astroviridae, Bornaviridae, Arteriviridae, 및 Hepeviridae. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 기술은 바이러스 감염에 대한 대상체에서의 면역성을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 기술은 대상체에서의, 코로나바이러스, 코로나바이러스 감염, 또는 코로나바이러스와 관련된 질병 또는 장애에 대한 면역성을 제공한다. 따라서 본 발명은 코로나바이러스와 관련된 감염, 질병 또는 장애를 치료하거나 예방하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

[0774] [250] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 기술은 코로나바이러스와 관련된 감염, 질병 또는 장애가 있는 대상체에게 투여되는 LNP 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 기술은 코로나바이러스와 관련된 감염, 질병 또는 장애가 발병할 위험이 있는 대상체에게 투여되는 LNP 조성물을 제공한다. 예를 들어, 본원에 기술된 기술은 코로나바이러스와 접촉할 위험이 있는 대상체에게 투여될 수 있는 LNP 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 기술은 코로나바이러스가 유행하는 지리적 영역에 거주하거나, 여행했거나, 여행할 것으로 예상되는 대상체에게 투여되는 LNP 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 기술은 코로나바이러스가 유행하는 지리적 영역에 거주하거나, 여행했거나, 여행할 것으로 예상되는 다른 사람과 접촉했거나 접촉할 것으로 예상되는 대상체에게 투여되는 LNP 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 기술은 그들의 직업 또는 기타 접촉을 통해 코로나바이러스에 알면서 노출된 대상체에게 투여되는 LNP 조성물을 제공한다. 일

부 구현예에서, 코로나바이러스는 SARS-CoV-2이다.

- [0775] [251] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 기술은 예방적으로(즉, 질병 또는 장애를 예방하기 위해) 또는 치료적으로(즉, 질병 또는 장애를 치료하기 위해), 질병 또는 장애의 발병으로 고통받거나, 그의 위험에 있는(또는 질병 또는 장애에 걸릴법한) 대상체에게 투여될 수 있는 조성물을 제공한다. 이러한 대상체는 표준 임상 방법을 사용하여 식별할 수 있다. 본 발명과 관련하여, 예방적 투여는, 질병 또는 장애가 예방되거나(예를 들어, 질병의 사망 또는 이환율의 부담을 감소시킴) 또는 대안으로 그의 진행이 지연되도록, 질병의 명백한 임상 증상의 징후 전에 이루어진다.
- [0776] **투여**
- [0777] [252] 페이로드(예: mRNA)를 필요로 하는 대상체의 세포에 이러한 페이로드를 전달하기 위한 조성물(예: 약학적 조성물) 및 방법이 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 제공되는 조성물은 바이러스 감염에 대한 예방 목적 및/또는 바이러스 감염을 치료하기 위한 치료 목적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 본 발명의 기술은 코로나바이러스, 예를 들어 SARS-CoV-2의 치료를 위한 치료제 또는 예방제로서 사용될 수 있는 조성물을 제공한다.
- [0778] [253] 본 발명의 약학적 조성물은, 예를 들어, 진단되지 않았고 및/또는 특정 질환, 장애 또는 병태의 하나 이상의 특정 증상 또는 특징을 나타내지 않은 대상체에서의 예방적 목적으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 약학적 조성물은 면역 예방에 효과적인 양으로 대상체의 세포 또는 조직에 투여된다. 본원에서 제공되는 약학적 조성물은 다른 치료적 또는 예방적 화합물과 함께 투여될 수 있다.
- [0779] [254] 일부 구현예에서, 약학적 조성물은, 예를 들어, 진단되었고 및/또는 특정 질환, 장애 또는 병태의 하나 이상의 특정 증상 또는 특징을 나타낸 대상체에서 치료학적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 약학적 조성물은 치료적으로 효과적인 양으로 대상체의 세포 또는 조직에 투여된다. 본원에서 제공되는 이러한 약학적 조성물은 다른 치료적 또는 예방적 화합물과 함께 투여될 수 있다.
- [0780] [255] 예방 및/또는 치료 목적에 필요한, 제공된 약학적 조성물(예를 들어, RNA/LNP 조성물)의 정확한 양은 다른 고려 사항 중에서 대상체의 종, 연령 및 일반적인 상태, 질병의 중증도, 투여 방식 및 활성의 방식에 따라 다를 것이다. 그러나 제공된 조성물의 사용은 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 주치의에 의해 결정될 수 있음을 이해할 것이다. 따라서, 특정 환자에 대한 구체적인 치료적 및/또는 예방적으로 유효한 용량은 다양한 인자들, 예컨대 치료될 장애 및 장애의 중증도, 사용되는 특정 조성물의 활성 또는 효능, 연령, 체중, 환자의 일반적인 건강, 성별, 식이요법, 투여 시간, 투여 경로, 사용된 특정 화합물의 배설 속도, 치료 기간; 사용되는 특정 화합물과 조합하여 또는 동시에 사용되는 약물, 및 의학 분야에서 잘 알려진 유사한 인자들에 의존할 것이다.
- [0781] [256] 일부 구현예에서, 제공되는 약학적 조성물은 다른 요법을 받았거나, 받고 있거나, 받을 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 예를 들어 동시에, 또는 교대 요법으로 투여되는 다른 요법은, 제공된 요법에 의해 치료되는 질병, 장애 또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 특징을 다룬다. 대안적으로 또는 추가로, 일부 구현예에서, 다른 요법은 다른 질병의 하나 이상의 증상 또는 특징을 다룬다. 하나의 예를 들자면, 다양한 구현예에서, 복수의 예방 요법(예를 들어, 예방 백신)을 실질적으로 동시에 투여하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0782] [257] 본원에 기술된 약학적 조성물은 하나 이상의 보조제(adjuvant)를 포함할 수 있거나 하나 이상의 보조제와 조합하여 투여될 수 있다(즉, 보조제를 받았거나, 받을 것이거나, 또는 받고 있는 대상체에게 투여될 수 있음). 본 발명에서 이용되는 보조제는 면역 반응을 연장, 강화 또는 가속화하는 임의의 화합물에 관한 것일 수 있다. 보조제는 오일 에멀전(예: 프로인트 보조제), 광물 화합물(예: 명반), 박테리아 생성물(예: 보르데텔라 퍼투시스(*Bordetella pertussis*) 독소) 또는 면역-자극 복합체와 같은 이종 그룹의 화합물들을 포함한다. 보조제의 예는 제한 없이 LPS, GP96, CpG 올리고데옥시뉴클레오타이드, 성장 인자, 및 사이토카인, 예컨대 모노카인, 림포카인, 인터류킨, 케모카인을 포함한다. 본 발명에 따라 이용되는 사이토카인은 IL1, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL9, IL10, IL12, IFN α , IFN γ , GM-CSF, LT- α 또는 이들의 조합일 수 있다. 본 발명에 따라 사용될 수 있는 추가적인 공지의 보조제는 수산화알루미늄, 프로인트 보조제 또는 Montanide® ISA51과 같은 오일이다. 본 발명에 사용하기 위한 다른 적합한 보조제는 Pam3Cys와 같은 리포펩티드를 포함한다.
- [0783] [258] 본원에 기재된 약학적 조성물은 예를 들어 약 0.50 mg/mL의 농도로 주사용 용액을 위한 동결 농축액으로서 제공될 수 있다. 일부 구현예에서, 주사용 용액의 제조를 위해, 약물 제품은 등장성 염화나트륨 용액(예를 들어, 0.9% NaCl, 식염수)으로, 예를 들어 1단계 희석 공정에 의해, 해동 및 희석 및/또는 재수화 및 희석된다. 주사용 최종 용액의 농도는 투여할 각 용량 수준에 따라 다르다.

- [0784] [259] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 RNA의 양은 0.1 μ g 내지 300 μ g, 0.5 μ g 내지 200 μ g, 또는 1 μ g 내지 100 μ g, 예컨대 약 1 μ g, 약 3 μ g, 약 10 μ g, 약 30 μ g, 약 50 μ g, 또는 약 100 μ g이 용량당 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 개시된 조성물은 단일 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술되는 조성물은 프라이밍 용량으로 투여된 후 하나 이상의 부스터 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 부스터 용량 또는 제1 부스터 용량은 프라이밍 용량의 투여 후 7일 내지 28일 또는 14일 내지 24일에 투여될 수 있다.
- [0785] [260] 일부 구현예에서, 60 μ g 또는 그 아래, 50 μ g 또는 그 아래, 40 μ g 또는 그 아래, 30 μ g 또는 그 아래, 20 μ g 또는 그 아래, 10 μ g 또는 그 아래, 5 μ g 또는 그 아래, 2.5 μ g 또는 1 μ g 또는 그 아래의 본원에 기술된 RNA 양이 용량당 투여될 수 있다.
- [0786] [261] 일부 구현예에서, 적어도 0.25 μ g, 적어도 0.5 μ g, 적어도 1 μ g, 적어도 2 μ g, 적어도 3 μ g, 적어도 4 μ g, 적어도 5 μ g, 적어도 10 μ g, 적어도 20 μ g, 적어도 30 μ g 또는 적어도 40 μ g의 본원에 기술된 RNA의 양이 용량당 투여될 수 있다.
- [0787] [262] 일부 구현예에서, 0.25 μ g 내지 60 μ g, 0.5 μ g 내지 55 μ g, 1 μ g 내지 50 μ g, 5 μ g 내지 40 μ g, 또는 10 μ g 내지 30 μ g의 본원에 기술된 RNA의 양이 용량당 투여될 수 있다.
- [0788] [263] 일부 구현예에서, 약 30 μ g의 본원에 기술된 RNA의 양이 용량당 투여된다. 일부 구현예에서, 이러한 용량 중 적어도 2회량이 투여된다. 예를 들어, 제2 용량은 제1 용량 투여 후 약 21일에 투여될 수 있다.
- [0789] [264] 일부 구현예에서, 상기 기술된 바와 같은 투여되는 RNA는 본원에서 BNT162b2(RBP020.1 또는 RBP020.2)로 기술되는 뉴클레오타이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이다. 일부 구현예에서, 상기 기재된 바와 같은 투여되는 RNA는 본원에서 RBP020.2로 기술되는 뉴클레오타이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이다.
- [0790] [265] 일부 구현예에서, 본 발명의 면역원성 조성물 또는 백신의 투여는 단일 투여에 의해 수행되거나 다중 투여에 의해 부스팅될 수 있다.

[0791] **서열 목록**

- [266] SEQ ID NO: 1
- [0792] 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
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
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

```

[0793]

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
 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
 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
 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

[0794]

```

      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
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
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

```

[0795]

```

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
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
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

```

[0796]

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
 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 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 V
 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
 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

[0797]

```

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
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
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

```

[267] SEQ ID NO: 2

[0798]

auguuugugu uucuuugugu gcugccucu guguucuuc agugugugaa uuugacaaca	60
agaacacagc ugccaccagc uuauacaaau ucuuuuacca gaggagugua uuauccugau	120
aaaguguuua gaudiucugu gcugcacagc acacaggacc uguuucugcc auuuuuuagc	180
aaugugacau gguuucaugc aaaucaugug ucuggaacia auggaacaaa aagauuugau	240
aauccugugc ugccuuuuua ugauggagug uauuuugcuu caacagaaaa gucaaaauau	300
auuagaggau ggauuuuugg aacaacacug gaudiuaaaa cacagucucu gcgauuugug	360
aaauaugcaa caaauugguu gauuaaagug uguuauuuc aguuuuguaa ugauccuuuu	420
cugggagugu auuauacaaa aaauaauaaa ucugggaugg aaucugaauu uagaguguan	480
uccucugcaa auauuuguc auuugaauau gugucucagc cuuuucugau ggauccuggaa	540
ggaaaacagg gcauuuuuaa aaucugaga gaauuugugu uuaaaaaau ugauggauau	600
uuuaaaauu auucuaaaca cacaccaau aaauuaguga gagaucugcc ucagggauuu	660
ucugcucugy aaccucuggu ggauccucca auuggcauaa auauuacaag auuucagaca	720
cugcuggcuc ugccacagauc uauucugaca ccuggagauu cuucucugy auggacagcc	780
ggagcugcag cuuauuauug gggcuauucg cagccaagaa cauucucgu gaaauauau	840
gaaaauaggaa caauuacaga ugcuugugau uguucucugy auccucuguc ugaacaaaa	900
uguacauuaa aaucuuuuac aguggaaaaa ggcauuuauc agacauuaa uuuuagagug	960
cagccaacag aaucuaauu gagauuuucca aaauuacaa aucugugucc auuuggagaa	1020
guguuuauug caacaagauu ugcaucugug uaugcaugga auagaaaaa auuucuaau	1080
ugugugcug auuauucugu gcuguaauu agugcuucu uuuccacau uaaauguuau	1140
ggagugucuc caacaaaau aaugauuuu uguuuuacaa auguguaugc ugaucuuuu	1200
gugaucagag gugaugaagu gagacagauu gccccggac agacaggaaa auuugcugau	1260
uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca ggauugugua uugcuuggaa uucuaauau	1320
uuagaauuaa aagugggagg aaauuacaa uaucuguaca gacuguuuag aaaaucuuu	1380
cugaaaccuu uugaaagaga uauuacaaa gaaauuauc aggcuggauc aacaccuugu	1440
aauggagugg aaggauuuua uuguuuuuu ccuuuacaga gcuauggauu ucagccaacc	1500
aauggugugg gauaucagcc auauagagug guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca	1560
ccugcaacag uguguggacc uaaaaaaucu acaauuuuag ugaauuuua augugugaau	1620

[0799]

uuuaauuuua	auggaauaac	aggaacagga	gugcugacag	aaucuaauaa	aaaauuucug	1680
ccuuuucagc	aguuuugcag	agauauugca	gauaccacag	augcagugag	agauccucag	1740
acauuagaaa	uucuggauau	uacaccuugu	ucuuuugggg	gugugucugu	gauuacaccu	1800
ggaacaaaua	caucuaauca	gguggcugug	cuguaucagg	augugaauug	uacagaagug	1860
ccaguggcaa	uucaugcaga	ucagcugaca	ccaacaugga	gaguguaauu	uacaggauuc	1920
aauguguuuc	agacaagagc	aggauugucg	auuggagcag	aacaugugaa	uaauucuuau	1980
gaugugaua	uuccaaauug	agcaggcguu	ugugcaucuu	aucagacaca	gacaaauucc	2040
ccaaggagag	caagaucugu	ggcaucucag	ucuaauauug	cauacaccau	gucucuggga	2100
gcagaaaaau	cuguggcaua	uucuaauaaa	ucuaauugua	uuccaacaaa	uuuuaccuuu	2160
ucugugacaa	cagaaauuuu	accugugucu	augacaaaaa	caucugugga	uuguaccaug	2220
uacauuugug	gagauucuc	agaauguucu	aaucugcugc	ugcaguauug	aucuuuuugu	2280
acacagcuga	auagagcuuu	aacaggaaau	gcuguggaac	aggauaaaaa	uacacaggaa	2340
guguuugcuc	aggugaaaac	gauuuacaaa	acaccaccaa	uuaaagauuu	uggaggaauu	2400
aaauuuagcc	agauucugcc	ugaucuuucu	aaaccuucua	aaagauuuuu	uauugaagau	2460
cugcuguuua	auaaagugac	acuggcagau	gcaggauuuu	uuaaacagua	uggagauugc	2520
cugggugaua	uugcugcaag	agauucuguu	ugugcucaga	aauuuaaugg	acugacagug	2580
cugccuccuc	ugcugacaga	ugaaaugauu	gcucaguaca	caucugcuuu	acuggcugga	2640
acaaauacaa	gcggauggac	auuuggagcu	ggagcugcuc	ugcagauucc	uuuugcaaug	2700
cagauggcuu	acagauuuua	uggaaauugga	gugacacaga	auguguuaua	ugaaaaucag	2760
aaacugauug	caaaucaguu	uaauucugca	auuggcaaaa	uucaggauuc	ucugucuucu	2820
acagcuucug	cucugggaaa	acugcaggau	guggugaauu	agaugcaca	ggcacugaau	2880
acucugguga	aacagcuguc	uagcauuuuu	ggggcauuu	cuucugugcu	gaugauauu	2940
cugucuagac	uggauaaaau	ggaagcugaa	gugcagauug	auagacugau	cacaggaaaga	3000
cugcagucuc	ugcagacuua	ugugacacag	cagcugauua	gagcugcuga	aaauagagcu	3060
ucugcuauuc	uggcugcuac	aaaaaugucu	gaugugugc	ugggacaguc	aaaaagagug	3120
gauuuuuugug	gaaaaggaua	ucaucugaug	ucuuuuccac	agucugcucc	acauggagug	3180
guguuuuuac	augugacaua	ugugccagca	caggaaaaga	auuuuaccac	agcaccagca	3240
auuugucaug	auggaaaagc	acauuuuucca	agagaaggag	uguuuugugc	uaauggaaca	3300
cauugguuug	ugacacagag	aaauuuuuau	gaaccucaga	uuauuacaac	agauaaauaca	3360
uuugugucag	gaaauuguga	ugugguuauu	ggaauuguga	auaaucagcu	guaugaucca	3420
cugcagccag	aacugggauc	uuuuaaaagaa	gaacuggaau	aaauuuuuaa	aaauacacaca	3480
ucuccgaug	uggauuuagg	agauauuuuc	ggaaucaaug	caucuguggu	gaauauucag	3540
aaagaaaauug	auagacugaa	ugaaguggcc	aaaaaucuga	augaauucucu	gauugaucug	3600
caggaaauug	gaaaaauaga	acaguacauu	aaauggccuu	gguacauuug	gcuuggauuu	3660
auugcaggau	uaauugcaau	ugugauggug	acaaauaugu	uauguuguau	gacaucaugu	3720
uguucuuugu	uaaaaggauu	uuguucuuu	ggaagcuguu	guaaaauuga	ugaagaugau	3780
ucugaaccug	uguuaaaaag	agugaauuug	cauuacaca			3819

[0800]

[0801]

[268] SEQ ID NO: 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
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
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
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
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
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
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
545             550             555             560

```

[0804]

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
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
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

[0805]

```

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
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
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
Leu Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Pro Pro Glu Ala Glu Val Gln
980          985          990

```

[0806]

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
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
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
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

[0807]

[0808]

[269] SEQ ID NO: 8

auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc agugugugaa uuugacaaca	60
agaacacagc ugccaccagc uuauacaaa uuuuuacca gaggagugua uuauccugau	120
aaaguguuua gaucuucugu gcugcacagc acacaggacc uguuucugcc auuuuuuagc	180
aaugugacau gguuucaugc aaaucaugug ucuggaacaa auggaacaaa aagauuugau	240
aauccugugc ugccuuuuua ugaugggagug uauuuugcuu caacagaaaa gucaaaauuu	300
auuagaggau ggauuuuugg aacaacacug gauucuaaaa cacagucucu gcugauugug	360
aaauaugcaa caauuguggu gauuaaagug ugugaauuuc aguuuuuguaa ugauccuuuu	420
cuggggagugu auuauacaaa aaauaauaaa ucuuggaugg aaucugaauu uagaguguan	480
uccucugcaa auaauuguac auuugaauau gugucucagc cuuuucugau ggauccugaa	540
ggaaaacagg gcaauuuuaa aaauccagaga gaauuugugu uaaaaauau ugauggauau	600
uuuaaaauu auucuaaaca cacaccaauu auuuuaguga gagaucugcc ucagggaauu	660
ucugcucugg aaccucuggu ggauccugca auuggcauaa auauuacaag auuucagaca	720
cugcuggguc ugcacagauc uuauucagaca ccuggagauu cuucucugc auggacagcc	780
ggagcugcag cuuauuauug gggcuauucg cagccaagaa cauucugcu gaauuauau	840
gaaaauugaa caauuacaga ugcuguggau ugucucugc auccucugc ugaacaaaa	900
uguacauuaa aaucuuuuac aguggaaaaa ggcauuuauc agacaucaaa uuuuagagug	960
cagccaacag aaucuaauugu gagauuucca aaauuuacaa aucugugucc auuuggagaa	1020
guguuuaug caacaagauu ugcaucugug uaugcaugga auagaaaaa auuucuaau	1080
uguguggcug auuauucugu gcuguaaua agugcuucuu uuuccacauu uaaauuguau	1140
ggagugucuc caacaaaaa aaauagaauu uguuuuacaa augugauugc ugaauuuuu	1200
gugaucagag gugaugaagu gagacagauu gccccggac agacaggaaa auuugcugau	1260
uacaauuaca aacugccuga ugaauuuaca ggauugugua ugcuuggaa uucuaauau	1320
uuagaauuaa aagugggagg aaauuacaau uaucuguaca gacuguuuag aaaaucuuu	1380
cugaaacuuu uuagaagaga uauuucaaca gaaauuauc aggcuggauc aacaccuugu	1440
aauggagugg aaggauuuua uuguuuuuu ccuuuacaga gcauuggauu ucagccaacc	1500
aaugugugug gauauccagc auauagagug guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca	1560
ccugcaacag uguguggacc uaaaaaauu acaaaauuag ugaaaaaaa augugugaau	1620
uuuaauuuua auggaauaac aggaacagga gugcugacag aaucuaaua aaaaauucug	1680
ccuuuucagc aguuuggcag agauauugca gauaccacag augcagugag agauccucag	1740
acauuagaaa uucuggauau uacaccuugu uuuuugggg gugugucugu gauuacaccu	1800
ggaacaaaua caucuaauca gguggcugug cugauacagg augugaauug uacagaagug	1860
ccaguggcaa uucaugcaga ucagcugaca ccaacaugga gagugauuuc uacaggaucu	1920
aauguguuuc agacaagagc aggaugucug auuggagcag aacaugugaa uaaauuuau	1980
gaaugugaua uucaauuug agcaggcauu ugugcaucuu aucagacaca gaaaaaucc	2040
ccaaggagag caagaucugu ggcaucucag ucuauuuuug cauacaccau gucucuggga	2100
gcagaaaaau cuguggcuaa uucuaauaau ucuauugcua uucaacaaa uuuuaccuu	2160
ucugugacaa cagaaaauuu accugugucu augacaaaa caucugugga uuguaccaug	2220
uacauuugug gagauucuaa agaauuguu aaucugcugc ugcaguaugg aucuuuuugu	2280
acacagcuga auagagcuuu aacaggaaau gcuguggaac aggaauaaaa uacacaggaa	2340
guguuugcuc aggguaaaca gauuuacaaa accaccocaa uuaaagauuu ugagggaauu	2400
aauuuuagcc agauucugcc ugauccuucu aaaccuucua aaagaucuuu uauugaagau	2460
cugcuguuuu auaaagugac acuggcagau gcaggauuuu uuaaacagua ugagauugc	2520

cugggugaua uugcugcaag agaucugauu ugugcucaga aaauuaaugg acugacagug 2580
 cugccuccuc ugucagacaga ugaauugauu gcucaguaca caucugcuuu acuggcugga 2640
 acaauuacaa gcggauggac auuuggagcu ggagcugcuc ugacagauucc uuugcaaug 2700
 cagauggcuu acagauuuuaa uggaaauugga gugacacaga auguguuaua ugaauuacag 2760
 aaacugauug caaaucaguu uaaucucgca auugcagaaa uucaggauuc ucugucuucu 2820
 acagcuucug cucugggaaa acugcaggau guggugaauc agaaugcaca ggacacugaau 2880
 acucugguga aacagcuguc uagcaauuuu ggggcaauuu cuucugugcu gaugauauu 2940
 cugucuagac uggauccucc ugaagcugaa gugcagauug auagacugau cacaggaaga 3000
 cugcagucuc ugacagacuua ugugacacag cagcugauua gagcugcuga aaauagagcu 3060
 ucugcuauuc ugugcugcuac aaaaugucu gaauuguguc ugagacaguc aaaaagagug 3120
 gauuuuugug gaaaaggaua ucaucugaug ucuuuuccac agucugcucc acauggagug 3180
 guguuuuac augugacaua ugugccagca caggaaaaga auuuuaccac agcaccagca 3240
 auuugucaug auggaaaagc acuuuuucca agagaaggag uguuuguguc uauuggaaca 3300
 cauuggguug ugacacagag aaauuuuuau gaaccucaga uuauuacaac agauauuaca 3360
 uuugugucag gaaauuguga uguggugauu ggaauuguga auauuacagu guaugaucca 3420
 cugcagccag aacuggauc uuuaaagaa gaacuggaau aaauuuuaa aaucacaca 3480
 ucuccugaug uggaauuagg agauuuuucu ggaaucaug caucuguggu gaauuucag 3540
 aaagaaauug auagacugaa ugaaguggcc aaaaucuga augaaucucu gauugaucug 3600
 caggaaucug gaaaauuga acaguacauu aaauggccuu gguacauuug gcuuggauuu 3660
 auugcaggau uaaauugcau ugugauggug acaauuauu uauguuguau gacaucaugu 3720
 uguucuuugu uaaaaggau ugguucuuu ggaagcuguu guaaaauuga ugaagaugau 3780
 ucugaaccug uguuaaaagg agugaaaauug cauuacaca 3819

[270] SEQ ID NO: 9

auguucugug uccugugcu gcugccucug guguccagcc agugugugaa ccugaccacc 60
 agaacacagc ugccuccagc cuacaccaac agcuuuacca gaggcugua cuaccocgac 120
 aagguguuca gauccagcgu gcugcacucu acccaggacc uguuccugcc uuucucagc 180
 aacugagccu gguuccagc cauccacgug uccggcacca auggcaccaa gagauucgac 240

[0811]

aaccocgugc ugcccuucaa cgacggggug uacuuugcca gcaccgagaa guccaacau	300
aucagaggcu ggauucucgg caccacacug gacagcaaga cccagagccu gcugaucgug	360
aaacaagcca ccaacguggu caucaaagug ugcgaguucc aguuucgcaa cgaccccuuc	420
cuggggcguc acuaaccaca gaacaacaag agcuggaugg aaagcgaguu ccgggugua	480
agcagcgcca acaacugcac cuucgaguac gugucccagc cuuuccugau ggaccuggaa	540
ggcaagcagg gcaacucaa gaaccugcg gaguucgugu uuaagaacau cgacggcuac	600
uucaagauuc acagcaagca caccucuauc aaccucgugc gggaucugcc ucagggcuuc	660
ucugcucugg aaccocuggu ggaucugccc aucggcauca acauacccg guuucagaca	720
cugcuggccc ugacagaaag cuaccugaca ccuggcgaua gcagcagcg auggacagcu	780
ggugccgccc cuuacuauu gggcuaccug cagccuagaa ccuuccugcu gaaguacaac	840
gagaagcgca ccauacccga cgcgugggau ugugcucugg auccucugag cgagacaaag	900
ugcaccuga aguccuucac cguggaaaag ggcaucuaac agaccagcaa cuuccgggug	960
cagcccaccg aaucuaucgu cggguuuccc aaauacacca aucugugccc cuucggcgag	1020
guguucaaug ccaccagauu cgcucugug uacgcuugga accggaagcg gaucagcaau	1080
ugcgugggcg acuaucocgu gcuguacaac uccgccagcu ucagcaccuu caagugcuac	1140
ggcguguccc cuaccaagcu gaacgaccug ugcuucacaa acguguaagc cgacagcuuc	1200
gugaucggg gagaugaagu cggcgagauu gcccuggac agacaggcaa gaucggcgac	1260
uacaacuaca agcugcccg cgacuucacc ggcuguguga uugccuggaa cagcaacaac	1320
cuggacuucca aagucggcg caacuacaau uaccguuacc ggcuguuccg gaaguccaau	1380
cugaagcccu ucgagcggga caucuccacc gagaucauc aggcggcgag caccocuuu	1440
aacggcgugg aaggcuucaa cugcuacuuc ccacugcagu ccuacggcuu ucagcccaca	1500
aauggcgugg gcuauacgcc cuacagagug guggugcuga gcuucgaacu gcugcaugcc	1560
ccugccacag ugugcgggcc uaagaaaagc accaauucg ugaagaacaa augcgugaac	1620
uucaacuua acggccugac cggcacccgc ggcugacag agagcaacaa gaaguuccug	1680
ccauuccagc aguuugggcg ggauaucgcc gauaccacag acgcoguua agaucccccag	1740
acacuggaaa uccuggacau caccocuuuc agcuucggcg gagugucugu gaucacccu	1800
ggcaccaaca ccagcaauca gguggcagug cguuaccagg acgugaacug uacogaagug	1860

[0812]

cccggggcca uucacgcccga ucagcugaca ccuacauggc ggguguacuc caccggcagc	1920
aauguguuuc agaccagagc cggcugucug aucggagccg agcacgugaa caauagcuac	1980
gagugcgaca ucccacuggc cgcuggauc ugcggccagcu accagacaca gacaaacagc	2040
ccucggagag ccagaagcgu gcccgaccag agcaucauug ccuacacaau gucucugggc	2100
gccgagaaca gcguggccua cuccaacaac ucuauccua ucccaccaa cuuacccauc	2160
agcgugacca cagagauccu gccugugucc augaccaaga ccagcgugga cugcaaccaug	2220
uacaucugcg gcgaauccac cgaguguccc aaccugcugc ugcaguaagg cagcuucugc	2280
acccagcuga auagagcccu gacagggauc gccguggaac aggacaagaa caccacagag	2340
gugucgccc aagugaagca gaucuacaag accccuccua ucaaggacuu cggcgguuc	2400
aaauucagcc agauucugc cgauccuagc aagcccagca agcgagcgu caucgaggac	2460
cugcuguuca acaagugac acuggccgac gccggcuuca ucaagcagua uggcgauugu	2520
cugggcgaca uugccgccag ggauucgaau ugcggccaga aguuuaagg acugacagug	2580
cugccuccuc ugcugaccga ugagauauc gcccaguaca caucugcccu gcuggccggc	2640
acaauacaa cggcguggac auuuggagca ggcgcgcuc ugcagauccc cuuugcuau	2700
cagauggccu accgguuca cggcaucgga gugaccaga augugcugua cgagaaccag	2760
aagcugaucg ccaaccaguu caacagcgcc aucggcaaga uccaggacag ccugagcagc	2820
acagcaaggc ccugggaaa gcugcaggac guggucaacc agaaugccca ggcacugaac	2880
accugguca agcagcugc cuccaacuuc ggcgccauca gcucugugcu gaacgaauac	2940
cugagcagac uggaccucc ugaggccgag gugcagauc acagacugau cacaggcaga	3000
cugcagagcc uccagacaua cgugaccag cagcugauca gagccgccga gauuagagcc	3060
ucugccaauc uggccgccac caagaugucu gaguguguc ugggccagag caagagagug	3120
gacuuuugcg gcaagggcua ccaccugaug agcuuccuc agucugccc ucacggcgug	3180
guguuucug acgugacaua ugugcccgcu caagagaaga auuucaccac cgcuccagcc	3240
aucugccag cggcacaagc ccacuuccu agagaaggcg uguucguguc caacggcacc	3300
cauugguucg ugacacagc gaacuucua gagccccaga ucauaccac cgacaacacc	3360
uucgugucg gcaacugcga cguugugauc ggcuuugua acaauaccgu guacgaccu	3420
cugcagcccg agcuggacag cuucaaaag gaacuggaca aguacuuuaa gaaccacaca	3480

[0813]

agccccgacg	uggaccuggg	cgauaucagc	ggaaucaaug	ccagcgucgu	gaacauccag	3540
aaagagaucg	accggcguaa	cgagguggcc	aagaaucuga	acgagagccu	gaucgaccug	3600
caagaacugg	ggaaguacga	gcaguacauc	aaguggcccu	gguacaucug	gcugggcuuu	3660
aucgccggac	ugauugccau	cgugaugguc	acaaucaugc	uguguugcau	gaccagcugc	3720
uguagcugcc	ugaaggggcg	uuguagcugu	ggcagcugcu	gcaaguocga	cgaggacgau	3780
ucugagcccg	ugcugaaggg	cgugaaacug	cacuaacaca			3819

[271] SEQ ID NO: 19

agaauaaacu	aguauucuuc	ugguccccac	agacucagag	agaaccggcc	accauguuug	60
uguuucuuug	gcugcugccu	cuugugucuu	cucagugugu	gaauuugaca	acaagaacac	120
agcugccacc	agcuuauaca	aaucuuuuu	ccagaggagu	guauuauccu	gauaaagugu	180
uuagauucuc	ugugcugcac	agcacacagg	accuguuucu	gccauuuuuu	agcaauugua	240
caugguuuca	ugcaauucan	gugucuggaa	caaauggaac	aaaagauuu	gauaaucucg	300
ugcugccuuu	uaauauggga	guguauuuug	cuucaacaga	aaagucaaa	auuuuagag	360
gauggauuuu	uggaacaaca	cuggauucua	aaacacaguc	ucugcugauu	gugaauaau	420
caacaaaugu	ggugauuaaa	gugugugaau	uucaguuuug	uaauaguccu	uuucugggag	480
uguauuauca	caaaaaauaa	aaucucugga	uggaaucuga	auuuagagug	uauuccucug	540
caauuaauug	uacauuugaa	uaugugucuc	agccuuuucu	gauggaucug	gaaggaaaac	600
agggcauuu	uaaaaaucug	agagaauuug	uguuuaaaaa	uaauauggga	uaauuuaaaa	660
uuuauucuaa	acacacacca	auuaauuuag	ugagagaucu	gccucaggga	uuuucugcuc	720
uggaaccucu	gguggaucug	ccaauuggca	uuauauuac	aagauuucag	acacugcugg	780
cucugcacag	aucuuauucg	acaccuggag	auucuuucuc	uggauggaca	gccggagcug	840
cagcuuauua	ugugggcuau	cugcagccaa	gaacauuucu	gcugaaaauu	aaugaaaaug	900
gaacaauuac	agaugcugug	gauugugcuc	uggauccucu	gucugaaaca	aauguaacau	960
uaaaauucuu	uacaguggaa	aaaggcauuu	aucagacauc	uaauuuuaga	gugcagccaa	1020
cagaauucua	ugugagauuu	ccaaauauua	caaaucugug	uccauuugga	gaaguguuuu	1080
augcaacaag	auuugcaucu	guguaugcau	ggaauagaaa	aagaauuucu	aauguguggg	1140
cugauuaauc	ugugcuguan	aaugugcucu	uuuuuccac	auuuaaaugu	uauggagugu	1200

[0814]

cuccaaca	aaauaaugau	uuauuuuu	caauugua	ugcugauuc	uuugauca	1260
gagguga	agugagacag	auugccccc	gacagacagg	aaaaauugcu	gauuacaauu	1320
acaaacugcc	ugaugauuuu	acaggauug	ugauugcuug	gaauucuaau	aaauuagauu	1380
cuaaaguggg	aggaauuac	aaauaucugu	acagacuguu	uagaaaauca	aaucugaaac	1440
cuuuugaag	agauauuuca	acagaaauu	aucaggcugg	aucaacaccu	uguaauggag	1500
uggaaggauu	uaauuguuau	uuuccauuac	agagcuauug	auuucagcca	accaauggug	1560
ugggauuca	gccauauaga	gugguggugc	ugucuuuuga	acugcugcau	gcaccugcaa	1620
cagugugugg	accuaaaaa	ucuacaaau	uagugaaaa	uaauugugug	aauuuaauu	1680
uuauugauu	aacaggaaca	ggagugcuga	cagaaucaaa	uaaaaaauu	cugccuuuuc	1740
agcaguuug	cagagauauu	gcagauacca	cagaugcagu	gagagauccu	cagacauuag	1800
aaauucugga	uaauacaccu	uguucuuuug	ggguguguc	ugugauuaca	ccuggaacia	1860
auacaucaa	ucagguggcu	gugcuguauc	aggauugaa	uuguacagaa	gugccagugg	1920
caauucaugc	agauacgug	acaccaacau	ggagagugua	uucuacagga	ucuaaugugu	1980
uucagacaag	agcaggauu	cugauuggag	cagaacauu	gaauaauc	uaugaauug	2040
auauuccaau	uggagcaggc	auuugugcau	cuuauacag	acagacaaau	uccccaaggga	2100
gagcaagauc	uguggcauc	cagucuaau	uugcauacac	caugucucug	ggagcagaaa	2160
auucuguggc	auauucuaau	aaucuaauu	cuauuccaac	aaauuuuacc	auuucuguga	2220
caacagaaau	uuuaccugug	ucuauagaca	aaacaucugu	ggauuguacc	auguacauuu	2280
guggagauuc	uacagaauu	ucuaaucugc	ugcugcagua	uggaucuuuu	uguacacagc	2340
ugaauagagc	uuuaacagga	auugcugugg	aacaggauaa	aaauacacag	gaaguguuug	2400
cucaggugaa	acagauuuac	aaaacaccac	caauuaaaga	uuuuggagga	uuuaauuuua	2460
gccagauuc	gccugauccu	ucuaaaccuu	cuaaaagauc	uuuuauugaa	gaucugcugu	2520
uuauuaaagu	gacacuggca	gaugcaggau	uuauuaaaca	guauggagau	ugccuggggug	2580
auauugcugc	aagagaucug	auuugugcuc	agaaauuaa	uggacugaca	gugcugccuc	2640
cucugcugac	agaugaaaug	auugcucagu	acacaucugc	uuuacuggcu	ggaacaaaua	2700
caagcggau	gacauuugga	gcuggagcug	cucugcagau	uccuuuugca	augcagauug	2760
cuuacagauu	uaauggaaau	ggagugacac	agaauuguu	auaugaaaau	cagaaacuga	2820

[0815]

```

uugcaaauca guuuauuucu gcaauuggca aaauucagga uucucugucu ucuacagcuu 2880
cugcucuggg aaaacugcag gaugugguga aucagaauugc acaggcacug aaucucuggg 2940
ugaaacagcu gucuagcaau uuuggggcaa uuucuuucugu gcugaaugau auucugucua 3000
gacuggaucc uccugaagcu gaagugcaga uugauagacu gaucacagga agacugcagu 3060
cucugcagac uuaugugaca cagcagcuga uuagagcugc ugaaauuaga gcuucucua 3120
aucuggcugc uacaaaaaag ucugaauug ugucugggaca gucaaaaaga guggauuuuu 3180
guggaaaaag auaucaucug augucuuuuc cacagucugc uccacaugga gugguguuuu 3240
uacaugugac auauugucca gcacaggaaa agaauuuuac cacagcacca gcaauuuguc 3300
augauggaaa agcacauuuu ccaagagaag gaguguuugu gucuauugga acacauuggu 3360
uugugacaca gagaauuuu uaugaaccuc agauuuuac aacagauaa acauuugugu 3420
caggaaaauug ugauguggug auuggaauug ugaauauac aguguaugau ccacugcagc 3480
cagaacugga ucuuuuuaa gaagaacugg auaaauuuu uaaaaaucac acaucuccug 3540
auguggauuu aggagauuu ucuggaauca augcaucugu ggugaauuu cagaaagaaa 3600
uugauagacu gaaugaagug gccaaaauc ugaaugauc ucugaaugau cugcagggaac 3660
uuggaaaaua ugaacaguac auuaauugc cuugguacau uuggcuugga uuauuugcag 3720
gauuaauugc auuugugaug gugacauua uguuauguug uaugacauc uguugucuu 3780
guuaaaaagg auguuguuuc uguggaagcu guuguaaau ugaugaagau gauucugaac 3840
cuguguuaaa aggagugaaa uugcauuaca caugaugacu cgagcuggua cugcaugcac 3900
gcaaugcuag cugcccuuu ccgucuccug guaccccgag ucuccccoga ccucgggucc 3960
cagguaugcu cccaccucca ccugcccccac ucaccaccuc ugcuaguucc agacaccucc 4020
caagcacgca gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acaccccccac gggaaacagc 4080
agugaauaac cuuuagcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccagggguug 4140
ucaauuucgu gccagccaca ccugggagcu agcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200
aaagcauauug acuaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 4283

```

[272] SEQ ID NO: 20

```

agaauaaacu aguaauucuu uggucccccac agacucagag agaaccgcgc accauguucg 60

```

[0816]

uguuccuggu gcugcugccu cuggugucca gccagugugu gaaccugacc accagaacac	120
agcugccucc agccuacacc aacagcuua ccagaggcgu guacuacccc gacaaggugu	180
ucagauccag cgugcugcac ucuacccagg accuguuccu gccuuucuc agcaacguga	240
ccugguucca cgccauccac guguccgga ccaauggcac caagagauuc gacaaccccg	300
ugcugcccuu caacgacggg gugacuug ccagcacoga gaaguccaac aucaucagag	360
gcuggaucuu cggcaccaca cuggacagca agaccagag ccugcugauc gugaacaacg	420
ccaccaacgu ggucacaaa gugugcgagu uccaguucug caacgacccc uuccugggcg	480
ucuacuacca caagaacaac aagagcugga uggaaagcga guucgggug uacagcagcg	540
ccaacaacug caccuucgag uacgugucc agccuuuccu gauggaccug gaaggcaagc	600
agggcaacu caagaaccug cgcgaguucg uguuaagaa caucgacggc uacuucaga	660
ucuacagcaa gcaaccccu aucaaccucg ugcgggaucu gccucagggc uucucugcuc	720
uggaaccccu gguggaucug ccaucggca ucaacauca cggguucag acacugcugg	780
ccugcagag aagcuaccug acaccuggcg auagcagcag cggauugaca gcuggugccg	840
cgcguuacua ugugggcuac cugcagccua gaaccuuccu gcugaaguac aacgagaacg	900
gcaccauac cgacgcgug gauugugcuc uggauccuc gagcgagaca aagugcacc	960
ugaaguccuu caccguggaa aagggcacuc accagaccag caacuucgg gugcagccca	1020
ccgaauccau cgugcgguuc cccaauuca ccaucugug cccuucggc gagguguuca	1080
augccaccag auucgcucuc guguacgcc ggaaccggaa gcggaucagc aaugcgugg	1140
ccgacuacuc cgugcugua aacuccgcca gcuucagcac cuucaagugc uacggcgugu	1200
cccuaccaa gcugaacgac cugugcuuca caaacguga cgcgacagc uucgugaucc	1260
ggggagauga agugcgcgag auugccucg gacagacag caagaucgc gacuacaacu	1320
acaagcugcc cgacgacuuc accggcugug ugaugccug gaacagcaac aaccuggacu	1380
ccaaagucgg cggcaacuac aaauaccugu accggcuguu ccggaaguc aaucugaagc	1440
ccuucgagcg ggacaucucc accgagauuc aucaggccgg cagcaccucc uguaacggcg	1500
uggaaggcuu caacugcuac uucccacugc aguccuacgg cuuucagccc aaaauggcg	1560
ugggcuauc gcccuacaga guggugugug ugagcuucga acugcugcau gcccugcca	1620
cagugugcgg ccuaagaaa agcaccaauc ucgugaagaa caaagcgug aacuucaacu	1680

[0817]

ucaacggccu gaccggcacc ggcgugcuga cagagagcaa caagaaguuc cugccauucc 1740
 agcaguuugg ccgggauauc gccgauacca cagacgccgu uagagaucac cagacacugg 1800
 aaaucugga caucaccccu ugcagcuucg gcggaguguc ugugaucacc ccuggcacca 1860
 acaccagcaa ucagguggca gugcuguacc aggacgugaa cuguaccgaa guggccgugg 1920
 ccuuuacgc cgaucagcug acaccuacau ggcgggguga cuccacgggc agcaaugugu 1980
 uucagaccag agccggcggu cugaucggag ccgagcacgu gaacaaugc uacgagugcg 2040
 acaucccau cggcgugga aucugcgcca gcuaccagac acagacaaac agccucggga 2100
 gagccagaag cguggccagc cagagcauca uugccuacac aaugucucug ggcgccgaga 2160
 acagcguggc cuacuccaac aacucuaucg cuaucccccac caacuucacc aucagcguga 2220
 ccacagagau ccugccugug uccaugacca agaccagcgu ggacugcacc auguacauu 2280
 gcggcgauuc caccagugug uccaaccugc ugucgcagua cggcagcuuc ugcacccagc 2340
 ugaauagagc ccugacaggg aucgcccugg aacaggacaa gaacacccaa gagguguucg 2400
 cccaagugaa gcgaucuaa aagacccccc cuaucaaggc cuucggcggc uucauuuua 2460
 gccagauuuc gcccgauucc agcaagccca gcaagcgagg cuucaucgag gaccugcugu 2520
 ucaacaaagu gacacugggc gacgcccggc ucaucaagca guauggcgcu ugucuggggc 2580
 acuuugccgc cagggaucug auuugcgccc agaaguuuaa cggacugaca gugcugccuc 2640
 cucugcugac cgaugagaug aucgcccagu acacaucugc ccugcugggc ggcaacauc 2700
 caagcgcgug gacauuugga gcaggcgccg cucugcagau cccuuuugcu augcagaugg 2760
 ccuaccgguu caacggcauc ggagugaccc agaauugcu guacgagaac cagaagcuga 2820
 ucgccacca guuacaacag gccaucggca agaucaggga cagccugagc agcacagcaa 2880
 gcgcccuggg aaagcugcag gacgugguca accagaaugc ccaggcacug aacaccugg 2940
 ucaagcagcu guccuccaac uucggcgcca ucagcucugu gcugaacgau auccugagca 3000
 gacuggagcc uccugaggcc gaggugcaga ucgacagacu gaucacaggc agacugcaga 3060
 gccuccagac auacgugacc cagcagcuga ucagagccgc cgagauuaga gccucugcca 3120
 aucugggcgc caccagaug ucugagugug ugucgggcca gaggcaagaga guggacuuuu 3180
 gcggcaaggg cuaccaccug augagcuucc cuacugcugc cccucacggc gugguguuuc 3240
 ugacgugac auaugugcc gcucaagaga agaauuucac caccgcucca gccaucugcc 3300
 acgacggcaa agcccacuuu ccuagagaag gcguguucgu guccaacggc acccauuggu 3360
 ucgugacaca gcggaaucuc uacgagcccc agaucaucac caccgacaac accuucgugu 3420
 cuggcaacug cgagcugcug aucggcauug ugaacaauac cguguacgac ccucugcagc 3480
 ccgagcugga cagcuuacaa gaggaacug acaaguacuu uaagaaccac acaagccccg 3540
 acguggaccu ggcggaauuc agcggaauca augccagcgu cgugaacauc cagaagagaga 3600
 ucgacccgcu gaacgagugg gccaaagauc ugaacgagag ccugaucgac cugcaagaac 3660
 uggggaagua cgagcaguac aucaaguggc ccugguacau cugcugggc uuuaucggcg 3720
 gacugauugc caucgugaug gucacaauc ugucugugug caugaccagc ugucugagcu 3780
 gccugaaagg cuguuuagc uguggcagcu gcugcaaguu cgacgaggac gauucugagc 3840
 ccgugcugaa ggcguguaa cugcacuaca caugaugacu cgagcuggua cugcaugcac 3900
 gcaauugcag cugcccccuu cccgucucgg guaccccgag ucucccccga ccucgggucc 3960
 cagguauugc ccaccucca ccugcccccac uaccaccuc ugcuaguucc agaccucc 4020
 caagcacga gcaaugcagc ucaaaaacgc uagccuagcc acacccccac gggaaacagc 4080
 agugauuac cuuuagcau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccaggguugg 4140
 ucauuuugc gccagccaca ccugggagcu agcaaaaaa aaaaaaaa aaaaaaaa 4200
 aaagcauug acuaaaaaa aaaaaaaa aaaaaaaa aaaaaaaa aaaaaaaa 4260
 aaaaaaaa aaaaaaaa aaa 4283

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

실시예

[273] 하기 실시예는 설명을 위해 제공되며 어떤 식으로든 본 발명의 범위를 제한하지 않는다. 당업자는 본원에 기술된 특정 설계 및 선택 기준이 해당 분야의 일반적인 관행에 따라 변경될 수 있음을 이해할 것이다.

실시예 1: 예시적인 조성 및 특징

- [0823] [274] 본 실시예는 본 발명에 따른 특정 RNA/LNP 조성물의 개발 및/또는 특징을 기술한다.
- [0824] [275] 본 실시예에서 사용된 RNA 페이로드는 4283개의 뉴클레오타이드 잔기를 포함하는 변형된 RNA 페이로드였다. 본 실시예에서 사용된 RNA 페이로드는, 바이러스 항원, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질을 인코딩하였다. 구체적으로, 본 실시예에서 사용된 RNA 페이로드는 본원에 기술된 RBP020.2(v9)로 표시되는 BNT162b2 작제물이었다.
- [0825] [276] 본 실시예는 특정 보호제(특히 이당류 보호제 수크로스 및 트레할로스) 및 특정 완충액(예를 들어, Tris 및 히스티딘 완충액과 같은 비-포스페이트 완충액 및/또는 NaCl을 포함하지 않는 완충액)를 평가하였다.
- [0826] [277] 특정 이론에 얽매이지 않고, 등장성이 바람직하다고 사료되었다; 평가된 특정 조성물은, 그것이 거의 등장성인 용액을 생성하기 때문에, 10% w/v 농도의 보호제를 포함하였다.
- [0827] [278] 조성물의 pH를 유지하기에 충분하도록 완충액 농도를 선택하였다.
- [0828] [279] 평가된 조성물은 만니톨을 포함하지 않았다.
- [0829] [280] 본 실시예에서, 조성물은 건조 전에 동결되지 않았다(예를 들어, 약 2℃ 내지 약 8℃ 범위 내의 온도로 유지되었음). 본 실시예에서 건조는 동결-건조(구체적으로는 동결건조(lyophilization))에 의해 수행되었다.
- [0830] [281] 조성물의 전기 전도도를 측정하고, 동결 건조를 시작하기 전에 저온 DSC 실험을 수행하였다. LNP 크기 및 다분산성은, 2℃-8℃ 온도 유지 후 및 동결건조 전에 동적 광산란을 사용하여 측정되었다.
- [0831] [282] 하기 표 1은 평가된 특정 조성물을 제시한다; 알 수 있는 바와 같이, (i) 보호제 유형 및 농도는 다양하였다; 제조 중의 대체적인 제조 공정이 평가되었다(특히, 수크로스-함유 제형의 경우, RNA 스톱은 시트레이트-온리 완충액이 아닌 수크로스-시트레이트 완충액으로 회석됨); (ii) NaCl이 결여된 완충액을 평가하였다; 및 (iii) 비-포스페이트 완충액(예: Tris, His, HEPES)을 평가하였다.

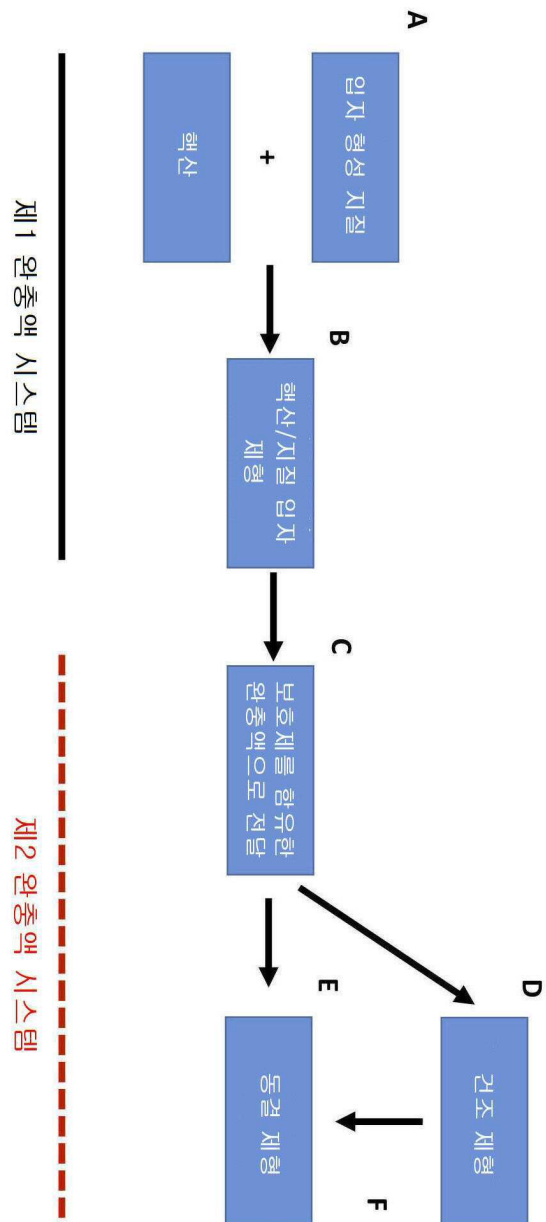
표 1. 동결건조 평가를 위한 제형의 조성

제형 #	완충액	보호제	메모	부피, mL
1	10 mM Tris, pH 7.4	10% w/v 수크로스	대체적 제조 공정	15+15=30*
2	10 mM Tris, pH 7.4	10% w/v 트레할로스	-	15+15=30*
3	10 mM Tris, pH 7.4	5% w/v 수크로스 5% w/v 트레할로스	-	15+15=30*
4	10 mM His, pH 7.4	10% w/v 수크로스	대체적 제조 공정	15+15=30*

* 동결 중 어닐링이 있는 없는데 관계없이 동결 건조 사이클을 위해 각각 15mL 두 개의 분취알을 별도로 마련하고 보관해야 한다.

- [0832]
- [0833] [283] 이용된 동결건조 공정은 0.5℃/분으로 수행된 동결 단계 동안 냉각 및 가온 램프를 수반하였다. 제형들을 관련 제형의 Tg' 미만의 온도로 동결시켰다. 임의의 특정 이론에 얽매이지 않고, -10℃의 어닐링 온도는, 생성물을 제형의 녹는점 미만으로 유지하면서 등은 유지 동안 오스트발트 숙성을 최대화하고(따라서 얼음 결정의 크기를 증가시킴) 케이크 저항성을 감소시키도록 선택되었다. 2차 건조까지의 램프 속도는 0.2℃/분이었다.

도면
도면1



도면2a

#	동결/동결건조	완충액	염(Y/N)^	어닐링(Y/N)
F1	10% 수크로스	10 mM Tris	No	No-사이클 3(NA) Yes-사이클 4(A)
F2	10% 트레할로스			
F3	5% 수크로스-5%트레할로스			
F4	10% 수크로스	10 mM Tris	Yes	No-사이클 1(NA) Yes-사이클 2(A)
F5	10% 트레할로스			
F6	5% 수크로스-5%트레할로스			
F7	10% 수크로스	10 mM His	No	Yes-사이클 4(A)
F8	10% 트레할로스			
F9	5% 수크로스-5%트레할로스			
F10	10% 수크로스	10 mM HEPES	No	Yes-사이클 4(A)
F11	10% 트레할로스			
F12	5% 수크로스-5%트레할로스			
F13	10% 수크로스	NaCl 무함유 PBS	No	Yes-사이클 4(A)
F15	10% 수크로스**	10 mM Tris	No	Yes-사이클 4(A)
F16	10% 수크로스**	10 mM Tris	No	
F17	10% 수크로스	NaCl PBS	Yes	No-사이클 1(NA)
F18	10% 수크로스		Yes	Yes-사이클 2(A)

^ 염을 포함한 완충액은 6 mg/ml; NaCl을 포함함; 염을 포함하지 않은 완충액에는 어떠한 NaCl도 첨가되지 않음

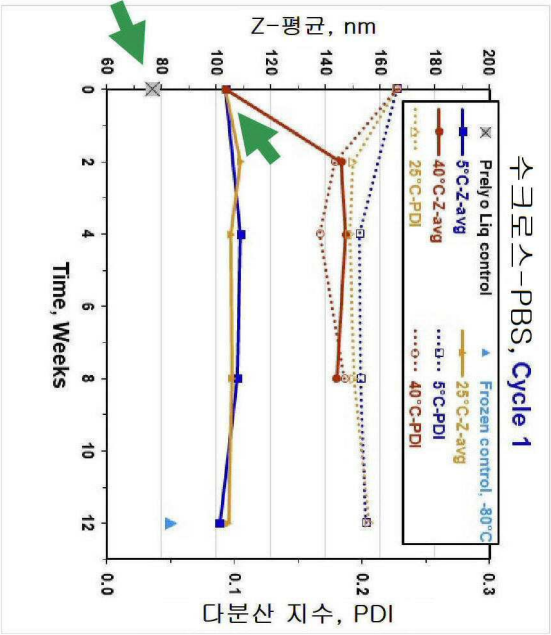
** 제1 완충액 시스템에 첨가된 수크로스

도면2b

공정 단계	공정 파라미터							
	사이클 1 (사레 1의 저항성, 표 2가 사용되었음), 목표 온도 -40°C	Time, (hrs)	사이클 2 (사레 2의 저항성, 표 2가 사용되었음), 목표 온도 -40°C	Time, (hrs)	사이클 3 (사레 1의 저항성, 표 2가 사용되었음), 목표 온도 -30°C	Time, (hrs)	사이클 4 (사레 2의 저항성, 표 2가 사용되었음), 목표 온도 -30°C	Time, (hrs)
동결	R to -45°C in 130 min	2.17	R to -45°C in 130 min	2.17	R to -45°C in 130 min	2.17	R to -45°C in 130 min	2.17
	H at -45°C for 60 min	3.17	H at -45°C for 60 min	3.17	H at -45°C for 60 min	3.17	H at -45°C for 60 min	3.17
			R to -10°C in 70 min	4.33			R to -10°C in 70 min	4.33
			H at -10°C for 180 min	7.33			H at -10°C for 180 min	7.33
			R to -45°C in 70 min	8.50			R to -45°C in 70 min	8.50
			H at -45°C for 60 min	9.50			H at -45°C for 60 min	9.50
프린터 냉각 및 진공 결기	Tcond<-50°C; Pch=30 mT	4.17	Tcond<-50°C; Pch=40 mT	10.50	Tcond<-50°C; Pch=40 mT	4.17	Tcond<-50°C; Pch=50 mT	10.50
1차 건조	R to -38°C in 14 min	4.40	R to -36°C in 18 min	10.80	R to -32°C in 26 min	4.60	R to -29°C in 32 min	11.03
	H at -38°C for 3600 min	64.40	H at -36°C for 2700 min	55.80	H at -32°C for 2400 min	44.60	H at -30°C for 1800 min	41.03
2차 건조	R to 30°C in 340 min	70.07	R to 30°C in 330 min	61.30	R to 30°C in 310 min	49.77	R to 30°C in 295 min	45.95
	H at 30° for 480 min	78.07	H at 30° for 480 min	69.30	H at 30° for 480 min	57.77	H at 30° for 480 min	53.95

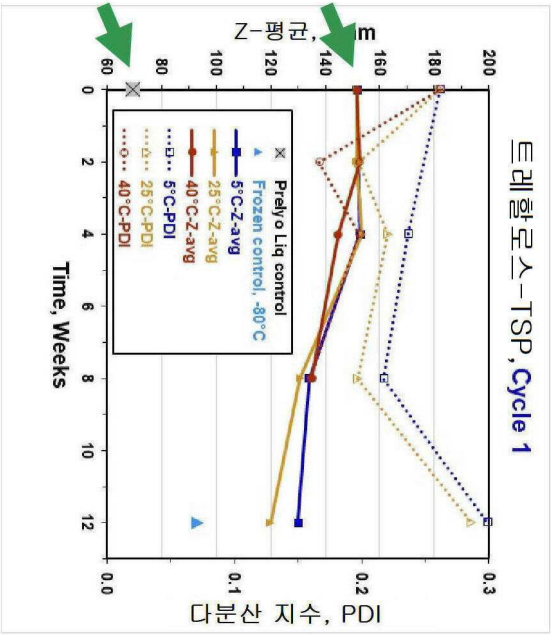
R=랩프; H=hold(유지)
사이클 파라미터는 예지 효과를 1.5로 가경하여 계산되었음에 주의한다. 또한 챔버 압력은, 40평방미터의 상용 동결-건조기가 완전히 적재되었을 때(175770 바이알)의 성능을 기준으로 선택되었다. 압력 설정점은 제안된 각 사이클에 대해 제어 가능한 최소 압력(저항성 스케일-업 인자 1)보다 최소 9mT 더 높았다. Lyostar III에 대한 Pmin의 계산은 또한 Lyostar III에 560개의 바이알(하나의 전체 트레이)가 로드될 때 압력을 제어할 수 있도록 이루어졌다.

도면3



도 3a

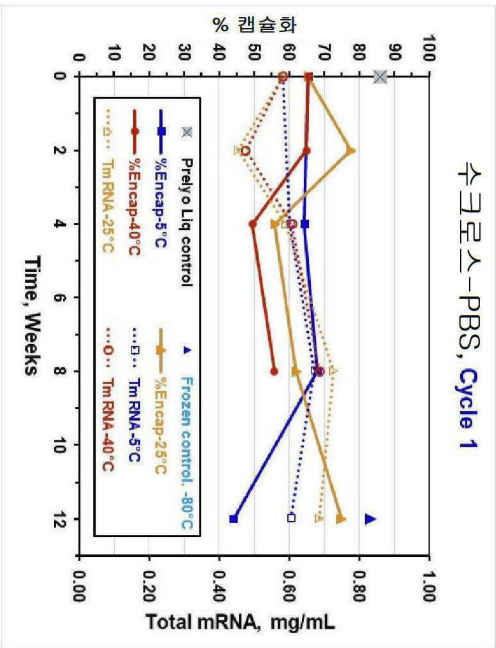
콜로이드 안정성



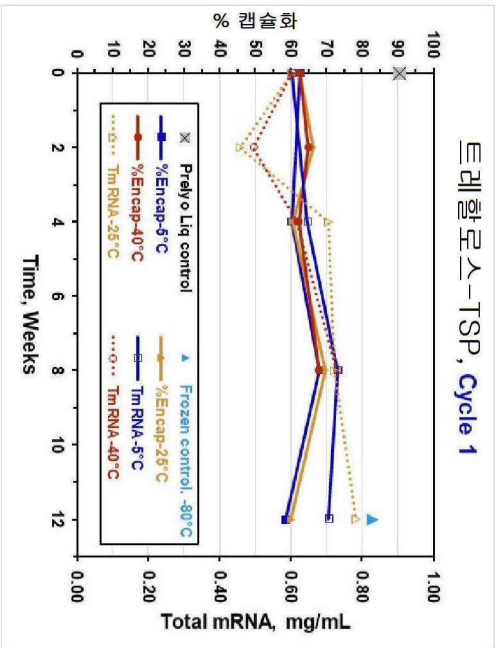
도 3b

% 캡슐화

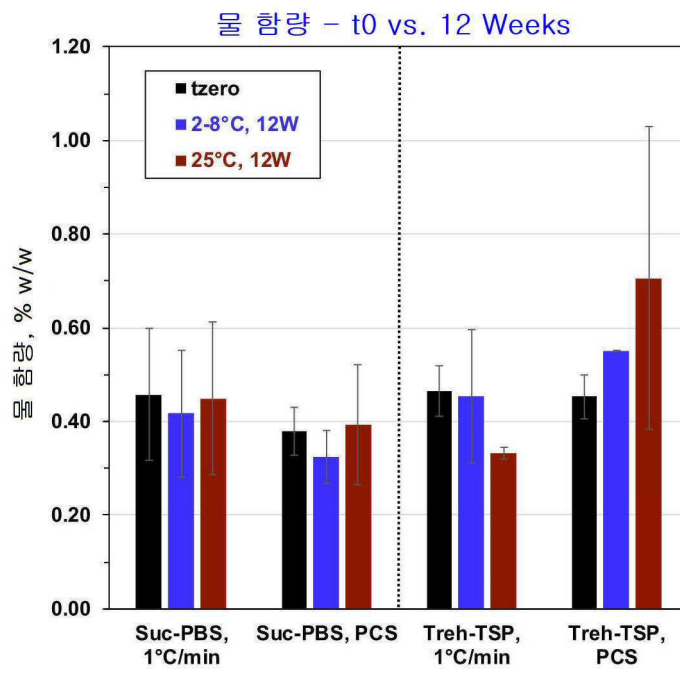
도 4a



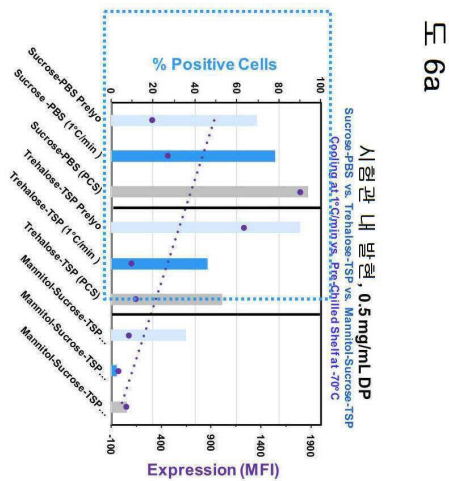
도 4b



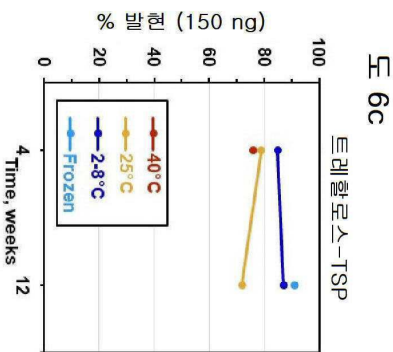
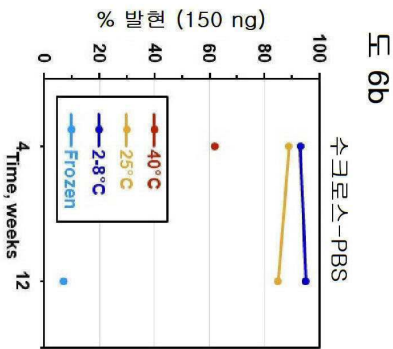
도면5



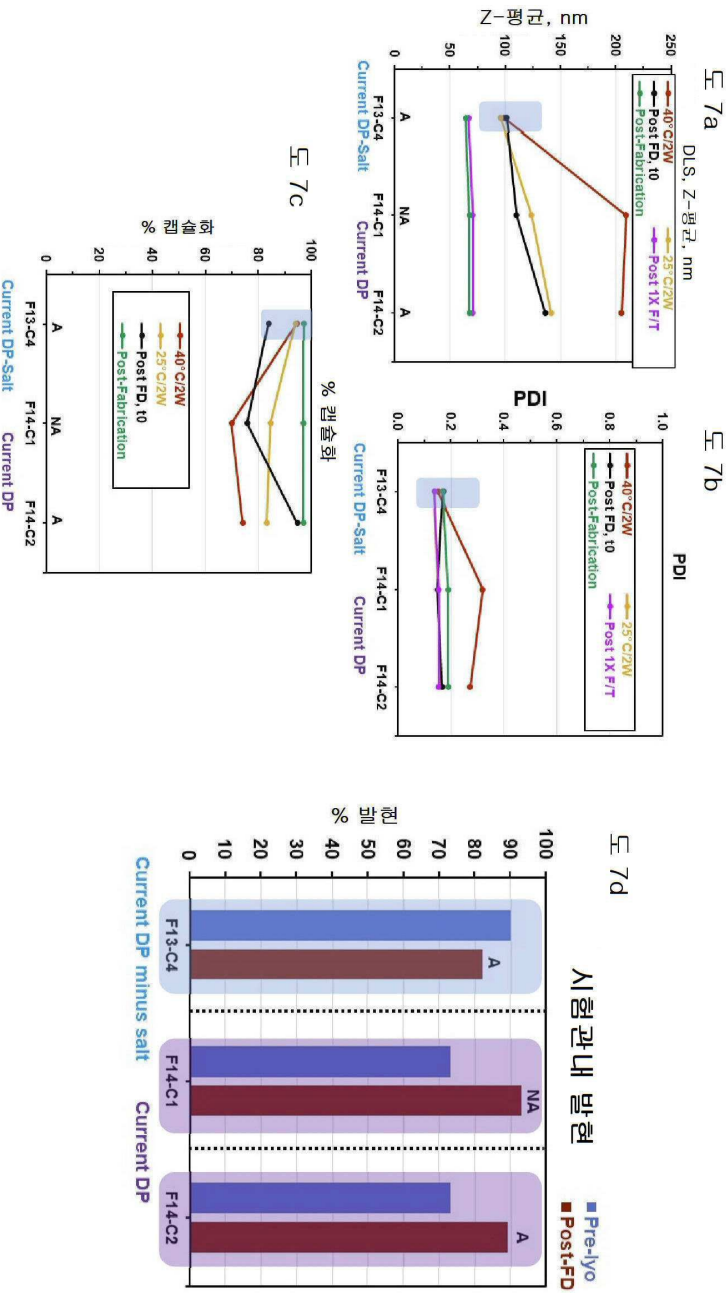
도면6



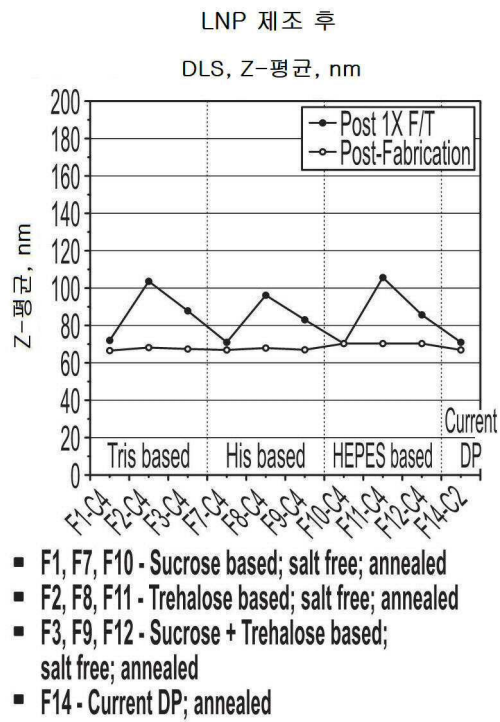
% 발현



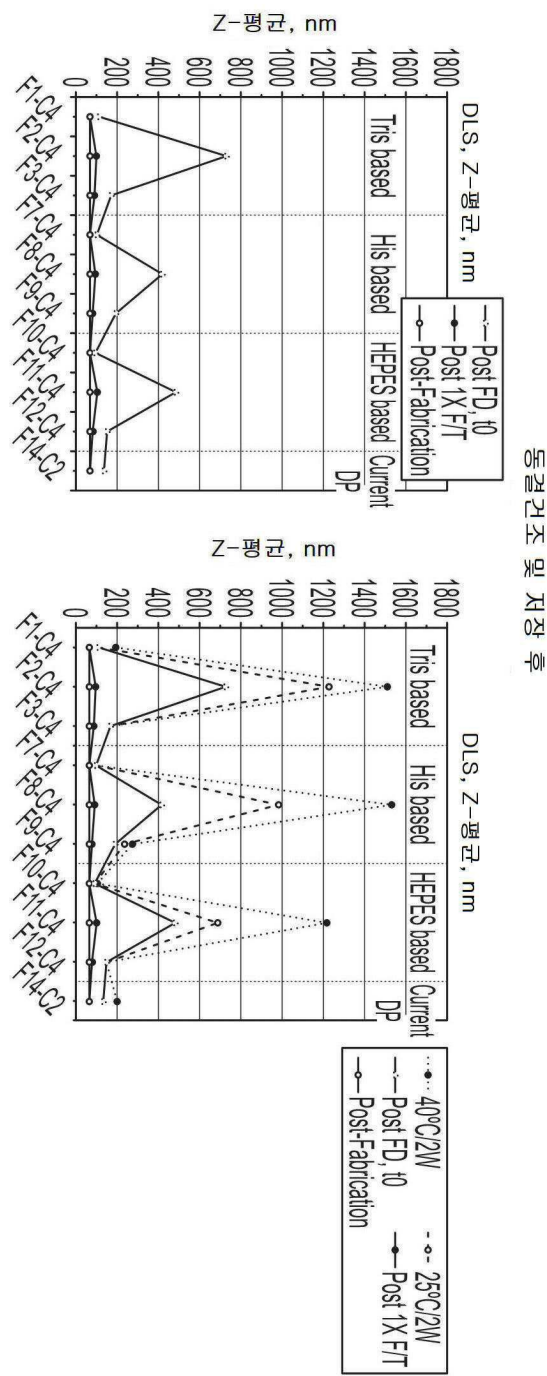
도면7



도면 8a



도면8b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> BioNTech SE

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR STABILIZATION OF LIPID NANOPARTICLE
MRNA VACCINES

<130> 674-395 PCT

<150> US 63/114,478

<151> 2020-11-16

<150> US 63/115,588

<151> 2020-11-18

<160> 20

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1273

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SARS-CoV-2 spike (S) protein

<400> 1

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

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

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
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
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
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
 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
 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
 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
 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
 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
 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			
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 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	
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			
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
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

<210> 2

<211> 3819

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Coding Sequence

<400> 2

auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc agugugugaa uuugacaaca 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 gcugauuugug 360

aaauaugcaa caauuguggu gauuaaagug ugugaauuuc aguuuuguaa ugaucuuuuu 420

cugggagugu auuauacaaa aaauaauaaa ucuuggaugg aaucugaaau uagaguguau 480

uccucugcaa auaauuguac auuugaauau gugucucagc cuuuucugau ggaucuggaa 540

ggaaaacagg gcaauuuuaa aaucugaga gaauuugugu uuaaaaaauu ugauggauau 600

uuuaaaaauu auucuaaaca cacaccaauu aauuuaguga gagaucugcc ucagggaauu 660

ucugcucugg aaccucuggu ggaucugcca auuggcauaa auauuacaag auuucagaca 720

cugcuggcuc ugcacagauc uuauugaca ccuggagauu cuucuucugg auggacagcc 780

ggagcugcag cuuauuauugu gggcuauucug cagccaagaa cauuucugcu gaaauuaau 840

gaaaauggaa caauuacaga ugcuguggau ugucucugc auccucuguc ugaacaaaa 900

uguacauuaa aaucuuuuac aguggaaaaa ggcauuuauc agacaucuaa uuuuagagug 960

cagccaacag aaucuaugu gagauuucca aauauuacaa aucugugucc auuuggagaa 1020

guguuuuauug caacaagauu ugcaucugug uaugcaugga auagaaaaag aauuucuaau 1080

uguguggcug auuauucugu gcuguauauu agugcuucu uuccacauu uaauguuau 1140

ggagugucuc caacaaaaau aaugauuuu uguuuuacaa auguguauugc ugaucuuuu 1200

gugaucagag gugaugaagu gagacagauu gccccggac agacaggaaa aaugcugau 1260

uacauuuaca aacugccuga ugauuuuaca ggauguguga uugcuuggaa uucuaauau 1320

uuagauucua aagugggagg aaauuacaau uaucuguaca gacuguuuag aaaaucuuu 1380

cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaaca gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu 1440

aauggagugg aaggauuuu uuguuuuuu ccauuacaga gcauggaau ucagccaacc 1500

aauggugugg gauaucagcc auauagagug guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca 1560

ccugcaacag uguguggacc uaaaaaauu acaauuuuag ugaauuuuau augugugauu 1620

uuuaauuuu auuggauuac aggaacagga gugcugacag aaucuaaua aaaaauucug 1680

ccuuucagc aguuuggcag agauauugca gauaccacag augcagugag agauccucag 1740

acauuagaaa uucuggauau uacaccuugu ucuuuugggg gugugucugu gauuacaccu 1800

ggaacaaaau caucuaaua gguggcugug cuguaucagg augugaauug uacagaagug 1860

ccaguggcaa uucaugcaga ucagcugaca ccaacaugga gaguguauuc uacaggauu 1920

aauguguuuc agacaagagc aggaugucug auuggagcag aacaugugaa uaaucuuau 1980

gaaugugaua uucaauugg agcaggcauu ugugcaucu aucagacaca gacaaauucc 2040

ccaaggagag caagaucugu ggcaucucag ucuauuuuug cauacaccu gucucuggga 2100

gcagaaaauu cuguggcaua uucuaauau ucuauugcua uucaacaaa uuuuaccuu 2160

ucugugacaa cagaaaauuu accugugucu augacaaaa caucugugga uguaccaug 2220

uacauuugug gagauucuaa agaauuguu aaucugcugc ugcaguauug aucuuuuugu 2280

acacagcuga auagagcuuu aacaggaauu gcuguggaac aggauaaaaa uacacaggaa	2340
guguuugcuc aggugaaaca gauuuacaaa acaccaccaa uuaaagauuu uggaggauuu	2400
aaaauuagcc agauucugcc ugauccuucu aaaccuucua aaagaucuuu uauugaagau	2460
cugcuguuuu auaaagugac acuggcagau gcaggauuuu uuaaacagua uggagauugc	2520
cugggugaua uugcugcaag agaucugauu ugugcucaga aaaaaaugg acugacagug	2580
cugccuccuc ugcugacaga ugaaaugauu gcucaguaca caucugcuuu acuggcugga	2640
acaaauacaa gcggauggac auuuggagcu ggagcugcuc ugcagauucc uuuugcaaug	2700
cagauggcuu acagauuuua uggaauugga gugacacaga auguguuaua ugaauaucag	2760
aaacugauug caaaucaguu uaaucugca auuggcaaaa uucaggauuc ucugucuucu	2820
acagcuucug cucugggaaa acugcaggau guggugaauc agaaugcaca ggcacugaau	2880
acucugguga aacagcuguc uagcauuuuu ggggcauuu cuucugugcu gaaugauuu	2940
cugucuagac uggauaaagu ggaagcugaa gugcagauug auagacugau cacaggaaga	3000
cugcagucuc ugcagacuua ugugacacag cagcugauua gagcugcuga aauuagagcu	3060
ucugcuauuc uggcugcuac aaaaaugucu gaauguguc ugggacaguc aaaaagagug	3120
gaauuuuugug gaaaaggaua ucaucugaug ucuuuuccac agucugcucc acauggagug	3180
guguuuuuac augugacaua ugugccagca caggaaaaga auuuuaccac agcaccagca	3240
auuugucaug auggaaaagc acauuuucca agagaaggag uguuuguguc uaauggaaca	3300
cauugguuug ugacacagag aaaaauuuau gaaccucaga uuauuacaac agauauuaca	3360
uuugugucag gaaaauugua uguggugauu ggaauugua auaauacagu guaугaucца	3420
cugcagccag aacuggaauu uuuuaaagaa gaacuggaua aaauuuuuaa aaauacaca	3480
ucuccugaug uggaauuagg agauuuuucu ggaaucuaug caucuguggu gaauauucag	3540
aaagaaaug auagacugaa ugaaguggcc aaaaaucuga augaauucucu gauugaucug	3600
caggaacuug gaaaauauga acaguacauu aaauugccuu gguacauuug gcuuggauuu	3660
auugcaggau uaaauugcau ugugauggug acauuuauu uauuguuau gacaucaugu	3720
uguucuuguu uaaaaggaug uguuucuugu ggaagcuguu guaaaauuga ugaagaugau	3780
ucugaaccug uguuuuuagg agugaaaug cauucacaca	3819
<210> 3	
<400> 3	
000	
<210> 4	
<400> 4	

000

<210> 5

<400> 5

000

<210> 6

<400> 6

000

<210> 7

<211> 1273

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SARS-CoV-2 spike (S) protein variant

<400> 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

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

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
 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
 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
 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
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
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
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		
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		
785	790	795
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		
865	870	875
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
 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
 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
 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
 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
 1250 1255 1260
 Val Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
 1265 1270

<210> 8

<211> 3819

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Coding Sequence

<400> 8

auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc agugugugaa uuugacaaca	60
agaacacagc ugccaccagc uuauacaaau ucuuuuacca gaggagugua uuauccugau	120
aaaguguuuu gaucuucugu gcugcacagc acacaggacc uguuucugcc auuuuuuagc	180
aaugugacau gguuucaugc aaaucaugug ucuggaacaa auggaacaaa aagauuugau	240
aauccugugc ugccuuuuuu ugauggagug uauuuugcuu caacagaaaa gucaaaauuu	300
auuagaggau ggauuuuugg aacaacacug gauucuaaaa cacagucucu gcugauugug	360

aaauaugcaa caaauguggu gauuaaagug ugugaauuuc aguuuuguaa ugauccuuuu	420
cugggagugu auuauacaca aaauaauaaa ucuuggaugg aaucugaauu uagaguguau	480
uccucugcaa auaauuguac auuugaauau gugucucagc cuuuucugau ggaucuggaa	540
ggaaaacagg gcaauuuuaa aaaucugaga gaauuugugu uaaaaauau ugauggauau	600
uuuaaaauuu auucuaaaca cacaccaauu aaauuaguga gagaucugcc ucagggaauu	660
ucugcucugg aaccucuggu ggaucugcca auuggcauu auauuacaag auuucagaca	720
cugcuggcuc ugcacagauc uuauucugaca ccuggagauu cuucuucugg auggacagcc	780
ggagcugcag cuuuuuauu gggcuauucug cagccaagaa cauuucugcu gaaauauau	840
gaaaauaggaa caauuacaga ugcuguggau ugugcucugg auccucuguc ugaaacaaaa	900
uguacauuaa aaucuuuuac aguggaaaaa ggcauuuauc agacaucuaa uuuuagagug	960
cagccaacag aaucuuuuu gagauuucca aaauuacaa aucugugucc auuuggagaa	1020
guguuuauug caacaagauu ugcaucugug uaugcaugga auagaaaaag aaauucuaau	1080
uguguggcug auuuuucugu gcuguauauu agugcuucu uuuccacau uaaauuguau	1140
ggagugucuc caacaaaaau aaauugauua uguuuuacaa auguguaugc ugauucuuuu	1200
gugaucagag gugaugaagu gagacagauu gccccggac agacaggaaa aaugcugau	1260
uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca ggauuguga uugcuuggaa uucuaauau	1320
uuagaauuaa aagugggagg aaauuacaau uaucuguaca gacuguuuag aaaaucuuu	1380
cugaaaccuu uuuaagaga uauuucaaca gaaauuuuuc aggcuggauc aacaccuugu	1440
aaugggagugg aaggauuuua uuguuuuuu ccuuuacaga gcuauggauu ucagccaacc	1500
aaugggugugg gauaucagcc auauagagug guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca	1560
ccugcaacag uguguggacc uaaaaaacu acauuuuuag ugaauuuuaa augugugaau	1620
uuuaauuuua auggaauaac aggaacagga gugcugacag aaucuaaua aaaaauucug	1680
ccuuuucagc aguuuggcag agauauugca gauaccacag augcagugag agauccucag	1740
acauuagaaa uucuggauau uacaccuugu ucuuuugggg gugugucugu gauuacaccu	1800
ggaacaaaua caucuaaua gguggcugug cuguaucagg augugaauug uacagaagug	1860
ccaguggcaa uucaugcaga ucagcugaca ccaacaugga gaguguauuc uacaggauu	1920
aauguguuuc agacaagagc aggaugucug auuggagcag aacaugugaa uaaauucuau	1980
gaauugaua uucaauugg agcaggcauu ugugcaucu aucagacaca gacaaauucc	2040
ccaaggagag caagaucugu ggcaucucag ucuauuuuug cauacaccu gucucuggga	2100
gcagaaaau cuuggcaua uucuaauau ucuauugcua uucaacaaa uuuuaccuu	2160
ucugugacaa cagaaauuuu accugugucu augacaaaa caucugugga uuguaccaug	2220

uacauuugug gagauucuaac agaauuguucu aaucugcugc ugcaguaugg aucuuuuugu	2280
acacagcuga auagagcuuu aacaggaauu gcuguggaac aggauaaaaa uacacaggaa	2340
guguuugcuc aggugaaaca gauuuacaaa acaccacca uaaaagauuu uggaggauuu	2400
aaauuuagcc agauucugcc ugauccuucu aaaccuucua aaagauuuu uauugaagau	2460
cugcuguuuu auaaagugac acuggcagau gcaggauuuu uuaaacagua uggagauugc	2520
cugggugaua uugcugcaag agaucugauu ugugcucaga aauuuauagg acugacagug	2580
cugccuccuc ugcugacaga ugaaaugauu gcucaguaca caucugcuuu acuggcugga	2640
acaauuacaa gcggauggac auuuggagcu ggagcugcuc ugcagauucc uuuugcaaug	2700
cagauggcuu acagauuuua uggauuugga gugacacaga auguguuaua ugaaaaucag	2760
aaacugauug caaaucaguu uaaucugca auuggcaaaa uucaggauuc ucugucuucu	2820
acagcuucug cucugggaaa acugcaggau guggugaauc agaauccaca ggcacugaau	2880
acucugguga aacagcuguc uagcauuuu ggggcauuu cuucugugcu gaaugauuu	2940
cugucuagac uggauccucc ugaagcugaa gugcagauug auagacugau cacaggaaga	3000
cugcagucuc ugcagacuua ugugacacag cagcugauua gagcugcuga aauuagagcu	3060
ucugcuauuc uggcugcuac aaaaaugucu gaaugugugc ugaggacaguc 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 aaaaauuuau gaaccucaga uuauuacaac agauauuaca	3360
uuugugucag gaaauguga uguggugauu ggaauuguga auaauacagu guaугaucca	3420
cugcagccag aacuggauuc uuuuaaagaa gaacuggaua aaauuuuuua aaucacaca	3480
ucuccugaug uggaauuagg agauuuuucu ggaaucaaug caucuguggu gaauauucag	3540
aaagaaaug auagacugaa ugaaguggcc aaaaaucuga augaaucucu gauugaucug	3600
caggaacuug gaaaauauga acaguacauu aaauggccuu gguacauuug gcuuggauuu	3660
auugcaggau uaaugcaau ugugauggug acauuuauu uauguuguau gacaucaugu	3720
uguucuuguu uaaaaggauг uuguucuugu ggaagcuguu guaaaauuga ugaagaugau	3780
ucugaaccug uguuuuuagg agugaaaug cauucaca	3819
<210> 9	
<211> 3819	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> Coding Sequence

<400> 9

auguucgugu uccuggugcu gcugccucug guguccagcc agugugugaa ccugaccacc	60
agaacacagc ugccuccagc cuacaccaac agcuuuacca gaggcgugua cuaccccgac	120
aagguguuca gauccagcgu gcugcacucu acccaggacc uguuccugcc uuucucagc	180
aacgugaccu gguuccacgc cauccacgug uccggcacca auggcaccaa gagauucgac	240
aaccccgugc ugcccuucaa cgacggggug uacuuugcca gcaccgagaa guccaacauc	300
aucagaggcu ggaucucgg caccacacug gacagcaaga cccagagccu gcugaucgug	360
aacaacgcca ccaacguggu caucaaagug ugcgaguucc aguucugcaa cgacccuuc	420
cugggcgucu acuaccacaa gaacaacaag agcuggaugg aaagcgaguu ccggguguauc	480
agcagcgcca acaacugcac cuucgaguac guguccagc cuuuccugau ggaccuggaa	540
ggcaagcagg gcaacuuaa gaaccugcgc gaguucgugu uuaagaacau cgacggcuac	600
uucaagaucu acagcaagca caccuuuac aaccucgugc gggaucugcc ucaggguuc	660
ucugcucugg aacccuggu ggaucugccc aucggcauca acauacccg guuucagaca	720
cugcuggccc ugcacagaag cuaccugaca ccuggcgaua gcagcagcgg auggacagcu	780
ggugccgccg cuuacuaugu gggcuaccug cagccuagaa ccuuccugcu gaaguacaac	840
gagaacggca ccaucaccga cgccguggau ugugcucugg auccucugag cgagacaaag	900
ugcaccuga aguccuacac cguggaaaag ggcaucuacc agaccagcaa cuuccgggug	960
cagcccaccg aauccaucgu gcgguucccc aaauacacca aucugugccc cuucggcgag	1020
guguucaaug ccaccagauu cgccucugug uacgccugga accggaagcg gaucagcaau	1080
ugcguggccg acuacuccgu gcuguacaac uccgccagcu ucagcaccuu caagugcuac	1140
ggcguguccc cuaccaagcu gaacgaccug ugcuucacaa acguguacgc cgacagcuuc	1200
gugauccggg gagaugaagu gcggcagauu gccccuggac agacaggcaa gaucgccgac	1260
uacaacuaca agcugcccga cgacuucacc ggcuguguga uugccugaa cagcaacaac	1320
cuggacucca aagucggcgg caacuacaau uaccuguacc ggcuguuccg gaaguccaau	1380
cugaagcccu ucgagcggga cauccacc gagaucuauc aggccggcag caccuuugu	1440
aacggcgugg aaggcuuaa cugcuacuuc ccacugcagu ccuacggcuu ucagcccaca	1500
aauggcgugg gcuauacgcc cuacagagug guggugcuga gcuucgaacu gcugaugcc	1560
ccugccacag ugugcgcccc uaagaaaagc accaauucg ugaagaacaa augcgugaac	1620
uucaacuua acggccugac cggcaccggc gugcugacag agagcaacaa gaaguuccug	1680
ccauuccagc aguuuggccg ggauaucgcc gauaccacag acgccguuag gaucuccag	1740

acacuggaaa uccuggacau caccuccuugc agcuucggcg gagugucugu gaucaccccu	1800
ggcaccaaca ccagcaauca gguggcagug cuguaccagg acgugaacug uaccgaagug	1860
cccguiggcca uucacgccga ucagcugaca ccuacauggc ggguguacuc caccggcagc	1920
aauguguuuc agaccagagc cggcugucug aucggagccg agcacgugaa caauagcuac	1980
gagugcgaca uccccaucgg cgcuggaauc ugcgccagcu accagacaca gacaaacagc	2040
ccucggagag ccagaagcgu ggccagccag agcaucauug ccuacacaau gucucugggc	2100
gccgagaaca gcguggccua cuccaacaac ucuauvcua uccccacaa cuucaccauc	2160
agcgugacca cagagaucuu gccugugucc augaccaaga ccagcgugga cugcaccaug	2220
uacaucugcg gcgauuccac cgagugcucc aaccugcugc ugcaguacgg cagcuucugc	2280
accagcuga auagagcccu gacagggaucc gccguggaac aggacaagaa caccaagag	2340
guguucgccc aagugaagca gaucuacaag acccuccua ucaaggacuu cggcgguuc	2400
aaauucagcc agauucugcc cgauccuagc aagcccagca agcggagcuu caucgaggac	2460
cugcuguuca acaaagugac acuggccgac gccggcuuca ucaagcagua uggcgauugu	2520
cugggcgaca uugccgccag ggauucgaa ugcgccaga aguuuaacgg acugacagug	2580
cugccuccuc ugcugaccga ugagaugauc gcccaguaca caucugcccu gcuggccggc	2640
acaauacaa gcggcuggac auuuggagca ggcgccgcuc ugcagaucuu cuuugcuau	2700
cagauggccu accgguucaa cggcaucgga gugaccaga augugcugua cgagaaccag	2760
aagcugaucg ccaaccaguu caacagcgcc aucggcaaga uccaggacag ccugagcagc	2820
acagcaagcg ccugggaaa gcugcaggac guggucaacc agaauccca ggcacugaac	2880
accuuggua agcagcuguc cuccaacuuc ggcgccauca gcucugugcu gaacgauauc	2940
cugagcagac uggaccucc ugagcccgag gugcagaucg acagacugau cacagcgaga	3000
cugcagagcc uccagacaua cgugaccag cagcugauca gagccgccga gauuagagcc	3060
ucugccaauc uggccgccac caagaugucu gagugugugc ugggccagag caagagagug	3120
gacuuuugcg gcaagggcuu ccaccugaug agcuuccuc agucugcccc ucacggcgug	3180
guguuucugc acgugacaua ugugcccgu caagagaaga auuucaccac cgcuccagcc	3240
aucugccacg acggcaaagc ccacuuuccu agagaaggcg uguucguguc caacggcacc	3300
cauugguucg ugacacagcg gaacuucua gagccccaga ucauaccac cgacaacacc	3360
uucgugucg gcaacugcg cgucgugauc ggcauuguga acaauaccgu guacgacccu	3420
cugcagcccg agcuggacag cuucaaaagag gaacuggaca aguacuuuaa gaaccacaca	3480
agccccgacg uggaccuggg cgauaucagc ggaaucaaug ccagcgucgu gaacaucag	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

ucugagccccg ugcugaaggg cgugaaacug cacuacaca 3819

<210> 10

<400> 10

000

<210> 11

<400> 11

000

<210> 12

<400> 12

000

<210> 13

<400> 13

000

<210> 14

<400> 14

000

<210> 15

<400> 15

000

<210> 16

<400> 16

000

<210> 17

<400> 17

000

<210> 18

<400> 18

000

<210> 19

<211> 4283

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> RBP020.1

<400> 19

agaauaaacu aguauucuuc uggucacac agacucagag agaaccgcc accauguuug	60
uguuuucuugu gcugcugccu cuugugucu cucagugugu gaauuugaca acaagaacac	120
agcugccacc agcuuauaca aaauuuuuu ccagaggagu guuuuauccu gaaaaagugu	180
uuagauucu ugugcugcac agcacacagg accuguuucu gccauuuuu agcaauguga	240
caugguuua ugcaauucau gugucuggaa caaauugaac aaaaagauuu gauaauccug	300
ugcugccuuu uaaugaugga guguuuuug cuucaacaga aaagucuuu auuuuuagag	360
gauggauuuu uggaacaaca cuggauucua aaacacaguc ucugcugauu gugaauaauug	420
caacaaauug ggugauuuu gugugugaau uucaguuuug uaaugauccu uuucugggag	480
uguauuuaua caaaaaauu aaauucugga uggaauucua auuuagagug uauuccucug	540
caauuuuuug uacauuuuag uauuguguc agccuuuuu gauggaucug gaaggaaaac	600
agggcauuu uaaaaaucug agagaauuug uguuuuuuu uauugaugga uuuuuuuuu	660
uuuuuucuaa acacacacca auuuuuuuag ugagagauu gccucaggga uuucugcuc	720
uggaaccucu gguggaucug ccaauuggca uuaauuuuac aagauuucag acacugcugg	780
cucugcacag aucuuauucug acaccuggag auucuuucuc uggauggaca gccggagcug	840
cagcuuuuuu ugugggcuau cugcagccaa gaacuuuuu gcugaaauu aaugaaaauug	900
gaacauuuu agaugcugug gauugugcuc uggauccucu gucugaaaca aauguaucuu	960
uuuuuucuuu uacaguggaa aaaggcauuu aucagacauc uuuuuuuaga gugcagccaa	1020
cagaauucuu ugugagauuu ccaauuuuu caaauucugug uccauuugga gaaguuuuu	1080
augcaacaag auuugcaucu guguaugcau ggaauagaaa aagaauuuc uauugugugg	1140
cugauuuuuc ugugcugauu aaugugcuu cuuuuuccac auuuuuuuu uauugagugu	1200
cuccaacaaa auuuuuuuu uauuuuuuu caaauugua ugcugauuc uuuugauca	1260
gaggugauga agugagacag auugccccc gacagacagg aaaaauugcu gauuacauu	1320
acaaucugcc ugaugauuuu acaggauugug ugaauugcuu gaauucuuu auuuuagauu	1380
cuaaaguggg aggaauuuu aaauaucugu acagacuguu uagaaaau aaucugaaac	1440
cuuuuugaag agauuuuuu acagaaauuu aucaggcugg aucaaacuu uguaauugag	1500
uggaaggauu uauuuguuu uuuccauuac agagcuauug auuucagcca accaauugug	1560

ugggauauca gccauauaga gugguggugc ugucuuuuga acugcugcau gcaccugcaa	1620
cagugugugg accuaaaaaa ucuacaaaau uagugaaaaa uaaaugugug aauuuuaauu	1680
uuauuggauu aacaggaaca ggagugcuga cagaaucaaa uaaaaauuu cugccuuuuc	1740
agcaguuggg cagagauauu gcagauacca cagaugcagu gagagauccu cagacauuag	1800
aaauucugga uauuacaccu uguucuuuug gggguguguc ugugauuaca ccuggaacaa	1860
auacaucaaa ucagguggcu gugcuguauc aggauugugaa uuguacagaa gugccagugg	1920
caauucaugc agaucagcug acaccaacau ggagagugua uucuacagga ucuaaugugu	1980
uucagacaag agcaggaugu cugauuggag cagaacaugu gaauaaauuc uaugaauug	2040
auauuccaau uggagcaggc auuugugcau cuuaucagac acagacaaau ucccaagga	2100
gagcaagauc uguggcaucu cagucuaaua uugcauacac caugucucug ggagcagaaa	2160
auucuguggc auauucuaau aaauucuuug cuauuccaac aaaaauuacc auuucuguga	2220
caacagaaau uuuaccugug ucuauagaca aaacaucugu ggauuguacc auguacauuu	2280
guggagauuc uacagaauu ucuaucugc ugcugcagua uggauuuuu uguacacagc	2340
ugaauagagc uuuacagga auugcugugg aacaggauaa aaauacacag gaaguguuug	2400
cucaggugaa acagauuuac aaaacaccac cauuuaaaga uuuuggagga uuuauuuua	2460
gccagauucu gccugauccu ucuaaaccuu cuaaaagauc uuuuauugaa gaucugcugu	2520
uuauuaaagu gacacuggca gaugcaggau uuauuaaaca guauggagau ugccugggug	2580
auauugcugc aagagaucug auuugugcuc agaaauuuua uggacugaca gugcugccuc	2640
cucugcugac agaagaaaug auugcucagu acacaucugc uuuacuggcu ggaacauua	2700
caagcggau gacauuugga gcuggagcug cucugcagau uccuuuugca augcagaugg	2760
cuuacagauu uaauugaaau ggagugacac agaauuguu auauaaaaa cagaaacuga	2820
uugcaauca guuuauuuc gcaauuggca aaauucagga uucucugucu ucuacagcuu	2880
cugcucuggg aaacugcag gaugugguga aucagaauuc acaggcacug aaucucugg	2940
ugaaacagcu gucuagcaau uuuggggcaa uuucuuucgu gcugaaugau auucugucua	3000
gacuggauc uccugaagcu gaagucgaga uugauagacu gaucacagga agacugcagu	3060
cucugcagac uuauugaca cagcagcuga uuagagcugc ugaaaauaga gcuucugcua	3120
aucuggcugc uacaaaaaau ucugaauug ugcugggaca gucaaaaaga guggauuuuu	3180
guggaaaagg auaucaucug augucuuuuc cacagucugc uccacaugga gugguguuuu	3240
uacauugac auauugcca gcacaggaaa agaauuuuac cacagcacca gcauuuugc	3300
augauggaaa agcacaauuu ccaagagaag gaguguuugu gucuauugga acacauuggu	3360
uugugacaca gagaaaauuu uaugaaccuc agauuuuac aacagauau acauuugugu	3420

caggaaaauug ugauguggug auuggaaauug ugaauaaauac aguguaugau ccacugcagc	3480
cagaacugga uucuuuuuaa gaagaacugg auaaaauuuu uaaaaaucac acaucuccug	3540
auguggauuu aggagauuu ucuggaauca augcaucugu ggugaauuu cagaaagaaa	3600
uugauagacu gaaugaagug gccaaaaauc ugaaugaauuc ucugauugau cugcaggaac	3660
uuggaaaaua ugaacaguac auuaaauggc cuugguacau uuggcuugga uuuauugcag	3720
gauuaauugc aaugugaug gugacaauua uguuauguug uaugacauca uguuguucuu	3780
guuuuuuagg auguuguucu uguggaagcu guuguuuuu ugaugaagau gauucugaac	3840
cuguguuuuaa aggagugaaa uugcauuaca caugaugacu cgagcuggua cugcaugcac	3900
gcaaugcuag cugcccccuu cccguccugg guaccccag ucucucccga ccucgggucc	3960
cagguaugcu cccaccucca ccugcccccac ucaccaccuc ugcuauguucc agacaccucc	4020
caagcacgca gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acacccccac gggaaacagc	4080
agugauuaac cuuugcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccaggguugg	4140
ucauuuucgu gccagccaca ccugggagcu agcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	4200
aaagcauug acuaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	4260
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa	4283
<210> 20	
<211> 4283	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> RBP020.2	
<400> 20	
agaauaaacu aguauucuuc uggucuccac agacucagag agaaccgcc accauguucg	60
uguuccuggu gcugcugccu cuggugucca gccagugugu gaaccugacc accagaacac	120
agcugccucc agccuacacc aacagcuuaa ccagaggcgu guacuacccc gacaaggugu	180
ucagauccag cgugcugcac ucuacccagg accuguuccu gccuuucuuc agcaacguga	240
ccugguucca cgccauccac guguccgga ccaauggcac caagagauuc gacaaccccg	300
ugcugcccuu caacgacggg guguacuuug ccagcaccga gaaguccaac aucaucagag	360
gcuggaucuu cggcaccaca cuggacagca agaccagag ccugcugauc gugaacaacg	420
ccaccaacgu ggucaucaa gugugcgagu uccaguucug caacgacccc uuccugggcg	480
ucuacuacca caagaacaac aagagcugga uggaagcga guuccgggug uacagcagcg	540
ccaacaacug caccuucgag uacgugucc agccuuuccu gauggaccug gaaggcaagc	600

agggaacuu caagaaccug cgcgaguucg uguuuuagaa caucgacggc uacuucaaga	660
ucuacagcaa gcacaccccu aucaaccucg ugcgggaucu gccucagggc uucucugcuc	720
uggaaccuccu gguggaucug cccaucggca ucaacaucac ccgguuucag acacugcugg	780
cccugcacag aagcuaccug acaccuggcg auagcagcag cggauggaca gcuggugccg	840
ccgcuuacua ugugggcuac cugcagccua gaaccuuccu gcugaaguac aacgagaacg	900
gcaccaucac cgacgccgug gauugugcuc uggauccucu gagcgagaca aagugcacc	960
ugaaguccuu caccguggaa aagggaucu accagaccag caacuuccgg gugcagccca	1020
ccgaauccau cgugcgguuc cccaauauca ccaaucugug ccccuucggc gagguguuca	1080
augccaccag auucgccucu guguacgccu ggaaccggaa gcggaucagc aaugcgugg	1140
ccgacuacuc cgugcuguac aacuccgcca gcuucagcac cuucaagugc uacggcgugu	1200
cccuuacaa gcugaacgac cugugcuuca caaacgugua cgccgacagc uucgugauc	1260
ggggagauga agugcgcgag auugccccug gacagacagg caagaucgcc gacuacaacu	1320
acaagcugcc cgacgacuuc accggcugug ugaaugccug gaacagcaac aaccuggacu	1380
ccaaagucgg cggaacuac aauuaccugu accggcuguu ccggaagucc aaucugaagc	1440
ccuucgagcg ggacaucucc accgagaucu aucaggccgg cagcaccccu uguaacggcg	1500
uggaaggcuu caacugcuac uucccacugc aguuccuacgg cuuucagccc acaauggcg	1560
ugggcuauc gcccuaaga gugguggugc ugagcuucga acugcugcau gccccugcca	1620
cagugugcgg ccuaagaaa agcaccaauc ucgugaagaa caaaucgug 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 gugcccgugg	1920
ccauucacgc cgauacguc acaccuacau ggcgggugua cuccaccggc agcaaugugu	1980
uucagaccag agccggcugu cugaucggag ccgagcacgu gaacaauagc uacgagugcg	2040
acaucuccau cggcgcugga aucugcgcca gcuaccagac acagacaaac agcccucgga	2100
gagccagaag cguggccagc cagagcauca uugccuacac aaugucucug ggcgccgaga	2160
acagcguggc cuacuccaac aacucuauug cuaucccccac caacuucacc aucagcguga	2220
ccacagagau ccugccugug uccaugacca agaccagcgu ggacugcacc auguacaucu	2280
gcggcgauuc caccgagugc uccaaccugc ugcugcagua cggcagcuuc ugcaccagc	2340
ugaauagagc ccugacaggg aucgccgugg aacaggacaa gaacacccaa gagguguucg	2400
ccaagugaa gcagaucua aagaccccuc cuaucaagga cuucggcggc uucauuuca	2460

gccagauucu gcccgauccu agcaagccca gcaagcggag cuucaucgag gaccugcugu	2520
ucaacaaagu gacacuggcc gacgccggu ucaucaagca guauggcgau ugucugggcg	2580
acauugccgc cagggaucug auuugcggc agaaguuaa cggacugaca gugcugccuc	2640
cucugcugac cgaugagaug aucgcccagu acacaucugc ccugcuggcc ggcacaauc	2700
caagcggcug gacauuugga gcaggcgccg cucugcagau ccccuuugcu augcagaugg	2760
ccuaccgguu caacggcauc ggagugaccc agaauugcu guacgagAAC cagaagcuga	2820
ucgccaacca guuacacagc 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
gcggcaaggg cuaccaccug augagcuucc cucagucugc cccucacggc gugguguuuc	3240
ugcacgugac auauugcccc 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 cagcuuacaa gaggaacugg acaaguacuu uaagaaccac acaagccccg	3540
acguggaccu gggcgauauc agcggaauc auggcagcgu cgugaacauc cagaaagaga	3600
ucgaccgguu gaacgaggug gccaaagauc ugaacgagag ccugaucgac cugcaagaac	3660
uggggaagua cgagcaguac aucaauggc ccugguacau cuggcugggc uuuaucgccg	3720
gacugauugc caucgugaug gucacaauc ugcuguguug caugaccagc ugcuguagcu	3780
gccugaaggg cuguuguagc uguggcagcu gcugcaagu cgacgaggac gauucugagc	3840
ccgugcugaa gggcgugaaa cugcacuaca caugaugacu cgagcuggua cugcaugcac	3900
gcaaugcuag cugccccuuu cccguccugg guaccccag ucuccccga ccucgggucc	3960
cagguaugcu cccaccucca ccugccccac ucaccaccuc ugcuauguu agacaccucc	4020
caagcacgca gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acacccccac gggaaacagc	4080
agugauuaac cuuuagcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccaggguugg	4140
ucaauuucgu gccagccaca ccugggagcu agcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	4200
aaagcauug acuaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	4260
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa	4283