

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成21年8月13日(2009.8.13)

【公表番号】特表2004-525898(P2004-525898A)

【公表日】平成16年8月26日(2004.8.26)

【年通号数】公開・登録公報2004-033

【出願番号】特願2002-565572(P2002-565572)

【国際特許分類】

A 6 1 K	9/127	(2006.01)
A 6 1 K	9/51	(2006.01)
A 6 1 K	31/7052	(2006.01)
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)
A 6 1 K	31/711	(2006.01)
A 6 1 K	47/14	(2006.01)
A 6 1 K	47/18	(2006.01)
A 6 1 K	47/24	(2006.01)
A 6 1 K	47/28	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	9/127
A 6 1 K	9/51
A 6 1 K	31/7052
A 6 1 K	31/7105
A 6 1 K	31/711
A 6 1 K	47/14
A 6 1 K	47/18
A 6 1 K	47/24
A 6 1 K	47/28
A 6 1 P	35/00
A 6 1 K	37/02
C 1 2 N	15/00

A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成21年6月24日(2009.6.24)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

少なくとも1種の正電荷担体と、該正電荷担体と異なる少なくとも1種の負電荷担体とを含む両性リポソームであって、該リポソームが4～8の間に等電点を有し、該リポソームが、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィンゴ脂質及び/又はジアクリルグリセロールからなる群より選ばれた中性脂質を含むことを特徴とする、両性リポソーム。

【請求項2】

前記リポソームが、5～7の間に等電点を有する、請求項1記載の両性リポソーム。

【請求項3】

少なくとも1種の両性電荷担体を含む両性リポソームであって、該両性電荷担体が4～8のpH範囲内で可逆的に再荷電可能であり、該リポソームが、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィンゴ脂質及び／又はジアクリルグリセロールからなる群より選ばれた中性脂質を含むことを特徴とする、両性リポソーム。

【請求項4】

前記両性荷電担体が、5～7の間に等電点を有する、請求項1～3のいずれか1項に記載の両性リポソーム。

【請求項5】

少なくとも1種の両性電荷担体と、少なくとも1種の陰イオン及び／又は陽イオン電荷担体とを含む両性リポソームであって、前記両性荷電担体が4～8のpH範囲内で可逆的に再充填可能であり、前記リポソームが、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィンゴ脂質及び／又はジアクリルグリセロールからなる群より選ばれた中性脂質を含むことを特徴とする、両性リポソーム。

【請求項6】

前記リポソームが、5～7の間に等電点を有する、請求項5記載の両性リポソーム。

【請求項7】

前記リポソームが、50～1000nmの平均サイズを有する、請求項1～6のいずれか1項に記載の両性リポソーム。

【請求項8】

有効成分を含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の両性リポソーム。

【請求項9】

前記有効成分がタンパク質、ペプチド、DNA、RNA、アンチセンスヌクレオチド及び／又はデコイヌクレオチドである、請求項8に記載の両性リポソーム。

【請求項10】

有効成分の少なくとも80%が前記リポソームの内部にある、請求項8又は9に記載の両性リポソーム。

【請求項11】

請求項8～10のいずれか1項に記載の有効成分をリポソームに充填する方法であって、封入するために決められたpHが用いられ、結合していない物質を分離するために第二pHが用いられる特徴とする方法。

【請求項12】

請求項8～10のいずれか1項に記載の有効成分をリポソームに充填する方法であって、該リポソームが決められたpHで透過化処理され閉鎖されることを特徴とする方法。

【請求項13】

ナノカプセルを製造するための請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

【請求項14】

診断における放出システムを製造するための請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

【請求項15】

請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームを含む、有効成分を運搬及び／又は放出するための医薬製剤。

【請求項16】

請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームを含む、徐放性製剤。

【請求項17】

請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームを含む、循環デボ。

**【請求項 18】**

請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載のリポソームを含む、ベクター。

**【請求項 19】**

ヒトに使用することを除く、有効成分を運搬及び / 又は放出するための請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載のリポソームの使用。

**【請求項 20】**

ヒトに使用することを除く、徐放性製剤及び / 又は循環デポとしての請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載のリポソームの使用。

**【請求項 21】**

ヒトに使用することを除く、ベクターとしての請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載のリポソームの使用。

**【誤訳訂正 2】**

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0003

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0003】

本発明の目的は、等電点が 4 ~ 8 の間にある、少なくとも 1 種の正電荷担体と少なくとも 1 種の負電荷担体とを含む両性リポソームによって達成される。本目的は、リポソームが pH 依存性の変化する電荷により調製される事実に基づいて達成される。

所望の性質をもつリポソーム構造は、例えば、膜形成型又は膜固定型陽イオン電荷担体の量が低 pH の陰イオン電荷担体の量を超えるとともに割合が高い pH においては逆転する場合に形成される。このことは、イオン性成分の pKa 値が 4 ~ 9 の間にある場合に常にあてはまる。媒体の pH が下がるにつれて、カチオン電荷担体はすべて更に荷電され、陰イオン電荷担体はすべてその電荷を消失する。

**【誤訳訂正 3】**

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0008

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0008】

等電点におけるリポソームの実効電荷は、0 である。等電点がおおむね選択可能な構造は、陰イオン部分と陽イオン部分を混合することにより作製し得る。

その構造は、特に、pH が下がるにつれて、分子の電荷が全体として実際には負から正に変化するように作ることができる。そのような電荷の逆反応は、その構造により製造されたリポソームが生理的相互関係で用いられる場合に特に有利である。全体が負電荷のリポソームのみが血液成分や血清成分と適合できる。正電荷により凝集を生じる。しかしながら、正電荷をもつリポソームは、融合誘導的に非常に良好であり、有効成分を細胞へ運搬することができる。それ故、電荷の pH 依存性逆反応は、化合物が負電荷をもつことから血清と適合できる化合物を作ることを可能にする。しかしながら、エンドサイトーシス吸収後、それらの電荷は逆転し、細胞内でのみ融合誘導する。

本発明の実施態様の好適実施態様においては、両性リポソームの等電点は 5 ~ 7 の間にある。

本発明は、また、等電点が 4 ~ 8 の間にある少なくとも 1 種の両性電荷担体を含む両性リポソームに関する。

好適態様においては、リポソームの両性電荷担体の等電点は 5 ~ 7 の間にある。

本発明は、また、少なくとも 1 種の両性電荷担体と陰イオン及び / 又は陽イオン電荷担体とを含む、両性リポソームに関する。

好適態様においては、両性リポソームの等電点は 5 ~ 7 の間にある。

本発明の特別の態様においては、本発明のリポソームは、ホスファチジルコリン、ホス

ファチジルエタノールアミン、ジアシルグリセロール、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィンゴ脂質、及び/又はジアシルグリセロールを含んでいる。しかしながら、リポソームの調製は、本発明の教示の多くの脂質を組合わせて行うことができることは当然のことである。例えば、リポソームは多量のCHEMS（約40%）と少量のDOTAP（約30%）を用いて合成することができる。CHEMSのカルボキシル基のpKにおけるこの成分の負電荷はこれまですでに抑えられ、正電荷担体が全体を支配している。代替的製剤は、CHEMSとHis-Cholとの混合であり、正電荷担体HistCholの強い荷電が負のCHEMSの放電と相乗作用的に進む。

【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0012

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0012】

本発明の教示の好適態様は、生体内条件下で治療適用又は診断適用のためのリポソームの使用に関する。好ましくは、そのようなリポソームは、非特異的結合がわずかであり、それにより、生理的条件下で融合する傾向がわずかであるが、変化した条件下で強くかつ高融合コンピテンスで結合するものである。そのようなリポソームは、生理的条件下で全体の粒子が陰イオン電荷であり、pH6.5で著しく陽イオン電荷である、両性リポソームである。そのようなpH値は、リポソームの細胞へのエンドサイトーシス中に起こる。そのようなpH値は、また、腫瘍内部や皮膚の外層で起こる。低pH値は、また、生体外器官をある時間灌流することにより得ることができる。それ故、高結合強度と融合コンピテンスは、細胞又は特殊な組織によってすでに吸収されたリポソームに限定される。結合強度と増加する融合コンピテンスは、リポソーム膜と細胞膜との融合を支持する。この事象により、エンドソームの溶解の成分を放出させずに、それにより、カーゴ又は細胞成分を危うくすることなく、カーゴが細胞の内部へ直接放出されることになる。

更に、徐放性製剤及び/又は循環デポとしてのリポソームの使用も適する。リポソームは、また、静脈内適用又は腹腔適用に有利に使用し得る。本発明の特に好ましい態様においては、リポソームは細胞の生体内、試験管内、生体外トランスフェクションのベクターとして用いられる。

本発明のリポソームは、いくつかの利点がある。40%のHisCholとPCの陽イオン的に再荷電可能なリポソームは、中性pHの条件下でさえもDNAのような核酸を膜に結合する。

驚くべきことに、上記リポソームが5%のPGを更に用いて製造され、その後、両性の性質をもつ場合には、この結合は完全に抑えられる。しかしながら、膜への核酸の結合は、pHを下げるにより再び回復し得る。それ故、本発明のリポソームは、核酸のpH依存性結合に特に良く適している。