

【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 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 4 年 1 月 20 日 (2022.1.20)

【公開番号】特開 2022-8474 (P2022-8474A)

【公開日】令和 4 年 1 月 13 日 (2022.1.13)

【年通号数】公開公報 (特許) 2022-005

【出願番号】特願 2021-153626 (P2021-153626)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

10

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

C 0 7 K 14/435 (2006.01)

A 6 1 P 25/04 (2006.01)

A 6 1 P 29/02 (2006.01)

20

A 6 1 K 38/17 (2006.01)

A 6 1 K 47/64 (2017.01)

A 6 1 K 47/60 (2017.01)

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/12 Z N A

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 1/15

30

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02 C

C 0 7 K 14/435

A 6 1 P 25/04

A 6 1 P 29/02

A 6 1 K 38/17

A 6 1 K 47/64

A 6 1 K 47/60

40

A 6 1 K 47/68

A 6 1 K 39/395 Y

A 6 1 K 39/395 W

【手続補正書】

【提出日】令和 4 年 1 月 6 日 (2022.1.6)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

50

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

単離されたプロトキシン - I I 変異体であって、ヒト N a v 1.7 の阻害について 1 0 0 n M 以下の I C₅₀ を有し、かつ、配列番号 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、32、33、34、37、38、39、40、42、43、45、46、47、48、53、56、57、58、59、60、63、64、65、66、67、72、74、78、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、121、122、123、129、131、132、133、134、135、136、138、139、140、141、142、145、146、147、149、150、151、152、153、154、156、158、159、160、161、163、172、173、175、176、177、178、183、184、185、186、189、190、191、192、193、194、196、197、198、199、200、202、205、207、210、211、216、217、224、225、228、229、230、236、237、238、250、256、257、259、260、262、268、269、270、271、272、273、274、275、277、278、279、280、281、282、283、284、287、288、289、290、291、292、294、297、298、299、300、301、302、304、305、307、308、309、310、312、314、315、318、219、320、321、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331、333、335、343、344、345、347、348、349、350、352、355、357、360、363、416、417、418、419、420、421、422、423、424、425、426、427、428、429、430、431、434、435、436、437、438、439、440、441、442、444、446、447、448、450、451、452、453、454、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、468、469、471、472、473、474、475、476、477、478、479、480、481、482、483、484、485、486、487、489、490、491、492、493、494、495、497、498、499、500、501、502、503、504、505、507、508、509、510、512、213、514、515、516、518、522、523、524、525、526、527、528、529、530、531、532、533、534、535、536、537、538、539、541、542、543、544、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、562、564、565、566、567、568、569、570、571、572、573、574、575、576、577、578、579、580、581、582、583、584、586、587、588、590、591、593、594、595、598、600、601、603、604、606、607、608、609、610、611、616、617、618、619、620、621、622、623、625、626、627、628、630、631、632、633、634、635、636、637、638、639、640、641、642、643、645、646、647、648、649、650、651、652、653、654、655、656、657、658、659、660、661、662、680、685、686、687、688、689、690、691、692、693、694、695、696、697、698、699、700、701、702、703、704、705、706、707、708、709、710、711、712、713、714、715、716、717、718、719、720、721、722、723、724、725、726、727、728、729、730、731、732、733、734、735、736 およ

10

20

30

40

50

び 7 3 7 からなる群より選択されるアミノ酸配列を有する、前記単離されたプロトキシニン - I I 変異体。

【請求項 2】

前記プロトキシニン - I I 変異体が、ヒト Nav 1.7 の阻害について 30 nM 以下の IC₅₀ を有し、かつ、配列番号 11、12、14、15、16、17、18、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、34、37、39、40、43、44、45、56、59、64、65、66、67、78、109、110、111、112、114、115、116、117、118、119、121、122、123、129、131、132、133、134、135、136、138、139、140、141、142、145、146、147、149、150、151、152、153、154、156、158、159、172、173、175、177、178、183、184、185、186、189、190、193、196、197、199、205、207、210、211、216、217、224、230、250、269、270、271、272、273、274、275、277、278、279、280、281、282、283、284、287、288、289、290、291、292、297、298、299、301、302、304、307、308、309、310、312、314、315、318、319、320、321、322、323、324、325、326、333、335、416、417、422、424、425、426、427、428、431、434、435、436、437、438、439、440、441、442、444、446、447、448、450、451、452、453、454、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、468、469、471、472、473、474、475、476、477、478、478、480、481、482、483、484、485、486、487、489、490、491、492、493、494、495、497、498、499、500、501、502、503、504、505、507、508、509、510、512、513、514、515、516、518、522、523、616、617、618、619、620、621、622、623 および 680 からなる群より選択されるアミノ酸配列を有する、請求項 1 に記載の単離されたプロトキシニン - I I 変異体。

10

20

【請求項 3】

30

単離されたプロトキシニン - I I 変異体であって、以下の配列：

X₁ X₂ X₃ C X₄ X₅ W X₆ Q X₇ C X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ C C X₁₃ X₁₄ F
X₁₅ C X₁₆ L W C X₁₇ K K L L (配列番号 432)

(ここで、X₁ は、G、P、A または欠失であり；

X₂ は、P、A または欠失であり；

X₃ は、S、Q、A、R または Y であり；

X₄ は、Q、R、K、A または S であり；

X₅ は、K、S、Q または R であり；

X₆ は、M または F であり；

X₇ は、T、S、R、K または Q であり；

40

X₈ は、D または T であり；

X₉ は、S、A または R であり；

X₁₀ は、E、R、N、K、T または Q であり；

X₁₁ は、R または K であり；

X₁₂ は、K、Q、S または A であり；

X₁₃ は、E、Q または D であり；

X₁₄ は、G または Q であり；

X₁₅ は、V または S であり；

X₁₆ は、R または T であり；並びに、

X₁₇ は、K または R である。)

50

を含み、

N末端伸長またはC末端伸長を任意に有し、

約 1×10^{-7} M以下のIC₅₀値でヒトNav1.7活性を阻害し、前記IC₅₀値は、ヒトNav1.7を安定発現するHEK293細胞中に 2.5×10^{-6} Mの3-ベラトロイルベラセピンの存在下で、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)を用いた膜脱分極アッセイを使用して測定される、前記単離されたプロトキシニン-I変異体。

【請求項4】

単離されたプロトキシニン-I変異体であって、以下のアミノ酸配列：

G P Q C X₁ X₂ W X₃ Q X₄ C X₅ X₆ X₇ X₈ X₉ C C X₁₀ X₁₁ F X₁₂ C X₁₃ L W C X₁₄ K K L L (配列番号433)

(ここで、X₁は、Q、R、K、AまたはSであり；

X₂は、K、S、QまたはRであり；

X₃は、MまたはFであり；

X₄は、T、S、R、KまたはQであり；

X₅は、DまたはTであり；

X₆は、S、AまたはRであり；

X₇は、E、R、N、K、TまたはQであり；

X₈は、RまたはKであり；

X₉は、K、Q、SまたはAであり；

X₁₀は、E、QまたはDであり；

X₁₁は、GまたはQであり；

X₁₂は、VまたはSであり；

X₁₃は、RまたはTであり；並びに、

X₁₄は、KまたはRである。)

を含み、

約 3×10^{-8} M以下のIC₅₀値でヒトNav1.7活性を阻害し、前記IC₅₀値は、ヒトNav1.7を安定発現するHEK293細胞中に 2.5×10^{-6} Mの3-ベラトロイルベラセピンの存在下で、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)を用いた膜脱分極アッセイを使用して測定される、前記単離されたプロトキシニン-I変異体。

【請求項5】

単離されたプロトキシニン-I変異体であって、配列番号422 (G P Y C Q K W M Q T C D S E R K C C E G M V C R L W C K K K L L - C O O H) のアミノ酸配列と95%、96%、97%、98%または99%同一性のアミノ酸配列を含み、

残基の番号付けが配列番号1に従うときに、位置7におけるQ、位置30におけるLを有し、かつ

約 3.0×10^{-9} M以下のIC₅₀値でヒトNav1.7活性を阻害し、前記IC₅₀値は、ヒトNav1.7を安定発現するHEK293細胞中に 2.5×10^{-6} Mの3-ベラトロイルベラセピンの存在下で、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)を用いた膜脱分極アッセイを使用して測定される、前記単離されたプロトキシニン-I変異体。

【請求項6】

単離されたプロトキシニン-I変異体であって、以下の配列：

X₁ X₂ X₃ C Q K W M Q T C D X₄ X₅ R X₆ C C X₇ X₈ X₉ V C R L W C K K K X₁₀ X₁₁ (配列番号737)

(ここで、X₁は、G、P、Aまたは欠失であり；

X₂は、P、Aまたは欠失であり；

X₃は、S、Q、A、RまたはYであり；

X₄は、S、A、R、IまたはVであり；

X₅は、E、R、N、K、T、Q、Yまたはグルタミル-4-アミノブタンであり；

X₆は、K、Q、S、AまたはFであり；

X₇は、E、Q、D、L、Nまたはグルタミル-4-アミノブタンであり；

10

20

30

40

50

X₈ は、G、QまたはPであり；

X₉ は、MまたはFであり；

X₁₀ は、LまたはVであり；並びに、

X₁₁ は、WまたはLである。）

を含み、

約 1×10^{-7} M以下、約 1×10^{-8} M以下、約 1×10^{-9} M以下、約 1×10^{-10} M以下、約 1×10^{-11} M以下、または約 1×10^{-12} M以下の IC₅₀ 値でヒトNav1.7活性を阻害し、前記 IC₅₀ 値は、ヒトNav1.7を安定発現するHEK293細胞中に 2.5×10^{-6} Mの3-ベラトロイルベラセピンの存在下で、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)を用いた膜脱分極アッセイを使用して測定される、前記単離されたプロトキシニン - II変異体。

10

【請求項7】

単離されたプロトキシニン - II変異体であって、以下の配列：

X₁X₂X₃CX₄X₅WX₆QX₇CX₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂CCX₁₃X₁₄F
X₁₅CX₁₆LWCX₁₇KKLW(配列番号403)

(ここで、X₁は、G、P、Aまたは欠失であり；

X₂は、P、Aまたは欠失であり；

X₃は、S、Q、A、RまたはYであり；

X₄は、Q、R、K、AまたはSであり；

X₅は、K、S、QまたはRであり；

X₆は、MまたはFであり；

X₇は、T、S、R、KまたはQであり；

X₈は、DまたはTであり；

X₉は、S、AまたはRであり；

X₁₀は、E、R、N、K、TまたはQであり；

X₁₁は、RまたはKであり；

X₁₂は、K、Q、SまたはAであり；

X₁₃は、E、QまたはDであり；

X₁₄は、GまたはQであり；

X₁₅は、VまたはSであり；

X₁₆は、RまたはTであり；並びに、

X₁₇は、KまたはRである。）

を含み、

N末端伸長またはC末端伸長を任意に有し、

約 1×10^{-7} M以下の IC₅₀ 値でヒトNav1.7活性を阻害し、前記 IC₅₀ 値は、ヒトNav1.7を安定発現するHEK293細胞中に 2.5×10^{-6} Mの3-ベラトロイルベラセピンの存在下で、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)を用いた膜脱分極アッセイを使用して測定される、前記単離されたプロトキシニン - II変異体。

【請求項8】

N末端伸長またはC末端伸長を有し、前記N末端伸長が、配列番号372、373、374、375、376、377、378、379、380、381、382、383、384もしくは385のアミノ酸配列を含み、および/または、前記C末端伸長が、配列番号374、386、387、388、389、390、391、392、393、394、395、396もしくは397のアミノ酸配列を含む、請求項7に記載の単離されたプロトキシニン - II変異体。

40

【請求項9】

前記N末端伸長および/またはC末端伸長が、前記プロトキシニン - II変異体にリンカーを介して結合し、前記リンカーが、配列番号383、392、398、399、400、401または402のアミノ酸配列を含む、請求項8に記載の単離されたプロトキシニン - II変異体。

50

【請求項 10】

単離されたプロトキシニン - II 変異体であって、以下の配列：

G P Q C X₁ X₂ W X₃ Q X₄ C X₅ X₆ X₇ X₈ X₉ C C X₁₀ X₁₁ F X₁₂ C X₁₃ L W C X₁₄ K K I L W (配列番号 404)

(ここで、X₁ は、Q、R、K、A または S であり；

X₂ は、K、S、Q または R であり；

X₃ は、M または F であり；

X₄ は、T、S、R、K または Q であり；

X₅ は、D または T であり；

X₆ は、S、A または R であり；

X₇ は、E、R、N、K、T または Q であり；

X₈ は、R または K であり；

X₉ は、K、Q、S または A であり；

X₁₀ は、E、Q または D であり；

X₁₁ は、G または Q であり；

X₁₂ は、V または S であり；

X₁₃ は、R または T であり；並びに、

X₁₄ は、K または R である。)

を含み、

約 3×10^{-8} M 以下の IC₅₀ 値でヒト Nav 1.7 活性を阻害する、前記単離されたプロトキシニン - II 変異体。

10

20

【請求項 11】

単離されたプロトキシニン - II 変異体であって、以下の配列：

G P X₁ C Q K W M Q X₂ C D X₃ X₄ R K C C X₅ G F X₆ C X₇ L W C X₈ K K L W (配列番号 405)

(ここで、X₁ は、Y、Q、A、S または R であり；

X₂ は、T または S であり；

X₃ は、S、R または A であり；

X₄ は、E、T または N であり；

X₅ は、E または Q であり；

X₆ は、V または S であり；

X₇ は、R または T であり；並びに、

X₈ は、K または R である。)

を含み、

約 3×10^{-8} M 以下の IC₅₀ 値でヒト Nav 1.7 活性を阻害し、ヒト Nav 1.7 を選択的に阻害する、前記単離されたプロトキシニン - II 変異体。

30

【請求項 12】

単離されたプロトキシニン - II 変異体であって、以下の配列：

G P Q C Q K W M Q X₁ C D X₂ X₃ R K C C X₄ G F X₅ C X₆ L W X C₇ K K L W (配列番号 406)

(ここで、X₁ は、T または S であり；

X₂ は、S、R または A であり；

X₃ は、E、T または N であり；

X₄ は、E または Q であり；

X₅ は、V または S であり；

X₆ は、R または T であり；並びに、

X₇ は、K または R である。)

を含む、前記単離されたプロトキシニン - II 変異体。

40

【請求項 13】

遊離 C 末端カルボン酸、アミド、メチルアミドまたはブチルアミド基を有する、請求項

50

1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の単離されたプロトキシシン - I I 変異体。

【請求項 1 4】

半減期延長部分に結合された、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載のプロトキシシン - I I 変異体を含む、ポリペプチド。

【請求項 1 5】

前記プロトキシシン - I I 変異体と、ヒト血清アルブミン (H S A)、アルブミン結合ドメイン (A B D) または F c との融合タンパク質である、請求項 1 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6】

前記プロトキシシン - I I 変異体が、ポリエチレングリコール (P E G) に化学的に結合されている、請求項 1 5 に記載のポリペプチド。

10

【請求項 1 7】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載のプロトキシシン - I I 変異体または請求項 1 5 に記載のポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 1 8】

請求項 1 7 に記載の単離されたポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 1 9】

請求項 1 8 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 2 0】

単離されたプロトキシシン - I I 変異体または融合タンパク質を生成する方法であって、請求項 1 9 に記載の宿主細胞を培養することと、前記宿主細胞によって生成された前記プロトキシシン - I I 変異体または融合タンパク質を回収することとを含む、前記方法。

20

【請求項 2 1】

請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載のプロトキシシン - I I 変異体または請求項 1 4 ~ 1 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドと、薬学的に許容される賦形剤とを含む、医薬組成物。

【請求項 2 2】

N a v 1 . 7 を介した痛みを治療するためのものである、請求項 2 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 3】

前記痛みが、慢性の痛み、急性の痛み、神経障害性疼痛、癌による痛み、侵害受容性の痛み、内臓痛、背痛、術後の痛み、熱痛、幻肢痛、または炎症状態に付随する痛み、肢端紅痛症 (P E)、発作性高度疼痛症 (P E P D)、変形性関節症、リウマチ性関節炎、腰部椎間板切除術、膝炎、線維筋痛、有痛性糖尿病性神経障害 (P D N)、疹後神経痛 (P H N)、三叉神経痛 (T N)、脊髄損傷または多発性硬化症である、請求項 2 2 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 2 4】

前記医薬組成物が、末梢に投与されるものである、請求項 2 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 5】

前記医薬組成物が、関節、脊髄、手術創、傷害もしくは外傷部位、末梢神経線維、泌尿生殖器臓器、または炎症組織に局所的に投与されるものである、請求項 2 4 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 2 6】

痛みの治療を必要とする対象における痛みの治療に使用される、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載のプロトキシシン - I I 変異体または請求項 1 4 ~ 1 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 2 7】

前記痛みが、慢性の痛み、急性の痛み、神経障害性疼痛、癌による痛み、侵害受容性の痛み、内臓痛、背痛、術後の痛み、熱痛、幻肢痛、または炎症状態に付随する痛み、肢端紅痛症 (P E)、発作性高度疼痛症 (P E P D)、変形性関節症、リウマチ性関節炎、腰

50

部椎間板切除術、腓炎、線維筋痛、有痛性糖尿病性神経障害（PDN）、疹後神経痛（PHN）、三叉神経痛（TN）、脊髄損傷または多発性硬化症である、請求項 26 に記載のプロトキシン - II 変異体またはポリペプチド。

【請求項 28】

前記プロトキシン - II 変異体またはポリペプチドが、末梢に投与されるものである、請求項 26 に記載のプロトキシン - II 変異体またはポリペプチド。

【請求項 29】

前記プロトキシン - II 変異体またはポリペプチドが、関節、脊髄、手術創、傷害もしくは外傷部位、末梢神経線維、泌尿生殖器臓器、または炎症組織に局所的に投与されるものである、請求項 28 に記載のプロトキシン - II 変異体またはポリペプチド。

10

20

30

40

50