

【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27年11月5日(2015.11.5)

【公表番号】特表2014-527072(P2014-527072A)

【公表日】平成26年10月9日(2014.10.9)

【年通号数】公開・登録公報2014-056

【出願番号】特願2014-529962(P2014-529962)

【国際特許分類】

C 0 7 K	14/02	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/00	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	25/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/02	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 K	47/48	(2006.01)
A 6 1 K	47/42	(2006.01)

【F I】

C 0 7 K	14/02	Z N A
C 1 2 N	15/00	A
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 K	47/48	
A 6 1 K	47/42	

【手続補正書】

【提出日】平成27年9月9日(2015.9.9)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

修飾B型肝炎ウイルス(HBV)コアタンパク質をカプシド構造に集合させるための方法であって、

修飾HBVコアタンパク質および第1の濃度の変性剤を含む溶液を提供することであって、前記修飾HBVコアタンパク質のスパイク領域がシスティン残基を含むこと、

前記溶液に還元剤を添加し、

それによって、集合カプシド構造を形成することと、を含む、方法。

【請求項 2】

前記修飾 H B V コアタンパク質が、アミノ酸配列の配列番号 1 および配列番号 2 のうちの少なくとも 1 つの 1 つ以上の修飾を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記スパイク領域が、配列番号 1 および配列番号 2 のうちの少なくとも 1 つのアミノ酸 74 ~ 84 を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記修飾 H B V コアタンパク質が、配列番号 1 および配列番号 2 のうちの少なくとも 1 つのアミノ酸位置 77、79、または 80 にシステインを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記修飾 H B V コアタンパク質が、配列番号 1 および配列番号 2 のうちの少なくとも 1 つのアミノ酸位置 77 にシステインを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

前記還元剤が、-メルカプトエタノール (BME)、トリス (2-カルボキシエチル) ホスフィン (TCEP)、グルタチオン (GSH)、ジチオスレイトール (DTT)、2-メルカプトエチルアミン (BMA)、および遊離システインのうちの少なくとも 1 つである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記還元剤の前記濃度が、約 0.1 モル当量 ~ 約 100 モル当量である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

第 1 の濃度の変性剤を第 2 の濃度に希釈し、それによって、集合カプシド構造を形成することをさらに含み、前記変性剤が前記還元剤の添加前、添加中、および添加後のうちの少なくとも 1 つの時点で希釈される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 1 の濃度の変性剤が、前記還元剤の添加前、添加中、および添加後のうちの少なくとも 1 つの時点で前記第 2 の濃度に希釈される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

負に荷電されたポリマーを前記溶液に添加することをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記溶液の pH が、約 pH 7.0 以下である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

薬物を前記溶液に添加することをさらに含み、前記薬物が前記還元剤の添加前、添加中、または添加後のうちの少なくとも 1 つの時点で添加される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記薬物が、前記修飾 H B V コアタンパク質の前記アミノ酸尾部に結合する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

前記薬物が、前記還元剤の前記添加後に拡散により前記カプシド構造にカプセル封入される、および前記アミノ酸尾部に結合され、前記還元剤の添加後に前記カプシド構造にカプセル封入される、のうちの少なくとも 1 つである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

前記薬物が、核酸、ペプチド、タンパク質、および小分子からなる群から選択される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

修飾 B 型肝炎ウイルス (HBV) コアタンパク質をカプシド構造に集合させるための方法であって、

修飾 H B V コアタンパク質、および第 1 の濃度の変性剤を含む溶液を提供することと、

前記第1の濃度の変性剤を第2の濃度に希釈し、
それによって、集合カブシド構造を形成することと、を含む、方法。

【請求項17】

前記変性剤が、尿素、グアニジン塩酸塩（G u H C 1）、グアニジンチオシアノ酸塩（G I T C）、メタノール、エタノール、トリフルオロエタノール（T F E）、アセトニトリル、およびリチウム過塩化物のうちの少なくとも1つである、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記変性剤の第1の濃度が、約2M～約8Mである、請求項16に記載の方法。

【請求項19】

前記希釈ステップ後の前記変性剤の第2の濃度が、約0.25M～約4Mである、請求項16に記載の方法。

【請求項20】

負に荷電されたポリマーを前記溶液に添加することをさらに含む、請求項16に記載の方法。

【請求項21】

前記溶液のpHが、約pH7.0以下である、請求項16に記載の方法。

【請求項22】

前記希釈ステップ前に薬物を前記溶液に添加することをさらに含む、請求項16に記載の方法。

【請求項23】

前記薬物が、前記H B Vコアタンパク質の前記アミノ酸尾部に結合する、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

前記薬物が、前記アミノ酸尾部に結合され、前記希釈ステップ後に前記カブシド構造にカブセル封入される、および前記希釈ステップ後に拡散により前記カブシド構造にカブセル封入される、のうちの少なくとも1つである、請求項23に記載の方法。

【請求項25】

前記薬物が、核酸、ペプチド、タンパク質、および小分子からなる群から選択される、請求項22に記載の方法。

【請求項26】

前記H B Vコアタンパク質が、アミノ酸配列の配列番号1および配列番号2のうちの少なくとも1つにおいて1つ以上の修飾を含む修飾H B Vコアタンパク質である、請求項16に記載の方法。

【請求項27】

前記修飾H B Vコアタンパク質が、C末端切り詰め変異体である、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

1～4つのアルギニンに富む反復が、前記修飾H B Vコアタンパク質のカルボキシル末端から切り詰められる、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

前記C末端切り詰め変異体が、配列番号9、配列番号10、配列番号11、および配列番号6のうちの少なくとも1つから選択される、請求項27に記載の方法。

【請求項30】

前記修飾H B Vコアタンパク質が、カルボキシル末端アミノ酸尾部をさらに含む、請求項26に記載の方法。

【請求項31】

前記アミノ酸尾部が、野生型尾部および合成尾部のうちの少なくとも1つである、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

前記アミノ酸尾部が、正に荷電される、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記正に荷電されたアミノ酸尾部が、リジンに富む尾部およびアルギニンに富む尾部のうちの少なくとも 1 つである、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記リジンに富む尾部が、約 4 ~ 約 3 0 リジン、および約 4 ~ 約 3 0 リジンのリジンドメインのうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記リジンドメインが、約 9 リジンである、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記集合カプシド構造の形成を測定すること、および前記集合カプシド構造を精製すること、のうちの少なくとも 1 つをさらに含む、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 3 7】

請求項 1 に記載の方法により生成されるウイルス性カプシド。

【請求項 3 8】

請求項 1 6 に記載の方法により生成されるウイルス性カプシド。

【請求項 3 9】

B 型肝炎ウイルス (HBV) コアタンパク質をカプシド構造に集合させるための方法であって、

修飾 HBV コアタンパク質および第 1 の濃度の変性剤を含む溶液を提供することであって、前記修飾 HBV コアタンパク質のスパイク領域がシステイン残基を含むことと、

薬物を前記溶液に添加することと、

還元剤を前記溶液に添加することであって、前記薬物が、前記還元剤の前記添加前に前記溶液に添加されることと、

前記還元剤の前記添加後に前記第 1 の濃度の前記変性剤を第 2 の濃度に希釈することであって、前記薬物が前記変性剤の希釈前に前記溶液に添加され、

それによって、集合カプシド構造を形成し、前記薬剤が前記カプシド構造にカプセル封入されることと、を含む、方法。

【請求項 4 0】

治療のための組成物であって、

適切な治療薬を保持し、薬学的に許容される担体を伴う修飾 B 型肝炎ウイルス (HBV) コアタンパク質ウイルス性カプシドを含む、組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 3】

本発明のこれらの特徴および利点は、次の説明および添付の特許請求の範囲からより完全に明らかになるか、または以下に記載される本発明の実践により学ぶことができるだろう。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

修飾 B 型肝炎ウイルス (HBV) コアタンパク質をカプシド構造に集合させるための方法であって、

修飾 HBV コアタンパク質および第 1 の濃度の変性剤を含む溶液を提供することであって、前記修飾 HBV コアタンパク質のスパイク領域がシステイン残基を含むことと、前記溶液に還元剤を添加し、

それによって、集合カプシド構造を形成することと、を含む、方法。

(項目 2)

前記修飾 H B V コアタンパク質が、アミノ酸配列の配列番号 1 および配列番号 2 のうちの少なくとも 1 つの 1 つ以上の修飾を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記スパイク領域が、配列番号 1 および配列番号 2 のうちの少なくとも 1 つのアミノ酸 74 ~ 84 を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 4)

前記修飾 H B V コアタンパク質が、配列番号 1 および配列番号 2 のうちの少なくとも 1 つのアミノ酸位置 77、79、または 80 にシステインを含む、項目 2 に記載の方法。

(項目 5)

前記修飾 H B V コアタンパク質が、配列番号 1 および配列番号 2 のうちの少なくとも 1 つのアミノ酸位置 77 にシステインを含む、項目 2 に記載の方法。

(項目 6)

前記還元剤が、-メルカプトエタノール (BME)、トリス (2-カルボキシエチル) ホスフィン (TCEP)、グルタチオン (GSH)、ジチオスレイトール (DTT)、2-メルカプトエチルアミン (BMA)、および遊離システインのうちの少なくとも 1 つである、項目 1 に記載の方法。

(項目 7)

前記還元剤の前記濃度が、約 0.1 モル当量 ~ 約 100 モル当量である、項目 1 に記載の方法。

(項目 8)

第 1 の濃度の変性剤を第 2 の濃度に希釈し、それによって、集合カプシド構造を形成することをさらに含み、前記変性剤が前記還元剤の添加前、添加中、および添加後のうちの少なくとも 1 つの時点で希釈される、項目 1 に記載の方法。

(項目 9)

前記第 1 の濃度の変性剤が、前記還元剤の添加前、添加中、および添加後のうちの少なくとも 1 つの時点で前記第 2 の濃度に希釈される、項目 8 に記載の方法。

(項目 10)

負に荷電されたポリマーを前記溶液に添加することをさらに含む、項目 1 に記載の方法。
。

(項目 11)

前記溶液の pH が、約 pH 7.0 以下である、項目 1 に記載の方法。

(項目 12)

薬物を前記溶液に添加することをさらに含み、前記薬物が前記還元剤の添加前、添加中、または添加後のうちの少なくとも 1 つの時点で添加される、項目 1 に記載の方法。

(項目 13)

前記薬物が、前記修飾 H B V コアタンパク質の前記アミノ酸尾部に結合する、項目 1 に記載の方法。

(項目 14)

前記薬物が、前記還元剤の前記添加後に拡散により前記カプシド構造にカプセル封入される、および前記アミノ酸尾部に結合され、前記還元剤の添加後に前記カプシド構造にカプセル封入される、のうちの少なくとも 1 つである、項目 1 に記載の方法。

(項目 15)

前記薬物が、核酸、ペプチド、タンパク質、および小分子からなる群から選択される、項目 14 に記載の方法。

(項目 16)

修飾 B 型肝炎ウイルス (HBV) コアタンパク質をカプシド構造に集合させるための方法であって、

修飾 H B V コアタンパク質、および第 1 の濃度の変性剤を含む溶液を提供することと、

前記第 1 の濃度の変性剤を第 2 の濃度に希釈し、

それによって、集合カプシド構造を形成することと、を含む、方法。

(項目 17)

前記変性剤が、尿素、グアニジン塩酸塩 (G u H C 1)、グアニジンチオシアノ酸塩 (G I T C)、メタノール、エタノール、トリフルオロエタノール (T F E)、アセトニトリル、およびリチウム過塩化物のうちの少なくとも 1 つである、項目 16 に記載の方法。

(項目 18)

前記変性剤の第 1 の濃度が、約 2 M ~ 約 8 M である、項目 16 に記載の方法。

(項目 19)

前記希釈ステップ後の前記変性剤の第 2 の濃度が、約 0 . 2 5 M ~ 約 4 M である、項目 16 に記載の方法。

(項目 20)

負に荷電されたポリマーを前記溶液に添加することをさらに含む、項目 16 に記載の方法。

(項目 21)

前記溶液の pH が、約 pH 7 . 0 以下である、項目 16 に記載の方法。

(項目 22)

前記希釈ステップ前に薬物を前記溶液に添加することをさらに含む、項目 16 に記載の方法。

(項目 23)

前記薬物が、前記 H B V コアタンパク質の前記アミノ酸尾部に結合する、項目 22 に記載の方法。

(項目 24)

前記薬物が、前記アミノ酸尾部に結合され、前記希釈ステップ後に前記カプシド構造にカプセル封入される、および前記希釈ステップ後に拡散により前記カプシド構造にカプセル封入される、のうちの少なくとも 1 つである、項目 23 に記載の方法。

(項目 25)

前記薬物が、核酸、ペプチド、タンパク質、および小分子からなる群から選択される、項目 22 に記載の方法。

(項目 26)

前記 H B V コアタンパク質が、アミノ酸配列の配列番号 1 および配列番号 2 のうちの少なくとも 1 つにおいて 1 つ以上の修飾を含む修飾 H B V コアタンパク質である、項目 16 に記載の方法。

(項目 27)

前記修飾 H B V コアタンパク質が、C 末端切り詰め変異体である、項目 26 に記載の方法。

(項目 28)

1 ~ 4 つのアルギニンに富む反復が、前記修飾 H B V コアタンパク質のカルボキシル末端から切り詰められる、項目 27 に記載の方法。

(項目 29)

前記 C 末端切り詰め変異体が、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、および配列番号 6 のうちの少なくとも 1 つから選択される、項目 27 に記載の方法。

(項目 30)

前記修飾 H B V コアタンパク質が、カルボキシル末端アミノ酸尾部をさらに含む、項目 26 に記載の方法。

(項目 31)

前記アミノ酸尾部が、野生型尾部および合成尾部のうちの少なくとも 1 つである、項目 30 に記載の方法。

(項目 32)

前記アミノ酸尾部が、正に荷電される、項目 30 に記載の方法。

(項目 33)

前記正に荷電されたアミノ酸尾部が、リジンに富む尾部およびアルギニンに富む尾部のうちの少なくとも1つである、項目32に記載の方法。

(項目34)

前記リジンに富む尾部が、約4～約30リジン、および約4～約30リジンのリジンドメインのうちの少なくとも1つを含む、項目33に記載の方法。

(項目35)

前記リジンドメインが、約9リジンである、項目34に記載の方法。

(項目36)

前記集合カプシド構造の形成を測定すること、および前記集合カプシド構造を精製すること、のうちの少なくとも1つをさらに含む、項目26に記載の方法。

(項目37)

項目1に記載の方法により生成されるウイルス性カプシド。

(項目38)

項目16に記載の方法により生成されるウイルス性カプシド。

(項目39)

B型肝炎ウイルス(HBV)コアタンパク質をカプシド構造に集合させるための方法であって、

修飾HBVコアタンパク質および第1の濃度の変性剤を含む溶液を提供することであって、前記修飾HBVコアタンパク質のスパイク領域がシスティン残基を含むことと、薬物を前記溶液に添加することと、

還元剤を前記溶液に添加することであって、前記薬物が、前記還元剤の前記添加前に前記溶液に添加されることと、

前記還元剤の前記添加後に前記第1の濃度の前記変性剤を第2の濃度に希釈することであって、前記薬物が前記変性剤の希釈前に前記溶液に添加され、

それによって、集合カプシド構造を形成し、前記薬剤が前記カプシド構造にカプセル封入されることと、を含む、方法。

(項目40)

治療の方法であって、

治療を必要とする患者に、適切な治療薬を保持し、薬学的に許容される担体を伴う修飾B型肝炎ウイルス(HBV)コアタンパク質ウイルス性カプシドを投与することを含む、方法。