

【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 28 年 9 月 15 日 (2016.9.15)

【公表番号】特表 2015-527343 (P2015-527343A)

【公表日】平成 27 年 9 月 17 日 (2015.9.17)

【年通号数】公開・登録公報 2015-058

【出願番号】特願 2015-525636 (P2015-525636)

【国際特許分類】

A 6 1 K 47/42 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 47/42

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成 28 年 7 月 29 日 (2016.7.29)

【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】

細胞内部位へ治療剤を送達する方法であって、担体を含む組成物を細胞へ提供する工程であって、前記担体は、前記担体の細胞内標的化を向上させる 1 つまたは複数の変異を含むペントンベース (P B) ポリペプチドを含む、工程を含む、方法。

【請求項 2】

前記 1 つまたは複数の変異を含む P B ポリペプチドが 1 1 1 C または 3 3 3 F である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記担体が、細胞質または細胞核を標的とする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記担体が、治療薬または遺伝子と複合体化している、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記細胞が、腫瘍細胞である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記 P B ポリペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19 または配列番号 20 による配列を含む、請求項 1、4 または 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記 1 つまたは複数の変異が、Met 1 Thr、Leu 60 Trp、Lys 375 Glu、Val 449 Met、または Pro 469 Ser を含み、アミノ酸の番号付けは野生型ペントンベース配列を参照している、請求項 1、4 または 5 に記載の方法。

【請求項 8】

前記 P B ポリペプチドが C 末端欠失を含む、請求項 1、4 または 5 に記載の方法。

【請求項 9】

前記担体が正電荷を持つドメインを含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記担体がポリリシンモチーフを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記担体が細胞標的ドメインをさらに含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記細胞標的ドメインが哺乳動物細胞を標的とする、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記細胞標的ドメインが疾患細胞を標的とする、請求項 11 または 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記細胞標的ドメインが癌細胞を標的とする、請求項 11 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記細胞標的ドメインがヘレグリンまたはその変異体である、請求項 11 ~ 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

細胞小器官を標的とする薬物送達分子を生成する方法であって、

- a . ペントンベース (P B) 遺伝子をコードするポリヌクレオチドを得、前記ポリヌクレオチドの変異体を生成する工程と、
 - b . 変異ポリヌクレオチドをファージベクター内でクローニングし、前記ファージベクターを含むファージライブラリーを生成する工程と、
 - c . 細胞を前記ファージライブラリーで形質転換する工程と、
 - d . 形質転換した細胞を分画し、前記形質転換した細胞から細胞小器官を収集する工程と、
 - e . 収集した細胞小器官からファージを増幅させる工程と、
 - f . 収集した前記細胞小器官から増幅させた前記ファージで細胞を形質転換する工程と、
 - g . 工程 (d)、(e)、および (f) を反復する工程と、
 - h . 各ラウンドから収集した前記細胞小器官から前記ファージを滴定する工程と、
 - i . 最も高い力価を有するファージを選択し、前記ファージから変異ポリヌクレオチドの配列を得る工程と、
 - j . 前記配列のうちの 1 つによってコードされる変異ポリペプチドを生成する工程と、
- を含み、前記 変異ポリペプチドは前記細胞小器官を標的化する薬物送達分子である、方法。

【請求項 17】

前記細胞小器官は、ミトコンドリア、ゴルジ装置、小胞体、核、リボソーム、細胞膜および細胞質ゾルからなる群から選択される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記細胞は、哺乳動物細胞である、請求項 16 または 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記細胞は、非哺乳動物細胞である、請求項 16 または 17 に記載の方法。

【請求項 20】

変異体は、P C R ベースの方法、化学変異誘発、紫外線誘導性変異誘発またはそれらの組み合わせのいずれか一つもしくは複数を使用して生成される、請求項 16 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

前記薬物送達分子は、標的ドメイン、エンドソーム溶解性リガンドドメインおよび正電荷を持つドメインを含む、請求項 16 ~ 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

細胞内部位へ治療剤を送達するための担体であって、細胞内標的化を向上させる 1 つまたは複数の変異を含むペントンベース (PB) ポリペプチドを含む、担体。

【請求項 23】

前記 1 つまたは複数の変異を含む PB ポリペプチドが、111C または 333F である、請求項 22 に記載の担体。

【請求項 24】

前記担体が、細胞質または細胞核を標的とする、請求項 22 に記載の担体。

【請求項 25】

前記 PB ポリペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19 または配列番号 20 による配列を含む、請求項 22 に記載の担体。

【請求項 26】

前記 1 つまたは複数の変異が、Met1Thr、Leu60Trp、Lys375Glu、Val449Met、またはPro469Ser を含み、アミノ酸の番号付けは野生型ペントンベース配列を参照している、請求項 22 に記載の担体。

【請求項 27】

前記 PB ポリペプチドが C 末端欠失を含む、請求項 22 に記載の担体。

【請求項 28】

前記担体が正電荷を持つドメインを含む、請求項 22 ~ 27 のいずれか一項に記載の担体。

【請求項 29】

前記担体がポリリシンモチーフを含む、請求項 22 ~ 28 のいずれか一項に記載の担体。

【請求項 30】

前記担体が細胞標的ドメインをさらに含む、請求項 22 ~ 29 のいずれか一項に記載の担体。

【請求項 31】

前記細胞標的ドメインが哺乳動物細胞を標的とする、請求項 30 に記載の担体。

【請求項 32】

前記細胞標的ドメインが疾患細胞を標的とする、請求項 30 または 31 に記載の担体。

【請求項 33】

前記細胞標的ドメインが癌細胞を標的とする、請求項 30 ~ 32 のいずれか一項に記載の担体。

【請求項 34】

前記細胞標的ドメインがヘレグリンまたはその変異体である、請求項 30 ~ 33 のいずれか一項に記載の担体。

【請求項 35】

治療薬または遺伝子と複合体化している、請求項 30 ~ 34 のいずれか一項に記載の担体を含む、治療剤。

【請求項 36】

前記治療薬が、化学療法剤である、請求項 35 に記載の治療剤。

【請求項 37】

増殖活性を有さない担体を生成する方法であって、

(a) ヘレグリン (Her) の受容体結合ドメインをコードするポリヌクレオチドを得、前記ポリヌクレオチドの変異体を生成する工程と、

(b) 変異 H e r ポリヌクレオチドをファージベクター内でクローニングし、前記ファージベクターを含むファージライブラリーを生成する工程と、

(c) 有糸分裂阻害剤の存在下で細胞を前記ファージライブラリーで形質転換する工程と、

(d) 形質転換した細胞を分画し、前記細胞の膜分画を抽出する工程と、

(e) 前記膜分画からファージを収集する工程と、

(f) 有糸分裂阻害剤の存在下で膜分画からの前記ファージを細胞内で形質転換する工程と、

(g) 工程(d)、(e)および(f)を反復する工程と、

(h) 各ラウンドにおいて細胞の増殖をモニタし、最も低い細胞増殖を有する膜分画からのファージを選択する工程と、

(i) 選択した膜分画からのファージにおいて H e r ポリヌクレオチド変異の配列を得る工程と、

(j) H e r 配列およびペントンベース遺伝子によってコードされる変異ポリペプチドを生成する工程と、

を含み、前記変異ポリペプチドは増殖活性を有さない担体である、方法。

【請求項 38】

請求項 37 に記載の方法によって形成される、治療剤を送達するための担体。

【請求項 39】

ペントンベース(PB)ポリペプチドおよびポリリシンモチーフをコードするポリペプチドをさらに含む、請求項 38 に記載の担体。

【請求項 40】

前記 PB ポリペプチドが、変異ペントンベースタンパク質である、請求項 39 に記載の担体。

【請求項 41】

治療薬または遺伝子と複合体化されている、請求項 38 ~ 40 のいずれか一項に記載の担体を含む治療剤。

【請求項 42】

前記治療薬が化学療法剤である、請求項 41 に記載の治療剤。