

【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 25 年 9 月 12 日 (2013.9.12)

【公表番号】特表 2012-533587 (P2012-533587A)

【公表日】平成 24 年 12 月 27 日 (2012.12.27)

【年通号数】公開・登録公報 2012-055

【出願番号】特願 2012-520958 (P2012-520958)

【国際特許分類】

A 6 1 K 9/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/711 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 K 31/7125 (2006.01)

A 6 1 K 31/7115 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 9/00

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 31/711

A 6 1 K 31/713

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 31/7125

A 6 1 K 31/7115

【手続補正書】

【提出日】平成 25 年 7 月 19 日 (2013.7.19)

【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】

細胞に化合物を送達するためのコンジュゲートであって、

(a) 細胞の標的化を媒介し、細胞取り込みを容易にする少なくとも 1 つのモジュールと、

(b) 小胞体 (E R) への輸送を容易にする少なくとも 1 つのモジュールと、

(c) E R からサイトゾルへの移行を媒介する少なくとも 1 つのモジュールと、

(d) 少なくとも 1 つの化合物と、

を含むか又はそれらからなり、モジュール (a) ~ モジュール (c) 及び化合物 (d) が少なくとも 1 つのリンカー分子を介して互いに結合するものであり、該リンカー分子は少なくとも 1 つの分岐点を含み、かつ該化合物は該分岐点を介して結合する、細胞に化合物を送達するためのコンジュゲート。

【請求項 2】

モジュール及び化合物が、

(i) 共有結合により互いに結合する、

(i i) 非共有結合により互いに結合する、

(i i i) 少なくとも1つのアダプタ分子を介して互いに結合する、及び/又は

(i v) 少なくとも1つのアダプタ分子を任意で含む少なくとも1つのリンカー分子を介して互いに結合する、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項3】

モジュール及び化合物が以下の配置で互いに結合する、請求項1又は2に記載のコンジュゲート：

(i) (a)_x が (c)_z と共有結合し、(c)_z が (d)_n と共有結合し、(c)_z が (b)_y と共有結合する；

(i i) (a)_x が (c)_z と共有結合し、(c)_z が (d)_n と非共有結合し、(c)_z が (b)_y と共有結合する；

(i i i) (a)_x が (d)_n と共有結合し、(a)_x が (c)_z と共有結合し、(c)_z が (b)_y と共有結合する；

(i v) (a)_x が (d)_n と非共有結合し、(a)_x が (c)_z と共有結合し、(c)_z が (b)_y と共有結合する；

(v) (a)_x がリンカー分子を介して (c)_z と共有結合し、(c)_z がリンカー分子を介して (d)_n と共有結合し、(c)_z がリンカー分子を介して (b)_y と共有結合する；

(v i) (a)_x がリンカー分子を介して (c)_z と共有結合し、(c)_z が (c)_z と共有結合するアダプタ分子を介して (d)_n と非共有結合し、(c)_z がリンカー分子を介して (b)_y と共有結合する；

(v i i) (a)_x がリンカー分子を介して (d)_n と共有結合し、(a)_x がリンカー分子を介して (c)_z と共有結合し、(c)_z がリンカー分子を介して (b)_y と共有結合する；又は

(v i i i) (a)_x が (a)_x と共有結合するアダプタ分子を介して (d)_n と非共有結合し、(a)_x がリンカー分子を介して (c)_z と共有結合し、(c)_z がリンカー分子を介して (b)_y と共有結合する。

【請求項4】

共有結合が、ジスルフィド結合、アミド結合、オキシム結合又はヒドラゾン結合であり、非共有結合が、イオン結合又は疎水性結合である、請求項2又は3に記載のコンジュゲート。

【請求項5】

リンカー分子がペプチド若しくは修飾ペプチド、又はポリエチレングリコール (P E G) と共有結合したペプチドであり、アダプタ分子が二本鎖 R N A 結合タンパク質 (D R B P) 又はその変異体である、請求項2又は3に記載のコンジュゲート。

【請求項6】

リンカー分子が、

(i) 少なくとも1つの分岐点、若しくはリジン側鎖、システイン側鎖、若しくは側鎖上にアミノオキシ部分を含有する非天然アミノ酸、及び/又は

(i i) 少なくとも1つの切断部位、若しくはフューリン切断部位若しくはカルパイン切断部位、

を含む、請求項2～5のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項7】

切断部位が、モジュール (a) とモジュール (c) との間、又はモジュール (a) と化合物 (d) との間に存在する、請求項6に記載のコンジュゲート。

【請求項8】

化合物が、分岐点と共有結合する、又はリジン側鎖とのアミド結合により、システイン側鎖とのジスルフィド結合により、若しくは側鎖上にアミノオキシ部分を含有する非天然アミノ酸を介して分岐点と共有結合する、請求項6又は7に記載のコンジュゲート。

【請求項9】

化合物が、システイン側鎖とのジスルフィド結合により共有結合した D R B D 又はその

変異体とのイオン結合又は疎水性結合により分岐点と非共有結合する、請求項6又は7に記載のコンジュゲート。

【請求項 10】

(i) モジュール (a) が細胞表面受容体リガンド、抗体、糖、脂質又はナノ粒子を含み、

(ii) モジュール (b) がアミノ酸配列 $X_1X_2X_3X_4$ (配列番号 140) (ここで、 X_1 が E、H、K、N、P、Q、R 若しくは S、又は K 若しくは R であり、 X_2 が D、E、A、T、V、G、S 若しくは N、又は D 若しくは E であり、 X_3 が E 若しくは D、又は E であり、 X_4 が L 若しくは F、又は L である) を 1 つ又は複数含むオリゴペプチドを含み、任意で N 末端及び / 又は C 末端が 1 個 ~ 3 個の更なるアミノ酸残基を含み、

(iii) モジュール (c) が、

(a) COX2、IgM (μ)、Sgk1、MAT2、MF () 1、CPY、毒素サブユニット A、その断片若しくはその変異体からなる群から選択されるタンパク質のペプチド、又は

(b) CL1 (配列番号 164)、CL2 (配列番号 165)、CL6 (配列番号 166)、CL9 (配列番号 167)、CL10 (配列番号 168)、CL11 (配列番号 169)、CL12 (配列番号 170)、CL15 (配列番号 171)、CL16 (配列番号 172) 若しくは SL17 (配列番号 173) を含むアミノ酸配列、を含み、

(iv) 化合物 (d) が核酸又はペプチドを含む、

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 11】

(i) 細胞表面受容体リガンドが、成長因子、リボタンパク質、トランスフェリン、表面結合レクチン、ガレクチン、c 型レクチン、毒素、その断片及びその変異体からなる群から選択され、

(ii) 抗体が、抗 TGN38 / 46、抗トランスフェリン受容体及び抗成長因子受容体からなる群から選択され、

(iii) 脂質が、リン脂質、糖脂質、スフィンゴ脂質及びステロール脂質からなる群から選択され、

(iv) ナノ粒子が、金属、シリケート及びポリマーからなる群から選択される、

請求項 10 に記載のコンジュゲート。

【請求項 12】

細胞表面受容体リガンドが、リシンの B 鎖、アブリンの B 鎖、モデシンの B 鎖、ボルケンシンの B 鎖、コレラ毒素の B 鎖、志賀毒素の B 鎖、ペロ毒素の B 鎖、シュードモナス外毒素 A のドメイン I、ドメイン II 及びドメイン IV、並びに大腸菌の易熱性腸毒素の B 鎖からなる群から選択される毒素である、請求項 11 に記載のコンジュゲート。

【請求項 13】

モジュール (c) が、

(i) $NX_1SX_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9INPTX_{10}X_{11}X_{12}X_{13}$ (配列番号 178) (ここで X_1 が A、S 又は V であり、 X_2 が S、A 又は T であり、 X_3 が S 又は V であり、 X_4 が R、H 又は N であり、 X_5 が S 又は T であり、 X_6 が G、R、T 又は A であり、 X_7 が L、V 又は M であり、 X_8 が D、N 又は E であり、 X_9 が D 又は N であり、 X_{10} が V 又は L であり、 X_{11} が L 又は V であり、 X_{12} が L 又は I であり、 X_{13} が K 又は N である)、

(ii) $GKPTLYX_1VSLX_2MSDTX_3GTX_4Y$ (配列番号 190) (ここで X_1 が N 又は Q であり、 X_2 が I 又は V であり、 X_3 が G 又は A であり、 X_4 が C 又は S である)、

(iii) $MTX_1X_2X_3X_4EX_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}LTYSX_{12}X_{13}RGX_{14}VAX_{15}LX_{16}AFMKQRX_{17}MGLNDFIQKX_{18}X_{19}X_{20}NX_{21}YACKHX_{22}EVQSX_{23}LX_{24}X_{25}$ (配列番号 200) (ここで X_1 が V 又は I であり、 X_2 が K 又は Q であり、 X_3 が A 又は T であり、 X_4 が X (X は 0 個のアミノ酸である) 又は A であり、 X_5 が A 又は T であり、 X_6 が A 又は S であり、 X_7 が R、K、G 又

はVであり、 X_8 がS、G又はPであり、 X_9 がT、P又はAであり、 X_{10} がX又はPであり、 X_{11} がX又はDであり、 X_{12} がR又はKであり、 X_{13} がM又はTであり、 X_{14} がM又はLであり、 X_{15} がI又はNであり、 X_{16} がI又はSであり、 X_{17} がR又はKであり、 X_{18} がI又はLであり、 X_{19} がA又はSであり、 X_{20} がS、N、A又はTであり、 X_{21} がT又はSであり、 X_{22} がA、P又はTであり、 X_{23} がI又はYであり、 X_{24} がK又はNであり、 X_{25} がM、I又はLである)、

(i v) MRFPSIFTAVLFAASSALAAPVX₁TTTEDETAQIPAEAVIGYLDLEGDFDVAVLFPFSX₁STNNGLLFI₁TTIASIAAKEEGVSLDKREAEAWHLQLKPGQPMYKREAEAEAWHLQLKPGQPMYKREADAEAWHLQLKPGQPMYKREADAEAWHLQLKPGQPMY (配列番号 2 2 0) (ここで X_1 が N 又は Q である)、並びに

(v) MNKIPKDLLNPQITDEFKSSILDINKKLFSICCNLPKLPESVTTEEEVELRDILX₁FLSRAN (配列番号 2 1 4) (ここで X_1 が G、V 又は L である)、

からなる群から選択される、請求項 1 3 に記載のコンジュゲート。

【請求項 1 4】

モジュール (c) が、

(i) NASSSRGLDDINPTVLLK (配列番号 1 7 6)、

(i i) NASASHSRLDDINPTVLIK (配列番号 1 7 9)、

(i i i) NASSSHSGLDDINPTVLLK (配列番号 1 8 0)、

(i v) GKPTLYNVSLIMSDTGGTCY (配列番号 1 8 4)、

(v) GKPTLYNVSLVMSDTAGTCY (配列番号 1 8 5)、

(v i) GKPTLYQVSLIMSDTGGTCY (配列番号 1 8 6)、

(v i i) GKPTLYQVSLIMSDTGGTSY (配列番号 1 8 7)、

(v i i i) MTVKAEAAARSTLTYSRMRGMVAI₁IAFMKQRRMGLNDFIQKIASNTYACKHAEVQSILKM (配列番号 1 9 3)、

(i x) MTVKTEAAKGTLTYSRMRGMVAI₁IAFMKQRRMGLNDFIQKIANNYSACKHPEVQSILKI (配列番号 1 9 7)、

(x) MNKIPKDLLNPQITDEFKSSILDINKKLFSICCNLPKLPESVTTEEEVELRDILGFLSRAN (配列番号 2 1 2)、

(x i) MNKIPKDLLNPQITDEFKSSILDINKKLFSICCNLPKLPESVTTEEEVELRDILVFLSRAN (配列番号 2 1 5)、又は

(x i i) MNKIPKDLLNPQITDEFKSSILDINKKLFSICCNLPKLPESVTTEEEVELRDILLFLSRAN (配列番号 2 1 6)、

である、請求項 1 3 に記載のコンジュゲート。

【請求項 1 5】

モジュール (c) が、

(i) MRGMVAI₁IAFMKQRRMGLNDFIQKIASNTYACKHAEVQSILKM (配列番号 2 0 5)、

(i i) MRGMVAI₁IAFMKQ (配列番号 2 0 6)、

(i i i) GMVAI₁IAF (配列番号 2 0 7)、

(i v) MRGMVAI₁IAFMKQRRMGLNDFIQKIANNYSACKHPEVQSILKI (配列番号 2 1 0)、

(v) ITDEFKSSILDINKKLFSI (配列番号 2 1 7)、又は

(v i) ITDEFKSSILDINKKLFSICCNLPKLPESV (配列番号 2 1 8)、

である、請求項 1 4 に記載のコンジュゲート。

【請求項 1 6】

核酸が、一本鎖DNA、二本鎖DNA、一本鎖RNA、二本鎖RNA、siRNA、トランスファーRNA (tRNA)、メッセンジャーRNA (mRNA)、マイクロRNA (miRNA)、核内低分子RNA (snRNA)、低分子ヘアピン型RNA (shRNA) 又はモルホリノ修飾iRNAである、請求項 1 0 に記載のコンジュゲート。

【請求項 1 7】

核酸が化学修飾されている、請求項 1 0 に記載のコンジュゲート。

【請求項 1 8】

医薬品として使用される、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 19】

医薬組成物であって、

(i) 請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のコンジュゲートと、

(ii) 薬学的に許容可能な賦形剤、担体及び / 又は希釈剤と、
を含む、医薬組成物。

【請求項 20】

細胞に化合物 (d) を送達する方法であって、以下の工程を含む方法：

(a) 得られた細胞を準備する工程と、

(b) 化合物 (d) を含む請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のコンジュゲートを前記細胞に接触させる工程であって、該接触は細胞によりコンジュゲートが内部移行され、それにより化合物 (d) が細胞に送達される条件下で行われる工程。

【請求項 21】

細胞が、真核細胞、無脊椎動物細胞、脊椎動物細胞、線形動物細胞、真菌細胞、アスペルギルス属の細胞、酵母細胞、サッカロミセス属の細胞、ピチア属の細胞、昆虫細胞、Sf9細胞、動物細胞、非ヒト動物細胞、哺乳動物細胞、非ヒト哺乳動物細胞、CHO、霊長類細胞、非ヒト霊長類細胞、ヒト細胞又は植物細胞である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

患者に化合物 (d) を送達することにより患者を治療するための医薬の製造における、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のコンジュゲートの使用。

【請求項 23】

細胞における遺伝子発現を変更する方法であって、以下の工程を含む方法：

(a) 得られた細胞を準備する工程と、

(b) 化合物 (d) を含む請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のコンジュゲートを前記細胞に接触させる工程であって、該接触は細胞によりコンジュゲートが内部移行され、コンジュゲートの化合物 (d) が細胞のサイトゾル又は核に送達される条件下で行われるものであるであって、該化合物 (d) が該細胞における遺伝子発現を変更することが可能な核酸又はペプチドである、工程と、
を含み、

(c) 該化合物 (d) が、該細胞のサイトゾル又は核に達すると、該細胞における遺伝子発現を変更する工程。

【請求項 24】

コンジュゲートを調製する方法であって、細胞の標的化を媒介し、細胞取り込みを容易にする少なくとも 1 つのモジュール (a) と、小胞体 (ER) への輸送を容易にする少なくとも 1 つのモジュール (b) と、ER からサイトゾルへの移行を媒介する少なくとも 1 つのモジュール (c) と、少なくとも 1 つの化合物 (d) とをカップリングすることを含み、モジュール (a)、モジュール (b) 及びモジュール (c) 並びに化合物 (d) が任意の配置で及び任意の化学量論で互いに結合する、方法。

【請求項 25】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のコンジュゲートを調製するための構成要素を含むキットであって、該キットがモジュール (a)、モジュール (b)、モジュール (c) 及び / 又は化合物 (d) を含み、該キットが任意的なペプチドリinker 及び / 又は切断部位を含む任意的なペプチドを含む、キット。

【請求項 26】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のコンジュゲートを含む送達システムを含むキット。