

【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(ER)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) 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、

(ii) 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 1 0】

(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、

(i i) モジュール (b) がアミノ酸配列 $X_1X_2X_3X_4$ (配列番号 1 4 0) (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、

(i i i) 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 1 6 4) 、CL2 (配列番号 1 6 5) 、CL6 (配列番号 1 6 6) 、CL9 (配列番号 1 6 7) 、CL10 (配列番号 1 6 8) 、CL11 (配列番号 1 6 9) 、CL12 (配列番号 1 7 0) 、CL15 (配列番号 1 7 1) 、CL16 (配列番号 1 7 2) 若しくは SL17 (配列番号 1 7 3) を含むアミノ酸配列、を含み、

(i v) 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 1 1】

(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、

(i i) 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、

(i i i) 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、

(i v) 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 1 0 に記載のコンジュゲート。

【請求項 1 2】

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、ベロ毒素の 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 1 1 に記載のコンジュゲート。

【請求項 1 3】

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 1 7 8) (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) 、

(i i) GKPTLYX₁VSLX₂MSDTX₃GTX₄Y (配列番号 1 9 0) (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) 、

(i i i) MTX₁X₂X₃X₄EX₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁LTYSX₁₂X₁₃RGX₁₄VAX₁₅LX₁₆AFMKQRX₁₇MGLNDFIQKX₁₈X₁₉X₂₀NX₂₁YACKHX₂₂EVQSX₂₃LX₂₄X₂₅ (配列番号 2 0 0) (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、X₈がS、G又はPであり、X₉がT、P又はAであり、X₁₀がX又はPであり、X₁₁がX又はDであり、X₁₂がR又はKであり、X₁₃がM又はTであり、X₁₄がM又はLであり、X₁₅がI又はNであり、X₁₆がI又はSであり、X₁₇がR又はKであり、X₁₈がI又はLであり、X₁₉がA又はSであり、X₂₀がS、N、A又はTであり、X₂₁がT又はSであり、X₂₂がA、P又はTであり、X₂₃がI又はYであり、X₂₄がK又はNであり、X₂₅がM、I又はLである）、

(i v) MRFPSIFTAVLFAASSALAAPVX₁TTTEDETAQIPAEAVIGYLDLEGDFDVAVLPSX₁STNNGLLFI₁TTIASIAAKEEGVSLDKREAEAWHLQLKPGQPMYKREAEAEAWHLQLKPGQPMYKREADAEAWHLQLKPGQPMYKREADEAWHLQLKPGQPMY (配列番号220) (ここでX₁がN又はQである)、並びに

(v) MNKIPIKDLLNPQITDEFKSSILDINKLFSICCNLPKLPESVTTEEEVELRDILX₁FLSRAN (配列番号214) (ここでX₁がG、V又はLである)、

からなる群から選択される、請求項13に記載のコンジュゲート。

【請求項14】

モジュール(c)が、

(i) NASSSRSGLDDINPTVLLK (配列番号176)、
 (i i) NASASHSRLDDINPTVLIK (配列番号179)、
 (i i i) NASSSHSGLDDINPTVLLK (配列番号180)、
 (i v) GKPTLYNVSLIMSDTGGTCY (配列番号184)、
 (v) GKPTLYNVSLVMSDTAGTCY (配列番号185)、
 (v i) GKPTLYQVSLIMSDTGGTCY (配列番号186)、
 (v i i) GKPTLYQVSLIMSDTGGTSY (配列番号187)、
 (v i i i) MTVKAEARSTLTYSRMRGMVAI₁IAFMKQRRMGLNDFIQKIASNTYACKHAEVQSILKM (配列番号193)、

(i x) MTVKTEAAKGTLTYSRMRGMVAI₁IAFMKQRRMGLNDFIQKIANNSYACKHPEVQSILKI (配列番号197)、

(x) MNKIPIKDLLNPQITDEFKSSILDINKLFSICCNLPKLPESVTTEEEVELRDILGFLSRAN (配列番号212)、

(x i) MNKIPIKDLLNPQITDEFKSSILDINKLFSICCNLPKLPESVTTEEEVELRDILVFLSRAN (配列番号215)、又は

(x i i) MNKIPIKDLLNPQITDEFKSSILDINKLFSICCNLPKLPESVTTEEEVELRDILLFLSRAN (配列番号216)、

である、請求項13に記載のコンジュゲート。

【請求項15】

モジュール(c)が、

(i) MRGMVAI₁IAFMKQRRMGLNDFIQKIASNTYACKHAEVQSILKM (配列番号205)、
 (i i) MRGMVAI₁IAFMKQ (配列番号206)、
 (i i i) GMVAILIAF (配列番号207)、
 (i v) MRGMVAI₁IAFMKQRRMGLNDFIQKIANNSYACKHPEVQSILKI (配列番号210)、
 (v) ITDEFKSSILDINKLFSI (配列番号217)、又は
 (v i) ITDEFKSSILDINKLFSICCNLPKLPESV (配列番号218)、

である、請求項14に記載のコンジュゲート。

【請求項16】

核酸が、一本鎖DNA、二本鎖DNA、一本鎖RNA、二本鎖RNA、siRNA、トランスクアーナ (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10に記載のコンジュゲート。

【請求項17】

核酸が化学修飾されている、請求項10に記載のコンジュゲート。

【請求項18】

医薬品として使用される、請求項1～17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、

(i i) 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、Sf 9 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、靈長類細胞、非ヒト靈長類細胞、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ンカー及び / 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。