

【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29年12月28日(2017.12.28)

【公表番号】特表2017-501136(P2017-501136A)

【公表日】平成29年1月12日(2017.1.12)

【年通号数】公開・登録公報2017-002

【出願番号】特願2016-535121(P2016-535121)

【国際特許分類】

C 07 K	1/107	(2006.01)
C 07 K	7/06	(2006.01)
C 07 K	5/06	(2006.01)
C 07 K	5/08	(2006.01)
C 07 K	5/10	(2006.01)
C 07 K	17/04	(2006.01)
C 12 N	11/04	(2006.01)
A 61 K	47/42	(2017.01)
A 61 K	47/50	(2017.01)
A 61 K	35/12	(2015.01)
A 61 K	35/545	(2015.01)
A 61 K	35/28	(2015.01)
A 61 K	35/36	(2015.01)
A 61 K	35/30	(2015.01)
A 61 K	35/13	(2015.01)
A 61 K	45/00	(2006.01)
A 61 P	19/08	(2006.01)

【F I】

C 07 K	1/107	Z N A
C 07 K	7/06	
C 07 K	5/06	
C 07 K	5/08	
C 07 K	5/10	
C 07 K	17/04	
C 12 N	11/04	
A 61 K	47/42	
A 61 K	47/48	
A 61 K	35/12	
A 61 K	35/545	
A 61 K	35/28	
A 61 K	35/36	
A 61 K	35/30	
A 61 K	35/13	
A 61 K	45/00	
A 61 P	19/08	

【手続補正書】

【提出日】平成29年11月17日(2017.11.17)

【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】

一般式：

$Z_a - (X)_b - (Y)_c - Z'_d$

(式中、

$Z$  は、N末端保護基であり、

$a$  は、0 又は 1 であり、

$X$  は、出現ごとに、脂肪族 D - 又は L - アミノ酸及び脂肪族 D - 又は L - アミノ酸誘導体からなる群から独立して選択され、全体の疎水性は、N末端からC末端へと減少し、

$b$  は、1 ~ 7 の整数であり、

$Y$  は、極性 D - 又は L - アミノ酸及び極性 D - 又は L - アミノ酸誘導体からなる群から選択され、

$c$  は、0、1 又は 2 であり、

$Z'$  は、C末端極性頭部基であり、

$d$  は、1 であり、

及び  $b + c$  は少なくとも 2 である)

を有する、自己組織化及びヒドロゲルの形成が可能なペプチド及び / 又はペプチド模倣体のバイオファブリケーションにおける使用。

【請求項2】

前記脂肪族アミノ酸が、アラニン (A1a、A)、ホモアリルグリシン、ホモプロパルギルグリシン、イソロイシン (I1e、I)、ノルロイシン、ロイシン (Leu、L)、バリン (V1l、V) 及びグリシン (G1y、G) からなる群から選択され、及び、

前記脂肪族アミノ酸のすべて又は一部が、N末端からC末端への方向にアミノ酸サイズが小さくなる順に配列されており、脂肪族アミノ酸のサイズが、I = L > V > A > G と定義される、及び / 又は、

前記脂肪族アミノ酸が、

L I V A G (配列番号 1)、

I L V A G (配列番号 2)、

L I V A A (配列番号 3)、

L A V A G (配列番号 4)、

A I V A G (配列番号 5)、

G I V A G (配列番号 6)、

V I V A G (配列番号 7)、

A L V A G (配列番号 8)、

G L V A G (配列番号 9)、

V L V A G (配列番号 10)、

I V A G (配列番号 11)、

L I V A (配列番号 12)、

L I V G (配列番号 13)、

I V A (配列番号 47) 及び

I V (配列番号 48)

から選択される配列を有し、及び / 又は、N末端のそのような配列の前に A がある、及び / 又は、

$b$  が、1 ~ 7、2 ~ 7 又は 2 ~ 6 の整数である、請求項 1 に記載の使用。

【請求項3】

前記極性アミノ酸が、アスパラギン酸 (Asp、D)、アスパラギン (Asn、N)、グルタミン酸 (Glu、E)、グルタミン (Gln、Q)、5-N-エチル-グルタミン (テアニン)、シトルリン、チオ-シトルリン、システイン (Cys、C)、ホモシステ

イン、メチオニン (Met、M)、エチオニン、セレノメチオニン、テルロメチオニン、トレオニン (Thr、T)、アロトレオニン、セリン (Ser、S)、ホモセリン、アルギニン (Arg、R)、ホモアルギニン、オルニチン (Orn)、リシン (Lys、K)、N (6) - カルボキシメチルリシン、ヒスチジン (His、H)、2,4 - ジアミノ酪酸 (Dab)、2,3 - ジアミノプロピオン酸 (Dap) 及びN (6) - カルボキシメチルリシンからなる群から選択され、及び / 又は、

c が 2 であり、前記極性アミノ酸が同一のアミノ酸であるか、又は

c が 1 であり、前記極性アミノ酸が、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、セリン、トレオニン、システイン、メチオニン、リシン、オルニチン、2,4 - ジアミノ酪酸 (Dab) 及びヒスチジンのうちの 1 つを含む、請求項 1 又は 2 に記載の使用。

#### 【請求項 4】

(Y)c が、Asp、Asn、Glu、Gln、Ser、Thr、Cys、Met、Lys、Orn、Dab、His、Asn-Asn、Asp-Asp、Glu-Glu、Gln-Gln、Asn-Gln、Gln-Asn、Asp-Gln、Gln-Asp、Asn-Glu、Glu-Asn、Asp-Glu、Glu-Asp、Gln-Glu、Glu-Gln、Asp-Asn、Asn-Asp、Thr-Thr、Ser-Ser、Thr-Ser、Ser-Thr、Asp-Ser、Ser-Asp、Ser-Asn、Asn-Ser、Gln-Ser、Ser-Gln、Glu-Ser、Ser-Glu、Asp-Thr、Thr-Asp、Thr-Asn、Asn-Thr、Gln-Thr、Thr-Gln、Glu-Thr、Thr-Glu、Cys-Asp、Cys-Lys、Cys-Ser、Cys-Thr、Cys-Orn、Cys-Dab、Cys-Dap、Lys-Lys、Lys-Ser、Lys-Thr、Lys-Orn、Lys-Dab、Lys-Dap、Ser-Lys、Ser-Orn、Ser-Dab、Ser-Dap、Orn-Lys、Orn-Orn、Orn-Ser、Orn-Thr、Orn-Dab、Orn-Dap、Dab-Lys、Dab-Ser、Dab-Thr、Dab-Orn、Dab-Dab、Dab-Dap、Dap-Lys、Dap-Ser、Dap-Thr、Dap-Orn、Dap-Dab、Dap-Dap から選択される配列を有する、及び / 又は、

(X)<sub>b</sub> - (Y)<sub>c</sub> が、

LIVAGD (配列番号 14)、  
ILVAGD (配列番号 15)、  
LIVAAD (配列番号 16)、  
LAVAGD (配列番号 17)、  
AIVAGD (配列番号 18)、  
LIVAGE (配列番号 19)、  
LIVAGK (配列番号 20)、  
ILVAGK (配列番号 21)、  
LIVAGT (配列番号 22)、  
AIVAGT (配列番号 23)、  
AIVAGK (配列番号 24)、  
LIVAD (配列番号 25)、  
LIVGD (配列番号 26)、  
IVAD (配列番号 27)、  
IVAK (配列番号 28)、  
IIID (配列番号 29)、  
IIIK (配列番号 30)、  
IVD (配列番号 49)、  
IID (配列番号 50)、  
LVE (配列番号 51)、

I V E (配列番号 5 2 )、  
L V D (配列番号 5 3 )、  
V I E (配列番号 5 4 )、  
V I D (配列番号 5 5 )、  
V L D (配列番号 5 6 )、  
V L E (配列番号 5 7 )、  
L L E (配列番号 5 8 )、  
L L D (配列番号 5 9 )、  
I I E (配列番号 6 0 )、  
I D (配列番号 6 1 )、  
I E (配列番号 6 2 )、  
L I V A G O r n (配列番号 3 1 )、  
I L V A G O r n (配列番号 3 2 )、  
A I V A G O r n (配列番号 3 3 )、  
L I V A G D a b (配列番号 3 4 )、  
I L V A G D a b (配列番号 3 5 )、  
A I V A G D a b (配列番号 3 6 )、  
L I V A G D a p (配列番号 3 7 )、  
I L V A G D a p (配列番号 3 8 )、  
A I V A G D a p (配列番号 3 9 )、  
I V O r n (配列番号 6 3 )、  
I V D a b (配列番号 6 4 )、  
I V D a p (配列番号 6 5 )、  
I V K (配列番号 6 6 )、  
V I K (配列番号 6 7 )、  
V I O r n (配列番号 6 8 )、  
V I D a b (配列番号 6 9 )、  
V I D a p (配列番号 7 0 )、  
L I V A G D D (配列番号 4 0 )、  
L I V A G E E (配列番号 4 1 )、  
L I V A G K C (配列番号 4 2 )、  
L I V A G S (配列番号 4 3 )、  
I L V A G S (配列番号 4 4 )、  
A I V A G S (配列番号 4 5 )、及び  
I L V A G T (配列番号 4 6 )

からなる群から選択される配列を有する、及び／又は

a が 1 であり、前記 N 末端保護基 Z が、一般式 - C (O) - R を有し、式中 R が、H、  
非置換又は置換アルキル、及び非置換又は置換アリールからなる群から選択され、式中 R  
が、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル及びイソブチルからなる群から選  
択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 5】

b + c が、少なくとも 2 、 2 ~ 9 、 3 ~ 7 又は 2 ~ 7 である、及び／又は、  
前記使用が、自己組織化中のペプチド及び／又はペプチド模倣体のランダムコイル立体  
構造からヘリックス中間構造へ、そして最終 ターン又はクロス 立体構造への立体構造  
変化、を含み、前記立体構造変化が、ペプチド濃度、イオン環境、pH 及び温度に依存す  
る、及び／又は、

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の少なくとも 1 つのペプチド及び／又はペプチド模  
倣体がヒドロゲルを形成する、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の少なくとも 1 つのペプチド及び／又はペプチド模

倣体の刺激応答性ゲル化を含み、前記刺激又はゲル化条件がpH、塩濃度及び/又は温度から選択され、及び、

前記ペプチド及び/又はペプチド模倣体が、極性頭部基として、リシン又はリシン様分子を含む塩基性アミノ酸、又はアミド化塩基性アミノ酸を含み、前記ペプチドが、塩の存在下、生理条件で及び/又は生理的pHより上のpHであるpH7~10で、刺激応答性ゲル化、又はゲル化の増進を示す、又は、

前記ペプチド及び/又はペプチド模倣体が、極性頭部基として酸性アミノ酸を含み、前記ペプチドが、生理的pH7未満のpHであるpH2~6で、刺激応答性ゲル化、又はゲル化の増進を示し、前記酸性アミノ酸のアミド化又はエステル化が前記pH感受性を除去する、

請求項1~5のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項7】**

請求項1~4のいずれか一項に記載の少なくとも1つのペプチド及び/又はペプチド模倣体を水に溶解し、得られた溶液が針及びプリントヘッドによって分注される、請求項1~6のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項8】**

前記ペプチド及び/又はペプチド模倣体が、前記ヒドロゲルの総重量に対して、0.1%~30% (重量/重量)、0.1%~20% (重量/重量)、0.1%~10% (重量/重量)、0.1%~5% (重量/重量)、又は0.1%~3% (重量/重量)の範囲の濃度で存在する、及び/又は、

前記使用が、ゲル化前又は中に、ヒドロゲルによってカプセル化される細胞の添加又は混合を含み、前記細胞が、間葉系細胞、前駆細胞、胎性細胞及び誘導多能性幹細胞を含む幹細胞、分化転換した前駆細胞及び線維芽細胞、髄核を含む患者試料から単離された初代細胞のいずれか一つから選択され、ゲル化前又は中に、ヒドロゲルによって共カプセル化されるさらなる化合物の添加を含む、及び/又は、

前記使用が、プリントされたヒドロゲル上への細胞の添加を含み、前記細胞が、成熟細胞、前駆細胞、胎性細胞及び誘導多能性幹細胞を含む幹細胞、分化転換した前駆細胞、並びに患者から単離された初代細胞及び上皮細胞、神経細胞、造血細胞及び癌細胞を含む細胞株のいずれか一つから選択される、

請求項1~7のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項9】**

ペプチド及び/又はペプチド模倣体への架橋剤の添加を含み、

前記架橋剤が、短鎖リンカー、直鎖状及び分岐ポリマー、生理活性分子又は部分と結合しているポリマーを含む、請求項1~8のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項10】**

請求項1~4のいずれか一項に記載の少なくとも1つのペプチド及び/又はペプチド模倣体を水溶液又は極性溶媒に溶解する工程を含む、ヒドロゲルを調製する方法であって、

前記方法は、請求項1に記載の少なくとも1つのペプチド及び/又はペプチド模倣体の刺激応答性ゲル化工程を含み、前記刺激又はゲル化条件がpH、塩濃度及び/又は温度から選択される、方法。

**【請求項11】**

前記少なくとも1つのペプチド及び/又はペプチド模倣体が、極性頭部基として、リシン又はリシン様分子を含む塩基性アミノ酸、又はアミド化塩基性アミノ酸を含み、ゲル化工程が、塩の存在下、生理条件で及び/又は生理的pHより上のpHであるpH7~10で行われる、又は、

前記少なくとも1つのペプチド及び/又はペプチド模倣体が、極性頭部基として酸性アミノ酸を含み、ゲル化工程が、生理的pH7未満のpHであるpH2~6で行われる、

請求項10に記載の方法。

**【請求項12】**

溶解されたペプチド及び/又はペプチド模倣体が、さらに加温又は加熱され、その温度

が、20～90、30～70、又は37～70の範囲である、及び／又は、  
前記少なくとも1つのペプチド及び／又はペプチド模倣体が、0.01μg/ml～100mg/ml、1mg/ml～50mg/ml、又は1mg/ml～20mg/mlの濃度で溶解される、

請求項10に記載の方法。

【請求項13】

連続纖維を調製する方法であって、  
請求項1～4のいずれか一項に記載の少なくとも1つのペプチド及び／又はペプチド模倣体を水溶液に溶解する工程と、

得られた溶液を針、プリントヘッド、細管及び／又はマイクロ流体デバイスによって緩衝溶液に分注する工程と  
を含む方法。

【請求項14】

ゲル化／自己組織化工程前又は中に、ヒドロゲルによってカプセル化されるさらなる化合物の添加工程を含み、

前記さらなる化合物は、

成長因子、サイトカイン、脂質、細胞受容体リガンド、ホルモン、プロドラッグ、薬物、ビタミン、抗原、抗体、抗体断片、DNA、メッセンジャーRNA、短鎖ヘアピンRNA、短鎖干渉RNA、マイクロRNA、ペプチド核酸又はアプタマーを含むオリゴヌクレオチド若しくはサッカリドを含む、生理活性分子又は部分、

イメージング造影剤を含む、標識、色素、

ウイルス、細菌及び寄生虫を含む病原体、

量子ドット、ナノ及びマイクロ粒子；又は

これらの組み合わせ

のいずれか一つから選択される、及び／又は、

前記方法は、ゲル化／自己組織化工程前又は中に、ヒドロゲルによってカプセル化される細胞の添加又は混合工程を含み、前記細胞が、間葉系細胞、前駆細胞、胎性細胞及び誘導多能性幹細胞を含む幹細胞、分化転換した前駆細胞及び線維芽細胞、髄核を含む患者試料から単離された初代細胞のいずれか一つから選択され、ゲル化工程前又は中に、ヒドロゲルによって共カプセル化されるさらなる化合物の添加工程を含む、又は、

前記方法は、プリントされたヒドロゲル上への細胞の添加工程を含み、前記細胞が、成熟細胞、前駆細胞、胎性細胞及び誘導多能性幹細胞を含む幹細胞、分化転換した前駆細胞、並びに患者から単離された初代細胞及び上皮細胞、神経細胞、造血細胞及び癌細胞を含む細胞株のいずれか一つから選択される、及び／又は、

前記方法は、ゲル化／自己組織化工程前、中又は後に、ペプチド及び／又はペプチド模倣体への架橋剤の添加工程を含み、前記架橋剤が、短鎖リンカー、直鎖状及び分岐ポリマー、生理活性分子又は部分と結合しているポリマーを含み、前記架橋剤が、自己組織化中に前記ペプチド及び／又はペプチド模倣体と静電相互作用する、

請求項10～13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項15】

一般式：

$Z_a - (X)_b - (Y)_c - Z'_d$

(式中、

Zは、N末端保護基であり、

aは、0又は1であり、

Xは、出現ごとに、脂肪族D-又はL-アミノ酸及び脂肪族D-又はL-アミノ酸誘導体からなる群から独立して選択され、全体の疎水性は、N末端からC末端へと減少し、

bは、1～7の整数であり、

Yは、極性D-又はL-アミノ酸及び極性D-又はL-アミノ酸誘導体からなる群から選択され、

c は、 0 、 1 又は 2 であり、  
z' は、 C 末端極性頭部基であり、  
d は、 1 であり、  
及び b + c は少なくとも 2 である )

を有する、ヒドロゲルの基質媒介遺伝子送達のための使用であって、  
オリゴヌクレオチドがヒドロゲル中にカプセル化され、細胞が前記ヒドロゲル上に共カプセル化又は播種される、又は、  
前記使用は、プリンター、ピンツール及びマイクロコンタクトプリンティングを使用することを含む、又は、  
前記使用は、電流を伝導する電気回路又は圧電面に 2D ミニヒドロゲルをプリントすることを含む、  
使用。

#### 【請求項 1 6】

注射剤としての又は注射剤治療のための、又は、注射可能な足場、注射可能なインプラント、及び / 又はインプラント可能な足場としての、又は、椎間板変性症の処置のための、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の使用。

#### 【請求項 1 7】

バイオプリンティング、3D 微小液滴プリンティング、又はバイオ成形を含む、又は、3D オルガノイド構造又は 3D 高分子生物学的構築物を得るための、又は、3D でヒドロゲルにパターン形成するための、シリコーンの鋳型を含む鋳型の使用を含む、又は、

前記使用は多細胞構築物を得るためのものであって、異なる細胞 / 細胞タイプを含み、共カプセル化されたさらなる化合物及び / 又は架橋剤を含む、及び / 又は、

前記使用は、カプセル化された細胞、及びプリントされた / 作製された足場の表面に堆積された又はプリントされた細胞を含む、3D 細胞構築物又は足場を得るためのものである、

請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の使用。

#### 【請求項 1 8】

多細胞構築物を得るための方法であって、

請求項 1 0 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の方法によってヒドロゲルを調製する工程であり、

ゲル化 / 自己組織化段階前又は中に、ヒドロゲルによってカプセル化される様々な細胞又は細胞タイプの添加又は混合段階を含み、

前記細胞は、間葉系細胞、前駆細胞、胎性細胞及び誘導多能性幹細胞を含む幹細胞、分化転換した前駆細胞及び線維芽細胞、髄核を含む患者試料から単離された初代細胞のいずれか一つから選択され、

ゲル化段階前又は中に、ヒドロゲルによって共カプセル化されるさらなる化合物の添加段階を含み、

ゲル化 / 自己組織化段階前又は中に、ペプチド及び / 又はペプチド模倣体への架橋剤の添加段階を含む工程、

多細胞構築物を得る工程  
を含む、方法、又は、

多細胞構築物を得るための方法であって、

請求項 1 0 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の方法によってヒドロゲルを調製する工程であり、

( 1 ) ゲル化段階前又は中の、ヒドロゲルによってカプセル化される細胞の添加又は混合段階、及び

( 2 ) その後、プリントされたヒドロゲル上への細胞の添加段階  
を含み、

( 1 ) 及び ( 2 ) の前記細胞は異なり、並びに

成熟細胞、前駆細胞、胎性細胞及び誘導多能性幹細胞を含む幹細胞、分化転換した前駆細胞、並びに患者から単離された初代細胞及び上皮細胞、神経細胞、造血細胞及び癌細胞を含む細胞株のいずれか一つから選択され、

ゲル化段階前又は中に、ヒドロゲルによって共カプセル化されるさらなる化合物の添加段階を含み、

ゲル化／自己組織化段階前又は中に、ペプチド及び／又はペプチド模倣体への架橋剤の添加段階を含む工程、

多細胞構築物を得る工程

を含む、方法。

【請求項 1 9】

一般式：

$Z_a - (X)_b - (Y)_c - Z'_d$

(式中、

$Z$  は、N末端保護基であり、

$a$  は、0 又は 1 であり、

$X$  は、出現ごとに、脂肪族 D - 又は L - アミノ酸及び脂肪族 D - 又は L - アミノ酸誘導体からなる群から独立して選択され、全体の疎水性は、N末端から C末端へと減少し、

$b$  は、1 ~ 7 の整数であり、

$Y$  は、極性 D - 又は L - アミノ酸及び極性 D - 又は L - アミノ酸誘導体からなる群から選択され、

$c$  は、0、1 又は 2 であり、

$Z'$  は、C末端極性頭部基であり、

$d$  は、1 であり、

及び  $b + c$  は少なくとも 2 である)

を有するヒドロゲル及び異なる細胞又は細胞タイプを含有する多細胞構築物であって、マイクロドメインを含む、多細胞構築物。