

【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 1 部門第 1 区分

【発行日】平成23年8月11日 (2011.8.11)

【公表番号】特表2010-532168(P2010-532168A)

【公表日】平成22年10月7日 (2010.10.7)

【年通号数】公開・登録公報2010-040

【出願番号】特願2010-514854(P2010-514854)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 0 7 K 7/06 (2006.01)

C 0 7 K 7/08 (2006.01)

C 0 7 K 14/00 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A G

C 0 7 K 7/06

C 0 7 K 7/08

C 0 7 K 14/00

C 0 7 K 19/00

C 1 2 Q 1/02

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 31/713

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成23年6月24日 (2011.6.24)

【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】

特定の標的組織における所定の疾患状態と発現が関連している遺伝子に対して方向付けられている、ホスホロジアミデートモルフォリノアンチセンスオリゴマーと、

連結X、B、またはXBによってそれに共有結合的に連結しており、8～20個のアミノ酸残基を含み、かつ部分配列（RXR）と部分配列（RBR）の組み合わせかまたは部分配列（RX）と部分配列（RB）の組み合わせからなる、細胞透過性ペプチド（cell-penetrating peptide）と

を含む、所定の疾患状態を処置するためのペプチド-アンチセンスコンジュゲートであって、

式中、Rがアルギニンであり；Bが -アラニンであり；かつ各Xが独立して中性の直鎖状アミノ酸-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NH-であり、ここでnは4～6であり、

前記細胞透過性ペプチドが、アンチセンスオリゴマーを標的組織に選択的に局在化させる、  
ペプチド-アンチセンスコンジュゲート。

【請求項 2】

各Xが6-アミノヘキサン酸残基となるように、nが5である、請求項1記載のコンジュゲート。

【請求項 3】

ホスホロジアミデートモルフォリノオリゴマーが、約20～50%の、陽性に荷電した骨格連結を含有する、請求項1記載のコンジュゲート。

【請求項 4】

(a)細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:10によって識別される配列を有し、かつオリゴマーがA型インフルエンザウイルスまたは呼吸器合胞体ウイルスを標的とする、呼吸器のウイルス感染症の処置のためのコンジュゲート；

(b)細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:13、14、および19によって識別される群から選択される配列を有し、かつオリゴマーが細菌16S rRNAを標的とする、呼吸器の細菌感染症の処置のためのコンジュゲート；

(c)細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:6、13、19、および20からなる群より選択される配列を有し、かつオリゴマーが、ジストロフィンタンパク質の部分的活性を回復させるようにヒトジストロフィンタンパク質におけるエキソンスキッピングをもたらすのに有効な配列を有する、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの処置のためのコンジュゲート；

(d)細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:6、13、19、および20からなる群より選択される配列を有し、かつアンチセンスオリゴマーがヒトミオスタチンを標的とする、骨格筋量の損失の処置のためのコンジュゲート

から選択される、請求項1記載のコンジュゲート。

【請求項 5】

細胞透過性ペプチドが配列SEQ ID NO:19を有する、請求項4の(b)～(d)に記載のコンジュゲート。

【請求項 6】

アンチセンスオリゴマーが、SEQ ID NO:34、49、および81からなる群より選択される配列を有する、請求項4の(c)～(d)に記載のコンジュゲート。

【請求項 7】

選択された標的組織に対する選択性を持ち、細胞透過性ペプチドとコンジュゲートされる、ホーミングペプチド  
をさらに含み、それによって、細胞透過性ペプチド - ホーミングペプチド - アンチセンスオリゴマーの型のコンジュゲートを形成する、請求項1記載のコンジュゲート。

【請求項 8】

選択された標的組織に対する選択性を持ち、細胞透過性ペプチドとコンジュゲートされる、ホーミングペプチド  
をさらに含み、それによって、ホーミングペプチド - 細胞透過性ペプチド - アンチセンスオリゴマーの型のコンジュゲートを形成する、請求項1記載のコンジュゲート。

【請求項 9】

筋組織に対する選択性を持ち、細胞透過性ペプチドとコンジュゲートされる、ホーミングペプチド  
をさらに含む、請求項4の(c)～(d)に記載のコンジュゲート。

【請求項 10】

ホーミングペプチドが、SEQ ID NO:51として識別される配列を有する、請求項9記載のコンジュゲート。

【請求項 11】

細胞透過性ペプチド - ホーミングペプチド - アンチセンスオリゴマーの型のコンジュゲートであって、本明細書においてCP06062-MSP-PMOと呼ばれる組成を有する、請求項10記載のコンジュゲート。

【請求項12】

ホーミングペプチド - 細胞透過性ペプチド - アンチセンスオリゴマーの型のコンジュゲートであって、本明細書においてMSP-CP06062-PMOと呼ばれる組成を有する、請求項10記載のコンジュゲート。

【請求項13】

その作用が特定の標的組織に対して方向付けられている薬物と、  
連結X、B、またはXBによってそれに共有結合的に連結しており、8～20個のアミノ酸残基を含み、かつ部分配列(RXR)と部分配列(RBR)の組み合わせかまたは部分配列(RX)と部分配列(RB)の組み合わせからなる、細胞透過性ペプチドと  
を含む、所定の疾患状態を処置するための薬物-ペプチドコンジュゲートであって、  
式中、Rがアルギニンであり；Bが -アラニンであり；かつ各Xが独立して中性の直鎖状アミノ酸-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NH-であり、ここでnは4～6であり、  
前記細胞透過性ペプチドが、薬物を標的組織に選択的に局在化させる、  
薬物-ペプチドコンジュゲート。

【請求項14】

以下の段階を含む、選択された哺乳動物組織へと治療用化合物をターゲティングさせるのに有用な細胞透過性ペプチドを同定するための方法：

(a) (i) Rがアルギニンであり、Bが -アラニンであり、かつ各Xが独立して-C(O)-(CHR<sup>1</sup>)<sub>n</sub>-NH-であり、ここでnは4～6であり、かつ各R<sup>1</sup>は、メチルであるR<sup>1</sup>が多くても2つとなるように、独立してHまたはメチルである、RXR、RX、RB、およびRBRからなる群より選択される部分配列からなる、各々、アミノ酸残基8～20個の長さの、複数の異なるペプチドと、

(ii) X、B、またはXB連結によって各々のペプチドに共有結合的に連結しており、  
選択された組織の細胞においてその濃度がアッセイされうる、オリゴマー-マーカ化合物と

からなるペプチドコンジュゲートのライブラリを形成する段階；

(b) 各ペプチドコンジュゲートを哺乳動物被験体に投与する段階；

(c) 投与されたペプチドコンジュゲートを哺乳動物被験体の選択された組織に局在化させるのに十分な期間の後、選択された組織の細胞におけるマーカ化合物のレベルをアッセイする段階；ならびに

(d) コンジュゲートライブラリにおける他のペプチドと比較して、選択された組織におけるマーカ化合物の最高レベルまたはほぼ最高(near-highest)レベルをもたらすその能力に基づいて、選択された哺乳動物組織へと治療用化合物をターゲティングさせるのに有用な細胞透過性ペプチドを選択する段階。

【請求項15】

ライブラリにおけるペプチドが、SEQ ID NO:6～27によって識別される配列を有する群から選択される少なくとも8個のペプチドを含む、請求項14記載の方法。

【請求項16】

Xが6-アミノヘキサン酸残基であり、かつペプチドが、少なくとも3個のX残基を含有しかつ(RXR)部分配列と(RBR)部分配列の組み合わせからなる、請求項14記載の方法。

【請求項17】

Xが6-アミノヘキサン酸残基であり、かつペプチドが、少なくとも3個のX残基を含有しかつ(RX)部分配列と(RB)部分配列の組み合わせからなる、請求項14記載の方法。

【請求項18】

以下の段階をさらに含む、哺乳動物被験体における選択された組織に関連する疾患状態を処置するための治療用コンジュゲートを調製するための、請求項14記載の方法：

選択された組織の細胞に局在した場合に疾患状態に対して有効である治療用化合物を選

択する段階、および

選択された細胞透過性ペプチドの1つの末端に治療用化合物をコンジュゲートさせる段階。

【請求項 19】

治療用化合物が、オリゴマーアンチセンス化合物である、請求項14記載の方法。

【請求項 20】

SEQ ID NO:14～27からなる群より選択される配列を有する、細胞透過性ペプチド。

【請求項 21】

SEQ ID NO:19～27からなる群より選択される配列を有する、請求項20記載のペプチド。

【請求項 22】

SEQ ID NO:19、23、24、および25からなる群より選択される配列を有する、請求項21記載のペプチド。

【請求項 23】

SEQ ID NO:19として識別される配列を有する、請求項22記載のペプチド。

【請求項 24】

発現されたジストロフィンタンパク質におけるスプライスバリエーション切断を抑制するのに有効なアンチセンスオリゴマー、または筋組織におけるミオスタチン発現を抑制するのに有効なアンチセンスオリゴマーの各々と、

該オリゴマーにコンジュゲートされた、SEQ ID NO:19として識別される配列を有する細胞透過性ペプチドと

を含む、DMDまたは筋消耗（muscle-wasting）疾患を処置するための組成物の使用。

【請求項 25】

ホーミングペプチド - 細胞透過性ペプチド - アンチセンスオリゴマー組成物を形成するために、オリゴマーおよび細胞透過性ペプチドにコンジュゲートされた筋ホーミングペプチドをさらに含む、請求項24記載の使用。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0028

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0028】

本発明のこれらおよび他の目標および特色は、添付の図面と共に本発明の以下の詳細な説明を読むことによってより完全に明らかとなると考えられる。

[請求項1001]

特定の標的組織における所定の疾患状態と発現が関連している遺伝子に対して方向付けられている、ホスホロジアミデートモルフォリノアンチセンスオリゴマーと、

連結X、B、またはXBによってそれに共有結合的に連結しており、8～20個のアミノ酸残基を含み、かつ部分配列（RXR）と部分配列（RBR）の組み合わせかまたは部分配列（RX）と部分配列（RB）の組み合わせからなる、細胞透過性ペプチド（cell-penetrating peptide）と

を含む、所定の疾患状態を処置するためのペプチド-アンチセンスコンジュゲートであって、

式中、Rがアルギニンであり；Bが -アラニンであり；かつ各Xが独立して中性の直鎖状アミノ酸-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NH-であり、ここでnは4～6であり、

前記細胞透過性ペプチドが、アンチセンスオリゴマーを標的組織に選択的に局在化させる、

ペプチド-アンチセンスコンジュゲート。

[請求項1002]

各Xが6-アミノヘキサン酸残基となるように、nが5である、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1003]

ホスホロジアミデートモルフォリノオリゴマーが、約20～50%の、陽性に荷電した骨格連結を含有する、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1004]

細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:23として識別される配列を有し、かつオリゴマーがヒトアンドロゲン受容体タンパク質を標的とする、  
哺乳動物被験体における前立腺癌の処置において用いるための、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1005]

細胞透過性ペプチドがSEQ ID NO:13、14、21、および27からなる群より選択され、かつオリゴマーがヒトc-mycタンパク質を標的とする、  
哺乳動物被験体における多発性嚢胞腎疾患の処置において用いるための、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1006]

細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:10、14、19、および27からなる群より選択される配列を有し、かつオリゴマーがヒトTGF- $\beta$ 1を標的とする、  
末梢血における幹細胞の増殖および生存を増強するための、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1007]

細胞透過性ペプチドがSEQ ID NO:19および21からなる群より選択され、かつオリゴマーがヒトc-mycを標的とする、  
心臓の再狭窄 (cardiac restenosis) の処置において用いるための、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1008]

細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:10によって識別される配列を有し、かつオリゴマーがA型インフルエンザウイルスまたは呼吸器合胞体ウイルスを標的とする、  
呼吸器のウイルス感染症の処置において用いるための、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1009]

細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:13、14、および19によって識別される群から選択される配列を有し、かつオリゴマーが細菌16S rRNAを標的とする、  
呼吸器の細菌感染症の処置において用いるための、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1010]

細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:19、23、24、および25からなる群より選択される配列を有し、かつオリゴマーが肝臓のP450酵素を標的とする、  
肝臓で正常に代謝される生体異物化合物の代謝の再方向付け (metabolic redirection) において用いるための、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1011]

細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:19、23、24、および25からなる群より選択される配列を有し、かつオリゴマーがC型肝炎ウイルスまたはB型肝炎ウイルスを標的とする、  
ウイルス肝炎の処置において用いるための、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1012]

細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:6、13、19、および20からなる群より選択される配列を有し、かつオリゴマーが、ジストロフィンタンパク質の部分的活性を回復させるようにヒトジストロフィンタンパク質におけるエキソンスキッピングをもたらすのに有効な配列を有する、  
デュシェンヌ型筋ジストロフィーの処置において用いるための、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1013]

細胞透過性ペプチドが、SEQ ID NO:6、13、19、および20からなる群より選択される配

列を有し、かつアンチセンスオリゴマーがヒトミオスタチンを標的とする、ヒト被験体における骨格筋量の損失の処置において用いるための、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1014]

細胞透過性ペプチドが配列SEQ ID NO:19を有する、請求項1012または1013記載のコンジュゲート。

[請求項1015]

アンチセンスオリゴマーが、SEQ ID NO:34、49、および81からなる群より選択される配列を有する、請求項1012または1013記載のコンジュゲート。

[請求項1016]

選択された標的組織に対する選択性をもち、細胞透過性ペプチドとコンジュゲートされる、ホーミングペプチド

をさらに含み、それによって、細胞透過性ペプチド - ホーミングペプチド - アンチセンスオリゴマーの型のコンジュゲートを形成する、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1017]

選択された標的組織に対する選択性をもち、細胞透過性ペプチドとコンジュゲートされる、ホーミングペプチド

をさらに含み、それによって、ホーミングペプチド - 細胞透過性ペプチド - アンチセンスオリゴマーの型のコンジュゲートを形成する、請求項1001記載のコンジュゲート。

[請求項1018]

筋組織に対する選択性をもち、細胞透過性ペプチドとコンジュゲートされる、ホーミングペプチド

をさらに含む、請求項1012または1013記載のコンジュゲート。

[請求項1019]

ホーミングペプチドが、SEQ ID NO:51として識別される配列を有する、請求項1018記載のコンジュゲート。

[請求項1020]

細胞透過性ペプチド - ホーミングペプチド - アンチセンスオリゴマーの型のコンジュゲートであって、本明細書においてCP06062-MSP-PMOと呼ばれる組成を有する、請求項1019記載のコンジュゲート。

[請求項1021]

ホーミングペプチド - 細胞透過性ペプチド - アンチセンスオリゴマーの型のコンジュゲートであって、本明細書においてMSP-CP06062-PMOと呼ばれる組成を有する、請求項1019記載のコンジュゲート。

[請求項1022]

その作用が特定の標的組織に対して方向付けられている薬物と、

連結X、B、またはXBによってそれに共有結合的に連結しており、8～20個のアミノ酸残基を含み、かつ部分配列(RXR)と部分配列(RBR)の組み合わせかまたは部分配列(RX)と部分配列(RB)の組み合わせからなる、細胞透過性ペプチドと

を含む、所定の疾患状態を処置するための薬物-ペプチドコンジュゲートであって、

式中、Rがアルギニンであり；Bが -アラニンであり；かつ各Xが独立して中性の直鎖状アミノ酸-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NH-であり、ここでnは4～6であり、

前記細胞透過性ペプチドが、薬物を標的組織に選択的に局在化させる、薬物-ペプチドコンジュゲート。

[請求項1023]

細胞透過性ペプチドがSEQ ID NO:19および27からなる群より選択され、かつ治療用化合物が、ヒトc-mycを標的とするアンチセンスオリゴマー、ラパマイシン、および抗再狭窄(anti-restenosis)活性を有するラパマイシン類似体からなる群より選択される、再狭窄の処置において用いるための、請求項1022記載のコンジュゲート。

[請求項1024]

治療用化合物がsiRNAである、請求項1022記載のコンジュゲート。

[請求項1025]

siRNAと非共有結合的に結合している二本鎖RNA結合化合物をさらに含む、請求項1024記載のコンジュゲート。

[請求項1026]

以下の段階を含む、選択された哺乳動物組織へと治療用化合物をターゲティングさせるのに有用な細胞透過性ペプチドを同定するための方法：

(a) (i) Rがアルギニンであり、Bが -アラニンであり、かつ各Xが独立して-C(O)-(C(HR<sup>1</sup>))<sub>n</sub>-NH-であり、ここでnは4~6であり、かつ各R'は、メチルであるR<sup>1</sup>が多くても2つとなるように、独立してHまたはメチルである、RXR、RX、RB、およびRBRからなる群より選択される部分配列からなる、各々、アミノ酸8~20個の長さの、複数の異なるペプチドと

(ii) X、B、またはXB連結によって各々のペプチドに共有結合的に連結しており、選択された組織の細胞においてその濃度がアッセイされうる、オリゴマー-マーカ化合物とからなるペプチドコンジュゲートのライブラリを形成する段階；

(b) 各ペプチドコンジュゲートを哺乳動物被験体に投与する段階；

(c) 投与されたペプチドコンジュゲートを哺乳動物被験体の選択された組織に局在化させるのに十分な期間の後、選択された組織の細胞におけるマーカ化合物のレベルをアッセイする段階；ならびに

(d) コンジュゲートライブラリにおける他のペプチドと比較して、選択された組織におけるマーカ化合物の最高レベルまたはほぼ最高 (near-highest) レベルをもたらすその能力に基づいて、選択された哺乳動物組織へと治療用化合物をターゲティングさせるのに有用な細胞透過性ペプチドを選択する段階。

[請求項1027]

ライブラリにおけるペプチドが、SEQ ID NO:6~27によって識別される配列を有する群から選択される少なくとも8個のペプチドを含む、請求項1026記載の方法。

[請求項1028]

Xが6-アミノヘキサン酸残基であり、かつペプチドが、少なくとも3個のX残基を含有しかつ(RXR)部分配列と(RBR)部分配列の組み合わせからなる、請求項1026記載の方法。

[請求項1029]

Xが6-アミノヘキサン酸残基であり、かつペプチドが、少なくとも3個のX残基を含有しかつ(RX)部分配列と(RB)部分配列の組み合わせからなる、請求項1026記載の方法。

[請求項1030]

以下の段階をさらに含む、哺乳動物被験体における選択された組織に関連する疾患状態を処置するための治療用コンジュゲートの調製において用いるための、請求項1026記載の方法：

選択された組織の細胞に局在した場合に疾患状態に対して有効である治療用化合物を選択する段階、および

選択された細胞透過性ペプチドの1つの末端に治療用化合物をコンジュゲートさせる段階。

[請求項1031]

治療用化合物が、オリゴマー-アンチセンス化合物である、請求項1027記載の方法。

[請求項1032]

SEQ ID NO:14~27からなる群より選択される配列を有する、細胞透過性ペプチド。

[請求項1033]

SEQ ID NO:19~27からなる群より選択される配列を有する、請求項1032記載のペプチド。

[請求項1034]

SEQ ID NO:19、23、24、および25からなる群より選択される配列を有する、請求項1033

記載のペプチド。

[請求項1035]

SEQ ID NO:19として識別される配列を有する、請求項1034記載のペプチド。

PCTに関して

[請求項1036]

哺乳動物被験体に投与された場合に、それぞれ、発現されたジストロフィンタンパク質におけるスプライスバリエーション切断を抑制するのに有効な、または筋組織におけるミオスタチン発現を抑制するのに有効なアンチセンスオリゴマーを調製することによる、哺乳動物被験体におけるDMDまたは筋消耗（muscle-wasting）疾患を処置するのに有用なアンチセンス組成物を調製するための方法における、

SEQ ID NO:19として識別される配列を有する細胞透過性ペプチドを前記オリゴマーとコンジュゲートさせることを含む、改善。

[請求項1037]

改善が、筋ホーミングペプチドをオリゴマーおよび細胞透過性ペプチドとコンジュゲートさせて、ホーミングペプチド - 細胞透過性ペプチド - アンチセンスオリゴマー組成物を形成することをさらに含む、請求項1036記載の方法。

[請求項1038]

哺乳動物被験体に投与された場合に、可溶性TNF- 受容体の発現を誘導するのに有効なアンチセンスオリゴマーを調製することによる、炎症状態を処置するのに有用なアンチセンス組成物を調製するための方法における、

SEQ ID NO:19、23、24、および25からなる群より選択される配列を有する細胞透過性ペプチドを前記オリゴマーとコンジュゲートさせることを含む、改善。

[請求項1039]

改善が、肝臓ホーミングペプチドをオリゴマーおよび細胞透過性ペプチドとコンジュゲートさせて、ホーミングペプチド - 細胞透過性ペプチド - アンチセンスオリゴマー組成物を形成することをさらに含む、請求項1038記載の方法。

[請求項1040]

哺乳動物被験体に投与された場合に、白血球におけるIL-10、CTLA-4、またはcFLIPの発現を抑制するのに有効なアンチセンスオリゴマーを調製することによる、哺乳動物被験体における免疫状態（immune condition）を処置するのに有用なアンチセンス組成物を調製するための方法における、

SEQ ID NO:27として識別される配列を有する細胞透過性ペプチドをオリゴマーとコンジュゲートさせることを含む、改善。

[請求項1041]

改善が、白血球ホーミングペプチドをオリゴマーおよび細胞透過性ペプチドとコンジュゲートさせて、ホーミングペプチド - 細胞透過性ペプチド - アンチセンスオリゴマー組成物を形成することをさらに含む、請求項1040記載の方法。