

【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】令和3年12月23日(2021.12.23)

【公表番号】特表2021-507682(P2021-507682A)

【公表日】令和3年2月25日(2021.2.25)

【年通号数】公開・登録公報2021-010

【出願番号】特願2020-524832(P2020-524832)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 38/02 (2006.01)

A 6 1 K 47/64 (2017.01)

A 6 1 K 35/12 (2015.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

C 1 2 N 15/64 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/62

C 1 2 N 15/11 Z N A Z

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 38/02

A 6 1 K 47/64

A 6 1 K 35/12

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 47/68

C 1 2 N 15/64 Z

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】令和3年11月8日(2021.11.8)

【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】

少なくとも1つの核酸（NA）結合ドメイン及び少なくとも1つのエクソソームポリペプチドを含む少なくとも1つの融合ポリペプチドを含む細胞外小胞（EV）であって、前記少なくとも1つのNA結合ドメインが、PUF、Cas6、Cas13、及び/又はNAアプタマー結合ドメインのうちの1つ以上である、EV。

【請求項 2】

少なくとも1つのNAカーゴ分子をさらに含む、請求項1に記載のEV。

【請求項 3】

前記少なくとも1つのNAカーゴ分子が、

(a) 前記融合ポリペプチドの助けにより前記EV内に輸送される；並びに/又は
(b) shRNA、miRNA、mRNA、gRNA、pri-miRNA、pre-miRNA、環状RNA、piRNA、tRNA、rRNA、snRNA、IncRNA、リボザイム、ミニサークルDNA、及び/若しくはプラスミドDNAからなる群から選択される、
 請求項2に記載のEV。

【請求項 4】

各NAカーゴ分子が、(i) 前記NA結合ドメインのための少なくとも1つの結合部位及び(ii) 治療ポリヌクレオチドドメインを含む、請求項2 又は3に記載のEV。

【請求項 5】

前記NAカーゴ分子が、前記少なくとも1つの結合部位と前記治療ポリヌクレオチドドメインとの間に切断部位を含む、請求項4に記載のEV。

【請求項 6】

各NAカーゴ分子が、治療ポリペプチドをコードする、請求項2 ~ 5のいずれか1項に記載のEV。

【請求項 7】

前記治療ポリペプチドが、抗体、細胞内抗体、1本鎖可変断片、アフィボディ、酵素、トランスポーター、腫瘍抑制物質、ウイルス又は細菌阻害物質、細胞構成要素タンパク質、DNA及び/又はRNA結合タンパク質、DNA修復阻害物質、ヌクレアーゼ、プロテイナーゼ、インテグラーゼ、転写因子、成長因子、アポトーシス阻害物質及び誘導物質、毒素、構造タンパク質、神経栄養因子、膜トランスポーター、ヌクレオチド結合タンパク質、ヒートショックタンパク質、CRISPR関連タンパク質、並びにこれらの任意の組合せからなる群から選択される、請求項6に記載のEV。

【請求項 8】

前記融合ポリペプチドが、NA結合ドメインがN及び/若しくはC末端側に隣接する少なくとも1つのエクソソームポリペプチドを含み、並びに/又は、前記少なくとも1つのNA結合ドメインが、前記エクソソームポリペプチドの配列内に挿入される、請求項1 ~ 7のいずれか1項に記載のEV。

【請求項 9】

前記エクソソームポリペプチドが、CD9、CD53、CD63、CD81、CD54、CD50、FLOT1、FLOT2、CD49d、CD71、CD133、CD138、CD235a、ALIX、AARDC1、シンテニン-1、シンテニン-2、Lamp2b、TSPAN8、シンデカン-1、シンデカン-2、シンデカン-3、シンデカン-4、TSPAN14、CD37、CD82、CD151、CD231、CD102、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、DLL1、DLL4、JAG1、JAG2、CD49d/ITGA4、ITGB5、ITGB6、ITGB7、CD11a、CD11b、CD11c、CD18/ITGB2、CD41、CD49b、CD49c、CD49e、CD51、CD61、CD104、Fc受容体、インターロイキン受容体、免疫グロブリン、MHC-I 又は MHC-I I構成要素、CD2、CD3イプシロン、CD3ゼータ、CD13、CD18、CD19、CD30、CD34、CD36、CD

40、CD40L、CD44、CD45、CD45RA、CD47、CD86、CD110、CD111、CD115、CD117、CD125、CD135、CD184、CD200、CD279、CD273、CD274、CD362、COL6A1、AGRN、EGFR、GAPDH、GLUR2、GLUR3、HLA-DM、HSPG2、L1CAM、LAMB1、LAMC1、LFA-1、LGALS3BP、Mac-1アルファ、Mac-1ベータ、MFG8、SLIT2、STX3、TCRA、TCRB、TCRD、TCRG、VTI1A、VTI1B、及びこれらの任意の組合せからなる群から選択される、請求項1～8のいずれか1項に記載のEV。

【請求項10】

前記NAカーゴ分子が、

(a) 直線状である、環状化されている、並びに/若しくは任意の2次構造及び/若しくは3次構造及び/若しくはその他の構造を有する;並びに/又は

(b) 以下:

(i) miRNA結合のための部位、

(ii) ポリAテール若しくはステムループから選択される少なくとも1つの安定化ドメイン、若しくは

(iii) 5'及び/若しくは3'末端における少なくとも1つのハイブリッドUTR

のうちの1つ以上を含む、

請求項2～9のいずれか1項に記載のEV。

【請求項11】

前記miRNA結合のための部位が、組織及び/又は細胞タイプ特異的である、請求項10に記載のEV。

【請求項12】

請求項1～11のいずれか1項に記載のEVの集団。

【請求項13】

(a) EVの前記集団全体におけるEV当たりのNAカーゴ分子の平均数が、EV当たり1個超である;

(b) 前記集団が、少なくとも2つのサブ集団を含み、

第1のEVサブ集団が、EV当たり平均で融合ポリペプチド1個超を含み、

第2のEVサブ集団が、問題とされる前記NAカーゴ分子を、EV当たり平均で融合ポリペプチド1個超と組み合わせる含む;並びに/又は

(c) 全てのEVのうちの少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、及び/若しくは少なくとも95%が、少なくとも1つのNAカーゴ分子を含む、

請求項12に記載の集団。

【請求項14】

請求項1～11のいずれか1項に記載のEVを生成するインピトロの方法であって、

(i) EV生成細胞に、少なくとも1つのNA結合ドメイン及び少なくとも1つのエクソソームポリペプチドを含む融合ポリペプチドをコードする少なくとも1つのポリヌクレオチドコンストラクトを導入することであって、前記少なくとも1つのNA結合ドメインが、PUF、Cas6、Cas13、及び/又はNAアダプター結合ドメインのうちの1つ以上である、導入すること;

(ii) 前記EV生成細胞内で、前記少なくとも1つのポリヌクレオチドコンストラクトによってコードされる少なくとも1つのポリペプチドコンストラクトを発現させて、それによって前記EVを産生すること

を含む、方法。

【請求項15】

(i) 請求項1～11のいずれか1項に記載の少なくとも1つのEV及び/又は(ii)

) 請求項 1 2 若しくは 1 3 に記載の少なくとも 1 つの E V の集団、並びに医薬的に許容される賦形剤又は担体を含む、医薬組成物。

【請求項 1 6】

医薬分野で使用するための、(i) 請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の少なくとも 1 つの E V 及び / 若しくは (i i) 請求項 1 2 若しくは 1 3 に記載の少なくとも 1 つの E V の集団を含む医薬組成物、又は (i i i) 請求項 1 5 に記載の医薬組成物。