

【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6年9月17日(2024.9.17)

【国際公開番号】WO2023/068362

【出願番号】特願2023-554758(P2023-554758)

【国際特許分類】

C 1 2 N 1/04(2006.01)

A 6 1 P 39/06(2006.01)

A 6 1 P 17/18(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

A 6 1 K 35/28(2015.01)

A 6 1 K 35/30(2015.01)

A 6 1 P 9/10(2006.01)

A 6 1 P 25/00(2006.01)

A 6 1 K 9/16(2006.01)

A 6 1 K 47/10(2017.01)

A 6 1 K 47/32(2006.01)

A 6 1 L 27/38(2006.01)

A 6 1 L 27/16(2006.01)

A 6 1 L 27/18(2006.01)

C 1 2 N 5/071(2010.01)

C 1 2 N 5/0797(2010.01)

C 1 2 N 15/11(2006.01)

10

20

【F I】

C 1 2 N 1/04

A 6 1 P 39/06

A 6 1 P 17/18

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 K 35/28

A 6 1 K 35/30

A 6 1 P 9/10

A 6 1 P 25/00

A 6 1 K 9/16

A 6 1 K 47/10

A 6 1 K 47/32

A 6 1 L 27/38 1 0 0

A 6 1 L 27/16

A 6 1 L 27/18

C 1 2 N 5/071

C 1 2 N 5/0797

C 1 2 N 15/11 Z

30

40

【手続補正書】

【提出日】令和5年1月16日(2023.1.16)

【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】

50

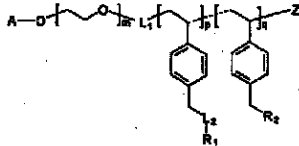
## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

(a) 式 (I) 又は式 (II) で表される共重合体をベースとするナノ粒子及び哺乳動物細胞を用意するステップと、(b) 用意された前記ナノ粒子と用意された前記哺乳動物細胞をイン・ビトロ (in vitro) で組み合わせるステップを含んでなる哺乳動物細胞の改変方法であって、

ステップ (b) が、哺乳動物細胞を培養する培地又は希釈剤において、前記ナノ粒子と前記哺乳動物細胞を混合することで前記哺乳動物細胞中に前記ナノ粒子を浸透させるステップを含むことを特徴とする、前記改変方法。

式 (I) :



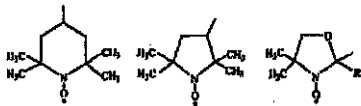
(I)

上式中、

A は、非置換又は置換 C<sub>1</sub> - C<sub>12</sub> アルキルを表し、置換されている場合の置換基は、ホルミル基、式 R' R' CH - 基を表し、ここで、R' 及び R' は独立して -CC<sub>4</sub> アルコキシ又は R' と R' は一緒になって -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O -、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>O - 若しくは -O(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>O - を表し、

L<sub>1</sub> は、直接結合又は二価の連結基を表し、

L<sub>2</sub> - R<sub>1</sub> は、L<sub>2</sub> が -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub> - NH - (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub> - 又は -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub> - O - (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub> - であり、R<sub>1</sub> が、式



で表される環状ニトロキシドラジカル残基のいずれかであり、ここで、R' はメチルであり、

R<sub>2</sub> は、クロロ、プロモ又はヒドロキシルであり、

上記において、L<sub>2</sub> - R<sub>1</sub> と R<sub>2</sub> を有するポリマー主鎖中の反復単位 (unit) はランダムに存在し、L<sub>2</sub> - R<sub>1</sub> を有する単位 p は 2 ~ 100 の範囲内にあり、R<sub>2</sub> を有する単位 q は存在しない (ゼロ) か、若しくは 1 ~ 20 の範囲内にあり、ただし、これらの単位の総数は n となり、

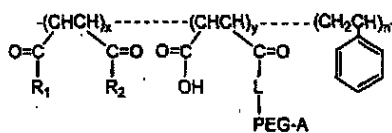
Z は H、SH 又は S(C=S) - Ph であり、Ph は 1 又は 2 個のメチルまたはメトキで置換されていてもよいフェニルを表し、

各 a は、独立して 0 又は 1 ~ 5 の整数であり、

m は 2 ~ 10,000 の整数を表し、

n は 3 ~ 100 の整数を表す。

式 (II) :



(II)

10

20

30

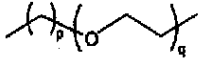
40

50

上式中、

$x + y$  は 5 ~ 1400 の整数であり、 $n$  は 5 ~ 1400 の整数であり、 $x + y : n$  は 1 : 1 ~ 5 の比率にあり、 $x : y$  は 1 ~ 20 : 1 の比率にあり、 $x : y$  は 1 ~ 60 : 1 の比率にあり、

(1) 前記  $y$  の付された反復単位において、L - PEG - A 中、L は、O 又は NH であり、PEG は次式で表され、



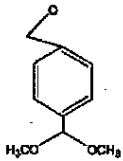
10

ここで、 $p$  は 1 ~ 6 の整数であり、 $q$  は 5 ~ 500 の整数であり、

A は、次の A1 又は A2 のいずれかであり、

A1 : 非置換若しくは置換  $C_1 - C_{12}$  アルコキシ基を表し、置換されている場合の置換基は、ホルミル基、式  $R^a R^b CH -$  (ここで、 $R^a$  及び  $R^b$  は独立して、 $C_1 - C_4$  アルコキシまたは  $R^1$  と  $R^2$  は一緒になって  $-OCH_2CH_2O-$ 、 $-O(CH_2)_3O-$  もしくは  $-O(CH_2)_4O-$  を表す。) の基、又は

A2 : 次式



20

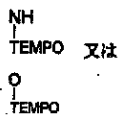
で表される基を表し、

当該反復単位は式 (I) で表される共重合体の総単位の 2% ~ 15% を占め、

(2) 下付き記号  $x$  の付された反復単位において、

(a)  $R_1$  又は  $R_2$  のいずれか一方は、

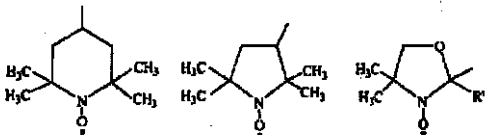
a1 : 次式



30

で表され、ここで、

TEMPO は、次式



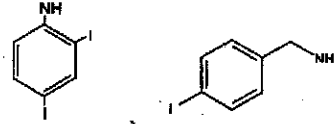
40

で表される環状ニトロキシドラジカル残基のいずれかであり、ここで、 $R'$  はメチルである、

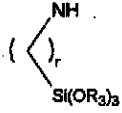
で表されるいずれかの残基、

a2 : 次式

50



のいずれかで表される残基、  
a 3 : 次式



10

で表され、

ここで、R<sub>3</sub>はC<sub>1</sub>-<sub>3</sub>のアルキル基であり、rは2~6の整数である、残基、からなる群より選ばれる残基であり、

他方はOHであり、又は

(b) R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>は、一緒になって-O-を表し、環式無水物残基を形成し、又は

(c) R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>は、各OHを表す、

ただし、前記xの付された反復単位において、

(i) (a)のR<sub>1</sub>又はR<sub>2</sub>のいずれか一方は、a 1の残基を含むか、又は

(ii) (a)のR<sub>1</sub>又はR<sub>2</sub>のいずれか一方は、a 1の残基とa 2の残基を含むか、又は

(iii) (a)のR<sub>1</sub>又はR<sub>2</sub>のいずれか一方は、a 1の残基とa 3の残基を含み、又は

(iv) (a)のR<sub>1</sub>又はR<sub>2</sub>のいずれか一方は、a 1の残基とa 2の残基とa 3の残基を含み、又は

(v) 前記xの付された反復単位は、上記(i)、(ii)乃至(iv)に定義する残基に加えて(b)若しくは(c)に定義する基を含んでもよく、ここで、上記の各残基及び基を含む単位は独立してランダムに存在し、(a)に定義する残基を含む単位はxの付された反復単位の総数の15%~60%を占める。

20

30

【請求項2】

(削除)

【請求項3】

(削除)

【請求項4】

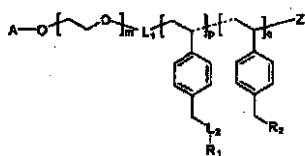
(削除)

【請求項5】

式(I)又は式(II)で表される共重合体をベースとするナノ粒子と哺乳動物細胞がイン・ビトロ(in vitro)で組み合わせさせた配合物であって、前記ナノ粒子と前記哺乳動物細胞が哺乳動物を培養する培地において共存する状態にあり、かつ、前記ナノ粒子が前記哺乳動物細胞に浸透した状態にあることを特徴とする、前記配合物。

40

式(I) :



(I)

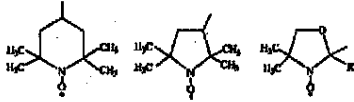
50

上式中、

A は、非置換又は置換  $C_1 - C_{12}$  アルキルを表し、置換されている場合の置換基は、ホルミル基、式  $R' R' CH -$  基を表し、ここで、 $R'$  及び  $R'$  は独立して  $CC_4$  アルコキシ又は  $R'$  と  $R'$  は一緒になって  $-OCH_2CH_2O-$ 、 $-O(CH_2)_3O-$  若しくは  $-O(CH_2)_4O-$  を表し、

$L_1$  は、直接結合又は二価の連結基を表し、

$L_2 - R_1$  は、 $L_2$  が  $-(CH_2)_a - NH - (CH_2)_a -$  又は  $-(CH_2)_a - O - (CH_2)_a -$  であり、 $R_1$  が、式



10

で表される環状ニトロキシドラジカル残基のいずれかであり、ここで、 $R'$  はメチルであり、

$R_2$  は、クロロ、ブromo又はヒドロキシルであり、

上記において、 $L_2 - R_1$  と  $R_2$  を有するポリマー主鎖中の反復単位 (unit) はランダムに存在し、 $L_2 - R_1$  を有する単位  $p$  は  $2 \sim 100$  の範囲内にあり、 $R_2$  を有する単位  $q$  は存在しない (ゼロ) か、若しくは  $1 \sim 20$  の範囲内にあり、ただし、これらの単位の総数は  $n$  となり、

20

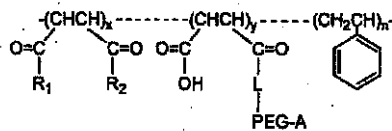
$Z$  は  $H$ 、 $SH$  又は  $S(C=S) - Ph$  であり、 $Ph$  は  $1$  又は  $2$  個のメチルまたはメトキで置換されていてもよいフェニルを表し、

各  $a$  は、独立して  $0$  又は  $1 \sim 5$  の整数であり、

$m$  は  $2 \sim 10$ 、 $000$  の整数を表し、

$n$  は  $3 \sim 100$  の整数を表す。

式 (II) :



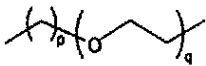
(II)

30

上式中、

$x + y$  は  $5 \sim 1400$  の整数であり、 $n$  は  $5 \sim 1400$  の整数であり、 $x + y : n$  は  $1 : 1 \sim 5$  の比率にあり、 $x : y$  は  $1 \sim 20 : 1$  の比率にあり、 $x : y$  は  $1 \sim 60 : 1$  の比率にあり、

(1) 前記  $y$  の付された反復単位において、 $L - PEG - A$  中、 $L$  は、 $O$  又は  $NH$  であり、 $PEG$  は次式で表され、



40

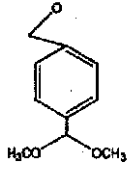
ここで、 $p$  は  $1 \sim 6$  の整数であり、 $q$  は  $5 \sim 500$  の整数であり、

A は、次の A1 又は A2 のいずれかであり、

A1 : 非置換若しくは置換  $C_1 - C_{12}$  アルコキシ基を表し、置換されている場合の置換基は、ホルミル基、式  $R^a R^b CH -$  (ここで、 $R^a$  及び  $R^b$  は独立して、 $C_1 - C_4$  アルコキシまたは  $R^1$  と  $R^2$  は一緒になって  $-OCH_2CH_2O-$ 、 $-O(CH_2)_3O-$  もしくは  $-O(CH_2)_4O-$  を表す。) の基、又は

A2 : 次式

50



で表される基を表し、

当該反復単位は式 (I) で表される共重合体の総単位の 2% ~ 15% を占め、

(2) 下付き記号 x の付された反復単位において、

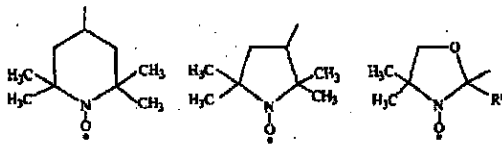
(a) R<sub>1</sub> 又は R<sub>2</sub> のいずれか一方は、

a 1 : 次式



で表され、ここで、

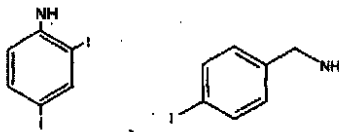
TEMPO は、次式



で表される環状ニトロキシドラジカル残基のいずれかであり、ここで、R' はメチルである、

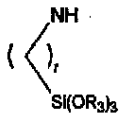
で表されるいずれかの残基、

a 2 : 次式



のいずれかで表される残基、

a 3 : 次式



で表され、

ここで、R<sub>3</sub> は C<sub>1</sub> - 3 のアルキル基であり、r は 2 ~ 6 の整数である、残基、からなる群より選ばれる残基であり、

他方は OH であり、又は

(b) R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は、一緒になって -O- を表し、環式無水物残基を形成し、又は

(c) R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は、各 OH を表す、

ただし、前記 x の付された反復単位において、

10

20

30

40

50

( i ) ( a ) の  $R_1$  又は  $R_2$  のいずれか一方は、 a 1 の残基を含むか、又は  
 ( i i ) ( a ) の  $R_1$  又は  $R_2$  のいずれか一方は、 a 1 の残基と a 2 の残基を含むか、又は  
 ( i i i ) ( a ) の  $R_1$  又は  $R_2$  のいずれか一方は、 a 1 の残基と a 3 の残基を含み、又は  
 ( i v ) ( a ) の  $R_1$  又は  $R_2$  のいずれか一方は、 a 1 の残基と a 2 の残基と a 3 の残基を含み、又は  
 ( v ) 前記 x の付された反復単位は、上記 ( i )、( i i ) 乃至 ( i v ) に定義する残基に加えて ( b ) 若しくは ( c ) に定義する基を含んでいてもよく、ここで、上記の各残基及び基を含む単位は独立してランダムに存在し、( a ) に定義する残基を含む単位は x の付された反復単位の総数の 15% ~ 60% を占める。

10

【請求項 6】

( 削除 )

【請求項 7】

( 削除 )

【請求項 8】

( 削除 )

【請求項 9】

( 削除 )

【請求項 10】

( 削除 )

20

【請求項 11】

前記方法により取得される改変哺乳動物細胞は哺乳動物に移植された場合に、生体内で移植された細胞の生着率の向上及び / 又は目的とする細胞への分化の向上をもたらすことを特徴とする、請求項 1 の方法。

【請求項 12】

前記共重合体が式 ( I ) で表されることを特徴とする、請求項 1 の改変方法。

【請求項 13】

前記配合物における哺乳動物細胞が哺乳動物に移植された場合に、生体内で移植された細胞の生着率の向上及び / 又は目的とする細胞への分化の向上をもたらすために使用されることを特徴とする、請求項 5 の配合物。

30

【請求項 14】

前記共重合体が式 ( I ) で表されることを特徴とする、請求項 5 の配合物。

40

50