

【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24年2月2日(2012.2.2)

【公表番号】特表2011-507807(P2011-507807A)

【公表日】平成23年3月10日(2011.3.10)

【年通号数】公開・登録公報2011-010

【出願番号】特願2010-537225(P2010-537225)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/485 (2006.01)  
C 0 7 K 14/775 (2006.01)  
A 6 1 K 47/24 (2006.01)  
A 6 1 K 47/28 (2006.01)  
A 6 1 K 47/42 (2006.01)  
A 6 1 K 9/16 (2006.01)  
A 6 1 K 45/00 (2006.01)  
A 6 1 K 47/48 (2006.01)  
A 6 1 K 39/395 (2006.01)  
A 6 1 K 45/06 (2006.01)  
A 6 1 K 49/00 (2006.01)  
A 6 1 K 49/04 (2006.01)  
A 6 1 K 51/00 (2006.01)  
A 6 1 P 35/00 (2006.01)  
A 6 1 P 27/02 (2006.01)  
A 6 1 P 29/00 (2006.01)  
A 6 1 P 11/06 (2006.01)  
A 6 1 P 31/10 (2006.01)  
A 6 1 P 31/12 (2006.01)  
A 6 1 K 31/337 (2006.01)  
A 6 1 K 31/56 (2006.01)  
A 6 1 K 31/202 (2006.01)  
A 6 1 K 31/704 (2006.01)  
A 6 1 K 31/137 (2006.01)  
A 6 1 K 31/138 (2006.01)  
A 6 1 K 31/165 (2006.01)  
A 6 1 K 31/232 (2006.01)  
A 6 1 K 31/433 (2006.01)  
A 6 1 K 31/409 (2006.01)  
A 6 1 K 31/573 (2006.01)  
A 6 1 K 31/541 (2006.01)  
A 6 1 K 31/405 (2006.01)  
A 6 1 K 31/192 (2006.01)  
A 6 1 K 31/4152 (2006.01)  
A 6 1 K 31/7048 (2006.01)  
A 6 1 K 31/4164 (2006.01)  
A 6 1 K 31/522 (2006.01)  
A 6 1 K 31/713 (2006.01)  
A 6 1 K 31/7105 (2006.01)  
A 6 1 K 48/00 (2006.01)  
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

**G 0 1 N**    33/53        (2006.01)  
**G 0 1 N**    33/569      (2006.01)  
**G 0 1 N**    33/544      (2006.01)  
**G 0 1 N**    33/574      (2006.01)

## 【 F I 】

C 0 7 K	14/485	Z N A
C 0 7 K	14/775	
A 6 1 K	47/24	
A 6 1 K	47/28	
A 6 1 K	47/42	
A 6 1 K	9/16	
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	47/48	
A 6 1 K	39/395	C
A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 K	45/06	
A 6 1 K	49/00	A
A 6 1 K	49/00	C
A 6 1 K	49/04	A
A 6 1 K	49/02	A
A 6 1 K	43/00	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	31/10	
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 K	31/337	
A 6 1 K	31/56	
A 6 1 K	31/202	
A 6 1 K	31/704	
A 6 1 K	31/137	
A 6 1 K	31/138	
A 6 1 K	31/165	
A 6 1 K	31/232	
A 6 1 K	31/433	
A 6 1 K	31/409	
A 6 1 K	31/573	
A 6 1 K	31/541	
A 6 1 K	31/405	
A 6 1 K	31/192	
A 6 1 K	31/4152	
A 6 1 K	31/7048	
A 6 1 K	31/4164	
A 6 1 K	31/522	
A 6 1 K	31/713	
A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	31/7088	
G 0 1 N	33/53	D

G 0 1 N	33/569	H
G 0 1 N	33/544	Z
G 0 1 N	33/574	D
G 0 1 N	33/574	A

【手続補正書】

【提出日】平成23年12月12日(2011.12.12)

【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】

a) 少なくとも1つのリン脂質；

b) 少なくとも1つの不飽和脂質、好ましくは不飽和ステロールエステル、さらに好ましくは不飽和コレステロールエステル、さらに好ましくはオレイン酸コレステリル；および

c) 少なくとも1つの両親媒性 らせんを形成可能なアミノ酸配列を含む、少なくとも1つのペプチド

を含み、

構成要素a)、b)およびc)が会合して、ペプチド-リン脂質ナノ足場を形成する  
非天然存在ペプチド-脂質ナノ足場。

【請求項2】

d) 少なくとも1つのホーミング分子

をさらに含み；そして

構成要素a)、b)、c)およびd)が会合して、ペプチド-リン脂質ナノ足場を形成する

請求項1のペプチド-脂質ナノ足場。

【請求項3】

少なくとも1つのホーミング分子が、少なくとも1つのリン脂質に共有結合している、  
請求項2のペプチド-脂質ナノ足場。

【請求項4】

少なくとも1つのホーミング分子が少なくとも1つのペプチドに共有結合している、  
請求項2のペプチド-脂質ナノ足場。

【請求項5】

少なくとも1つのホーミング分子が、両親媒性 らせんの親水性面および疎水性面の間  
の移行部分またはその近傍のアミノ酸で、ペプチドに結合している、請求項4のペプチド  
-脂質ナノ足場。

【請求項6】

ホーミング分子に結合するペプチドのアミノ酸が、リジン、システイン、スレオニンお  
よびセリンからなる群より選択される、好ましくはリジンである、請求項5のペプチド-  
脂質ナノ足場。

【請求項7】

少なくとも1つのホーミング分子が、少なくとも1つの活性細胞表面受容体リガンドで  
ある、請求項2のペプチド-脂質ナノ足場。

【請求項8】

e) 少なくとも1つの活性剤

をさらに含み；そして

構成要素a)、b)、c)、d)およびe)が会合して、ペプチド-脂質ナノ足場を形成

する

請求項 7 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 9】

ペプチドが、クラス A、H、L および M 両親媒性 らせん、その断片、ならびに前記クラス A、H、L および M 両親媒性 らせんまたはその断片の逆ペプチド配列を含むペプチドからなる群より選択される、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 10】

ペプチドが、2F、4F、2F の逆配列および 4F の逆配列からなる群より選択される、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 11】

少なくとも 1 つの両親媒性 らせんまたはペプチドが、6 ~ 30 アミノ酸の間の長さであるか、8 ~ 28 アミノ酸の間の長さであるか、10 ~ 24 アミノ酸の間の長さであるか、11 ~ 22 アミノ酸の間の長さであるか、14 ~ 21 アミノ酸の間の長さであるか、16 ~ 20 アミノ酸の間の長さであるか、または 18 アミノ酸の長さである、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 12】

リン脂質が、ホスファチジルコリン（好ましくは D M P C (1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、P O P C (1-パルミトイール-1-オレオイル-ホスファチジルコリン) および E Y P C (卵黄ホスファチジルコリン) )、リゾホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトールおよび前述のものの組み合わせからなる群より選択される、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 13】

ナノ足場が直径 5 ~ 50 nm の間であるか、直径 5 ~ 40 nm の間であるか、直径 5 ~ 30 nm の間であるか、直径 5 ~ 25 nm の間であるか、直径 5 ~ 20 nm の間であるか、または直径 10 ~ 15 nm の間である、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 14】

少なくとも 1 つの活性剤が、好ましくはオレイン酸コレステロール部分、ラウリン酸コレステリル部分、フィトール部分、ならびに好ましくはオレイン酸部分および不飽和コレステロール - エステル部分からなる群より選択される少なくとも 1 つの脂質アンカーに結合している、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 15】

少なくとも 1 つの活性剤が、エステル結合によって、少なくとも 1 つの脂質アンカーに結合している、請求項 14 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 16】

細胞表面受容体リガンドが、癌細胞において過剰発現される受容体のリガンドである、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 17】

細胞表面受容体リガンドが、心臓血管斑において過剰発現される受容体のリガンドである、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 18】

細胞表面受容体リガンドが、葉酸、Her-2/neu、インテグリン、EGFR、メタスチン、ErbbB、c-Kit、c-Met、CXR4、CCR7、エンドセリン-A、PPAR-デルタ、PDGFR-A、BAG-i、およびTGFベータからなる群より選択される受容体のリガンドである、請求項 16 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 19】

ホーミング分子が、ペプチド、アブタマー、抗体および抗体断片からなる群より選択される、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 20】

細胞表面受容体リガンドが抗体断片であり、そして Fab 領域を含む、請求項 19 のペ

ペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 2 1】

活性剤が親油性化合物である、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 2 2】

親油性化合物が、アセトアニリド、アニリド、アミノキノリン、ベンズヒドリル化合物、ベンゾジアゼピン、ベンゾフラン、カンナビノイド、環状ペプチド、ジベンザゼピン、ジギタリスグリコシド、麦角アルカロイド、フラボノイド、イミダゾール、キノリン、マクロライド、ナフトレン、オピエート（またはモルフィナン）、オキサジン、オキサゾール、フェニルアルキルアミン、ピペリジン、ポリ環状芳香族炭化水素、ピロリジン、ピロリジノン、スチルベン、スルホニル尿素、スルホン、トリアゾール、トロパン、およびビンカアルカロイドからなる群より選択される、請求項 2 1 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 2 3】

活性剤が、親油性および親水性構成要素を含む分子である、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 2 4】

活性剤が、診断剤、画像化剤または療法剤である、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 2 5】

活性剤が診断剤である、請求項 2 4 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 2 6】

活性剤が療法剤である、請求項 2 4 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 2 7】

アミノ酸配列が、順方向または逆方向で、好ましくはアポB - 100、アポB - 48、アポC、アポE およびアポAからなる群より選択されるアポタンパク質の連続するアミノ酸を含む、請求項 1 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 2 8】

1 以上のトリアシルグリセロール、ステロール、ステロールエステル、またはその組み合わせをさらに含む、請求項 1 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 2 9】

a ) 少なくとも 1 つのリン脂質；

b ) 少なくとも 1 つの不飽和脂質、好ましくは不飽和ステロールエステル、さらに好ましくは不飽和コレステロールエステル、さらに好ましくはオレイン酸コレステリル；

c ) 少なくとも 1 つのペプチド；

d ) 少なくとも 1 つのホーミング分子；および

e ) 二本鎖 RNA を含む少なくとも 1 つの活性剤

を含み、活性細胞表面受容体リガンドが、少なくとも 1 つのペプチドに共有結合し、そして構成要素 a )、b )、c )、d ) および e ) が会合して、ペプチド - リン脂質ナノ足場を形成する

非天然存在ペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 3 0】

二本鎖 RNA が si RNA である、請求項 2 9 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 3 1】

二本鎖 RNA が、オレイン酸コレステロール部分、ラウリン酸コレステリル部分、フィトール部分、ならびに好ましくはオレイン酸部分および不飽和コレステロール - エステル部分からなる群より選択される少なくとも 1 つの脂質アンカーに結合している、請求項 3 0 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 3 2】

少なくとも 1 つのペプチドが、両親媒性らせんを形成可能なアミノ酸配列を含む、請求項 2 9 ~ 3 1 のいずれか一項のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 3 3】

少なくとも 1 つのペプチドがアポタンパク質であり、そして活性細胞表面受容体リガンドが低密度リポタンパク質受容体リガンドまたは高密度リポタンパク質受容体リガンドではない、請求項 29 ~ 31 のいずれか一項のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 34】

細胞表面受容体リガンドが H I V 感染細胞において発現される受容体のリガンドである、請求項 8 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 35】

活性剤が s i R N A である、請求項 34 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 36】

疾患を防止するかまたは治療するための請求項 26 のペプチド - 脂質ナノ足場であって、該ペプチド - 脂質ナノ足場が療法量で投与され、該疾患が、該療法剤で防止可能または治療可能である、前記ペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 37】

疾患を防止するかまたは治療するために使用される請求項 26 のペプチド - 脂質ナノ足場であって、該疾患が該療法剤で防止可能または治療可能である、前記ペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 38】

疾患を防止するかまたは治療するための薬剤調製における、請求項 26 のペプチド - 脂質ナノ足場の使用であって、該疾患が該療法剤で防止可能または治療可能である、前記使用。

【請求項 39】

被験体において疾患を診断するための請求項 25 のペプチド - 脂質ナノ足場であって、該ペプチド - 脂質ナノ足場が被験体に投与される、前記ペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 40】

被験体において疾患を診断するために使用される、請求項 25 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 41】

S R - B 1 受容体の過剰発現と関連する疾患を防止するかまたは治療するための請求項 1 のペプチド - 脂質ナノ足場であって、該ペプチド - 脂質ナノ足場がさらに療法剤を含み、そして該疾患が該療法剤で防止可能または治療可能である、前記ペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 42】

疾患が癌、好ましくは乳癌である、請求項 41 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 43】

S R - B 1 受容体の過剰発現と関連する疾患を防止するかまたは治療するために使用される請求項 1 のペプチド - 脂質ナノ足場であって、該ペプチド - 脂質ナノ足場がさらに療法剤を含み、そして該疾患が該療法剤で防止可能または治療可能である、前記ペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 44】

S R - B 1 受容体の過剰発現と関連する疾患を防止するかまたは治療するための薬剤製造における、請求項 1 のペプチド - 脂質ナノ足場の使用であって、該ペプチド - 脂質ナノ足場がさらに療法剤を含み、そして該疾患が該療法剤で防止可能または治療可能である、前記使用。

【請求項 45】

疾患が癌、好ましくは乳癌である、請求項 43 のペプチド - 脂質ナノ足場。

【請求項 46】

疾患が癌、好ましくは乳癌である、請求項 44 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】0 0 5 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0058】

アポA～Iの脂質結合特性の多くを所持する小さい両親媒性らせんペプチドの例には、2つのフェニルアラニンアミノ酸残基を含む18アミノ酸ペプチド配列である2Fが含まれる(D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F)(配列番号1)(AnanthaaramaiyahらJBC. 1985; 260: 10248-10255)。各研究は、この配列が強い脂質会合を示し、そして安定な円盤状のリン脂質粒子を形成可能であることを示した。続いて、2つのさらなるF残基を取り込むと(全部で4F; D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F)(配列番号2)、ペプチドの脂質会合特性がさらに増進することを示す実験が行われた(AnanthaaramaiyahらArterioscler Thromb Vasc Biol. 2005; 25: 1325-1331)。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0067

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0067】

臓器または組織ホーミング分子

本発明は、肺、皮膚、血液、脾臓、網膜、前立腺、卵巣、リンパ節、副腎、肝臓、乳房、消化器系または腎組織を含む、多様な臓器または組織に選択的にホーミングする分子の使用を提供する。例えば、本発明は、ペプチドCGFECEVRCPECおよびCGFELETCを含む、GFEモチーフを含有するものなどの肺ホーミングペプチド；CVALCREACGEGCなどの皮膚ホーミングペプチド；ペプチドSWCEPGWCRCなどの脾臓ホーミングペプチド；ならびに、ペプチドCSCFRDVCC(配列番号43)およびCRDVVSVIC(配列番号44)を含む、RDVモチーフを含有するものなどの網膜ホーミングペプチドの使用を提供する。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0069

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0069】

本発明のHPPSナノ粒子を、選択される臓器または組織に部分をターゲティングする、臓器および組織ホーミング分子とともに用いてもよい。本発明で使用するホーミング分子には、肺、皮膚、脾臓、網膜、前立腺、卵巣、リンパ節、副腎、肝臓または腸を含む多様な正常臓器または組織に、そして肺腫瘍を所持する肺および脾臓腫瘍を所持する脾臓を含めて、腫瘍を所持する臓器に、ホーミングするペプチドが含まれる。例えば、本発明には、各々、3ペプチドGFEモチーフを含有する、ペプチドCGFECEVRCPECおよびCGFELETC、ならびにペプチドGIGEVEVC(配列番号45)を含む肺ホーミングペプチドの使用が含まれる。本発明にはまた、ペプチドCVALCREACGEGCなどの皮膚ホーミングペプチド；ペプチドSWCEPGWCRCなどの脾臓ホーミングペプチド、ならびに、各々、3ペプチドRDVモチーフを含有するペプチドCSCFRDVCCおよびCRDVVSVICなどの網膜ホーミングペプチドの使用も含まれる。前立腺、卵巣、リンパ節、副腎、肝臓および腸にホーミングするペプチドの例もまた提供される(以下の表3を参照されたい)。1つの態様において、ホーミング分子は、全長EGFタンパク質(EGF)またはその断片などのEGFR特異的ペプチドであってもよい。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0075

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0075】

【表3-1】

臓器／モチーフ		
腸	前立腺	
YSGKWGK <u>(配列番号3)</u>	SMSIARL <u>(配列番号13)</u>	
GISALVLS <u>(配列番号4)</u>	VSFLEYR <u>(配列番号14)</u>	
SRRQPLS <u>(配列番号5)</u>	RGRWLAL <u>(配列番号15)</u>	
MSPQLAT <u>(配列番号6)</u>		
VRRGSPQ <u>(配列番号7)</u>		
MRDDEQR <u>(配列番号8)</u>		
QVRRVPE <u>(配列番号9)</u>		
GGRGSWE <u>(配列番号10)</u>		
FRVRGSP <u>(配列番号11)</u>		
RVRGPER <u>(配列番号12)</u>		
肝臓	副腎	
VKSVCRT <u>(配列番号16)</u>	LMLPRAD <u>(配列番号21)</u>	
WRQNMPL <u>(配列番号17)</u>	LPRYLLS <u>(配列番号22)</u>	
SRRFVGG <u>(配列番号18)</u>		
ALERDSL <u>(配列番号19)</u>		
ARRGWTL <u>(配列番号20)</u>		
脾臓	卵巢	
SWCEPGWCR <u>(配列番号23)</u>	EVRSRLS <u>(配列番号24)</u>	
	VRARLMS <u>(配列番号25)</u>	
	RVGLVAR <u>(配列番号26)</u>	
	RVRLVNL <u>(配列番号27)</u>	
皮膚	肺	
CVALCREACGEGC <u>(配列番号28)</u>	CTLRDRNC <u>(配列番号35)</u>	
CSSGCSKNCLEMC <u>(配列番号29)</u>	CGKRYRNC <u>(配列番号36)</u>	

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 6

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 7 6 】

【表 3 - 2 】

CIGEVEVC	<u>(配列番号 3 0 )</u>	CLRPYLN C	<u>(配列番号 3 7 )</u>
CKWSRLHSC	<u>(配列番号 3 1 )</u>	CGFELET C	<u>(配列番号 3 8 )</u>
CWRGDRKIC	<u>(配列番号 3 2 )</u>	CTVNEAYKTRMC	<u>(配列番号 3 9 )</u>
CERVVGSSC	<u>(配列番号 3 3 )</u>	CRLRSYGTLSLC	<u>(配列番号 4 0 )</u>
CLAKENVVC	<u>(配列番号 3 4 )</u>	CRPWHNQAHTEC	<u>(配列番号 4 1 )</u>
		CGFECVRQCPERC	<u>(配列番号 4 2 )</u>

【手続補正 7 】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 7

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 7 7 】

本発明には、 G F E モチーフを共有する C G F E C V R Q C P E R C および C G F E L E T C ; C T L R D R N C ; および C G F E L E T C 中に存在する E L E モチーフと類似の E V E モチーフを含有する C I G E V E V C (配列番号 4 6 ) などの肺ホーミングペプチドの使用が含まれる。

【手続補正 8 】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 8

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 7 8 】

好みしくは、本発明はまた、 C V A L C R E A C G E G C などの皮膚ホーミングペプチドも使用してもよい。本発明はさらに、 S W C E P G W C R などの臍臓ホーミングペプチドを含む H P P S ナノ粒子を提供する。 C S C F R D V C C および C R D V V S V I C などの網膜ホーミングペプチドもまた、本発明の H P P S ナノ粒子と組み合わせて使用可能である。 S M S I A R L および V S F L E Y R などの前立腺ホーミングペプチドもまた、本発明の H P P S ナノ粒子と組み合わせて使用可能である。 R V G L V A R および E V R S R L S などの卵巣ホーミングペプチドもまた提供する。本発明はまた、 L P R モチーフを共有する L M L P R A D および L P R Y L L S 、またはモチーフ L A G G を共有する R ( Y / F ) L L A G G (配列番号 4 7 ) および R Y P L A G G (配列番号 4 8 ) などの副腎ホーミングペプチドも使用可能である。さらに、 A G C S V T V C G (配列番号 4 9 ) などのリンパ節ホーミングペプチドが、本発明と組み合わせて使用可能である。本発明はまた、 Y S G K W G K および Y S G K W G W (配列番号 5 0 ) などの腸ホーミングペプチドも使用可能である。

【手続補正 9 】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 1 4 0

【補正方法】 変更

【補正の内容】

## 【0140】

## 実施例1

## 出発物質の調製

## 1) サイズ制御ペプチド(s c P e p)

商業的に入手可能なN-Fmoc保護アミノ酸、固体支持体としてのSieberアミド樹脂、およびカルボキシル基活性化剤としてのHBTU/HOBtを用いて、Fmoc固相ペプチド合成(SPPS)プロトコル(Novabiochem, Resource for peptide synthesis: <http://www.emdbiosciences.com/g.asp?f=NBC/peptideres.htm>)を用いることによって、Ac-DWLKAFYDKVAEKLEAF(「2F」)、Ac-DWFKAFYDKVAEKFKEAF(「4F」、本明細書において、「+4F」ともまた称される))、およびAc-FAEKFKKEAVKDYFAKFWD(-4F)(配列番号51)を、ペプチド合成装置PS-3(Protein Technologies, Inc.)上で合成した。保護された配列の合成後、ペプチド-樹脂のN末端Fmocを、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)中の20%ピペリジンで除去して、末端アミンを曝露させた。次いで、10%無水酢酸を含むテトラヒドロフラン中の10%ピリジンで、NH<sub>2</sub>-ペプチド-樹脂をキャッピングした。Ac-ペプチド-樹脂を、95%トリフルオロ酢酸および5%トリイソプロピルシランによってさらに処理して、ペプチド配列上の保護基を除去し、そして固体支持体を切断した。切断した固体樹脂をろ過によって取り除いた後、ろ過物を濃縮し、そして無水エーテルを添加することによって沈殿させてs c P e pを得た。トリプトファン(W)の蛍光を用いて、HPPSのs c P e p含量を決定した。当業者に知られる他の方法、例えばアミノ酸分析を用いて、HPPSのペプチド含量を決定してもよい。ターゲティングリガンドをコンジュゲート化するため、未結合側鎖アミン基を有するリジン(K)を用いた。