

【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】令和2年11月5日(2020.11.5)

【公表番号】特表2020-500150(P2020-500150A)

【公表日】令和2年1月9日(2020.1.9)

【年通号数】公開・登録公報2020-001

【出願番号】特願2019-515805(P2019-515805)

【国際特許分類】

C 07 K	14/00	(2006.01)
C 07 K	19/00	(2006.01)
C 07 K	7/08	(2006.01)
A 61 K	47/42	(2017.01)
A 61 K	47/64	(2017.01)
G 01 N	33/531	(2006.01)
C 07 K	14/47	(2006.01)
C 12 N	15/12	(2006.01)

【F I】

C 07 K	14/00	Z N A
C 07 K	19/00	
C 07 K	7/08	
A 61 K	47/42	
A 61 K	47/64	
G 01 N	33/531	Z
C 07 K	14/47	
C 12 N	15/12	

【手続補正書】

【提出日】令和2年9月16日(2020.9.16)

【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】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

認識可能な反復モチーフを有しない非構造的ポリペプチドであって、前記ポリペプチドが、下限臨界溶液温度(L C S T)よりも低い温度では可溶性であるか、上限臨界溶液温度(U C S T)よりも高い温度では可溶性であるか、又はそれらの組み合わせであり、前記L C S T及びU C S Tが、それぞれ独立して約0℃から約100℃である、ポリペプチド。

【請求項2】

前記L C S T及びU C S Tが、それぞれ独立して約25℃から約37℃である、請求項1に記載の非構造的ポリペプチド。

【請求項3】

前記非構造的ポリペプチドが、少なくとも50アミノ酸の配列を含み、前記アミノ酸の少なくとも10%が、プロリン(P)であり、及び前記アミノ酸の少なくとも20%が、グリシン(G)である、請求項1に記載の非構造的ポリペプチド。

【請求項4】

前記非構造的ポリペプチドが、配列を含み、前記アミノ酸の少なくとも40%がバリン(V)、アラニン(A)、ロイシン(L)、リシン(K)、スレオニン(T)、イソロイシン(I)、チロシン(Y)、セリン(S)及びフェニルアラニン(F)からなる群から選択される、請求項1に記載の非構造的ポリペプチド。

【請求項5】

言語的複雑性スコアが15よりも大きい、請求項1に記載の非構造的ポリペプチド。

【請求項6】

前記非構造的ポリペプチドが、配列番号7～18のいずれかの50アミノ酸サブ配列を含む、請求項1に記載の非構造的ポリペプチド。

【請求項7】

前記非構造的ポリペプチドが、3つの連続した同一アミノ酸を含有しない配列を含み、いずれの5～10アミノ酸サブ配列も、前記非構造的ポリペプチド中に、一度よりも多くは出現せず、及び

前記非構造的ポリペプチドが、プロリン(P)から開始及び終了するサブ配列を含む場合、前記サブ配列が、少なくとも1つのグリシン(G)をさらに含む、

請求項1に記載の非構造的ポリペプチド。

【請求項8】

前記非構造的ポリペプチドが、少なくとも50アミノ酸の配列を含み、

前記アミノ酸の少なくとも10%が、プロリン(P)であり、

前記アミノ酸の少なくとも20%が、グリシン(G)であり、

前記アミノ酸の少なくとも40%が、バリン(V)、アラニン(A)、ロイシン(L)、リシン(K)、スレオニン(T)、イソロイシン(I)、チロシン(Y)、セリン(S)及びフェニルアラニン(F)からなる群から選択され、

前記配列が、3つの連続した同一アミノ酸を含有せず、

いずれの5～10アミノ酸サブ配列も、前記非構造的ポリペプチド中に、一度よりも多くは出現せず、及び

前記非構造的ポリペプチドが、プロリン(P)から開始及び終了するサブ配列を含む場合、前記サブ配列が、少なくとも1つのグリシン(G)をさらに含む、

請求項1に記載の非構造的ポリペプチド。

【請求項9】

配列番号7～18から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項1に記載の非構造的ポリペプチド。

【請求項10】

少なくとも1つの結合ポリペプチド及び少なくとも1つの請求項1～9のいずれか一項に記載の非構造的ポリペプチドを含む、融合タンパク質。

【請求項11】

前記融合タンパク質が、複数の非構造的ポリペプチドを含む、請求項10に記載の融合タンパク質。

【請求項12】

前記融合タンパク質が、複数の結合ポリペプチドを含む、請求項10又は11に記載の融合タンパク質。

【請求項13】

少なくとも2つの近接した結合ポリペプチドの間に配置されるリンカーをさらに含む、請求項12に記載の融合タンパク質。

【請求項14】

少なくとも2つの近接した非構造的ポリペプチドの間に配置されるリンカーをさらに含む、請求項12に記載の融合タンパク質。

【請求項15】

前記リンカーが、少なくとも1つのグリシン及び少なくとも1つのセリンを含む、請求項13又は14に記載の融合タンパク質。

【請求項 16】

前記リンカーが、配列番号 21 ((G1y4Ser)₃) からなるアミノ酸配列を含む、請求項 15 に記載の融合タンパク質。

【請求項 17】

前記リンカーが、配列番号 22 (PQPQPKPQPKPEPEPQPQG) からなるアミノ酸配列を含む、請求項 13 又は 14 に記載の融合タンパク質。

【請求項 18】

複数の結合ポリペプチドが、オリゴマーを形成する、請求項 12 ~ 17 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 19】

前記結合ポリペプチドが、標的に結合し、前記融合タンパク質が、1つよりも多い標的に結合する、請求項 10 ~ 18 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 20】

前記結合ポリペプチドが、プロテイン A を含む、請求項 10 ~ 19 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 21】

少なくとも 1 つの非構造的ポリペプチドが、熱応答性ポリペプチドを含む、請求項 10 ~ 20 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 22】

前記少なくとも 1 つの結合ポリペプチドと前記少なくとも 1 つの非構造的ポリペプチドとの間に配置される、少なくとも 1 つのリンカーをさらに含む、請求項 10 ~ 21 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 23】

前記融合タンパク質が、前記少なくとも 1 つの結合ポリペプチドと前記少なくとも 1 つの非構造的ポリペプチドとの間に配置される、複数のリンカー含む、請求項 22 に記載の融合タンパク質。

【請求項 24】

前記少なくとも 1 つの結合ポリペプチドが、前記少なくとも 1 つの非構造的ポリペプチドの N 末端に配置される、請求項 10 ~ 23 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 25】

前記少なくとも 1 つの結合ポリペプチドが、前記少なくとも 1 つの非構造的ポリペプチドの C 末端に配置される、請求項 10 ~ 23 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0083

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0083】

濁度特性は、PBS 中で 25 μ M である全ての構成物に対し、約 0 と約 100 との間の加熱曲線又は冷却曲線からなり、当該濁度特性が、A [0.2] (配列番号 7 及び 9) 及び A [0.5] (配列番号 8 及び 10) の非反復版が、それらの反復性対照物 (配列番号 3 及び 5 並びに配列番号 4 及び 6) と同様に、転移温度を有する L C S T 相挙動を維持することを示した。さらに、非構造的ポリペプチドは、0 と 100 との間で下限臨界溶液温度 (L C S T) 挙動を示した (図 3 (A) ~ (B) 及び図 4 (A) ~ (B) を参照されたい)。

【表 2 - 1】

配列

【表 2 - 2】

【表2-3】

LGTGLTGGTPTGGIPGGIGIPGILTT
配列番号18 PGTYPGYGVYPTTGGIPGGVPGGGTKLVPGKGKGGAKAPGTVPVGAGGGKIVPIYGIAPGKY GYPGGGIVPGITTPGLPTGKKPYGGVPVLYGKLPGAPGIPTAGAPGYIAPGVPGGLVKGGTGIAPL GVILVYIGVGGIKGGALPTGGLYPGAGTPGYPVGGGAPAGGIALKPGITPGTAAPGLPGKGGKYT YPGGAPGGTGGVPGPGLALKLGIPTKGGGIGLPYIGLLPGKPGG
配列番号19 Met-Ser-Lys-Gly-Pro-Gly
配列番号20 Gly-Trp-Pro
配列番号21 (Gly ₄ Ser) ₃
配列番号22 PQPQPKPQPKPEPEPQPQG
配列番号23 (VPGXG) _n , Xはプロリン以外の任意のアミノ酸であり、かつnは1以上の整数である。

本発明のまた別の態様は、以下のとおりであってもよい。

[1] 認識可能な反復モチーフを有しない非構造的ポリペプチドであって、前記ポリペプチドが、下限臨界溶液温度（L C S T）よりも低い温度では可溶性であるか、上限臨界溶液温度（U C S T）よりも高い温度では可溶性であるか、又はそれらの組み合わせであり、前記L C S T及びU C S Tが、それぞれ独立して約0から約100である、ポリペプチド。

[2] 前記L C S T及びU C S Tが、それぞれ独立して約25から約37である、前記[1]に記載の非構造的ポリペプチド。

[3] 前記非構造的ポリペプチドが、少なくとも50アミノ酸の配列を含み、前記アミノ酸の少なくとも10%が、プロリン（P）であり、及び前記アミノ酸の少なくとも20%が、グリシン（G）である、前記[1]に記載の非構造的ポリペプチド。

[4] 前記非構造的ポリペプチドが、配列を含み、前記アミノ酸の少なくとも40%がバリン（V）、アラニン（A）、ロイシン（L）、リシン（K）、スレオニン（T）、イソロイシン（I）、チロシン（Y）、セリン（S）、及びフェニルアラニン（F）からなる群から選択される、前記[1]に記載の非構造的ポリペプチド。

[5] 言語的複雑性スコアが15よりも大きい、前記[1]に記載の非構造的ポリペプチド。

[6] 前記非構造的ポリペプチドが、配列番号7～18のいずれかの50アミノ酸サブ配列を含む、前記[1]に記載の非構造的ポリペプチド。

[7] 前記非構造的ポリペプチドが、3つの連続した同一アミノ酸を含有しない配列を含み、

いずれの5～10アミノ酸サブ配列も、前記非構造的ポリペプチド中に、一度よりも多くは出現せず、及び

前記非構造的ポリペプチドが、プロリン（P）から開始及び終了するサブ配列を含む場合、前記サブ配列が、少なくとも1つのグリシン（G）をさらに含む、

前記[1]に記載の非構造的ポリペプチド。

[8] 前記非構造的ポリペプチドが、少なくとも50アミノ酸の配列を含み、前記アミノ酸の少なくとも10%が、プロリン（P）であり、

前記アミノ酸の少なくとも20%が、グリシン（G）であり、

前記アミノ酸の少なくとも40%が、バリン（V）、アラニン（A）、ロイシン（L）、リシン（K）、スレオニン（T）、イソロイシン（I）、チロシン（Y）、セリン（S）、及びフェニルアラニン（F）からなる群から選択され、

前記配列が、3つの連続した同一アミノ酸を含有せず、
いずれの5～10アミノ酸サブ配列も、前記非構造的ポリペプチド中に、一度よりも多くは出現せず、及び
前記非構造的ポリペプチドが、プロリン(P)から開始及び終了するサブ配列を含む場合、前記サブ配列が、少なくとも1つのグリシン(G)をさらに含む、
前記〔1〕に記載の非構造的ポリペプチド。
〔9〕配列番号7～18から選択されるアミノ酸配列を含む、前記〔1〕に記載の非構造的ポリペプチド。
〔10〕少なくとも1つの結合ポリペプチド及び少なくとも1つの前記〔1〕～〔9〕のいずれか一項に記載の非構造的ポリペプチドを含む、融合タンパク質。
〔11〕前記融合タンパク質が、複数の非構造的ポリペプチドを含む、前記〔10〕に記載の融合タンパク質。
〔12〕前記融合タンパク質が、複数の結合ポリペプチドを含む、前記〔10〕又は〔11〕に記載の融合タンパク質。
〔13〕少なくとも2つの近接した結合ポリペプチドの間に配置されるリンカーをさらに含む、前記〔12〕に記載の融合タンパク質。
〔14〕少なくとも2つの近接した非構造的ポリペプチドの間に配置されるリンカーをさらに含む、前記〔12〕に記載の融合タンパク質。
〔15〕前記リンカーが、少なくとも1つのグリシン及び少なくとも1つのセリンを含む、前記〔13〕又は〔14〕に記載の融合タンパク質。
〔16〕前記リンカーが、配列番号21((Gly4Ser)₃)からなるアミノ酸配列を含む、前記〔15〕に記載の融合タンパク質。
〔17〕前記リンカーが、配列番号22(PQPQPKPQPKPEPEPQPQPG)からなるアミノ酸配列を含む、前記〔13〕又は〔14〕に記載の融合タンパク質。
〔18〕複数の結合ポリペプチドが、オリゴマーを形成する、前記〔12〕～〔17〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
〔19〕前記結合ポリペプチドが、標的に結合し、前記融合タンパク質が、1つよりも多い標的に結合する、前記〔10〕～〔18〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
〔20〕前記結合ポリペプチドが、プロテインAを含む、前記〔10〕～〔19〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
〔21〕少なくとも1つの非構造的ポリペプチドが、熱応答性ポリペプチドを含む、前記〔10〕～〔20〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
〔22〕前記少なくとも1つの結合ポリペプチドと前記少なくとも1つの非構造的ポリペプチドとの間に配置される、少なくとも1つのリンカーをさらに含む、前記〔10〕～〔21〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
〔23〕前記融合タンパク質が、前記少なくとも1つの結合ポリペプチドと前記少なくとも1つの非構造的ポリペプチドとの間に配置される、複数のリンカー含む、前記〔22〕に記載の融合タンパク質。
〔24〕前記少なくとも1つの結合ポリペプチドが、前記少なくとも1つの非構造的ポリペプチドのN末端に配置される、前記〔10〕～〔23〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
〔25〕前記少なくとも1つの結合ポリペプチドが、前記少なくとも1つの非構造的ポリペプチドのC末端に配置される、前記〔10〕～〔23〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
〔26〕疾患の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、有効量の前記〔10〕～〔25〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質を前記対象に投与する工程を含む方法。
〔27〕前記融合タンパク質が、放出制御製剤の形で投与される、前記〔26〕に記載の方法。
〔28〕前記融合タンパク質が、対象への投与時にデポ剤を形成する、前記〔26〕に記

載の方法。

[29] 前記融合タンパク質が、前記対象に、静脈内、動脈内、又は腹腔内投与される、前記〔26〕～〔28〕のいずれか一項に記載の方法。

[30] 前記疾患が、癌を含む、前記〔26〕～〔29〕のいずれか一項に記載の方法。

[31] 前記融合タンパク質が、腫瘍組織内に投与される、前記〔30〕に記載の方法。

[32] 前記疾患が、前記少なくとも1つの結合ポリペプチドの標的と関連する疾患である、前記〔26〕～〔31〕のいずれか一項に記載の方法。

[33] 対象における疾患を診断する方法であって、

対象からの試料と前記〔10〕～〔25〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質と接触させる工程；及び

前記融合タンパク質の前記標的への結合を検出して、前記試料中の標的の存在を判定する工程であって、前記試料中の前記標的の存在が、前記対象における前記疾患を示す工程

、
を含む方法。

[34] 前記疾患が、癌、代謝疾患、自己免疫疾患、心血管疾患、及び整形外科的障害から選択される、前記〔33〕に記載の方法。

[35] 試料中の標的の存在を判定する方法であって、

前記試料と前記〔10〕～〔25〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質と、前記融合タンパク質と前記試料中の前記標的との間で複合体が形成されることを可能にする条件下において、接触させる工程；及び

前記複合体の存在を検出する工程であって、前記複合体の存在が前記試料中の前記標的を示す工程、

を含む方法。

[36] 前記試料は対象から得られ、及び前記方法が、疾患を診断するか、予後予測するか、又は前記対象の治療の効力を評価する工程をさらに含む、前記〔35〕に記載の方法。

[37] 前記方法が、前記対象の治療の効力を評価する工程をさらに含む場合、必要に応じて前記対象の治療を改変して効力を改善する工程をさらに含む、前記〔36〕に記載の方法。

[38] 疾患についての治療の有効性の判定を、それを必要とする対象において行う方法であって、

前記対象からの試料と前記〔10〕～〔25〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質と、前記融合タンパク質と前記試料中の標的との間で複合体が形成されることを可能にする条件下において、接触させる工程；

前記試料中の複合体のレベルを判定する工程であって、前記複合体のレベルは前記試料中の前記標的のレベルを示す工程；及び

前記試料中の前記標的のレベルを前記標的の対照レベルと比較する工程であって、前記標的のレベルが前記対照レベルと異なる場合に、前記治療が前記疾患の治療において有効である又は有効でないと判定する工程、

を含む方法。

[39] 対象における疾患を診断する方法であって、

前記対象からの試料と前記〔10〕～〔25〕のいずれか一項に記載の融合タンパク質とを接触させる工程；

前記試料中の標的のレベルを判定する工程；及び

前記試料中の前記標的のレベルを前記標的の対照レベルと比較する工程であって、前記標的のレベルが前記対照レベルと異なることが、前記対象における疾患を示す工程、
を含む方法。

[40] 前記対照レベルが、前記対象が治療を開始した期間よりも前又はその期間中の時点の、

前記対象における前記レベルに対応し、及び前記試料が、より遅い時点で前記対象から採

取される、前記〔38〕又は〔39〕に記載の方法。

〔41〕前記試料が、前記対象の治療中の期間の時点で前記対象から採取され、及び前記対照レベルが、無疾患レベル又は前記対象が治療を開始した期間よりも前の時点における前記レベルに対応する、前記〔38〕又は〔39〕に記載の方法。

〔42〕前記方法が、前記治療が前記疾患の治療において有効でないと判定された場合に、前記治療を改変するか、又は前記対象に異なる治療を施与することをさらに含む、前記〔38〕及び〔40〕～〔42〕のいずれか一項に記載の方法。

〔43〕前記融合タンパク質が、レポーターにより標識される、前記〔26〕～〔42〕のいずれか一項に記載の方法。

〔44〕前記疾患が、癌、代謝疾患、自己免疫疾患、心血管疾患、及び整形外科的障害から選択される、前記〔26〕～〔43〕のいずれか一項に記載の方法。