

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-504936
(P2025-504936A)

(43)公表日 令和7年2月19日(2025.2.19)

(51)国際特許分類			F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	19/00	(2006.01)	C 0 7 K	19/00	Z N A	4 B 0 6 5
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	16/28		4 C 0 7 6
C 1 2 N	15/62	(2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z	4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/63	(2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 7
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10		4 H 0 4 5
			審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全122頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-544723(P2024-544723)	(71)出願人	519118164
(86)(22)出願日	令和5年1月27日(2023.1.27)		シギロン セラピューティクス, インコーポレイテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年9月24日(2024.9.24)		S I G I L O N T H E R A P E U T I C S , I N C .
(86)国際出願番号	PCT/US2023/011727		アメリカ合衆国, マサチューセッツ州, ケンブリッジ, ビニー ストリート 1 0 0 スイート 6 0 0
(87)国際公開番号	WO2023/147042		
(87)国際公開日	令和5年8月3日(2023.8.3)		
(31)優先権主張番号	63/304,377		
(32)優先日	令和4年1月28日(2022.1.28)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(71)出願人	595006223
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV		ナショナル リサーチ カウンシル オブ カナダ
			カナダ国, オンタリオ ケー1エー 0アール6, オタワ, モントリオール ロード 1 2 0 0
		(74)代理人	100107456

最終頁に続く

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 C N S 障害を治療するための組成物、デバイス、及び方法

(57)【要約】

B B B 輸送融合タンパク質、融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド、ならびに融合タンパク質を発現及び分泌するように遺伝子改変された哺乳動物細胞、その上、融合タンパク質または融合タンパク質を分泌する遺伝子改変細胞を含む組成物、埋め込み可能なデバイス及びデバイス調製物、ならびに様々なC N S 疾患及び状態、例えば、C N S 症状を有する任意のムコ多糖症型を治療するためにそれらを作製及び使用する方法が、本明細書に記載される。

【選択図】 図 1 A

FIG. 1A: Human precursor GAA (SEQ ID NO:16)

```
10      20      30      40      50
MGVREPPCSH RLAVCALVS LATAAALGHI LLHDFLLVER ELSSSSVLE
60      70      80      90      100
ECPFAHQQA SRGPRCAQA EGRPRAVPT QCDVPPNSRF DCAFDKATQ
110     120     130     140     150
EQCEARGCCY IPAKQGLQGA QMGQFWCFEP PSYPSYKLEN LSSSEMGYTA
160     170     180     190     200
TLTRTTPTFF PKDILTLRLD VMETENRLH FTIKDPANRR YEVPLETPIV
210     220     230     240     250
ESRAPPEFTY VEPSEEPFGV IVRRQLDGRV LLNTCVAPFP FADQLQLST
260     270     280     290     300
SLPSQYITGL AEHLSPMLLS TSWTRITWN RDLAPTGAN LYGSHFYLE
310     320     330     340     350
LEGGGABGV FLINSNAMDV VLQPSFACSW RSTGGILJYV IFLGEPKSV
360     370     380     390     400
VQYQLDVGVY FPMPPYWGIG FHLRNGYSS TAITRQVVEN MTRAHPFLDV
410     420     430     440     450
QWNLDTYMS RDEFTFKDG TRDFTAMVQE LHGGGRYIM IVDPAISSG
460     470     480     490     500
PAGSYRPFDE GLRGGVITN ETGQFLIGKV WPGSCAPDPF TNPITALAWE
510     520     530     540     550
DMVAEFHQVY FFDGMWIDMN EFSNFTKSE DGCNNELN PPVFGVVG
560     570     580     590     600
TLQAATICAS SHQFLSTHYN LHNLYGLTEA IASHRALVKA RGTRFVSR
610     620     630     640     650
STPAGHGRTA GHWGQVWSS WEQLASSVPE ILQFNLLGVF LVGADVCGFL
660     670     680     690     700
GNTSEELCYR WQLGAFYTF MRHNSLSL PQEYSFSEF AQQAKKALC
710     720     730     740     750
LRYALLPHLY ILEHQAHVAG ETVARPLEPE FPKDSSCWV DHQCLWGEAL
760     770     780     790     800
LTTVLQAGK AEVTGYFPLG TWYDLQTVPV SALGSLPPPP AAKREDAHS
810     820     830     840     850
EGQWVTLFAE LDTINVHLRA GYIIFQGPG LTTTESRQQP MALAVATKG
860     870     880     890     900
GSARGELWD DGSLEVLDR GAYTQVILIA RNNTVMBLV RVTSRAGGQ
910     920     930     940     950
LQKVTVLGVA TAPQQLSNG VPSVNETYSP DTEVDCCVS LMGEQFLVS
```

WC

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I : $AB-L1-RB-L2-C$ または式 II : $RB-L1-AB-L2-C$ によって定義される N 末端～C 末端構造を含む融合タンパク質であって、

式中、式 I 及び式 II の各々について、

AB が、ヒト血清アルブミン (HSA) に結合するドメインを含み、

L1 が、存在または非存在であり得、第 1 のリンカーアミノ酸配列を含み、

RB が、ヒト IGF1R (hIGF1R) の細胞外ドメインに結合するドメインを含み、

L2 が、存在または非存在であり得、前記第 1 のリンカーアミノ酸配列と同じかまたは異なる第 2 のリンカーアミノ酸配列を含み、

C が、カーゴ部分であり、任意選択で、前記カーゴ部分が、ポリペプチドのアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる、前記融合タンパク質。

【請求項 2】

式 I : $AB-L1-RB-L2-C$ によって定義される、請求項 1 に記載の融合タンパク質。

【請求項 3】

AB 及び RB の各々が、約 75 kDa、約 50 kDa、または約 25 kDa のいずれか未満の分子量を有し、任意選択で、前記カーゴ部分が、約 1 kD～約 200 kD、または約 2 kD～約 100 kD の分子量を有する、請求項 1 に記載の融合タンパク質。

【請求項 4】

(i) AB が、抗 HSA 抗体の重鎖可変領域の 3 つの相補性決定領域 CDR1、CDR2、及び CDR3 に対応する第 1、第 2、及び第 3 のアミノ酸配列のセットを含み、任意選択で、前記第 1、第 2、及び第 3 のアミノ酸配列のセットが、

(a) GRTFIAYA (配列番号 1)、ITNFAGGT (配列番号 2)、AADRSAQTMQRVPVLPY (配列番号 3)、

(b) GFLLRSTNTM (配列番号 41)、IRPSGLT (配列番号 42)、HTRPPFQRDS (配列番号 43)、

(c) GFLLRSTNTM (配列番号 41)、IRPSGLT (配列番号 42)、A
TRPPFQRDS (配列番号 44)、

(d) GRTFDNYVM (配列番号 45)、ISGSGSIT (配列番号 46)、
AAGSRRTYYREPKFYPS (配列番号 47)、

(e) GSTFSSSSSV (配列番号 48)、ITSGGST (配列番号 49)、N
VAGRNVWVPISTRYSPGPY (配列番号 50)、及び

(f) GSTFSSSSSV (配列番号 48)、ITSGGST (配列番号 49)、A
VAGRNVWVPISTRYSPGPY (配列番号 51)、から選択されるか、または

(ii) AB が、

(a) QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASSGRTFIAYAMG
WFRQAPGKEREFVAAITNFAGGTITYYADSVKGRFTISRDN
AKTTVYLYQMNSLKPEDTALYYCAADRSAQTMQRVPVLPY
WGQGTQVTVSS (配列番号 4) もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、

(b) QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASSGRTFIAYAMG
WFRQAPGKEREFVAAITNFAGGTITYYADSVKGRFTISRDN
AKTTVYLYQMNSLR AEDTAVYYCAADRSAQTMQRVPVLPY
WGQGTLLVTVSS (配列番号 5) もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、

(c) QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCVGPGLFLLRSTNTMG
WYRQAPGKERELVAFIRPSGLTNYNDVAVQGRFTISRDN
AKNTVYLYQMNA LKPEDTAVYYCHTRPPFQRDSWGQGTQVTVSS
(配列番号 52) もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、

(d) QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGPGLFLLRSTNTMG

WYRQAPGKERELVAFIRPSGLTNYNDADVQGRFTISRDNANK
NTVYLQMNSLRAEDTAVYYCHTRPPFQRDSWGQGTLLVTVSS
S（配列番号53）もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、

（e）QVQLVESGGGFVQAGGSRLRLSCAASGRTFDNYVMA
WFRQAPGKEREFVASISGSGSITNYANSVKDRFTISRDSA
KNAIY LQMNSLKPEDTALYYCAAGSRRTYYREPKFYPSWG
QGTQVTVSS（配列番号54）もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、

（f）EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFDNYVMA
WFRQAPGKGLEFVSSISGSGSITNYANSVKDRFTISRDNSS
KNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAAGSRRTYYREPKFYPSWG
QGTLLVTVSS（配列番号55）もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、

（g）QVKLEESGGGLVQAGGSLLKLSCAASGSTFSSSSVGV
WYRQAPGQQRELVAAITSGGSTNTADSVKGRFTMSRDNANK
NTVYLQMRDLKPEDTAVYYCNVAGRNVWPISRYSPGPYWG
QGTQVTVSS（配列番号56）もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、及び

（h）EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSSSSVGV
WYRQAPGKGLELVSAITSGGSTNTADSVKGRFTISRDNSSK
NTLY LQMNSLRAEDTAVYYCNVAGRNVWPISRYSPGPYWG
QGTLLVTVSS（配列番号57）もしくは保存的に置換されたそのバリエーションから選
択されるアミノ酸配列を、含むか、それから本質的になるか、もしくはそれからなる、請
求項1に記載の融合タンパク質。

【請求項5】

ABにおける前記第1、第2、及び第3のアミノ酸配列が、GRTFIAYA（配列番
号1）、または保存的に置換されたそのバリエーション、ITNFAAGGTT（配列番号2）
、または保存的に置換されたそのバリエーション、及びAADRSAQTMRQVRPVL P
Y（配列番号3）、または保存的に置換されたそのバリエーションである、請求項4に記載の
融合タンパク質。

【請求項6】

ABが、sdAbからのアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれ
からなる、請求項1に記載の融合タンパク質。

【請求項7】

ABが、

（i）配列番号4、

（ii）配列番号5、または

（iii）HSAと結合するための配列番号4もしくは配列番号5からなるsdAbと
交差競合する抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列、から選択されるアミノ酸配列から本質
的になるか、またはそれからなる、請求項6に記載の融合タンパク質。

【請求項8】

前記融合タンパク質が、ABを介してHSAのドメイン1（DI）またはドメイン2（
DII）に結合し、ヒトFcRnのHSAとの結合を実質的に阻害しない、請求項1に記載
の融合タンパク質。

【請求項9】

前記融合タンパク質が、表面プラズモン共鳴によって25℃で決定されるとき、ABド
メインを介してHSAに、約5.0～約7.4のpH範囲内において約0.1nM未満～
約1,000nMの解離定数（KD）親和性で結合し、任意選択で、前記KDが、約0.
5nM～約500nM、約1nM～約250nM、約5nM～約50nM、約10nM～
約25nM、または約0.5nM～約1nMである、請求項1に記載の融合タンパク質。

【請求項10】

前記融合タンパク質が、ABを介して、少なくとも1つの哺乳動物血清アルブミンオル
ソログに約5.5～約7.4のpH範囲内において25℃で結合し、任意選択で、前記融

10

20

30

40

50

合タンパク質が、ABを介して、マウス血清アルブミン、ラット血清アルブミン、ハムスター血清アルブミン、ウサギ血清アルブミン、モルモットアルブミン、ブタアルブミン、ネコアルブミン、イヌアルブミン、及び非ヒト霊長類血清アルブミンからなる群から選択される2つ以上の哺乳動物血清アルブミンに結合し、任意選択で、前記非ヒト霊長類血清アルブミンが、カニクイザル血清アルブミンまたはアカゲザル血清アルブミンである、請求項1に記載の融合タンパク質。

【請求項11】

前記融合タンパク質が、RBドメインを介して、ヒト脳内皮細胞の表面に発現されたhIGF1Rに結合し、任意選択で、前記融合タンパク質が、RBを介して、FENFLHNSIFVPR（配列番号6）を含むhIGF1R細胞外ドメインにおけるエピトープに結合する、請求項1に記載の融合タンパク質。

10

【請求項12】

前記融合タンパク質が、ヒトインスリン受容体（h-IR）に実質的に結合せず、任意選択で、前記融合タンパク質が、インスリン、インスリン成長因子1（IGF1）、またはインスリン成長因子2（IGF2）のhIGF1Rとの結合を実質的に阻害しない、請求項1に記載の融合タンパク質。

【請求項13】

前記融合タンパク質が、表面プラズモン共鳴によって25℃で決定されるとき、RBを介してhIGF1Rに、約5.0～約7.4のpH範囲内において約0.1nM～約1,000nMの K_D 親和性で結合し、任意選択で、前記 K_D が、(i)約0.2nMから約500nM、約250nM、約100nM、約50nM、約25nM、もしくは約10nMのうちのいずれか1つまで、(ii)約0.5nMから約250nM、約100nM、約50nM、約25nM、約10nM、もしくは約5nMのうちのいずれか1つまで、または(iii)約1nMから約100nM、約50nM、約25nM、約10nM、もしくは約5nMのうちのいずれか1つまでである、請求項1に記載の融合タンパク質。

20

【請求項14】

前記融合タンパク質が、RBを介してhIGF1Rに1nM～10nMの K_D で結合する、請求項13に記載の融合タンパク質。

【請求項15】

前記融合タンパク質が、RBを介して少なくとも1つの哺乳動物IGF1Rオルソログに、25℃及び約5.0～約7.4のpH範囲内で結合し、任意選択で、前記融合タンパク質が、RBを介して、マウスIGF1R、ラットIGF1R、ハムスターIGF1R、ウサギIGF1R、モルモットIGF1R、イヌIGF1R、ネコIGF1R、及び非ヒト霊長類IGF1Rからなる群から選択される2つ以上の哺乳動物IGF1Rタンパク質に結合し、任意選択で、前記非ヒト霊長類IGF1Rが、カニクイザルIGF1RまたはアカゲザルIGF1Rである、請求項1に記載の融合タンパク質。

30

【請求項16】

(i)RBが、抗hIGF1R抗体の重鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR1、CDR2、及びCDR3に対応する第1、第2、及び第3のアミノ酸配列を含み、任意選択で、前記第1、第2、及び第3のアミノ酸配列が、

40

(a)GRTIDNYA（配列番号7）、IDWGDGGX（Xは、AもしくはTである）（配列番号8）、AMARQSRVNLDVARYDY（配列番号9）、

(b)GRTIDNYA（配列番号7）、IDWGDGGA（配列番号10）、AMARQSRVNLDVARYDY（配列番号9）、

(c)EYPSNFYA（配列番号58）、VSRDGLTT（配列番号59）、AIVITGVWNKVDVNSRSYHY（配列番号60）、及び

(d)GGTVSPTA（配列番号61）、ITWSRGTT（配列番号62）、AASTFLRLILPEESAYTY（配列番号63）から選択されるか、または

(ii)RBが、

(a)QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTIDNYAMA

50

WSRQAPGK DREFVATIDWGDGGARYANSVKGRFTISRDN
KGTMYLQMNNLEPEDTAVYSCAMARQSRVNL DVARYDYWG
QGTQVTVSS (配列番号 11) もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、

(b) QVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGRTIDNYAMA
WVRQAPGKGLEWVATIDWGDGGTRYANSVKGRFTISRDN
KNTMYLQMNSLRAEDTAVYYCAMARQSRVNL DVARYDYWG
QGTLLVTVSS (配列番号 12) もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、

(c) QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCVASEYPSNIFYAMS
WFRQAPGKEREFVAGVSRDGLTTL YADSVKGRFTMSRDNA
KNTVDLQMNSVKAEDTAVYYCAIVITGVWNKVDVNSRSYH
YWGQGTQVTVSS (配列番号 67) もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、

(d) EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASEYPSNIFYAMS
WFRQAPGKEREFVSGVSRDGLTTL YADSVKGRFTISRDN
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIVITGVWNKVDVNSRSYH
YWGQGTLLVTVSS (配列番号 68) もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、

(e) QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCEVSGGTVSPTAMG
WFRQAPGKEREFVGHITWSRGTTRVASSVKDRFTISRDSA
KNTVYLQMNSLKSEDTAVYYCAASTFLRILPEESAYTYWG
QGTQVTVSS (配列番号 69) もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、及び

(f) QVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGGTVSPTAMG
WVRQAPGKGLEWVGHITWSRGTTRYASSVKGRFTISRDN
KNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAASTFLRILPEESAYTYWG
QGTLLVTVSS (配列番号 70) もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、から
選択されるアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、もしくはそれからなる、請
求項 1 に記載の融合タンパク質。

【請求項 17】

RB における前記第 1、第 2、及び第 3 のアミノ酸配列が、GRTIDNYA (配列番
号 7)、または保存的に置換されたそのバリエーション、IDWGDGGA (配列番号 10)
、または保存的に置換されたそのバリエーション、及び AMARQSRVNL DVARYDY
(配列番号 9)、または保存的に置換されたそのバリエーションである、請求項 16 に記載の
融合タンパク質。

【請求項 18】

RB が、

(i) 配列番号 11、

(ii) 配列番号 12、または

(iii) hIGF1R と結合するための配列番号 11 もしくは配列番号 12 からなる
sdAb と交差競合する抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列から本質的になるか、または
それからなる、請求項 17 に記載の融合タンパク質。

【請求項 19】

L1 及び L2 が存在し、任意選択で、L1 及び L2 の各々が、長さが 50 アミノ酸未満
、または長さが約 15 ～ 30 アミノ酸、または長さが約 20 ～ 25 アミノ酸であるリンカ
ーペプチドである、請求項 1 に記載の融合タンパク質。

【請求項 20】

L1 及び L2 の一方または両方が、(GGGGS)m から本質的になるか、またはそれ
からなり、式中、m が、4 または 5 である、請求項 19 に記載の融合タンパク質。

【請求項 21】

L1 及び L2 の各々が、GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号 14)
から本質的になるか、またはそれからなる、請求項 20 に記載の融合タンパク質。

【請求項 22】

前記カーゴ部分が、酵素、成長因子、サイトカイン、または抗体もしくはその抗原結合断片からなる群から選択されるカーゴポリペプチドであり、任意選択で、前記カーゴポリペプチドが、野生型ヒト遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の融合タンパク質。

【請求項 23】

前記カーゴポリペプチドが、酸性アルファグルコシダーゼタンパク質（G A A）、アルファガラクトシダーゼ A（G L A）タンパク質、アルファ-L-イズロニダーゼ（I D U A）タンパク質、アルファ-N-アセチルグルコサミニダーゼ（N A G L U）タンパク質、ベータグルコロニダーゼ（G U S B）タンパク質、ベータグルコシダーゼ（G B A）タンパク質、イズロネート-2-スルファターゼ（I D S）タンパク質、ヘパラン-アルファグルコサミニド N-アセチルトランスフェラーゼ（H G S N A T）タンパク質、N-アセチルガラクトサミン-6-スルファターゼ（G N S）タンパク質、または N-スルホグルコサミンスルホヒドロラーゼ（S G S H）タンパク質であり、任意選択で、前記カーゴポリペプチドが、I D S タンパク質ではない、請求項 22 に記載の融合タンパク質。

10

【請求項 24】

前記カーゴポリペプチドが、I D U A タンパク質であり、任意選択で、前記 I D U A タンパク質が、

（i）配列番号 22 のアミノ酸 26、27、もしくは 28～アミノ酸 653、または

20

（i i）配列番号 22 のアミノ酸 27～653、から本質的になるか、またはそれからなる、請求項 22 または 23 に記載の融合タンパク質。

【請求項 25】

野生型ヒト I D U A タンパク質の対応する酵素活性の 80～120% 以内である I D U A 酵素活性を有する、請求項 24 に記載の融合タンパク質。

【請求項 26】

前記カーゴポリペプチドが、I D S タンパク質であり、任意選択で、前記融合タンパク質が、配列番号 93 または配列番号 94 を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる、請求項 22 または 23 に記載の融合タンパク質。

【請求項 27】

野生型ヒト I D S タンパク質の対応する酵素活性の 80～120% 以内である I D S 酵素活性を有する、請求項 26 に記載の融合タンパク質。

30

【請求項 28】

図 3 A、図 3 B、図 3 C、図 3 D、図 3 E、または図 3 F に示される h I D U A 融合タンパク質のアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、任意選択で、前記融合タンパク質が、配列番号 29 から本質的になるか、またはそれからなり、m 及び n の各々 = 4 である、請求項 1 に記載の融合タンパク質。

【請求項 29】

請求項 1 に記載の融合タンパク質をコードする第 1 のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドであって、任意選択で、前記ポリヌクレオチドが、単離された二本鎖 DNA 分子における 1 つの鎖である、前記ポリヌクレオチド。

40

【請求項 30】

前記第 1 のヌクレオチド配列が、前記融合タンパク質のための分泌シグナル配列をコードするヌクレオチド配列に操作可能に連結されており、任意選択で、前記分泌シグナル配列が、配列番号 79、配列番号 80、配列番号 81、配列番号 82、配列番号 83、配列番号 84、配列番号 85、または配列番号 86 を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる、請求項 29 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 31】

前記分泌シグナル配列が、配列番号 79 から本質的になるか、またはそれからなる、請求項 30 に記載のポリヌクレオチド。

50

【請求項 32】

前記第1のヌクレオチド配列が、プロモーター配列及びポリAシグナル配列に操作可能に連結されており、任意選択で、前記プロモーター配列が、配列番号32、配列番号33、または配列番号34を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、任意選択で、前記ポリAシグナル配列が、配列番号35、配列番号36、または配列番号37を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる、請求項29に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 33】

配列番号39を含む、請求項32に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 34】

請求項29に記載のポリヌクレオチドで一過性または安定的にトランスフェクトされている遺伝子改変哺乳動物細胞であって、任意選択で、前記細胞が、ヒト細胞に由来する、前記遺伝子改変哺乳動物細胞。

【請求項 35】

前記ポリヌクレオチドが、前記哺乳動物細胞のゲノムにおける少なくとも1つの位置に挿入されている、請求項34に記載の遺伝子改変哺乳動物細胞。

【請求項 36】

RPE細胞、任意選択で、ARPE-19細胞に由来する、請求項34に記載の遺伝子改変哺乳動物細胞。

【請求項 37】

誘導多能性幹細胞(iPSC)または間葉系幹細胞(MSC)に由来する、請求項34に記載の遺伝子改変哺乳動物細胞。

【請求項 38】

複数の遺伝子改変細胞を含む組成物であって、前記複数における各細胞が、請求項34によって定義される遺伝子改変細胞であり、任意選択で、前記複数の遺伝子改変細胞が、モノクローナル細胞株の培養から得られる、前記組成物。

【請求項 39】

埋め込み可能なデバイスであって、請求項34に記載の遺伝子改変細胞または請求項38に記載の組成物を含み、前記デバイスが対象に埋め込まれるときに異物応答(FBR)を軽減するための少なくとも1つの手段を更に含む、少なくとも1つの細胞含有区画を含み、任意選択で、前記デバイスが、直径が約0.75mm～約2mmの球状の2区画ヒドロゲルカプセルを含む、前記埋め込み可能なデバイス。

【請求項 40】

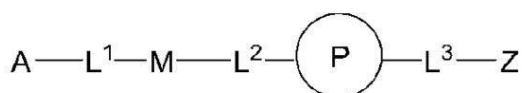
前記細胞含有区画が、ポリマー組成物を含み、前記ポリマー組成物が、ペプチドで共有結合的に修飾されたアルギネートを含み、前記ペプチドが、GRGDS P(配列番号89)、GGRGDS P(配列番号90)、またはGGGRGDS P(配列番号91)から本質的になるか、またはそれからなる、請求項39に記載の埋め込み可能なデバイス。

【請求項 41】

前記細胞含有区画が、アルギネートヒドロゲル、及び任意選択で、バリア区画の外面に配置された式(III)の化合物またはその薬学的に許容可能な塩を含む前記バリア区画によって囲まれており、

式(III)が、

【化1】



であり、式中、

Aが、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテ

10

20

30

40

50

ロシクリル、アリール、ヘテロアリール、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-N(R^C)-$ 、 $-N(R^C)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^C)-$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルキレン})-$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルケニレン})-$ 、 $-N(R^C)N(R^D)-$ 、 $-NCN-$ 、 $-C(=N(R^C)(R^D))O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)_x-$ 、 $-OS(O)_x-$ 、 $-N(R^C)S(O)_x-$ 、 $-S(O)_xN(R^C)-$ 、 $-P(R^F)_y-$ 、 $-Si(OR^A)_2-$ 、 $-Si(R^G)(OR^A)-$ 、 $-B(OR^A)-$ 、または金属であり、これらの各々が、任意選択で、結合基（例えば、本明細書に記載の結合基）に連結されており、任意選択で、1つ以上の R^1 で置換されており、

L^1 及び L^3 の各々が、独立して、結合、アルキル、またはヘテロアルキルであり、各アルキル及びヘテロアルキルが、任意選択で、1つ以上の R^2 で置換されており、

L^2 が、結合であり、

Mが、非存在、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、これらの各々が、任意選択で、1つ以上の R^3 で置換されており、

Pが、非存在、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールであり、これらの各々が、任意選択で、1つ以上の R^4 で置換されており、

Zが、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、 $-OR^A$ 、 $-C(O)R^A$ 、 $-C(O)OR^A$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールが、任意選択で、1つ以上の R^5 で置換されており、

各 R^A 、 R^B 、 R^C 、 R^D 、 R^E 、 R^F 、及び R^G が、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、アジド、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、もしくはヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールが、任意選択で、1つ以上の R^6 で置換されているか、

または R^C 及び R^D が、それらが結合した窒素原子と一緒にあって、1つ以上の R^6 で任意選択で置換された環（例えば、5～7員環）を形成し、

各 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、及び R^6 が、独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、シアノ、アジド、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、 $-C(O)R^{B1}$ 、 $-OC(O)R^{B1}$ 、 $-N(R^{C1})(R^{D1})$ 、 $-N(R^{C1})C(O)R^{B1}$ 、 $-C(O)N(R^{C1})$ 、 SR^{E1} 、 $S(O)_xR^{E1}$ 、 $-OS(O)_xR^{E1}$ 、 $-N(R^{C1})S(O)_xR^{E1}$ 、 $-S(O)_xN(R^{C1})(R^{D1})$ 、 $-P(R^{F1})_y$ 、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールが、任意選択で、1つ以上の R^7 で置換されており、

各 R^{A1} 、 R^{B1} 、 R^{C1} 、 R^{D1} 、 R^{E1} 、及び R^{F1} が、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールが、任意選択で、1つ以上の R^7 で置換されており、

各 R^7 が、独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、シアノ、オキソ、ヒドロキシル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

xが、1または2であり、

yが、2、3、または4である、請求項39に記載の埋め込み可能なデバイス。

【請求項42】

前記バリア区画が、

10

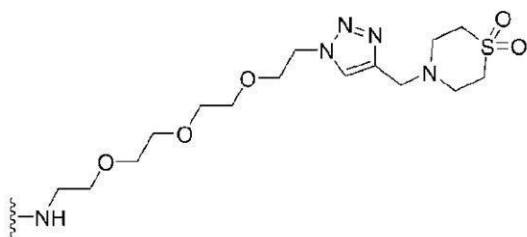
20

30

40

50

【化 2】



10

で化学的に修飾されたアルギネート、またはその薬学的に許容可能な塩を含む、請求項 4 1 に記載の埋め込み可能なデバイス。

【請求項 4 3】

デバイスの調製物であって、前記調製物における各デバイスが、請求項 3 9 に記載のデバイスである、前記調製物。

【請求項 4 4】

ヒドロゲルカプセルであって、

(i) 第 1 のポリマー組成物にカプセル化された請求項 3 4 に記載の複数の遺伝子改変細胞を含む内側区画であって、前記第 1 のポリマー組成物が、ヒドロゲル形成ポリマーを含み、任意選択で、前記内側区画中の前記遺伝子改変細胞の濃度が、前記第 1 のポリマー組成物の 1 m l 当たり少なくとも 4 0 0 0 万個の細胞である、前記内側区画と、

20

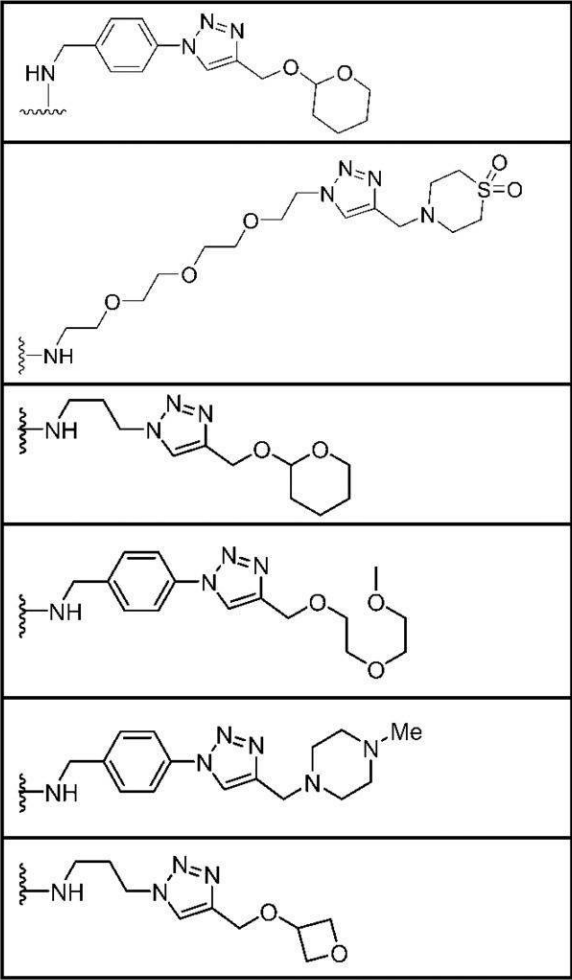
(i i) 前記内側区画を囲み、第 2 のポリマー組成物を含むバリア区画であって、前記第 2 のポリマー組成物が、少なくとも 1 つの式 (I I I) の化合物またはその薬学的に許容可能な塩で共有結合的に修飾されたアルギネートを含み、任意選択で、前記式 (I I I) の化合物が、以下の表に提供される化合物から選択される、前記バリア区画と、を含む、前記ヒドロゲルカプセル。

30

40

50

【表 1】



10

20

30

【請求項 4 5】

請求項 4 4 に記載の複数のヒドロゲルカプセルを、薬学的に許容可能な担体中に含む、カプセル組成物。

【請求項 4 6】

前記複数の前記ヒドロゲルカプセル中の前記遺伝子改変細胞が、配列番号 2 9（m 及び n の各々 = 4）から本質的になるか、またはそれからなる、IDUA 融合タンパク質を発現及び分泌する、請求項 4 5 に記載のカプセル組成物。

【請求項 4 7】

請求項 1 に記載の融合タンパク質と、薬学的に許容可能な担体と、を含む、薬学的組成物。

40

【請求項 4 8】

前記融合タンパク質が、配列番号 2 9 から本質的になるか、またはそれからなり、m 及び n の各々 = 4 である、請求項 4 7 に記載の薬学的組成物。

【請求項 4 9】

対象の中樞神経系（CNS）における疾患または状態を予防または治療する方法であって、

（i）前記対象に、請求項 4 7 に記載の薬学的組成物を投与すること、

（ii）請求項 3 9 のいずれか 1 項に記載のデバイスもしくはデバイス調製物を埋め込むこと、または

（iii）請求項 4 5 に記載のカプセル組成物を埋め込むことを含む、前記方法。

50

【請求項 50】

ムコ多糖症 1 型 (MPS-1) 疾患と診断されたヒト対象を治療する方法であって、

(i) 請求項 46 に記載のカプセル組成物を提供することと、

(ii) 前記カプセル組成物を前記対象の体内に配置することであって、任意選択で、前記配置するステップが、前記カプセル組成物を前記対象の腹腔内空間内に、または腹腔に配置することを含む、前記配置することと、を含む、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

優先権の主張

本出願は、2022 年 1 月 28 日に提出された米国特許出願第 63 / 304, 377 号の優先権を主張する。前述の出願の全内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

いくつかの神経変性及び他の中枢神経系 (CNS) 障害は、酵素、サイトカイン、及び抗体などのタンパク質によって理論的に治療可能である。しかしながら、CNS 障害を治療するためにタンパク質ベースの療法を使用することの有望性は、血管の内側を覆って、密着結合を介して互いに連結する脳内皮細胞 (BEC) によって形成される、血液脳関門 (BBB) を横断して 500 ダルトンを超える分子を輸送することの困難性によって制限されてきている。受容体媒介性トランスサイトosis (RMT) は、BBB を横断するタンパク質の送達を増加させるために探求されてきている様々なアプローチのうちの 1 つである。RMT アプローチは、典型的には、治療用タンパク質を、BEC の表面で発現される内因性受容体の 1 つに結合する分子に連結する融合タンパク質の静脈内または皮下投与を用いる。受容体結合に続いて、RMT プロセスは、受容体-融合タンパク質複合体の内化及び細胞の反管腔側での融合タンパク質のエキソサイトosis を必要とする。RMT に対する候補標的受容体としては、トランスフェリン受容体、インスリン受容体、インスリン様成長因子-1 受容体 (IGF1R)、低密度リポタンパク質 (LDL) 受容体関連タンパク質 1 及び 2 (LRP-1 及び LRP-2)、ジフテリア毒素受容体、ならびに TMMEM30A が挙げられる。前臨床試験及び臨床試験で得られた結果は、様々な因子が、融合タンパク質の血漿半減期及び RMT 標的受容体に対するその結合親和性を含む、BBB を横断する治療タンパク質の量及び／または活性に影響を及ぼし得ることを示す。

【発明の概要】

【0003】

カーゴ部分、例えば、目的の中枢神経系 (CNS) 状態または障害を治療または診断するのに有用な活性を有する分子を、ヒト血清アルブミン (HSA) 及びヒト IGF1R (hIGF1R) の細胞外部分に結合するドメインと分けるために C 末端に配置した、BBB 輸送融合タンパク質が本明細書に記載される。実施形態では、IGF1R 結合ドメインは、HSA 結合ドメインとカーゴ部分との間に配置される。別の実施形態では、HSA 結合ドメインは、IGF1R 結合ドメインとカーゴ部分との間に配置される。実施形態では、リンカー部分は、2 つの結合ドメインの間、及び／または hIGF1 結合ドメインとカーゴ部分との間に配置される。実施形態では、HSA 結合ドメイン及び hIGF1R 結合ドメインの一方または両方は、約 75 kDa、約 50 kDa、または約 25 kDa のいずれか未満の分子量を有する。実施形態では、HSA 結合ドメイン及び hIGF1R 結合ドメインの各々のアミノ酸配列は、単鎖 Fab (scFab)、単鎖 Fv (scFv)、または単ドメイン抗体 (sdAb) からである。実施形態では、カーゴ部分 (分子) は、約 1 kD ~ 約 200 kD、または約 2 kD ~ 約 100 kD の分子量を有する。実施形態では、カーゴ部分 (分子) は、ポリペプチド、例えば、サイトカイン、酵素、または抗体のアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、リンカー部分は、長さが 50 アミノ酸未満であるリンカーペプチドである。

10

20

30

40

50

【0004】

一態様では、本開示は、式 I : $AB-L1-RB-L2-C$ または式 II : $RB-L1-AB-L2-C$ によって定義される主構造を含む BBB 輸送融合タンパク質を特徴とし、式中、各式について、AB は、HSA 結合ドメインを含み、L1 は、第 1 のリンカーアミノ酸配列を含み、RB は、hIGF1R 結合ドメインを含み、L2 は、第 2 のリンカーアミノ酸配列を含み、C は、カーゴポリペプチドのアミノ酸配列を含む。

【0005】

実施形態では、融合タンパク質は、AB を介して HSA のドメイン 1 (DI) またはドメイン 2 (DII) に結合し、ヒト FcRn (h-FcRn) の HSA との結合を実質的に阻害しない。実施形態では、融合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって 25℃ で決定されるとき、AB ドメインを介して HSA に、約 5.0 ~ 約 7.4 の pH 範囲内において約 1 nM 未満 ~ 約 100 nM の K_D 親和性で結合する。いくつかの実施形態では、融合タンパク質はまた、AB を介して少なくとも 1 つの哺乳動物血清アルブミンオルソログに、約 5.5 ~ 約 7.4 の pH 範囲内において 25℃ で結合する。実施形態では、アルブミンオルソログは、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、モルモット、ブタ、ネコ、イヌ、または非ヒト霊長類 (例えば、カニクイザルまたはアカゲザル) からである。

【0006】

実施形態では、AB は、抗 HSA 抗体 (例えば、2 つの重鎖及び 2 つの軽鎖を有する従来の抗体、scFab、scFv、sdAb) の重鎖可変領域の 3 つの相補性決定領域 CDR1、CDR2、及び CDR3 に対応する第 1、第 2、及び第 3 のアミノ酸配列を含む。実施形態では、AB における CDR1、CDR2、及び CDR3 アミノ酸配列は、GRTFIAYA (配列番号 1) または保存的に置換されたそのバリエーション、ITNFAAGGTT (配列番号 2) もしくは保存的に置換されたそのバリエーション、及び AADRSAQTM RQVRPVLPLY (配列番号 3) または保存的に置換されたそのバリエーションである。

【0007】

実施形態では、AB は、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASSGRTFIAYAMGWFRQAPGKEREFVAAITNFAAGGTTYYADSVKGRFTISRDN AKTTTVYLQMNSLKPEDTALYYCAADRSAQTM RQVRPVLPLYWGGQTQVTVSS (配列番号 4) もしくは保存的に置換されたそのバリエーションから本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、AB は、QVQLVESGGGLVQP GGS LRLSCAASGRTFIAYAMGWFRQAPGKEREFVAAITNFAAGGTTYYADSVKGRFTISRDN AKTTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAADRSAQTM RQVRPVLPLYWGGQTLVTVSS (配列番号 5) もしくは保存的に置換されたそのバリエーションから本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、AB は、HSA との結合のための配列番号 4 または配列番号 5 からなる sdAb と交差競合する、抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。

【0008】

融合タンパク質は、RB ドメインを介して、ヒト脳内皮細胞の表面で発現される hIGF1R に結合する。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、ヒトインスリン受容体 (h-IR) に実質的に結合しない。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、インスリン、インスリン成長因子 1 (IGF1)、またはインスリン成長因子 2 (IGF2) の hIGF1R との結合を実質的に阻害しない。実施形態では、融合タンパク質は、RB を介して、FENFLHNSIFVPR (配列番号 6) を含む hIGF1R 細胞外ドメインにおけるエピトープに結合する。実施形態では、融合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって 25℃ で決定されるとき、RB を介して hIGF1R に、約 5.0 ~ 約 7.4 の pH 範囲内において約 0.5 nM ~ 約 50 nM の K_D 親和性で結合する。いくつかの実施形態では、融合タンパク質はまた、RB を介して少なくとも 1 つの哺乳動物 IGF1R オルソログに、約 5.0 ~ 約 7.4 の pH 範囲内において 25℃ で結合する。実施形態では、IGF1R オルソログは、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、モルモット、イヌ

10

20

30

40

50

、ネコ、または非ヒト霊長類（例えば、カニクイザルまたはアカゲザル）からである。実施形態では、RBは、抗hIGF1R抗体（例えば、2つの重鎖及び2つの軽鎖を有する従来の抗体、scFab、scFv、sdAb）の重鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR1、CDR2、及びCDR3に対応する第1、第2、及び第3のアミノ酸配列を含む。実施形態では、RBにおけるCDR1、CDR2、及びCDR3アミノ酸配列は、GRTIDNYA（配列番号7）または保存的に置換されたそのバリエーション、IDWGDGGX（Xは、AまたはT）（配列番号8）または保存的に置換されたそのバリエーション、及びAMARQSRVNLDVARYDY（配列番号9）または保存的に置換されたそのバリエーションである。実施形態では、RBにおけるCDR2配列は、IDWGDGGA（配列番号10）である。

10

【0009】

実施形態では、RBは、QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTIDNYAMAWSRQAPGKDRFVATIDWGDGGARYANSVKGRFTISRDNKGMTMYLQMNNLEPEDTAVYSCAMARQSRVNLDVARYDYWGQGTQVTVSS（配列番号11）もしくは保存的に置換されたそのバリエーションから本質的になるか、またはそれからなる。別の実施形態では、RBは、QVQLVESGGGLVQP GGS LRLSCAASGRTIDNYAMAWVRQAPGKGLEWVATIDWGDGGTRYANSVKGRFTISRDN SKNTMYLQMNSLRAEDTAVYYCAMARQSRVNLDVARYDYWGQGT L V T V S S（配列番号12）もしくは保存的に置換されたそのバリエーションから本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、RBは、hIGF1Rとの結合のための配列番号11または配列番号12からなるsdAbと交差競合する、抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。

20

【0010】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質におけるカーゴ部分は、リソソーム貯蔵障害（LSD）で欠損している酵素、例えば、アルファーレーイズロニダーゼ（IDUA）、イズロネートー2ースルファターゼ（IDS）、アリールスルファターゼB（ARSB）、Nースルホグルコサミンスルホヒドロラーゼ（SGSH）、グルコシルセラミダーゼ（GBA）、アルファーガラクトシダーゼA（GLA）、及びアルファー1，4-グルコシダーゼ（GAA）のアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、カーゴ部分は、IDSではない。他の実施形態では、カーゴ部分（分子）は、脳における標的タンパク質、例えば、ベーターセクレターゼ1（BACE1）、免疫療法標的（例えば、プログラム死受容体1（PD-1））に結合する抗体またはその抗原結合断片のアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

30

【0011】

本開示のBBB輸送融合タンパク質におけるL1及びL2アミノ酸配列は、同じかまたは異なり得る。いくつかの実施形態では、L1及びL2の各々は、長さが3～約35アミノ酸、長さが4～約30アミノ酸、または5～約20アミノ酸である。実施形態では、L1及びL2の各々は、(GGGGS)_n（配列番号13）から本質的になるか、またはそれからなり、式中、nは、3、4、または5に等しい。実施形態では、L1及びL2の各々は、(GGGGS)₄（配列番号14）から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、BBB輸送融合タンパク質におけるカーゴ部分は、IDUAタンパク質である。実施形態では、BBB輸送IDUA融合タンパク質は、図6に示されるアミノ酸配列（配列番号38）を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

40

【0012】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド（例えば、単離されたポリヌクレオチド）を提供する。実施形態では、ヌクレオチド配列は、プロモーター配列及びポリAシグナル配列に操作可能に連結される。実施形態では、プロモーター配列は、図4A～4Cにおけるプロモーター配列（配列番号32、配列番号33、または配列番号34）のうちの1つと同一

50

であるか、または実質的に同一である。実施形態では、ポリ A シグナル配列は、図 5 に示されるポリ A シグナル配列（配列番号 35、配列番号 36、または配列番号 37）のうちの 1 つと同一であるか、または実質的に同一である。実施形態では、BBB 輸送融合タンパク質は、図 6 に示されるアミノ酸配列からなり、ポリヌクレオチドは、図 7-1~7-3 に示されるヌクレオチド配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【0013】

更に別の態様では、本開示は、本明細書に記載の BBB 輸送融合タンパク質を発現及び分泌するように遺伝子改変されている哺乳動物細胞（例えば、マウス細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、サル細胞、ヒト細胞（例えば、RPE 細胞）を提供する。実施形態では、哺乳動物細胞は、BBB 輸送融合タンパク質をコードする本明細書に記載のポリヌクレオチド（例えば、発現ベクター）を用いたトランスフェクションによって遺伝子改変される。実施形態では、融合タンパク質におけるカーゴ部分は、IDUA タンパク質である。実施形態では、哺乳動物細胞は、図 7-1~7-3 に示されるヌクレオチド配列を含む発現ベクターを用いたトランスフェクションによる ARPE-19 細胞に由来する。

10

【0014】

本開示はまた、本明細書に記載の複数の遺伝子改変細胞を含む組成物、及び組成物を製造する方法を提供する。実施形態では、組成物は、細胞培養培地または保存培地を含む。実施形態では、組成物は、細胞が懸濁されているポリマー溶液を含み、例えば、本明細書に記載のポリマー溶液は、例えば、アルギネート及び細胞結合物質を、例えば、本明細書に定義されるように含む。実施形態では、組成物を製造する方法は、所望の数の培養細胞が産生されるまで、本明細書に記載の複数の遺伝子改変細胞を培養することと、所望の数の培養細胞を、細胞培養培地、保存培地、またはポリマー溶液と組み合わせることと、を含む。

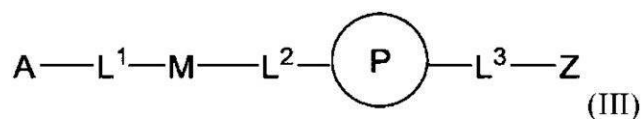
20

【0015】

更に別の態様では、本開示は、本明細書に記載される遺伝子改変哺乳動物細胞または複数のかかる細胞を含む、少なくとも 1 つの細胞含有区画を含むデバイスの特徴とする。デバイスは、レシピエントの免疫系から細胞（複数可）を保護し、埋め込まれたデバイスに対する異物応答（FBR）（本明細書に定義される）を軽減するように構成される。実施形態では、デバイスの表面は、デバイス（例えば、非線維性化合物または非線維性ポリマー）に対する FBR（本明細書で定義される）を軽減する化合物またはポリマーを含む。実施形態では、非線維性ポリマーは、生体適合性、双性イオン性ポリマーを含み、例えば、WO2017/218507、WO2018/140834、または Liu et al., *Zwitterionically modified alginates mitigate cellular overgrowth for cell encapsulation*, *Nature Communications* (2019) 10:5262 に記載されている。実施形態では、化合物は、式 (III) の化合物：

30

【化 1】



40

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、可変要素 A、 L^1 、M、 L^2 、P、 L^3 、及び Z、ならびに関連する副次可変要素は、本明細書で定義される。いくつかの実施形態では、式 (III) の化合物またはその薬学的に許容可能な塩（例えば、(III-a)、(III-b)、(III-b-i)、(III-b-ii)、(III-c)、(III-d)、(III-e)、(III-f)、(IV)、(IV-a)、(V)、(

50

V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、または(VI-e))は、例えば、本明細書で表6に示される化合物のうちの1つを含む、本明細書に記載の化合物である。いくつかの実施形態では、式(III)の化合物は、表6に示される化合物100、化合物101、化合物102、または化合物122から選択される。

【0016】

一態様では、本開示のデバイスは、本明細書に記載の複数の生きた遺伝子改変細胞（及び任意選択で1つ以上の細胞結合物質）を含む細胞含有区画（例えば、内側区画）が、非線維性ポリマー（例えば、外側区画、例えば、ヒドロゲル層）を含むバリア区画によって囲まれている2区画ヒドロゲルカプセル（例えば、マイクロカプセル（直径1mm未満）またはミリカプセル（直径少なくとも1mm））である。実施形態では、非線維性ポリマーは、非線維性化合物を含む。実施形態では、非線維性化合物は、式(III)の化合物である。

10

【0017】

別の態様では、本開示は、複数（3、6、12、25、50、またはそれ以上の少なくともいずれか）の本明細書に記載の細胞含有デバイスを含む調製物（例えば、組成物）、例えば、遺伝子改変ARPE-19細胞をカプセル化しているヒドロゲルカプセルの調製物を特徴とする。いくつかの実施形態では、調製物は、薬学的に許容可能な組成物である。

【0018】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載の遺伝子改変細胞を含むデバイスを作製または製造する方法を特徴とする。いくつかの実施形態では、方法は、遺伝子改変細胞、または複数のかかる細胞を提供することと、細胞（複数可）を、囲む成分、例えば、本明細書に記載されるデバイスの細胞含有区画中に配置することと、を含む。いくつかの実施形態では、囲む成分は、可撓性ポリマー（例えば、PLA、PLG、PEG、CMC、または多糖、例えば、アルギネート）を含む。いくつかの実施形態では、囲む成分は、非可撓性ポリマーまたは金属ハウジングを含む。いくつかの実施形態では、デバイスの表面は、例えば、本明細書に記載される式(III)の化合物で化学的に修飾される。

20

【0019】

実施形態では、本明細書に記載のデバイス、または複数のデバイスは、薬学的に許容可能な賦形剤と組み合わせて、デバイスによって産生されるBBB輸送融合タンパク質を用いた治療を必要とする対象に投与され得る（例えば、腹腔内に）デバイス調製物または組成物を調製する。実施形態では、遺伝子改変細胞は、ヒト細胞（例えば、RPE細胞、ARPE-19細胞）に由来し、デバイス調製物または組成物は、持続的な期間、例えば、3ヶ月、6ヶ月、1年、2年、またはそれ以上のうちの少なくともいずれかの間、対象に有効量のBBB輸送融合タンパク質を持続的に送達することができる。

30

【0020】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載の組成物、デバイス、またはデバイス調製物を評価する方法を特徴とする。いくつかの実施形態では、方法は、組成物、デバイス、またはデバイス調製物を提供することと、組成物、デバイス、またはデバイス調製物の機能的パラメータを評価することと、を含む。実施形態では、機能的パラメータは、インビトロ（例えば、好適な培養培地中に配置された場合）及び／またはインビボ（例えば、対象、例えば、非ヒト対象またはヒト対象への埋め込み後）で、組成物、デバイス、またはデバイス調製物中の細胞によって産生されたBBB輸送融合タンパク質の量である。

40

【0021】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質を用いた療法を必要とする対象を治療する方法を特徴とする。実施形態では、方法は、対象に、融合タンパク質を発現及び分泌する遺伝子改変細胞、または複数のかかる細胞を含む埋め込み可能な要素（例えば、デバイスまたはデバイス調製物）を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与するステップは、対象に、各々がBBB輸送融合タンパク質を産生する

50

能力を有する複数のデバイスを含む薬学的に許容可能な調製物を配置することを含む。いくつかの実施形態では、埋め込み可能な要素は、対象の腹腔（例えば、小嚢）、大網、または皮下脂肪に投与されるか、配置されるか、または注射される。実施形態では、方法は、対象から取り出された組織試料中、例えば、血液試料から分離された血漿中、またはCNSもしくはは目的の器官から得られた組織試料中に存在するBBB輸送融合タンパク質の量を測定することを更に含む。実施形態では、組織試料は、デバイスまたはデバイス調製物の投与、埋め込み、または配置の15、30、60、または120日後に患者から取り出される。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。実施形態では、対象は、神経細胞障害性MPS疾患を有すると診断されたヒト患者であり、融合タンパク質は、神経細胞障害性MPS疾患において欠損しているグリコサミノグリカン代謝酵素を含む。実施形態では、埋め込み可能な要素は、神経細胞障害性MPS疾患の1つ以上の症状を低下するのに十分な量でBBB輸送融合タンパク質を産生する。実施形態では、治療は、脳、及び任意選択で、CNS外の1つ以上の他の器官または組織、例えば、肝臓、脾臓、腎臓、肺、及び心臓におけるヘパラン硫酸レベルに低下をもたらす。実施形態では、患者は、ムコ多糖症I型（MPS I）と診断されており、BBB輸送融合タンパク質は、ヒトIDUAタンパク質を含む。

10

【0022】

本開示の1つ以上の実施形態の詳細が、本明細書に示される。本開示の他の特徴、目的、及び利点は、詳細な説明、図面、実施例、及び特許請求の範囲から明らかとなるであろう。

20

【図面の簡単な説明】

【0023】

【図1A】本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるカーゴポリペプチドとして含まれ得る例示的なLSD酵素のための野生型、ヒト前駆体ポリペプチドのアミノ酸配列を示す。GAA（配列番号15）。

【図1B】本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるカーゴポリペプチドとして含まれ得る例示的なLSD酵素のための野生型、ヒト前駆体ポリペプチドのアミノ酸配列を示す。GBA（配列番号16）。

【図1C】本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるカーゴポリペプチドとして含まれ得る例示的なLSD酵素のための野生型、ヒト前駆体ポリペプチドのアミノ酸配列を示す。GLA（配列番号17）。

30

【図1D】本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるカーゴポリペプチドとして含まれ得る例示的なLSD酵素のための野生型、ヒト前駆体ポリペプチドのアミノ酸配列を示す。GNS（配列番号18）。

【図1E】本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるカーゴポリペプチドとして含まれ得る例示的なLSD酵素のための野生型、ヒト前駆体ポリペプチドのアミノ酸配列を示す。GUSB（配列番号19）。

【図1F】本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるカーゴポリペプチドとして含まれ得る例示的なLSD酵素のための野生型、ヒト前駆体ポリペプチドのアミノ酸配列を示す。HGSNAT（配列番号20）。

40

【図1G】本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるカーゴポリペプチドとして含まれ得る例示的なLSD酵素のための野生型、ヒト前駆体ポリペプチドのアミノ酸配列を示す。IDS（配列番号21）。

【図1H】本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるカーゴポリペプチドとして含まれ得る例示的なLSD酵素のための野生型、ヒト前駆体ポリペプチドのアミノ酸配列を示す。IDUA（配列番号22）。

【図1I】本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるカーゴポリペプチドとして含まれ得る例示的なLSD酵素のための野生型、ヒト前駆体ポリペプチドのアミノ酸配列を示す。NAGLU（配列番号23）。

【図1J】本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるカーゴポリペプチドとし

50

て含まれ得る例示的な L S D 酵素のための野生型、ヒト前駆体ポリペプチドのアミノ酸配列を示す。S G S H（配列番号 24）。

【図 2 A】本明細書に記載の B B B 輸送融合タンパク質によって結合されるヒトタンパク質の前駆体形態の例示的なアミノ酸配列を示し、図 2 A（配列番号 25）は、前駆体ヒト I G F 1 R モノマー（UniProtKB-P08069）のアミノ酸配列を示し、シグナルペプチドはイタリック体であり、フリン切断部位は小文字イタリック体で示され、下線の太字は、本明細書に記載の特定の h I G F 1 R 結合ドメインの推定結合部位における接触点であるアミノ酸を示す。

【図 2 B】本明細書に記載の B B B 輸送融合タンパク質によって結合されるヒトタンパク質の前駆体形態の例示的なアミノ酸配列を示し、図 2 B（配列番号 95）は、前駆体ヒト血清アルブミンのアミノ酸配列を示し、シグナルペプチドは下線されている。

【図 3 A】本開示の例示的な B B B 輸送 I D U A 融合タンパク質のアミノ酸配列を示し、図 3 A（配列番号 26）、図 3 B（配列番号 27）、及び図 3 C（配列番号 28）における融合タンパク質は、親抗 H S A 及び 3 つの異なる親抗 I G F 1 R s d A b 配列のうちの 1 つを含み、図 3 D（配列番号 29）、図 3 E（配列番号 30）、及び図 3 F（配列番号 31）における融合タンパク質は、図 3 A、3 B、及び 3 C に示される抗 H S A 及び抗 I G F 1 R s d A b 配列のヒト化バリエーションを含み、融合タンパク質の各々は、G G G G S（配列番号 92）の 4 または 5 反復を有する 2 つのリンカー配列を含む。

【図 3 B】本開示の例示的な B B B 輸送 I D U A 融合タンパク質のアミノ酸配列を示し、図 3 A（配列番号 26）、図 3 B（配列番号 27）、及び図 3 C（配列番号 28）における融合タンパク質は、親抗 H S A 及び 3 つの異なる親抗 I G F 1 R s d A b 配列のうちの 1 つを含み、図 3 D（配列番号 29）、図 3 E（配列番号 30）、及び図 3 F（配列番号 31）における融合タンパク質は、図 3 A、3 B、及び 3 C に示される抗 H S A 及び抗 I G F 1 R s d A b 配列のヒト化バリエーションを含み、融合タンパク質の各々は、G G G G S（配列番号 92）の 4 または 5 反復を有する 2 つのリンカー配列を含む。

【図 3 C】本開示の例示的な B B B 輸送 I D U A 融合タンパク質のアミノ酸配列を示し、図 3 A（配列番号 26）、図 3 B（配列番号 27）、及び図 3 C（配列番号 28）における融合タンパク質は、親抗 H S A 及び 3 つの異なる親抗 I G F 1 R s d A b 配列のうちの 1 つを含み、図 3 D（配列番号 29）、図 3 E（配列番号 30）、及び図 3 F（配列番号 31）における融合タンパク質は、図 3 A、3 B、及び 3 C に示される抗 H S A 及び抗 I G F 1 R s d A b 配列のヒト化バリエーションを含み、融合タンパク質の各々は、G G G G S（配列番号 92）の 4 または 5 反復を有する 2 つのリンカー配列を含む。

【図 3 D】本開示の例示的な B B B 輸送 I D U A 融合タンパク質のアミノ酸配列を示し、図 3 A（配列番号 26）、図 3 B（配列番号 27）、及び図 3 C（配列番号 28）における融合タンパク質は、親抗 H S A 及び 3 つの異なる親抗 I G F 1 R s d A b 配列のうちの 1 つを含み、図 3 D（配列番号 29）、図 3 E（配列番号 30）、及び図 3 F（配列番号 31）における融合タンパク質は、図 3 A、3 B、及び 3 C に示される抗 H S A 及び抗 I G F 1 R s d A b 配列のヒト化バリエーションを含み、融合タンパク質の各々は、G G G G S（配列番号 92）の 4 または 5 反復を有する 2 つのリンカー配列を含む。

【図 3 E】本開示の例示的な B B B 輸送 I D U A 融合タンパク質のアミノ酸配列を示し、図 3 A（配列番号 26）、図 3 B（配列番号 27）、及び図 3 C（配列番号 28）における融合タンパク質は、親抗 H S A 及び 3 つの異なる親抗 I G F 1 R s d A b 配列のうちの 1 つを含み、図 3 D（配列番号 29）、図 3 E（配列番号 30）、及び図 3 F（配列番号 31）における融合タンパク質は、図 3 A、3 B、及び 3 C に示される抗 H S A 及び抗 I G F 1 R s d A b 配列のヒト化バリエーションを含み、融合タンパク質の各々は、G G G G S（配列番号 92）の 4 または 5 反復を有する 2 つのリンカー配列を含む。

【図 3 F】本開示の例示的な B B B 輸送 I D U A 融合タンパク質のアミノ酸配列を示し、図 3 A（配列番号 26）、図 3 B（配列番号 27）、及び図 3 C（配列番号 28）における融合タンパク質は、親抗 H S A 及び 3 つの異なる親抗 I G F 1 R s d A b 配列のうちの 1 つを含み、図 3 D（配列番号 29）、図 3 E（配列番号 30）、及び図 3 F（配列番号 31）における融合タンパク質は、図 3 A、3 B、及び 3 C に示される抗 H S A 及び抗 I G F 1 R s d A b 配列のヒト化バリエーションを含み、融合タンパク質の各々は、G G G G S（配列番号 92）の 4 または 5 反復を有する 2 つのリンカー配列を含む。

号 3 1) における融合タンパク質は、図 3 A、3 B、及び 3 C に示される抗 H S A 及び抗 I G F 1 R s d A b 配列のヒト化バリエーションを含み、融合タンパク質の各々は、G G G G S (配列番号 9 2) の 4 または 5 反復を有する 2 つのリンカー配列を含む。

【図 4 A】本開示の B B B 輸送融合タンパク質のための発現構築物に有用な例示的なプロモーター配列を示す：p C A G プロモーター配列 (図 4 A、配列番号 3 2)。

【図 4 B】本開示の B B B 輸送融合タンパク質のための発現構築物に有用な例示的なプロモーター配列を示す：E F 1 α プロモーター配列 (図 4 B、配列番号 3 3)。

【図 4 C】本開示の B B B 輸送融合タンパク質のための発現構築物に有用な例示的なプロモーター配列を示す：E F S プロモーター配列 (図 4 C、配列番号 3 4)。

【図 5】本開示の B B B 輸送融合タンパク質のための発現構築物に有用な例示的なポリ A シグナル配列を示す：r B G ポリ A シグナル配列 (A、配列番号 3 5)、S V 4 0 後期ポリ A シグナル配列 (B、配列番号 3 6)、B G H ポリ A シグナル配列 (C、配列番号 3 7)。

10

【図 6】例示的な B B B 輸送 I D U A 融合タンパク質のアミノ酸配列 (配列番号 3 8) を示し、下線は V H H コンセンサスシグナルペプチドを示し、太字は抗 H S A s d A b を示し、イタリック体は抗 I G F 1 R s d A b を示し、太字イタリック体は野生型、ヒト成熟 I D U A アミノ酸配列を示し、一点鎖線の下線は可撓性リンカー配列を示す。

【図 7 - 1】図 6 に記載の I D U A 融合タンパク質を発現するのに有用な例示的な転写単位のヌクレオチド配列 (配列番号 3 9) を示し、波線の下線は E F 1 A プロモーター配列を示し、直線の下線は V H H コンセンサスシグナルペプチドの例示的なコード配列を示し、太字は抗 H S A s d A b の例示的なコード配列を示し、イタリック体は抗 I G F 1 R s d A b の例示的なコード配列を示し、太字のイタリック体は野生型、ヒト成熟 I D U A アミノ酸配列の例示的なコード配列を示し、一点鎖線の下線は可撓性リンカー配列のコード配列を示し、点線の下線は終止コドンを示し、下線したイタリック体は r B G ポリ A シグナル配列を示す。

20

【図 7 - 2】図 7 - 1 の続きである。

【図 7 - 3】図 7 - 2 の続きである。

【図 8】アミノ酸リンカーを介して h I D U A に融合した例示的な抗 I G F 1 R s d A b を含有する単一の I D U A 融合タンパク質における I D U A 活性を示し、A は、s d A b 配向及びリンカー長に基づいて 6 つの異なる融合構築物のうちの 1 つを発現する細胞の培地中のインビトロ I D U A 活性を示し、B は、野生型 h I D U A (薄い灰色のバー) または A において最も高いインビトロ h I D U A 活性を産生していた融合構築物 (I G F 1 r R - h I D U A、濃い灰色のバー) のいずれかを発現するカプセル化細胞を埋め込んだ M P S - 1 マウスからの肝臓及び血漿試料中のインビボ h I D U A 活性を比較する。

30

【図 9 A】h I D U A の様々な配向、例示的な抗 I G F 1 R s d A b (I G F 1 R 5)、及び例示的な抗 H S A s d A b (R 2 8) を含有する 6 つの異なる二重 I D U A 融合タンパク質のうちの 1 つを発現する細胞の条件培地におけるインビトロ I D U A 活性を示すグラフである。

【図 9 B】例示的な抗 I G F 1 R - h I D U A 融合酵素を発現する細胞 (I G F 1 R 4 - h I D U A、薄い灰色のバー) の条件培養培地におけるインビトロ I D U A 活性を、例示的な抗 H S A - 抗 I G F 1 R - h I D U A 融合酵素を発現する細胞 (R 2 8 - I G F 1 R 5 - h I D U A、濃い灰色のバー) と比較するグラフである。

40

【図 1 0】野生型 h I D U A (薄い灰色のバー) または例示的な抗 H S A - 抗 I G F 1 R - h I D U A 融合酵素 (R 2 8 - I G F 1 R 5 - h I D U A、濃い灰色のバー) のいずれかを発現するカプセル化細胞を埋め込んだ M P S - 1 マウスの血漿及び全身 (非脳) 組織におけるインビボ h I D U A 活性を比較するグラフである。

【図 1 1】未処置の M P S - 1 マウス (薄い灰色のバー) 及び例示的な抗 H S A - 抗 I G F 1 R - h I D U A 融合酵素を発現するカプセル化細胞を埋め込んだ M P S - 1 マウス (R 2 8 - I G F 1 R 5 - h I D U A、濃い灰色のバー) からの脳組織試料中のヘパラン硫酸レベルを比較するグラフである。

50

【図 1 2】本開示の例示的な B B B 輸送 I D S 融合タンパク質のアミノ酸配列（配列番号 9 3 及び配列番号 9 4）である。

【図 1 3】実施例 5 に概説されるように、本明細書に記載の例示的な構築物によって生成された酵素活性レベルの比較を示す図表である。

【図 1 4】未処置の M P S - 1 マウス（灰色バー）及び例示的な抗 H S A - 抗 I G F 1 R - h I D U A 融合酵素を発現するカプセル化細胞を埋め込んだ M P S - 1 マウス（R 2 8 - I G F 1 R 5 - h I D U A、黒色バー）からの肝臓、脾臓、腎臓、肺、及び心臓組織試料中のヘパラン硫酸レベルを比較するグラフである。

【図 1 5】未処置の M P S - 1 マウス（黒色塗りつぶしバー）及び例示的な h I D U A 融合酵素を発現するカプセル化細胞を埋め込んだ M P S - 1 マウス（灰色バー）からの脳組織試料中のヘパラン硫酸レベルを比較するグラフである。

10

【発明を実施するための形態】

【0 0 2 4】

本開示は、H S A - 及び h I G F 1 R - 結合ドメインならびにカーゴ部分を含む B B B 輸送融合タンパク質と、これらの融合タンパク質を発現及び分泌するように遺伝子改変された哺乳動物細胞（例えば、ヒト R P E 細胞）と、遺伝子改変細胞を含む組成物及びデバイスと、を特徴とする。いくつかの実施形態では、デバイスは、細胞結合物質ならびに遺伝子改変細胞を含む細胞含有区画を含む。いくつかの実施形態では、デバイスは、対象、例えば、ヒト対象の内部に配置されたときに F B R を軽減するように構成される。いくつかの実施形態では、融合タンパク質、遺伝子改変細胞、組成物、及びデバイスは、リソソーム貯蔵疾患などの C N S 状態または障害の治療に有用である。様々な実施形態が以下に記載される。

20

【0 0 2 5】

略語及び定義

本開示の詳細な説明及び例を通して、以下の略語が使用される。

C N S 中枢神経系

C S コンドロイチン硫酸

D S デルマタン硫酸

G A A 酸性アルファーグルコシダーゼ

G A G グリコサミノグリカン

G B A ベーターグルコシダーゼ

G L A アルファーガラクトシダーゼ A

G N S N - アセチルガラクトサミン - 6 - スルファターゼ

G U S B ベーターグルコロニダーゼ

H S ヘパラン硫酸

H G S N A T ヘパラン - アルファーグルコサミニド N - アセチルトランスフェラーゼタンパク質

I D S イズロネート - 2 - スルファターゼタンパク質

I D U A アルファ - L - イズロニダーゼタンパク質

M P S ムコ多糖症

N A G L U アルファ - N - アセチルグルコサミニダーゼ

S G S H N - スルホグルコサミンスルホヒドrolラーゼ

30

40

【0 0 2 6】

本開示がより容易に理解され得るように、本明細書で使用される所定の技術的及び科学的用語が以下に具体的に定義される。この文書における他の箇所で具体的に定義されない限り、本明細書で使用される全ての他の技術的及び科学的用語は、本開示が属する分野における当業者によって一般的に理解される意味を有する。

【0 0 2 7】

添付の特許請求の範囲を含む本明細書で使用される場合、例えば、「a」、「an」、及び「the」等の用語の単数形には、文脈が別途明らかに示さない限り、それらの対応

50

する複数の言及が含まれる。

【0028】

「約」または「およそ」は、数値的に定義されるパラメータ（例えば、操作した細胞によって分泌された融合タンパク質の量、デバイス（例えば、ヒドロゲルカプセル）の物理的記載、例えば、直径、球形度、その中にカプセル化された細胞の数、調製物中のデバイスの数）を修飾するために本明細書で使用される場合、記述された数値が、例えば、測定システムの限界（その測定システムについての許容可能な誤差範囲を含む）がどのように測定または決定されたかに部分的に依存する、当業者によって決定される定義されるパラメータについての許容可能な機能的範囲内であることを意味する。例えば、「約」は、記述される数値の20%上及び下の範囲を意味し得る。非限定的な例として、約1.5ミリメートル（mm）の直径を有し、かつ約500万（M）個の細胞を封入するものとして定義されるヒドロゲルカプセルは、1.2～1.8mmの直径を有し得、4M～6M個の細胞を封入し得る。別の非限定的な例として、約100個のデバイス（例えば、ヒドロゲルカプセル）の調製物には、80～120個のデバイスを有する調製物が含まれる。いくつかの実施形態では、用語「約」は、修飾されたパラメータが、そのパラメータについて記述された数値を15%、10%または5%上回るまたは下回るほど様々であり得ることを意味する。

10

【0029】

本明細書で使用される「取得する」または「取得すること」は、値、例えば、数値、または画像、または物理的実体（例えば、サンプル）の入手を、値または物理的実体を「直接取得すること」または「間接的に取得すること」によって得ることを指す。「直接取得すること」は、値または物理的実体を得るためにプロセスを実施すること（例えば、分析方法またはプロトコルを実行すること）を意味する。「間接的に取得すること」は、他者または他の源（例えば、物理的実体または値を直接的に取得した第三者のラボラトリ）から値または物理的実体を取得することを指す。値または物理的実体を直接的に取得することには、物理的物質の物理的变化を含むプロセスまたは機械もしくはデバイスの使用を実施することが含まれる。値を直接的に取得することの例には、ヒト対象からサンプルを得ることが含まれる。値を直接的に取得することには、機械またはデバイスを使用するプロセスを実施すること、例えば、蛍光顕微鏡を使用して、蛍光顕微鏡検査データを取得することが含まれる。

20

30

【0030】

「投与する」、「投与すること」、または「投与」は、本明細書で使用される場合、対象に本明細書に記載の実体（例えば、デバイスまたはデバイスの調製物）を埋め込むこと、吸収させること、摂取させること、注射すること、配置すること、さもなければ導入すること、または投与のために対象にかかる実体を提供することを指す。

【0031】

「非線維性」は、本明細書で使用される場合、異物応答（FBR）を緩和する化合物または材料を意味する。例えば、非線維性化合物（例えば、表6に列挙される化合物で共有結合的に修飾されたポリマーを含むヒドロゲルカプセル）を含むデバイス（例えば、ヒドロゲルカプセル）の生物学的組織への埋め込みによって誘導されるその組織におけるFBRの量は、任意の非線維性化合物を欠くが、実質的に同じ組成物（例えば、同じ細胞タイプ（複数可））及び構造（例えば、区画のサイズ、形状、数）のものである非線維性ヌル参照カプセルの埋め込みによって誘導されるFBRよりも低い。実施形態では、FBRの程度は、例えば、タンパク質吸着、マクロファージ、多核異物巨細胞、線維芽細胞、及び血管新生を含み得る、埋め込まれたデバイス（例えば、ヒドロゲルカプセル）を含む組織における免疫学的応答によって評価され、例えば、WO2017/075630に記載されるように、当該技術分野で既知のアッセイを使用するか、またはVegas, A., et al., Nature Biotechnol (同上)に記載されるアッセイ／方法（例えば、埋め込まれたカプセルの皮下カテプシン測定、マッソンのトリクローム染色（MT）、組織切片のヘマトキシリンもしくはエオシン染色、コラーゲン密度の定量化、マ

40

50

クロファージ（C D 6 8 または F 4 / 8 0）、筋線維芽細胞（アルファ筋アクチン、S M A）、もしくは一般的な細胞沈着の細胞染色及び共焦点顕微鏡検査、既知の炎症因子及び免疫細胞マーカーの 7 9 個の R N A 配列の定量化、または好適な試験対象、例えば、免疫適格性マウスの腹腔内空間における 1 4 日後に回収されたデバイス（例えば、カプセル）でのマクロファージ及び好中球細胞の F A C S 分析）のうちの 1 つ以上を使用する。実施形態では、F B R は、免疫応答の 1 つ以上のバイオマーカー、例えば、カテプシン、T N F - α 、I L - 1 3、I L - 6、G - C S F、G M - C S F、I L - 4、C C L 2、または C C L 4 の、インプラントを含む組織内のレベルを測定することによって評価される。いくつかの実施形態では、本発明のデバイス（例えば、その外面に配置された非線維性化合物を含むヒドロゲルカプセル）によって誘導される F B R は、F B R ヌル参照デバイス、例えば、F B R を軽減するための手段を欠いていることを除いて、試験または請求されるデバイスと実質的に同一であるデバイス（例えば、非線維性化合物を含まないが、それ以外は請求されるカプセルと実質的に同一であるヒドロゲルカプセル）によって誘導される F B R よりも、少なくとも約 8 0 %、約 8 5 %、約 9 0 %、約 9 5 %、約 9 9 %、または約 1 0 0 % 低い。いくつかの実施形態では、F B R（例えば、バイオマーカー（複数可）のレベル）は、約 3 0 分後、約 1 時間後、約 6 時間後、約 1 2 時間後、約 1 日後、約 2 日後、約 3 日後、約 4 日後、約 1 週間後、約 2 週間後、約 1 カ月後、約 2 カ月後、約 3 カ月後、約 6 カ月後、またはそれ以上後に測定される。

10

【 0 0 3 2 】

「酸性アルファグルコシダーゼタンパク質」、「酸性マルターゼタンパク質」、「アルファ-1, 4-グルコシダーゼタンパク質」、及び「G A A タンパク質」は、本明細書において互換的に使用され得、野生型哺乳動物（例えば、ヒト）G A A 遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むタンパク質、または任意の当該技術分野で認識されている G A A 活性アッセイによって測定される場合、対応する野生型哺乳動物成熟 G A A タンパク質の 8 0 ~ 1 2 0 %、8 5 ~ 1 1 5 %、9 0 ~ 1 1 0 %、もしくは 9 5 ~ 1 0 5 % 以内の G A A 酵素活性を有するその任意の断片、変異体、バリエーション、もしくは誘導体を指す。G A A 酵素は、グリコーゲン中のアルファ（1, 4）及びアルファ（1, 6）結合の加水分解を触媒し、遊離グルコース及び短縮化グリコーゲンポリマーを生じる。G A A 酵素活性は、任意の当該技術分野で認識されているアッセイを使用して測定することができる。野生型ヒト G A A 遺伝子は、9 5 2 個のアミノ酸の前駆体プロポリペプチドをコードし、その N 末端の 2 7 個のアミノ酸は、シグナルペプチドを構成し、アミノ酸 2 8 ~ 6 9 はプロポリペプチドを構成する（U n i P r o t K B - P 1 0 2 5 3）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の B B B 輸送融合タンパク質における G A A アミノ酸配列は、図 1 A に示されるヒト前駆体 G A A 配列のアミノ酸 7 0 ~ 9 5 2 を含む。実施形態では、B B B 輸送融合タンパク質におけるヒト G A A アミノ酸配列は、図 1 A に示される配列のアミノ酸 2 8 ~ 9 5 2 から本質的になる。

20

30

【 0 0 3 3 】

「アルファガラクトシダーゼ A タンパク質」、「 α -G a l A タンパク質」、及び「G L A タンパク質」は、本明細書において互換的に使用され得、野生型哺乳動物（例えば、ヒト）G L A 遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むタンパク質、または任意の当該技術分野で認識されている G L A 活性アッセイによって測定される場合、対応する野生型哺乳動物成熟 G L A タンパク質の 8 0 ~ 1 2 0 %、8 5 ~ 1 1 5 %、9 0 ~ 1 1 0 %、もしくは 9 5 ~ 1 0 5 % 以内の G L A 酵素活性を有するその任意の断片、変異体、バリエーション、もしくは誘導体を指す。G L A 酵素は、スフィンゴ糖脂質、特にグロボトリアオシルセラミド（G b 3）における末端アルファ-D-ガラクトース残基を加水分解する。G L A 酵素活性は、任意の当該技術分野で認識されているアッセイを使用して測定することができる。野生型ヒト G L A 遺伝子は、4 2 9 個のアミノ酸のポリペプチドをコードし、その N 末端の 3 1 個のアミノ酸は、シグナルペプチドを構成する（U n i P r o t K B - P 0 6 2 8 0）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の B B B 輸送融合タンパク質におけるヒト G L A アミノ酸配列は、図 1 C に示されるヒト前駆体 G L A アミ

40

50

ノ酸配列のアミノ酸 32～429 から本質的になる。

【0034】

「アルファー-L-イズロニダーゼタンパク質」及び「IDUAタンパク質」は、本明細書において互換的に使用され得、野生型哺乳動物（例えば、ヒト）IDUA遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むタンパク質、または任意の当該技術分野で認識されているIDUA活性アッセイ（例えば、基質4-メチルウンベリフェリル- α -L-イズロニド（4MU-イズロニド）の加水分解、Ou, L. et al., Mol Genet Metab. 2014 Feb: 111(2): 113-115を参照）または本明細書に記載の任意のIDUA活性アッセイによって測定される場合、対応する野生型哺乳動物成熟IDUAタンパク質の80～120%、85～115%、90～110%、もしくは95～105%以内のIDUA酵素活性を有するその任意の断片、変異体、バリエーション、もしくは誘導体を指す。IDUAタンパク質は、グリコサミノグリカン（GAG）（例えば、デルマタン硫酸及びヘパラン硫酸）における非還元末端アルファー-L-イズロニ酸残基を加水分解する。野生型ヒトIDUA遺伝子は、653個のアミノ酸の前駆体タンパク質をコードし、そのN末端の26個または27個のアミノ酸は、シグナルペプチドを構成する（GenBank登録番号AAA81589.1、GenBank登録番号AAA51698.1、UniProtKB-P35475）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質中の成熟ヒトIDUAアミノ酸配列は、図1Hに示される前駆体ヒトIDUAアミノ酸配列のアミノ酸26、27、または28～アミノ酸653を含む。実施形態では、BBB輸送融合タンパク質における成熟ヒトIDUAアミノ酸配列は、図1Hに示されるアミノ酸配列のアミノ酸27～653から本質的になる。

10

20

【0035】

「アルファー-N-アセチル-グルコサミニダーゼタンパク質」、「N-アセチル-アルファー-グルコサミニダーゼ」、及び「NAGLU」は、野生型哺乳動物（例えば、ヒト）NAGLU遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むタンパク質、または任意の当該技術分野で認識されているNAGLUアッセイによって測定される場合、対応する野生型哺乳動物成熟NAGLUタンパク質の80～120%、85～115%、90～110%、もしくは95～105%以内の酵素活性を有するその任意の断片、変異体、バリエーション、もしくは誘導体を指すために本明細書において互換的に使用され得る。NAGLUは、N-アセチル-アルファー-D-グルコサミニドにおける末端非還元N-アセチル-D-グルコサミン残基の加水分解を触媒する。野生型ヒトNAGLU遺伝子は、743個のアミノ酸の前駆体ポリペプチドをコードし、そのN末端の23個のアミノ酸は、シグナルペプチドを構成する（UniProtKB-P54802）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質における成熟ヒトNAGLUアミノ酸配列は、図1Iに示されるアミノ酸配列のアミノ酸24～743から本質的になる。

30

【0036】

「ベーター-グルクロニダーゼタンパク質」及び「GUSBタンパク質」は、野生型哺乳動物（例えば、ヒト）GUSB遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むタンパク質、または任意の当該技術分野で認識されているGUSBアッセイによって測定される場合、対応する野生型哺乳動物成熟GUSBタンパク質の80～120%、85～115%、90～110%、もしくは95～105%以内の酵素活性を有するその任意の断片、変異体、バリエーション、もしくは誘導体を指すために互換的に使用され得る。GUSBは、ベーター-D-グルクロノシドのアルコール及びD-グルクロネートへの加水分解を触媒する。野生型ヒトGUSB遺伝子は、651個のアミノ酸の前駆体ポリペプチドをコードし、そのN末端の22個のアミノ酸は、シグナルペプチドを構成する（UniProtKB-P08236）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質における成熟ヒトGUSBアミノ酸配列は、図1Eに示される配列のアミノ酸23～651から本質的になる。

40

【0037】

50

「ベーターグルコシダーゼタンパク質」、「酸性ベーターグルコセレブロシダーゼタンパク質」、「グルコセレブロシダーゼタンパク質」、「リソソーム酸性グルコシルセラミダーゼタンパク質」、「リソソーム酸性GCアーゼタンパク質」、及び「GBAタンパク質」は、野生型哺乳動物（例えば、ヒト）GBA遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むタンパク質、または当該技術分野で既知の任意のGBAアッセイによって測定される場合、対応する野生型哺乳動物成熟GBAタンパク質の80～120%、85～115%、90～110%、もしくは95～105%以内の酵素活性を有するその任意の断片、変異体、バリエーション、もしくは誘導体を指すために本明細書において互換的に使用され得る。GBAは、リソソーム区画内で、糖脂質グルコシルセラミド（GlucCer）のセラミド及びグルコースへの分解を触媒する。野生型ヒトGBA遺伝子は、536個のアミノ酸の前駆体ポリペプチドをコードし、そのN末端の39個のアミノ酸は、シグナルペプチドを構成する（UniProtKB P04062.3）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質における成熟ヒトGBAアミノ酸配列は、図1Bに示される配列のアミノ酸40～536から本質的になる。

10

【0038】

「細胞」は、本明細書で使用される場合、操作された細胞（例えば、遺伝子改変細胞）、または操作されていない細胞を指す。実施形態では、細胞は、不死化細胞、または不死化細胞に由来する操作された細胞である。一実施形態では、細胞は、生存細胞であり、例えば、本明細書に記載されているまたは当該技術分野で既知の任意の技術によって測定される場合、生存可能である。

20

【0039】

「細胞結合ペプチド（CBP）」は、本明細書で使用される場合、細胞接着分子（CAM）（例えば、細胞－マトリックス接続または細胞－細胞接続を媒介する）のリガンドの細胞結合ドメインに由来するアミノ酸配列を含む線状または環状ペプチドを意味する。実施形態では、CBPは、国際特許公開第WO2020/069429号に記載のCBPのいずれかである。実施形態では、CBPは、RGD（配列番号87）を含む線状ペプチドであり、長さが10アミノ酸未満である。実施形態では、CBPは、GRGD（配列番号88）またはGRGDSP（配列番号89）から本質的になる線状ペプチドである。

【0040】

「CBP－ポリマー」は、本明細書で使用される場合、リンカーを介してポリマーに共有結合的に結合された少なくとも1つの細胞結合ペプチド分子を含むポリマーを意味する。一実施形態では、CBP－ポリマーにおけるポリマーは、合成または天然に存在する多糖、例えば、アルギネート、例えば、アルギン酸ナトリウムである。一実施形態では、リンカーは、アミノ酸リンカーであり（すなわち、単一のアミノ酸、またはいくつかの同一のまたは異なるアミノ酸のペプチドから本質的になり）、これは、ペプチド結合を介してCBPのN末端またはC末端に接続される。実施形態では、CBP－ポリマーは、WO2020/069429において定義されるCBP－アルギネートのいずれかである。

30

【0041】

「細胞結合物質（CBS）」は、本明細書で使用される場合、細胞－マトリックス接続または細胞－細胞接続または他の受容体媒介シグナル伝達を媒介する細胞－接着分子（CAM）または他の細胞－表面分子のリガンドの少なくとも1つの活性を模倣することが可能な任意の化学的、生物学的、または他のタイプの物質（例えば、小さな有機化合物、ペプチド、ポリペプチド）を意味する。一実施形態では、生存細胞を封入するポリマー組成物に存在する場合、CBSは、細胞の1つ以上との一過性または永続的結合または接触を形成することが可能である。一実施形態では、CBSは、ポリマー組成物に封入された2つ以上の生存細胞間の相互作用を容易化する。一実施形態では、複数の細胞（例えば、生存細胞）を封入するポリマー組成物におけるCBSの存在は、封入された細胞が試験対象、例えば、マウスに移植された場合、増加した細胞生産性（例えば、治療剤の発現）及び増加した細胞生存性の一方または両方と相関する。一実施形態では、CBSは、ポリマー組成物における1つ以上のポリマー分子に物理的に結合される。実施形態では、CBSは

40

50

、本明細書またはWO2020/069429で定義される細胞結合ペプチドである。

【0042】

「保存的に修飾されたバリエント」または「保存的置換」は、本明細書で使用される場合、そのアミノ酸配列において1つ以上の保存的アミノ酸置換を有することを除き、参照分子と同一である参照ペプチドまたはポリペプチドのバリエントを指す。一実施形態では、保存的に修飾されたバリエントは、参照アミノ酸配列と少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、HSA結合ドメイン配列及び／またはIGF1R結合ドメイン配列の保存的に修飾されたバリエントは、CDR内の任意のアミノ酸の置換を含まない。保存的アミノ酸置換は、同様の特徴（例えば、電荷、側鎖サイズ、疎水性／親水性、骨格コンフォメーション及び剛性等）を有し、かつ得られる置換されたペプチドまたはポリペプチドの生物学的活性に最小の影響を有するアミノ酸でのアミノ酸の置換を指す。機能的に同様のアミノ酸の保存的置換表は、当該技術分野でよく知られており、機能的特徴によってグループ化された例示的な置換が以下の表1に示されている。

【表1】

表1. 例示的な保存的アミノ酸置換群。

特徴	保存的アミノ群
電荷/極性	His, Arg, Lys
	Asp, Glu
	Cys, Thr, Ser, Gly, Asn, Gln, Tyr
	Ala, Pro, Met, Leu, Ile, Val, Phe, Trp
疎水性	Asp, Glu, Asn, Gln, Arg, Lys
	Cys, Ser, Thr, Pro, Gly, His, Tyr
	Ala, Met, Ile, Leu, Val, Phe, Trp
構造的/表面露出	Asp, Glu, Asn, Ala, His, Arg, Lys
	Cys, Ser, Tyr, Pro, Ala, Gly, Trp, Tyr
	Met, Ile, Leu, Val, Phe
二次構造傾向	Ala, Glu, Ala, His, Lys, Met, Leu, Arg
	Cys, Thr, Ile, Val, Phe, Tyr, Trp
	Ser, Gly, Pro, Asp, Asn
進化的保存	Asp, Glu
	His, Lys, Arg
	Asn, Gln
	Ser, Thr
	Leu, Ile, Val
	Phe, Tyr, Trp
	Ala, Gly
	Met, Cys

【0043】

「から本質的になる (Consists essentially of)」、及び類型、例えば、「から本質的になる (consist essentially of)」または「から本質的になる (consisting essentially of)」は、本明細書及び特許請求の範囲を通して使用される場合、任意の記述された要素または要素の群の包含、及び特定された分子、組成物、デバイス、または方法の基礎的なまたは

新規な特性を実質的に変更しない、記述された要素と同様か、または異なる特質の他の要素の任意の包含を示す。非限定的な例として、列挙されたアミノ酸配列から本質的になる H S A 結合ドメインまたは I G F 1 R 結合ドメインはまた、1つ以上のアミノ酸残基の1つ以上のアミノ酸を、列挙されたアミノ酸配列における置換を含めて、含み得、それぞれ、H S A 結合ドメインまたは I G F 1 R 結合ドメインの関連する生物学的活性に実質的に影響を及ぼさない。

【0044】

「に由来する」は、細胞または複数の細胞に関して本明細書で使用される場合、組織、細胞株、または細胞から得られた細胞を指し、由来する細胞（複数可）を生成するために、任意選択で、次いで培養、継代、不死化、分化、及び／または誘導などされる。

10

【0045】

「デバイス」は、本明細書で使用される場合、デバイスの埋め込み後に融合タンパク質を発現及び分泌することができる操作された細胞または複数の細胞（例えば、生細胞）を含み、細胞栄養素がデバイスに入ることを可能にすることによって細胞の生存を支持する構成を有する、任意の埋め込み可能な物体（例えば、粒子、ヒドロゲルカプセル、インプラント、医療デバイス）を指す。

【0046】

「有効量」は、本明細書で使用される場合、以下：B B B 輸送融合タンパク質を分泌する遺伝子改変細胞、融合タンパク質を産生するデバイス調製物、デバイス内の遺伝子改変細胞の数、所望の生物学的応答を誘発するのに十分なデバイス内の C B S 及び／または非線維性化合物の量のうちのいずれかの量を指す。いくつかの実施形態では、「有効量」という用語は、デバイスの成分の量（例えば、デバイス内の細胞の数、デバイスの表面及び／またはバリア区画内に配置された非線維性化合物の密度、細胞含有区画内の C B S の密度）を指す。

20

【0047】

実施形態では、所望の生物学的応答は、遺伝子改変細胞、かかる細胞を含有するデバイスまたはデバイス調製物で治療された（例えば、埋め込まれた）対象から取り出された組織試料中のカーゴ分子（例えば、カーゴポリペプチド）のレベルにおける増加である。当業者には理解されるであろう通り、有効量は、所望の生物学的エンドポイント、分泌された B B B 輸送融合タンパク質、組成物、またはデバイスの薬物動態、治療される状態、投与様式、ならびに対象の年齢及び健康状態などの要因に応じて変化し得る。有効量には、治療上及び予防上の処置が包含される。

30

【0048】

実施形態では、デバイス上またはデバイス内に配置された有効量の式（I I I）の化合物は、参照デバイスと比較して、埋め込まれたデバイスに対する F B R を減少させる、例えば、埋め込まれたデバイス上またはその近くの線維形成または線維性組織の量を減少させる量である。

【0049】

実施形態では、細胞含有区画内の操作された細胞とともに配置された有効量力の C B S は、参照デバイスと比較して、細胞の生存能（例えば、生細胞の数）を増強し、及び／または参照デバイスと比較して、細胞による B B B 輸送融合タンパク質の産生を増加させる（例えば、デバイスが埋め込まれた対象の血漿中の増加したレベルの融合タンパク質）量である。有効量のデバイス、組成物、または成分（例えば、非線維性化合物、C B S、操作された細胞）は、本明細書に記載の技術分野で既知の任意の技法によって決定され得る。

40

【0050】

「操作された細胞」または「遺伝子改変細胞」は、本明細書で使用される場合、非天然に存在する変異を有する哺乳動物細胞（例えば、ヒト細胞、例えば、R P E 細胞、細胞株（例えば、A R P E - 1 9 または他の細胞株）に由来する細胞、幹細胞、i P S C から分化した細胞）であり、典型的には、本明細書に記載の B B B 輸送融合タンパク質をコード

50

する外因性ヌクレオチド配列（例えば、ベクターまたは変異した染色体配列）を含む。実施形態では、外因性ヌクレオチド配列は、染色体である（例えば、外因性配列は、内因性染色体配列に配置される）か、または染色体外である（例えば、非組み込み発現ベクター）。実施形態では、遺伝子改変細胞における外因性ヌクレオチド配列は、A B、B B B、またはCドメインのうちの1つ、2つ、または3つ全てにおけるコドン最適化コード配列を含み、これらのドメインの各々における天然に存在するコード配列よりも、融合タンパク質のより高い発現を達成する。コドン最適化配列は、市販のアルゴリズム、例えば、GeneOptimizer (ThermoFisher Scientific)、OptimumGene (商標) (GenScript, Piscataway, NJ USA)、GeneGPS (登録商標) (ATUM, Newark, CA USA)、または

Java Codon Adaptation Tool (JCat, www.jcat.de, Grote, A. et al., Nucleic Acids Research, Vol 33, Issue suppl_2, pp. W526-W531 (2005))を使用して生成され得る。実施形態では、細胞はまた、親細胞によって天然に発現される1つ以上のタンパク質の発現を低減または排除するように遺伝子改変される。実施形態では、遺伝子改変細胞（例えば、RPE改変細胞、改変ARPE-19細胞）は、安定的にトランスフェクトされた細胞の集団から、またはモノクローナル細胞株から培養される。

10

【0051】

「外因性核酸」は、本明細書で使用される場合、対象細胞に天然には存在しないヌクレオチド配列である。

20

【0052】

「外因性ポリペプチド」は、本明細書で使用される場合、対象細胞、例えば、操作された細胞に天然に存在しないポリペプチドである。特定の配列のアミノ酸位置に対する言及は、参照アミノ酸配列、例えば、全長成熟（シグナルペプチド切断後）野生型タンパク質（別途記述されない限り）の配列における当該アミノ酸の位置を意味し、参照アミノ酸配列における他の位置でのバリエーション、例えば、欠失、挿入及び／または置換の存在を排除しない。

【0053】

「発現ベクター」は、本明細書で使用される場合、発現される1つ以上のタンパク質をコードする1つ以上の発現構築物を含む組換えポリヌクレオチドを指す。各発現構築物は、発現される1つ以上のヌクレオチド配列に操作可能に連結された発現制御配列を含む。発現ベクターは、発現のための十分なシス作用エレメントを含み、発現のための他のエレメントは、宿主細胞によって、またはインビトロ発現系において供給され得る。ベクターは、哺乳動物細胞のゲノムの発現及び／またはゲノムへの発現カセット（複数可）の組み込みに使用される追加の配列エレメントを含み得る。発現ベクターとしては、組換えポリヌクレオチドを組み込むコスミド、プラスミド（例えば、ネイキッドまたはリポソームに含まれる）、及びウイルス（例えば、レンチウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス、及びアデノ随伴ウイルス）などの、当該技術分野で既知の全てのものが挙げられる。本明細書に記載の融合タンパク質のいずれかを発現するように哺乳動物細胞を操作する際に使用するのに好適な発現ベクターはまた、かかるベクターを含有する細胞の選択のためのマーカーをコードするヌクレオチド配列を含有し得る。好適なマーカーの例は、アンピシリン、クロラムフェニコール、カナマイシン、ノーセオトリシン、またはゼオシンなどの抗生物質に対する耐性をコードする遺伝子である。

30

40

【0054】

「ファブリー病」、「GLA欠損症」、「アルファーガラクトシダーゼA欠損症」、及び「アンダーソンファブリー病」は、不十分な酵素アルファーガラクトシダーゼA（GLAまたはGALA）の活性によって引き起こされるX連鎖、LSDを指すために、本明細書において互換的に使用され得、様々な組織及び器官におけるスフィンゴ糖脂質グロボトリアオシルセラミド（Gb3）の損傷している蓄積をもたらす。ヒトGLA遺伝子の3

50

70以上の異なる変異がファブリー病を有する人々で特定されており、その多くは単一家族に固有である。GLA活性を排除する変異は、典型的には小児期に始まる重度の古典的な形態のファブリー病につながる。より軽度な後期発症形態のファブリー病は、GLA活性を低下させるが排除しない変異と相関している。ファブリー病患者は、ファブリー病と診断されているか、またはファブリー病を有することが疑われている個体を指す。ファブリー患者は、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して診断され得る。実施形態では、ヒトファブリー病患者は、不十分なGLA酵素活性及び／またはファブリー病に関連するGLA遺伝子変異を有する。

【0055】

「ゴーシェ病」は、本明細書で使用される場合、ベータグルコセブロシダーゼの不十分な活性によって引き起こされる常染色体劣性LSDを指し、全身にわたる糖脂質グルコセブロシドの細胞内蓄積につながる。少なくとも5つの形態のゴーシェ病が特定されており、CNS合併症に関連する形態は、ゴーシェ病2型及びゴーシェ病3型と名付けられている。2型形態は、急性神経細胞障害性ゴーシェ病としても知られ、新生児及び乳児に発生し、典型的には生後3年以内に死亡する。3型形態は、慢性神経細胞障害性ゴーシェ病としても知られ、典型的には、生後10年の間に発生し、2型患者よりも発症及び進行が遅いCNS合併症を伴う。GBA遺伝子における多くの変異は、2型及び3型ゴーシェ病に関連しており、L483P置換は3型に関連する最も一般的な変異である。ゴーシェ病患者は、ゴーシェ病を有すると診断されているか、または有することが疑われている個体を指す。実施形態では、ヒトゴーシェ病患者は、不十分なGBA酵素活性及び／またはゴーシェ病3型に関連するGBA遺伝子変異を有する。

【0056】

「ヘパラン-アルファグルコサミニドN-アセチルトランスフェラーゼタンパク質」、「ヘパランアセチル-CoA:アルファグルコサミニドN-アセチルトランスフェラーゼタンパク質」、「HGSNATタンパク質」、及び「N-アセチルトランスフェラーゼタンパク質」は、野生型哺乳動物（例えば、ヒト）遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むタンパク質、または任意の当該技術分野で認識されているHGSNATアッセイによって測定される場合、対応する野生型哺乳動物成熟HGSNATタンパク質の80～120%、85～115%、90～110%、もしくは95～105%以内のHGSNAT酵素活性を有するその任意の断片、変異体、バリエーション、もしくは誘導体に対して、本明細書において互換的に使用され得る。HGSNATは、リソソーム内ヘパランまたはヘパラン硫酸の末端グルコサミン残基のアセチル化を触媒し、それをNAGLUによる加水分解のための基質に変換する。野生型ヒトHGSNAT遺伝子は、663個のアミノ酸のポリペプチドをコードし、内皮小胞体への転位時に切断されない予測シグナル配列を含む（UniProtKB-Q68CP4）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるHGSNATアミノ酸配列は、図1Fに示されるヒトHGSNAT配列のアミノ酸1～663から本質的になる。

【0057】

「高分子量アルギネート」または「HMW-Alg」は、本明細書で使用される場合、150kDa～250kDaのおよその分子量を有するアルギネートを意味する。

【0058】

「イズロネート-2-スルファターゼタンパク質」、「IDSタンパク質」、「I2Sタンパク質」、及び「アルファ-レイズロネート硫酸スルファターゼタンパク質」は、野生型哺乳動物（例えば、ヒト）IDS遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むタンパク質、または任意の当該技術分野で認識されているIDSアッセイによって測定される場合、対応する野生型哺乳動物成熟IDSタンパク質の80～120%、85～115%、90～110%、もしくは95～105%以内のIDS酵素活性を有するその任意の断片、変異体、バリエーション、もしくは誘導体を指すために本明細書で互換的に使用され得る。IDSは、デルマタン硫酸、ヘパラン硫酸及びヘパランのレイズロネート2-硫酸単位 of 2-硫酸基を加水分解する。野生型ヒトIDS遺伝子は、550アミノ酸の

前駆体ポリペプチドをコードし、そのN末端25アミノ酸は、シグナルペプチドを構成し、残りのアミノ酸は、プロポリペプチドを構成し、これは、アミノ酸26～33のプロペプチドの除去、次いでアミノ酸34～455及びアミノ酸456～550によって形成される2つの鎖への切断によって成熟ポリペプチドへと処理される。(UniProtKB-P22304)。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質におけるIDSアミノ酸配列は、図1Gに示されるヒト前駆体IDS配列のアミノ酸34～550を含む。実施形態では、BBB輸送融合タンパク質におけるヒトIDSアミノ酸配列は、図1Gに示される配列のアミノ酸26～550から本質的になる。

【0059】

「低分子量アルギネート」または「LMS-Alg」は、本明細書で使用される場合、およそ75kDaの分子量を有するアルギネートを意味する。

10

【0060】

「リソソーム貯蔵障害」及び「LSD」は、本明細書で使用される場合、リソソームの不十分な機能ならびに様々な組織及び器官における1つ以上のグリコサミノグリカン(GAG)の蓄積をもたらす酵素またはその補因子の欠乏によって引き起こされる先天性代謝異常を指す。反復する二糖からなる長い非分岐多糖であるGAGには、コンドロイチン硫酸(CS)、デルマタン硫酸(DS)、ヘパラン硫酸(HS)、ケラタン硫酸(KS)、及びヒアルロナンが含まれる。欠陥のある酵素は、LSDの約70%の原因であり、残りは、酵素活性化因子または関連タンパク質の欠陥に起因する。既知のLSDには、酵素欠損症LSD及びPastores, et al., Neurology Clin. 31(4) ; 1051-1071 (2013)において表1及び表2で列挙される他のLSDが含まれる。実施形態では、LSDは、ムコ多糖症(MPS)またはスフィンゴリピドーシス(SP)である。

20

【0061】

本明細書で使用される「中分子量アルギネート」または「MMW-Alg」は、およそ75kDa～150kDaの分子量を有するアルギネートを意味する。

【0062】

「ムコ多糖症」及び「MPS」は、本明細書で使用される場合、グリコサミノグリカンの代謝に関与する酵素の欠乏によって引き起こされる状態を指し、リソソーム内にグリコサミノグリカン断片の蓄積をもたらし、特にMPSの神経細胞障害性形態において、骨、軟組織、及びCNSの症状をもたらす得る。神経細胞障害性MPSにおける神経損傷は、未分解のヘパラン硫酸(HS)、ならびにGM2ガングリオシド、GM3ガングリオシド、炎症性サイトカイン、及び反応性酸素種などの二次毒性生成物の貯蔵に関連する。神経細胞障害性MPSとしては、MPS-1ハーラー(MPS-1H)、MPS-2、MPS-3(A～D)、及びMPS-7が挙げられる。

30

【0063】

「ムコ多糖症I型」及び「MPS1」は、不十分なIDUA酵素活性及び結果として生じる複数の器官及び組織におけるリソソーム内のGAG(主にDS及びHS)の蓄積によって引き起こされるLSDを指すために本明細書において互換的に使用され得る。MPS1患者は、MPS1疾患、例えば、重症MPS1または減弱化MPS1を有すると診断されているか、または有することが疑われている個体(例えば、ヒト)を指す。患者は、MPS1を診断するための臨床的、生化学的、及び遺伝的方法を含む、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して診断され得る。実施形態では、ヒトMPS1患者は、不十分なIDUA酵素活性及び／またはMPS1疾患に関連するIDUA遺伝子における変異を有する。

40

【0064】

「ムコ多糖症II型」、「MPS2」、及び「ハンター症候群」は、不十分なIDS酵素活性及び結果として生じる複数の器官及び組織におけるリソソーム内のGAG(主にDS及びHS)の蓄積によって引き起こされるX連鎖LSDを指すために本明細書において互換的に使用され得る。MPS2患者は、MPS2疾患、例えば、重度の早期発症MPS

50

2（症状が2～4歳以前に出現するようになる）または軽度の遅発性MPS 2を有すると診断されているか、または有することが疑われている個体（例えば、ヒト）を指す。患者は、MPS 2を診断するための臨床的、生化学的、及び遺伝的方法を含む、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して診断され得る。実施形態では、ヒトMPS 2患者は、不十分なIDS活性及び／またはMPS 2疾患に関連するIDS遺伝子における変異を有する。

【0065】

「ムコ多糖症IIIA型」、「MPS 3A」、及び「サンフィリポ症候群A型」は、不十分なSGSH活性及び結果として生じるCNSにおけるヘパラン硫酸の蓄積によって引き起こされる常染色体劣性LSDを指すために本明細書において互換的に使用され得る。MPS 3Aは、重度のCNS変性を特徴とする。SGSH遺伝子における80を超える異なる変異が、MPS 3A患者において特定されている。MPS 3A患者は、MPS 3A疾患を有すると診断されているか、または有することが疑われている個体（例えば、ヒト）を指す。患者は、MPS 3Aを診断するための臨床的、生化学的、及び遺伝的方法を含む、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して診断され得る。実施形態では、ヒトMPS 3A患者は、不十分なSGSH酵素活性及び／またはMPS 3A疾患に関連するSGSH遺伝子変異を有する。

10

【0066】

「ムコ多糖症IIIB型」、「MPS 3B」、及び「サンフィリポ症候群B型」は、不十分なNAGLU酵素活性及び結果として生じるCNSにおけるHSの蓄積によって引き起こされる常染色体劣性LSDを指すために本明細書において互換的に使用され得る。ヒトNAGLU遺伝子における100を超える異なる変異が、MPS 3B表現型と関連付けられている。MPS 3B患者は、MPS 3B疾患を有すると診断されているか、または有することが疑われている個体（例えば、ヒト）を指す。患者は、MPS 3Bを診断するための臨床的、生化学的、及び遺伝的方法を含む、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して診断され得る。実施形態では、ヒトMPS 3B患者は、不十分なNAGLU酵素活性及び／またはMPS 3B疾患に関連するNAGLU遺伝子変異を有する。

20

【0067】

「ムコ多糖症IIIC型」、「MPS 3C」、及び「サンフィリポ症候群C型」は、不十分なHGSNAT活性及び結果として生じるCNSにおけるヘパラン硫酸の蓄積によって引き起こされる常染色体劣性LSDを指すために本明細書において互換的に使用され得る。MPS 3C疾患の発症は、典型的には10歳以前であり、進行性CNS変性を特徴とする。HGSNAT遺伝子における50を超える異なる変異が、MPS 3C患者において特定されている。MPS 3C患者は、MPS 3C疾患を有すると診断されているか、または有することが疑われている個体（例えば、ヒト）を指す。患者は、MPS 3Cを診断するための臨床的、生化学的、及び遺伝的方法を含む、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して診断され得る。実施形態では、ヒトMPS 3C患者は、不十分なHGSNAT酵素活性及び／またはMPS 3C疾患に関連するHGSNAT遺伝子変異を有する。

30

【0068】

「ムコ多糖症IIID型」、「MPS 3D」、及び「サンフィリポ症候群D型」は、不十分なGNS酵素活性及び結果として生じるCNSにおけるHSの蓄積によって引き起こされる常染色体劣性LSDを指すために本明細書において互換的に使用され得る。MPS 3D疾患の発症は、典型的には2～6歳であり、6～10歳のほとんどの患者における重度の神経学的変性を特徴とする。MPS 3D患者は、MPS 3D疾患を有すると診断されているか、または有することが疑われている個体（例えば、ヒト）を指す。患者は、MPS 3Aを診断するための臨床的、生化学的、及び遺伝的方法を含む、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して診断され得る。実施形態では、ヒトMPS 3D患者は、不十分なGNS酵素活性及び／またはMPS 3D疾患に関連するGNS遺伝子変異を有する。

40

【0069】

「ムコ多糖症VII型」、「MPS 7」、及び「スライ症候群」は、不十分なGUSB

50

酵素活性、ならびに結果として生じる複数の組織のリソソームにおけるCS、DS、及びHSの蓄積によって引き起こされる常染色体劣性LSDを指すために本明細書において互換的に使用され得る。GUSB遺伝子における少なくとも49の異なる変異が、MPS7患者において特定されている。MPS7患者は、MPS7疾患を有すると診断されているか、または有することが疑われている個体（例えば、ヒト）を指す。患者は、MPS7を診断するための臨床的、生化学的、及び遺伝的方法を含む、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して診断され得る。実施形態では、ヒトMPS7患者は、不十分なGUSB酵素活性及び／またはMPS7疾患に関連するGUSB遺伝子変異を有する。

【0070】

「N-アセチルガラクトサミン-6-スルファターゼタンパク質」、「グルコサミンN-アセチル-6-スルファターゼタンパク質」、及び「GNSタンパク質」は、野生型哺乳動物（例えば、ヒト）GNS遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むタンパク質、または任意の当該技術分野で認識されているGNSアッセイによって測定される場合、対応する野生型哺乳動物成熟GNSタンパク質の80～120%、85～115%、90～110%、もしくは95～105%以内のGNS酵素活性を有するその任意の断片、変異体、バリエーション、もしくは誘導体に対して本明細書において互換的に使用され得る。GNSは、ヘパラン硫酸及びケラタン硫酸のN-アセチル-D-グルコサミン6-硫酸単位の6-硫酸基の加水分解を触媒する。野生型ヒトGNS遺伝子は、552個のアミノ酸の前駆体ポリペプチドをコードし、そのN末端の36個のアミノ酸は、シグナルペプチドを構成する（UniProtKB-P15586）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質における成熟ヒトGNSアミノ酸配列は、図1Dに示されるヒト前駆体GNS配列のアミノ酸37～552から本質的になる。

【0071】

「N-スルホグルコサミンスルホヒドロラーゼ」、「SGSH」、「スルファミダーゼ」、及び「ヘパラン-N-スルファターゼ」は、野生型哺乳動物（例えば、ヒト）SGSH遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むタンパク質、または任意の当該技術分野で認識されているSGSHアッセイによって測定される場合、対応する野生型哺乳動物成熟SGSHタンパク質の80～120%、85～115%、90～110%、もしくは95～105%以内のSGSH酵素活性を有するその任意の断片、変異体、バリエーション、もしくは誘導体を指すために本明細書において互換的に使用され得る。SGSHは、N-スルホ-D-グルコサミンのD-グルコサミン及び硫酸への加水分解を触媒する。野生型ヒトSGSH遺伝子は、502個のアミノ酸の前駆体ポリペプチドをコードし、そのN末端の20個のアミノ酸は、シグナルペプチドを構成する（UniProtKB-P51688）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質における成熟ヒトSGSHアミノ酸配列は、図1Jに示される配列のアミノ酸21～502から本質的になる。

【0072】

「ペプチド」は、本明細書で使用される場合、50アミノ酸未満、典型的には、25アミノ酸未満のポリペプチドである。

【0073】

「ポリA」シグナルは、本明細書で使用される場合、RNAへのコード配列の転写を終結させ、RNAへのポリAテールの直接的付加を誘導する任意の連続的配列を指す。ポリAシグナルの例は、ウサギ結合グロブリン（rBG）ポリAシグナル、SV40後期ポリAシグナル、SV50ポリAシグナル、ウシ成長ホルモン（BGH）ポリAシグナル、ヒト成長ホルモン（HGH）ポリAシグナル及び当該技術分野で既知の合成ポリAシグナルである。

【0074】

「ポリマー組成物」は、本明細書で使用される場合、1つ以上のポリマーを含む組成物（例えば、溶液、混合物）である。クラスとして、「ポリマー」には、ホモポリマー、ヘテロポリマー、コポリマー、ブロックポリマー、ブロックコポリマーが含まれ、天然及び

10

20

30

40

50

合成の両方であり得る。ホモポリマーは、1つのタイプの構築ブロック、またはモノマーを含有する一方で、コポリマーは、複数のタイプのモノマーを含有する。

【0075】

「ポリペプチド」は、本明細書で使用される場合、ペプチド結合を介して連結されたアミノ酸残基を含み、かつ少なくとも2、いくつかの実施形態では、少なくとも10、50、75、100、150または200アミノ酸残基を有するポリマーである。

【0076】

「ポンペ病（PD）」、「酸性アルファーグルコシダーゼ欠損症」、及び「糖原貯蔵疾患II型」は、不十分なGAA酵素活性ならびに結果として生じる主に心臓、骨格筋、平滑筋、及び神経系におけるリソソームグリコーゲンの過剰蓄積によって引き起こされる常染色体劣性LSDを指すために本明細書において互換的に使用され得る。PDは、小児PD（IPD）及び遅発性PD（LOPD）に大きく分類される。GAA遺伝子における580を超える変異が、PD患者において特定されている。PD患者は、PDを有すると診断されているか、または有することが疑われている個人（例えば、ヒト）を指す。患者は、PDを診断するための臨床的、生化学的、及び遺伝的方法を含む、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して診断され得る。実施形態では、ヒトPD患者は、不十分なGAA酵素活性及び／またはPDに関連するGAA遺伝子変異を有する。実施形態では、患者は、LOPDを有すると診断されている。

10

【0077】

「予防」、「予防する」、及び「予防すること」は、本明細書で使用される場合、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質を投与または適用すること、例えば、症状（複数可）の身体的徴候を妨げるためにCNS状態または疾患の1つ以上の症状の発症前に、融合タンパク質（例えば、本明細書に記載のような）を発現する改変細胞をカプセル化しているデバイスの組成物を投与することを含む治療を指す。いくつかの実施形態では、「予防」、「予防する」、及び「予防すること」は、CNS状態／疾患の兆候または症状がまだ発症していないか、またはまだ観察されていないことを必要とする。いくつかの実施形態では、治療は、予防を含み、他の実施形態では予防を含まない。

20

【0078】

「プロモーター配列」は、本明細書で使用される場合、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞、例えば、RPE細胞、例えば、ARPE-19細胞において発現を駆動することができるヌクレオチド配列を指す。いくつかの実施形態では、例えば、本明細書に記載のBBB輸送融合タンパク質の発現を駆動するために、プロモーター配列は、強力な哺乳動物プロモーター、例えば、ヒトプロモーター配列からである。本明細書に記載の発現カセットにおける使用のための強力なプロモーターの非限定的な例には、EF1Aプロモーター、CAGプロモーター、PGK（ホスホグリセリン酸キナーゼ）プロモーター、及びACTB（ヒトベクターアクチン）プロモーターが含まれる。実施形態では、本明細書に記載のSTタンパク質の発現を駆動するのに有用なプロモーター配列は、中強度プロモーター、例えば、EF1Aプロモーター配列の短縮化形態であるEFSプロモーター配列からであり得る。

30

【0079】

「RPE細胞」は、本明細書で使用される場合、以下の特徴のうちの1つ以上を有する細胞を指す：a）網膜色素上皮細胞（RPE）（例えば、ARPE-19細胞株（ATCC（登録商標）CRL-2302（商標））を使用して培養された）、もしくは例えば、ARPE-19細胞株から培養された細胞を、BBB輸送融合タンパク質をコードする外因性配列で安定的にトランスフェクトすることによってそこから誘導もしくは改変された細胞、RPE細胞の初代細胞培養物に由来する細胞、天然に存在するRPE細胞、例えば、ヒトもしくは他の哺乳動物から直接的に（長期培養を伴わずに、例えば、単離から5もしくは10回未満の継代もしくはラウンドの細胞分裂）単離された細胞、形質転換、不死化、または長期（例えば、5または10回を超える継代またはラウンドの細胞分裂）RPE細胞培養に由来する細胞を含む；b）未分化細胞、例えば、RPE細胞もしくは、任意

40

50

の遺伝子操作を除き、天然に存在する R P E 細胞または R P E 細胞からの初代もしくは長期培養物からの細胞（例えば、細胞は、I P S 細胞に由来し得る）のうちの 1 つ以上と実質的に同様である細胞に発達、プログラム化、または再プログラム化（例えば、インビトロで）される細胞から得られた細胞；あるいは c）以下の特性のうちの 1 つ以上を有する細胞：i）バイオマーカー C R A L B P、R P E - 6 5、R L B P、B E S T 1、もしくは α B - クリスタリンのうちの 1 つ以上を発現する；i i）バイオマーカー C R A L B P、R P E - 6 5、R L B P、B E S T 1、もしくは α B - クリスタリンのうちの 1 つ以上を発現しない；i i i）網膜において天然に見られ、ブルッフ膜における脈絡膜血管の上に単層を形成する；i v）網膜における上皮輸送、光吸収、分泌、及び免疫調節を担う；または v）不死化 R P E 細胞株（例えば、A R P E - 1 9 細胞株（A T C C（登録商標）C R L - 2 3 0 2（商標））と同じもしくは実質的に同じ遺伝子含有物、及び任意選択で、同じもしくは実質的に同じエピジェネティック含有物を有するように合成的に生成されている、もしくは天然に存在する細胞から改変されている。実施形態では、本明細書に記載の R P E 細胞は、例えば、新たな特性を有するように遺伝子改変され、例えば、細胞は、本明細書に記載の融合タンパク質を発現及び分泌するように改変される。実施形態では、細胞はまた、親細胞によって天然に発現される 1 つ以上のタンパク質の発現を低減または排除するように遺伝子改変される。他の実施形態では、R P E 細胞は、遺伝子改変されない。

10

【0080】

「配列同一性」または「同一率」は、2 つのヌクレオチド配列または 2 つのアミノ酸配列を指すために本明細書で使用される場合、2 つの配列が、特定された領域内で同じであること、または 2 つの配列が比較ウィンドウまたは指定された領域にわたって最大一致のために比較及びアライメントされた場合、特定された領域内でヌクレオチドまたはアミノ酸位置の特定されたパーセンテージで同じヌクレオチドまたはアミノ酸を有することを意味する。配列同一性は、米国特許出願公開第 2 0 1 7 / 0 2 3 3 4 4 5 5 A 1 号に記載のアルゴリズムのいずれかを含むがこれらに限定されない当該技術分野で既知の標準的な技法を使用して決定され得る。一実施形態では、同一のヌクレオチドまたはアミノ酸位置の特定されたパーセンテージは、少なくとも約 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % またはそれを超える。

20

【0081】

本明細書で使用される「球状」は、例えば、表面に、波及びうねりを有し得る、スフィア（例えば、完全に丸いボール）またはスフィア様形状を形成する、曲がった表面を有するデバイス（例えば、ヒドロゲルカプセルまたは他の粒子）を意味する。スフィア及びスフィア様対象物は、3 つの直交軸 a、b、及び c の各々の周りの丸、楕円、または組み合わせの回転によって数学的に定義され得る。スフィアでは、3 つの軸が同じ長さである。通常、スフィア様形状は、互いに 1 0 %、または 5 %、または 2 . 5 % 以内の半主軸を有する（その平均化表面について）楕円体である。スフィアまたはスフィア様形状の直径は、平均直径、例えば、半主軸の平均である。

30

【0082】

「スフィンゴリピドーシス」及び「S P」は、本明細書で使用される場合、リソソーム内でスフィンゴ脂質の蓄積を引き起こし、内臓及び神経系を含む様々な器官及び組織における症状をもたらし得るスフィンゴ脂質の代謝に関与する酵素の欠乏を指す。S P 疾患には、ゴーシェ病及びファブリー病が含まれる。

40

【0083】

「対象」は、本明細書で使用される場合、ヒトまたは非ヒト動物を指す。実施形態では、対象は、任意の年齢群のヒト（すなわち、男性または女性）、例えば、小児ヒト対象（例えば、乳児、小児、青年）または成人ヒト対象（例えば、若年成人、中年成人、または高齢成人）である。実施形態では、対象は、非ヒト動物、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、イヌ、霊長類（例えば、カニクイザルまたはアカゲザル））である。実施形態では、対象は、商業的に関連する哺乳動物（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ネコ

50

、またはイヌ)または鳥類(例えば、商業的に関連する鳥類、例えば、ニワトリ、アヒル、ガチョウ、またはシチメンチョウ)である。所定の実施形態では、動物は、哺乳動物である。動物は、雄または雌であり、任意の発達段階のものであり得る。非ヒト動物は、トランスジェニック動物であり得る。

【0084】

「治療」、「治療する」、及び「治療すること」は、本明細書で使用される場合、CNS状態または疾患の症状、兆候、または根本原因のうちの1つ以上を低減すること、逆行させること、緩和すること、その開始を遅延させること、またはその進行を阻害することのうちの1つ以上を指す。実施形態では、治療することは、CNSにおける治療用タンパク質の活性を増加させることを含む。実施形態では、治療することは、状態または疾患に関連する症状を低減すること、逆行させること、緩和すること、その開始を遅延させること、またはその進行を阻害することを含む。いくつかの実施形態では、「治療」、「治療する」、及び「治療すること」は、CNS状態／疾患に関連する兆候または症状が発症しているか、または観察されていることを必要とする。他の実施形態では、治療は、例えば、予防的治療において、疾患の兆候または症状の非存在下で投与され得る。例えば、治療は、症状の発生前に(例えば、症状の既往歴に照らして及び／または遺伝的因子もしくは他の感受性因子に照らして)、感受性のある個体を実施され得る。処置はまた、症状が解消された後に、例えば、再発を遅延させるためにまたは予防するために継続され得る。いくつかの実施形態では、処置は、予防を含み、他の実施形態では予防を含まない。

10

【0085】

「野生型」(wt)は、種におけるポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはタンパク質の、配列を含む、天然形態を指す。野生型形態は、遺伝子変異(複数可)から生じるポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはタンパク質の変異体形態から区別される。

20

【0086】

選択された化学的定義

特定の官能基及び化学的用語の定義は、以下により詳細に記載されている。化学元素は、Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed. (表紙裏)に従って特定され、特定の官能基は通常、そこに記載されるとおり定義される。加えて、有機化学の一般的原理、ならびに特定の機能的部位及び反応性は、Thomas Sorrell, Organic Chemistry, University Science Books, Sausalito, 1999、Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry, 5th Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001、Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., New York, 1989、及びCarruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 3rd Edition, Cambridge University Press, Cambridge, 1987に記載されている。

30

40

【0087】

本明細書で使用される略語は、化学分野及び生物学分野における従来の意味を有する。本明細書に示される化学的構造及び式は、化学的分野で既知の化学的価数の標準的な規則に従って構築される。

【0088】

値の範囲が列挙される場合、範囲内の各値及び副次的範囲を包含することが意図される。例えば、「C₁ - C₆アルキル」は、C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₁ - C₆、C₁ - C₅、C₁ - C₄、C₁ - C₃、C₁ - C₂、C₂ - C₆、C₂ - C₅、C₂ - C₄、C₂ - C₃、C₃ - C₆、C₃ - C₅、C₃ - C₄、C₄ - C₆、C₄ - C₅、及びC₅ - C₆アルキルを包含することが意図される。

50

【0089】

本明細書で使用される場合、「アルキル」は、1～24個の炭素原子を有する直鎖または分岐状飽和炭化水素基のラジカル（「C₁－C₂₄アルキル」）を指す。いくつかの実施形態では、アルキル基は、1～12個の炭素原子（「C₁－C₁₂アルキル」）、1～10個の炭素原子（「C₁－C₁₀アルキル」）、1～8個の炭素原子（「C₁－C₈アルキル」）、1～6個の炭素原子（「C₁－C₆アルキル」）、1～5個の炭素原子（「C₁－C₅アルキル」）、1～4個の炭素原子（「C₁－C₄アルキル」）、1～3個の炭素原子（「C₁－C₃アルキル」）、1～2個の炭素原子（「C₁－C₂アルキル」）、または1個の炭素原子（「C₁アルキル」）を有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、2～6個の炭素原子を有する（「C₂－C₆アルキル」）。C₁－C₆アルキル基の例には、メチル（C₁）、エチル（C₂）、*n*－プロピル（C₃）、イソプロピル（C₃）、*n*－ブチル（C₄）、*tert*－ブチル（C₄）、*sec*－ブチル（C₄）、*iso*－ブチル（C₄）、*n*－ペンチル（C₅）、3－ペンタニル（C₅）、アミル（C₅）、ネオペンチル（C₅）、3－メチル－2－ブタニル（C₅）、三級アミル（C₅）、及び*n*－ヘキシル（C₆）が含まれる。アルキル基の追加の例には、*n*－ヘブチル（C₇）、*n*－オクチル（C₈）などが含まれる。アルキル基の各例は、独立して、任意選択で置換されていてもよく、すなわち、非置換であり（「非置換アルキル」）または1つ以上の置換基；例えば、例えば1～5個の置換基、1～3個の置換基、または1個の置換基で置換されている（「置換アルキル」）。

10

【0090】

本明細書で使用される場合、「アルケニル」は、2～24個の炭素原子、1つ以上の炭素－炭素二重結合を有し、三重結合を有しない直鎖または分岐状炭化水素基のラジカル（「C₂－C₂₄アルケニル」）を指す。いくつかの実施形態では、アルケニル基は、2～10個の炭素原子（「C₂－C₁₀アルケニル」）、2～8個の炭素原子（「C₂－C₈アルケニル」）、2～6個の炭素原子（「C₂－C₆アルケニル」）、2～5個の炭素原子（「C₂－C₅アルケニル」）、2～4個の炭素原子（「C₂－C₄アルケニル」）、2～3個の炭素原子（「C₂－C₃アルケニル」）、または2個の炭素原子（「C₂アルケニル」）を有する。1つ以上の炭素－炭素二重結合は、内部（例えば、2－ブテニルにおけるもの）または末端（例えば、1－ブテニルにおけるもの）であり得る。C₂－C₄アルケニル基の例には、エテニル（C₂）、1－プロペニル（C₃）、2－プロペニル（C₃）、1－ブテニル（C₄）、2－ブテニル（C₄）、ブタジエニル（C₄）などが含まれる。C₂－C₆アルケニル基の例には、前述したC₂－4アルケニル基及びペンテニル（C₅）、ペンタジエニル（C₅）、ヘキセニル（C₆）などが含まれる。アルケニル基の各例は、独立して、任意選択で置換されていてもよく、すなわち、非置換であり（「非置換アルケニル」）または1つ以上の置換基；例えば、例えば1～5個の置換基、1～3個の置換基、または1個の置換基で置換されている（「置換アルケニル」）。

20

30

【0091】

本明細書で使用される場合、用語「アルキニル」は、2～24個の炭素原子、1つ以上の炭素－炭素三重結合を有する直鎖または分岐状炭化水素基のラジカル（「C₂－C₂₄アルキニル」）を指す。いくつかの実施形態では、アルキニル基は、2～10個の炭素原子（「C₂－C₁₀アルキニル」）、2～8個の炭素原子（「C₂－C₈アルキニル」）、2～6個の炭素原子（「C₂－C₆アルキニル」）、2～5個の炭素原子（「C₂－C₅アルキニル」）、2～4個の炭素原子（「C₂－C₄アルキニル」）、2～3個の炭素原子（「C₂－C₃アルキニル」）、または2個の炭素原子（「C₂アルキニル」）を有する。1つ以上の炭素－炭素三重結合は、内部（例えば、2－ブチニルにおけるもの）または末端（例えば、1－ブチニルにおけるもの）であり得る。C₂－C₄アルキニル基の例には、エチニル（C₂）、1－プロピニル（C₃）、2－プロピニル（C₃）、1－ブチニル（C₄）、2－ブチニル（C₄）などが含まれる。アルキニル基の各例は、独立して、任意選択で置換されていてもよく、すなわち、非置換であり（「非置換アルキニル」）または1つ以上の置換基；例えば、例えば1～5個の置換基、1～3個の置換基、また

40

50

は 1 個の置換基で置換されている（「置換アルキニル」）。

【0092】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキル」は、少なくとも 1 つの炭素原子ならびに O、N、P、S i、及び S からなる群から選択される少なくとも 1 つのヘテロ原子を含む非環状安定直鎖もしくは分岐鎖、またはそれらの組み合わせであって、窒素及び硫黄原子は、任意選択で酸化され得、窒素ヘテロ原子は、任意選択で四級化され得るものを指す。ヘテロ原子（複数可）O、N、P、S、及び S i は、ヘテロアルキル基の任意の位置で置き換えられ得る。例示的なヘテロアルキル基としては、 $-CH_2-CH_2-O-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-CH_2-S-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$ 、 $-CH=CH-O-CH_3$ 、 $-Si(CH_3)_3$ 、 $-CH_2-CH=N-OCH_3$ 、 $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-O-CH_3$ 、及び $-O-CH_2-CH_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。最大 2 個または 3 個のヘテロ原子が、例えば、 $-CH_2-NH-OCH_3$ 及び $-CH_2-O-Si(CH_3)_3$ のように連続してもよい。「ヘテロアルキル」が記述され、それに続いて特定のヘテロアルキル基、例えば、 $-CH_2O$ 、 $-NR^C R^D$ などが記述される場合、ヘテロアルキルという用語及び $-CH_2O$ または $-NR^C R^D$ は、冗長ではなく、相互に排他的でもないことが理解される。むしろ、特定のヘテロアルキル基は、明確性を付与するために記述される。したがって、用語「ヘテロアルキル」は、特定のヘテロアルキル基、例えば、 $-CH_2O$ 、 $-NR^C R^D$ などを除くものとして本明細書で解釈されるべきではない。ヘテロアルキル基の各例は、独立して、任意選択で置換されていてもよく、すなわち、非置換であり（「非置換ヘテロアルキル」）または 1 つ以上の置換基；例えば、例えば 1～5 個の置換基、1～3 個の置換基、または 1 個の置換基で置換されている（「置換ヘテロアルキル」）。

10

20

【0093】

用語「アルキレン」、「アルケニレン」、「アルキニレン」、または「ヘテロアルキレン」は、単独でまたは別の置換基の一部として、別途記述されない限り、それぞれアルキル、アルケニル、アルキニル、またはヘテロアルキルに由来する二価ラジカルを意味する。アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、またはヘテロアルキレン基は、例えば、 C_1-C_6 員アルキレン、 C_2-C_6 員アルケニレン、 C_2-C_6 員アルキニレン、または C_1-C_6 員ヘテロアルキレンとして記載され得、用語「員」は、部位内の非水素原子を指す。ヘテロアルキレン基の場合、ヘテロ原子はまた、鎖末端のいずれかまたは両方を占有し得る（例えば、アルキレンオキシ、アルキレンジオキシ、アルキレンアミノ、アルキレンジアミノ等）。また更に、アルキレン及びヘテロアルキレン連結基について、連結基の配向は、連結基の式が記載される方向によって示されない。例えば、式 $-C(O)_2 R'$ は、 $-C(O)_2 R'$ 及び $-R' C(O)_2$ の両方を表し得る。

30

【0094】

本明細書で使用される場合、「アリール」は、芳香族環系で提供される 6～14 個の環炭素原子及び 0 個のヘテロ原子を有する単環式または多環式（例えば、二環式または三環式）の $4n+2$ 芳香族環系（例えば、環状アレイで共有される 6、10、または 14 個の π 電子を有する）のラジカル（「 C_6-C_{14} アリール」）を指す。いくつかの実施形態では、アリール基は、6 個の環炭素原子を有する（「 C_6 アリール」、例えば、フェニル）。いくつかの実施形態では、アリール基は、10 個の環炭素原子を有する（「 C_{10} アリール」、例えば、1-ナフチル及び 2-ナフチルなどのナフチル）。いくつかの実施形態では、アリール基は、14 個の環炭素原子を有する（「 C_{14} アリール」、例えば、アントラシル）。アリール基は、例えば、 C_6-C_{10} 員アリールとして記載され得、用語「員」は、部位内の非水素環原子を指す。アリール基には、フェニル、ナフチル、インデニル、及びテトラヒドロナフチルが含まれる。アリール基の各例は、独立して、任意選択で置換されていてもよく、すなわち、非置換であり（「非置換アリール」）または 1 つ以上の置換基で置換されている（「置換アリール」）。

40

【0095】

50

本明細書で使用される場合、「ヘテロアリール」は、芳香族環系で提供される環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～10員単環式または二環式 $4n+2$ 芳香族環系（例えば、環状アレイで共有される6または10個の π 電子を有する）のラジカルであって、各ヘテロ原子が、独立して、窒素、酸素及び硫黄から選択されるもの（「5～10員ヘテロアリール」）を指す。1つ以上の窒素原子を含有するヘテロアリール基において、結合点は、原子価が許す場合、炭素または窒素原子であり得る。ヘテロアリール二環式環系には、一方または両方の環において1つ以上のヘテロ原子が含まれ得る。「ヘテロアリール」にはまた、上記で定義されるヘテロアリール環が、アリールまたはヘテロアリール環上のいずれかに結合点がある1つ以上のアリール基と縮合された環系が含まれ、そのような例では、環員数は、縮合（アリール／ヘテロアリール）環系における環員数を示す。一方の環がヘテロ原子を含有しない二環式ヘテロアリール基（例えば、インドリル、キノリニル、カルバゾリル等）結合点は、いずれかの環上にあり、すなわち、ヘテロ原子を保有する環上（例えば、2-インドリル）またはヘテロ原子を含有しない環上（例えば、5-インドリル）にあり得る。ヘテロアリール基は、例えば、6～10員ヘテロアリールとして記載され得、用語「員」は、部位内の非水素環原子を指す。

10

【0096】

いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基は、芳香族環系で提供される環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～10員芳香族環系であって、各ヘテロ原子が、独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択されるもの（「5～10員ヘテロアリール」）である。いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基は、芳香族環系で提供される環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～8員芳香族環系であって、各ヘテロ原子が、独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択されるもの（「5～8員ヘテロアリール」）である。いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基は、芳香族環系で提供される環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～6員芳香族環系であって、各ヘテロ原子が、独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択されるもの（「5～6員ヘテロアリール」）である。いくつかの実施形態では、5～6員ヘテロアリールは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1～3個の環ヘテロ原子を有する。いくつかの実施形態では、5～6員ヘテロアリールは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1～2個の環ヘテロ原子を有する。いくつかの実施形態では、5～6員ヘテロアリールは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1個の環ヘテロ原子を有する。ヘテロアリール基の各例は、独立して、任意選択で置換されていてもよく、すなわち、非置換であり（「非置換ヘテロアリール」）または1つ以上の置換基で置換されている（「置換ヘテロアリール」）。

20

30

【0097】

1個のヘテロ原子を含有する例示的な5員ヘテロアリール基には、限定されないが、ピロリル、フラニル及びチオフエニルが含まれる。2個のヘテロ原子を含有する例示的な5員ヘテロアリール基には、限定されないが、イミダゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、及びイソチアゾリルが含まれる。3個のヘテロ原子を含有する例示的な5員ヘテロアリール基には、限定されないが、トリアゾリル、オキサジアゾリル、及びチアジアゾリルが含まれる。4個のヘテロ原子を含有する例示的な5員ヘテロアリール基には、限定されないが、テトラゾリルが含まれる。1個のヘテロ原子を含有する例示的な6員ヘテロアリール基には、限定されないが、ピリジニルが含まれる。2個のヘテロ原子を含有する例示的な6員ヘテロアリール基には、限定されないが、ピリダジニル、ピリミジニル、及びピラジニルが含まれる。3または4個のヘテロ原子を含有する例示的な6員ヘテロアリール基には、限定されないが、トリアジニル及びテトラジニルがそれぞれ含まれる。1個のヘテロ原子を含有する例示的な7員ヘテロアリール基には、限定されないが、アゼピニル、オキセピニル、及びチエピニルが含まれる。例示的な5，6-二環式ヘテロアリール基には、限定されないが、インドリル、イソインドリル、インダゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾチオフエニル、イソベンゾチオフエニル、ベンゾフラニル、ベンゾイソフラニル、ベンズイミダゾリル、ベンゾキサゾリル、ベンズイソキサゾリル、ベンゾキサジアゾリル、ベンズチアゾリル、ベンズイソチアゾリル、ベンズチア

40

50

ジアゾリル、インドリジニル、及びプリニルが含まれる。例示的な6, 6-二環式ヘテロアリール基には、限定されないが、ナフチリジニル、プテリジニル、キノリニル、イソキノリニル、シノリニル、キノキサリニル、フタラジニル、及びキナゾリニルが含まれる。他の例示的なヘテロアリール基には、ヘム及びヘム誘導体が含まれる。

【0098】

本明細書で使用される場合、用語「アリーレン」及び「ヘテロアリーレン」は、単独でまたは別の置換基の一部として、それぞれアリール及びヘテロアリールに由来する二価ラジカルを意味する。

【0099】

本明細書で使用される場合、「シクロアルキル」は、3～10個の環炭素原子を有し、非芳香環系のヘテロ原子がゼロである、非芳香環式炭化水素基のラジカル（「C₃-C₁₀シクロアルキル」）を指す。いくつかの実施形態では、シクロアルキル基は、3～8個の環炭素原子（「C₃-C₈シクロアルキル」）、3～6個の環炭素原子（「C₃-C₆シクロアルキル」）、または5～10個の環炭素原子（「C₅-C₁₀シクロアルキル」）を有する。シクロアルキル基は、例えば、C₄-C₇員シクロアルキルとして記載され得、用語「員」は、部位内の非水素環原子を指す。例示的なC₃-C₆シクロアルキル基としては、限定するものではないが、シクロプロピル（C₃）、シクロプロペニル（C₃）、シクロブチル（C₄）、シクロブテニル（C₄）、シクロペンチル（C₅）、シクロペンテニル（C₅）、シクロヘキシル（C₆）、シクロヘキセニル（C₆）、シクロヘキサジエニル（C₆）などが挙げられる。例示的なC₃-C₈シクロアルキル基には、限定されないが、前述したC₃-C₆シクロアルキル基及びシクロヘプチル（C₇）、シクロヘプテニル（C₇）、シクロヘプタジエニル（C₇）、シクロヘプタトリエニル（C₇）、シクロオクチル（C₈）、シクロオクテニル（C₈）、キュバニル（C₈）、ビシクロ[1.1.1]ペンタニル（C₅）、ビシクロ[2.2.2]オクタニル（C₈）、ビシクロ[2.1.1]ヘキサニル（C₆）、ビシクロ[3.1.1]ヘプタニル（C₇）等が含まれる。例示的なC₃-C₁₀シクロアルキル基には、限定されないが、前述したC₃-C₈シクロアルキル基及びシクロノニル（C₉）、シクロノネニル（C₉）、シクロデシル（C₁₀）、シクロデセニル（C₁₀）、オクタヒドロ-1H-インデニル（C₉）、デカヒドロナフタレニル（C₁₀）、スピロ[4.5]デカニル（C₁₀）等が含まれる。前述の例が示すように、所定の実施形態では、シクロアルキル基は、単環式（「単環式シクロアルキル」）であり、または縮合、架橋またはスピロ環系、例えば、二環式系（「二環式シクロアルキル」）を含有し、飽和であり得、または部分的に不飽和であり得る。「シクロアルキル」にはまた、上記で定義されるシクロアルキル環が、シクロアルキル環上に結合点がある1つ以上のアリーレン基と縮合された環系が含まれ、そのような例では、炭素の数は、シクロアルキル環系における炭素の数を指定し続ける。シクロアルキル基の各例は、独立して、任意選択で置換されていてもよく、すなわち、非置換であり（「非置換シクロアルキル」）または1つ以上の置換基で置換されている（「置換シクロアルキル」）。

【0100】

「ヘテロシクリル」は、本明細書で使用される場合、環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する3～10員非芳香族環系のラジカルであって、各ヘテロ原子が、独立して、窒素、酸素、硫黄、ホウ素、リン、及びケイ素から選択されるもの（「3～10員ヘテロシクリル」）である。1つ以上の窒素原子を含有するヘテロシクリル基において、結合点は、原子価が許す場合、炭素または窒素原子であり得る。ヘテロシクリル基は、単環式（「単環式ヘテロシクリル」）または縮合、架橋もしくはスピロ環系、例えば、二環式系（「二環式シクロアルキル」）のいずれかであり得、飽和であり得、または部分的に不飽和であり得る。ヘテロシクリル二環式環系には、一方または両方の環において1つ以上のヘテロ原子が含まれ得る。「ヘテロシクリル」にはまた、上記で定義されるヘテロシクリル環が、シクロアルキルまたはヘテロシクリル環上のいずれかに結合点がある1つ以上のシクロアルキル基と縮合された環系、または上記で定義されるヘテロシクリル環が、ヘテ

10

20

30

40

50

ロシクリル環上に結合点がある1つ以上のアリールまたはヘテロアリール基と縮合された環系が含まれ、そのような例では、環員の数は、ヘテロシクリル環系における環員の数を指定し続ける。ヘテロシクリル基は、例えば、3～7員ヘテロシクリルとして記載され得、用語「員」は、部位内の非水素環原子、すなわち、炭素、窒素、酸素、硫黄、ホウ素、リン、及びケイ素を指す。ヘテロシクリルの各例は、独立して、任意選択で置換されているとしてもよく、すなわち、非置換であり（「非置換ヘテロシクリル」）または1つ以上の置換基で置換されている（「置換ヘテロシクリル」）。所定の実施形態では、ヘテロシクリル基は、非置換3～10員ヘテロシクリルである。所定の実施形態では、ヘテロシクリル基は、置換された3～10員ヘテロシクリルである。

【0101】

いくつかの実施形態では、ヘテロシクリル基は、環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～10員非芳香族環系であって、各ヘテロ原子が、独立して、窒素、酸素、硫黄、ホウ素、リン、及びケイ素から選択されるもの（「5～10員ヘテロシクリル」）である。いくつかの実施形態では、ヘテロシクリル基は、環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～8員非芳香族環系であって、各ヘテロ原子が、独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択されるもの（「5～8員ヘテロシクリル」）である。いくつかの実施形態では、ヘテロシクリル基は、環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～6員非芳香族環系であって、各ヘテロ原子が、独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択されるもの（「5～6員ヘテロシクリル」）である。いくつかの実施形態では、5～6員ヘテロシクリルは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1～3個の環ヘテロ原子を有する。いくつかの実施形態では、5～6員ヘテロシクリルは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1～2個の環ヘテロ原子を有する。いくつかの実施形態では、5～6員ヘテロシクリルは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1個の環ヘテロ原子を有する。

【0102】

1個のヘテロ原子を含有する例示的な3員ヘテロシクリル基には、限定されないが、アジリジン、オキシラニル、チオレニルが含まれる。1個のヘテロ原子を含有する例示的な4員ヘテロシクリル基には、限定されないが、アゼチジニル、オキセタニル及びチエタニルが含まれる。1個のヘテロ原子を含有する例示的な5員ヘテロシクリル基には、限定されないが、テトラヒドロフラニル、ジヒドロフラニル、テトラヒドロチオフェニル、ジヒドロチオフェニル、ピロリジニル、ジヒドロピロリル及びピロリル-2, 5-ジオンが含まれる。2個のヘテロ原子を含有する例示的な5員ヘテロシクリル基には、限定されないが、ジオキサニル、オキサスフラニル、ジスフラニル、及びオキサゾリジン-2-オンが含まれる。3個のヘテロ原子を含有する例示的な5員ヘテロシクリル基には、限定されないが、トリアゾリニル、オキサジアゾリニル、及びチアジアゾリニルが含まれる。1個のヘテロ原子を含有する例示的な6員ヘテロシクリル基には、限定されないが、ペリジニル、ペラジニル、テトラヒドロピラニル、ジヒドロピリジニル、及びチアニルが含まれる。2個のヘテロ原子を含有する例示的な6員ヘテロシクリル基には、限定されないが、ペラジニル、モルホリニル、ジチアニル、ジオキサニルが含まれる。2個のヘテロ原子を含有する例示的な6員ヘテロシクリル基には、限定されないが、トリアジナニルまたはチオモルホリニル-1, 1-ジオキシドが含まれる。1個のヘテロ原子を含有する例示的な7員ヘテロシクリル基には、限定されないが、アゼパニル、オキセパニル及びチエパニルが含まれる。1個のヘテロ原子を含有する例示的な8員ヘテロシクリル基には、限定されないが、アゾカニル、オキセカニル及びチオカニルが含まれる。C₆アリール環に縮合された例示的な5員ヘテロシクリル基（本明細書で5, 6-二環式複素環式環とも称される）には、限定されないが、インドリニル、イソインドリニル、ジヒドロベンゾフラニル、ジヒドロベンゾチエニル、ベンゾオキサゾリノニル等が含まれる。アリール環に縮合された例示的な6員ヘテロシクリル基（本明細書で6, 6-二環式複素環式環とも称される）には、限定されないが、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル等が含まれる。

【0103】

「アミノ」は、本明細書で使用される場合、ラジカル- $\text{NR}^{70}\text{R}^{71}$ （式中、 R^{70} 及び R^{71} は、それぞれ独立して、水素、 C_1-C_8 アルキル、 C_3-C_{10} シクロアルキル、 C_4-C_{10} ヘテロシクリル、 C_6-C_{10} アリール、及び C_5-C_{10} ヘテロアリールである）を指す。いくつかの実施形態では、アミノは、 NH_2 を指す。

【0104】

本明細書で使用される場合、「シアノ」は、ラジカル- CN を指す。

【0105】

本明細書で使用される場合、「ハロ」または「ハロゲン」は、独立してまたは別の置換基の一部として、別途記述されない限り、フッ素（F）、塩素（Cl）、臭素（Br）、またはヨウ素（I）原子を意味する。

【0106】

本明細書で使用される場合、「ヒドロキシ」は、ラジカル- OH を指す。

【0107】

アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリール基は、本明細書で定義される場合、任意選択で置換されている（例えば、「置換」または「非置換」アルキル、「置換」または「非置換」アルケニル、「置換」または「非置換」アルキニル、「置換」または「非置換」ヘテロアルキル、「置換」または「非置換」シクロアルキル、「置換」または「非置換」ヘテロシクリル、「置換」または「非置換」アリールまたは「置換」または「非置換」ヘテロアリール基）。通常、用語「置換された」は、用語「任意選択で」が先行するかどうかにかかわらず、基（例えば、炭素または窒素原子）上に存在する少なくとも1つの水素が、許容可能な置換基、例えば、置換により安定な化合物（例えば、転位、環化、脱離、または他の反応によって自発的に変換を受けない化合物）をもたらす置換基で置き換えられていることを意味する。別途示されない限り、「置換された」基は、基の1つ以上の置換可能な位置で置換基を有し、任意の所与の構造における複数の位置が置換される場合、置換基は、各位置で同じであり、または異なる。用語「置換された」は、安定な化合物の形成をもたらす本明細書に記載の置換基のいずれか等の有機化合物の全ての許容可能な置換基での置換を含むことが企図される。本開示は、安定な化合物に到達するためのあらゆるそのような組み合わせを企図とする。本開示の目的のため、窒素等のヘテロ原子は、水素置換基及び／またはヘテロ原子の価数を満たし、かつ安定な部位の形成をもたらす本明細書に記載される任意の好適な置換基を有し得る。

【0108】

2つ以上の置換基は、任意選択により結合して、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、またはヘテロシクリル基を形成し得る。そのようないわゆる環形成置換基は、典型的には、環状基本構造に結合していることが分かるがかならずしも、そうではない。1つの実施形態では、環形成置換基は、基本構造の隣接員に結合される。例えば、環状基本構造の隣接員に結合した2つの環形成置換基は、縮合環構造を生成する。別の実施形態では、環形成置換基は、基本構造の単一員に結合される。例えば、環状基本構造の単一員に結合した2つの環形成置換基は、スピロ環式構造を生成する。更に別の実施形態では、環形成置換基は、基本構造の非隣接員に結合される。

【0109】

本明細書に記載の式（III）の化合物及びその薬学的に許容可能な塩は、1つ以上の不斉中心を含み得、よって、様々な異性体形態、例えば、エナンチオマー及び／またはジアステレオマーで存在し得る。例えば、本明細書に記載の化合物は、個々のエナンチオマー、ジアステレオマーまたは幾何異性体の形態であり得、またはラセミ混合物及び1つ以上の立体異性体が濃縮された混合物を含む、立体異性体の混合物の形態であり得る。異性体は、キラル高圧液体クロマトグラフィー（HPLC）及びキラル塩の形成及び結晶化を含む、当業者に既知の方法によって混合物から単離され得；または好ましい異性体は、不斉合成によって調製され得る。例えば、Jacques et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley Int

10

20

30

40

50

erscience, New York, 1981); Wilen et al., Tetrahedron 33:2725 (1977); Eliel, Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); 及び Wilen, Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (E. L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972) を参照されたい。本開示は、他の異性体を実質的に含まない個々の異性体として、及び代替的に、様々な異性体の混合物として本明細書に記載の化合物を追加的に包含する。

【0110】

本明細書で使用される場合、純粋なエナンチオマー化合物は、化合物の他のエナンチオマーまたは立体異性体を実質的に含まない（すなわち、エナンチオマー過剰である）。すなわち、化合物の「S」形態は、化合物の「R」形態を実質的に含まず、よって、「R」形態のエナンチオマー過剰である。用語「エナンチオマー的に純粋」または「純粋なエナンチオマー」は、化合物が、75重量%を超える、80重量%を超える、85重量%を超える、90重量%を超える、91重量%を超える、92重量%を超える、93重量%を超える、94重量%を超える、95重量%を超える、96重量%を超える、97重量%を超える、98重量%を超える、99重量%を超える、99.5重量%を超える、または99.9%を超えるエナンチオマーを含むこと示す。所定の実施形態では、重量は、化合物の全てのエナンチオマーまたは立体異性体の総重量に基づく。

【0111】

本明細書に記載の式（III）の化合物はまた、1つ以上の同位体置換を含み得る。例えば、Hは、 ^1H 、 ^2H （Dまたは重水素）、及び ^3H （Tまたはトリチウム）を含む任意の同位体形態であり得る；Cは、 ^{12}C 、 ^{13}C 、及び ^{14}C を含む任意の同位体形態であり得る；Oは、 ^{16}O 及び ^{18}O を含む任意の同位体形態であり得る；などである。

【0112】

「薬学的に許容可能な塩」という用語は、本明細書に記載される化合物上に見出される特定の置換基に応じて、比較的毒性のない酸または塩基を用いて調製される活性化合物の塩を含むことを意味する。本開示のデバイスを調製するために使用される式（III）の化合物が、相対的に酸性の機能性を含有する場合、塩基付加塩は、そのような化合物の中性形態を、十分な量の所望の塩基と、そのまままたは好適な不活性溶媒中で接触させることによって得られ得る。薬学的に許容可能な塩基付加塩の例には、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、有機アミノ、またはマグネシウム塩、または同様の塩が含まれる。本開示で使用される化合物が、相対的に塩基性の機能性を含有する場合、酸付加塩は、そのような化合物の中性形態を、十分な量の所望の酸と、そのまままたは好適な不活性溶媒中で接触させることによって得られ得る。薬学的に許容可能な酸付加塩の例には、塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、一水素炭酸、リン酸、一水素リン酸、二水素リン酸、硫酸、一水素硫酸、ヨウ化水素酸、または亜リン酸等のような無機酸に由来するもの、ならびに酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、スベリン酸、フマル酸、乳酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トリルスルホン酸、クエン酸、酒石酸、メタンスルホン酸等のような有機酸に由来する塩が含まれる。また、アミノ酸、例えば、アルギネート等の塩、及びグルクロン酸またはガラクトロン酸等のような有機酸の塩が含まれる（例えば、Berge et al, Journal of Pharmaceutical Science 66:1-19 (1977) を参照されたい）。本開示のデバイス（例えば、粒子、ヒドロゲルカプセル）において使用される所定の特定の化合物は、化合物が塩基または酸付加塩のいずれかに変換されることを可能とする塩基性及び酸性官能性の両方を含む。これらの塩は、当業者に既知の方法によって調製され得る。当業者に既知の他の薬学的に許容可能な担体は、本開示における使用のために好適である。

【0113】

本開示のデバイスは、式（ⅠⅠⅠ）の化合物をプロドラッグ形態で含有し得る。プロドラッグは、本開示においてデバイスを調製するために有用な化合物を提供するために生理的条件下で化学的变化を容易に受けるそれらの化合物である。加えて、プロドラッグは、エキスピボ環境で化学的または生化学的方法によって式（ⅠⅠⅠ）の有用な化合物に変換され得る。

【0114】

本明細書に記載の式（ⅠⅠⅠ）の特定の化合物は、非溶媒和形態ならびに水和形態を含む溶媒和形態で存在し得る。通常、溶媒和形態は、非溶媒和形態と同等であり、本開示の範囲内に包含される。本明細書に記載の式（ⅠⅠⅠ）の特定の化合物は、多結晶性または非晶質形態で存在し得る。通常、全ての物理的形態は、本開示によって企図される使用のために同等であり、本開示の範囲内であることが意図されている。

10

【0115】

用語「溶媒和物」は、通常は加溶媒分解反応によって、溶媒に関連付けられた化合物の形態を指す。この物理的関連付けには、水素結合が含まれ得る。従来の溶媒には、水、メタノール、エタノール、酢酸、DMSO、THF、ジエチルエーテル等が含まれる。本明細書に記載の化合物は、例えば、結晶形態で調製され得、溶媒和され得る。好適な溶媒和物には、薬学的に許容可能な溶媒和物が含まれ、化学量論的溶媒和物及び非化学量論的溶媒和物の両方が更に含まれる。

【0116】

用語「水和物」は、水に関連付けられた化合物を指す。典型的には、化合物の水和物に含有される水分子の数は、水和物における化合物分子の数に対する限定された比内にある。そのため、化合物の水和物は、例えば、一般式 $R \cdot xH_2O$ によって表され得、式中、Rは化合物であり、xは0を超える数である。

20

【0117】

本明細書で使用する場合、用語「互変異性体」とは、互換性のある形態の化合物構造であり、水素原子及び電子の置き換えに変化がある化合物を意味する。したがって、2つの構造は、 π 電子と原子（通常、H）の移動の間も平衡であり得る。例えば、エノール及びケトン、酸または塩基のいずれかで処理することによって迅速に相互変換されるので、互変異性体である。互変異性形態は、目的の化合物の最適な化学的反応性及び生物学的活性の達成に関連し得る。

30

【0118】

本明細書で使用される記号

【化2】

「」

は、実体、例えば、ポリマー（例えば、アルギネートなどのヒドロゲル形成ポリマー）との、または埋め込み可能なデバイス、例えば、粒子、ヒドロゲルカプセルの表面への接続を指す。

【化3】

40

「」

によって表される接続は、実体、例えば、ポリマーまたは埋め込み可能な要素との直接的結合を指し得、結合基を介する実体との連結を指し得る。本明細書に記載される「結合基」は、式（ⅠⅠⅠ）の化合物の実体（例えば、本明細書に記載されるポリマーまたは埋め込み可能な要素（例えば、デバイス））との結合のための部分を指し、当該技術分野で既知の任意の結合化学を含み得る。例示的な結合基のリストは、Bioconjugate Techniques (3rd ed, Greg T. Hermanson, Waltham, MA: Elsevier, Inc., 2013) に概説されており、これは参照に

50

よりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、結合基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリール、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-N(R^C)-$ 、 $-N(R^C)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^C)-$ 、 $-N(R^C)N(R^D)-$ 、 $-NCN-$ 、 $-C(=N(R^C)(R^D))O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)_x-$ 、 $-OS(O)_x-$ 、 $-N(R^C)S(O)_x-$ 、 $-S(O)_xN(R^C)-$ 、 $-P(R^F)_y-$ 、 $-Si(OR^A)_2-$ 、 $-Si(R^G)(OR^A)-$ 、 $-B(OR^A)-$ 、または金属を含み、 R^A 、 R^C 、 R^D 、 R^F 、 R^G 、 x 、及び y の各々は、独立して、本明細書に記載されるとおりである。いくつかの実施形態では、結合基は、アミン、ケトン、エステル、アミド、アルキルを含む。いくつかの実施形態では、結合基は架橋リンカーである。いくつかの実施形態では、

【数 1】

10

OBJ.

結合基は、 $-C(O)(C_1-C_6)^1$ であり、 R^1 は、本明細書に記載されるとおりである

【数 2】

20

OBJ.

いくつかの実施形態では、結合基は、 $-C(O)(C_1-C_6\text{-アルキレン})-$ であり、アルキレンは、1～2個のアルキル基（例えば、1～2個のメチル基）で置換されている。いくつかの実施形態では、結合基は、 $-C(O)C(CH_3)_2-$ である。いくつかの実施形態では、結合基は、 $-C(O)(\text{メチレン})-$ であり、アルキレンは、1～2個のアルキル基（例えば、1～2個のメチル基）で置換されている。いくつかの実施形態では、結合基は、 $-C(O)CH(CH_3)-$ である。いくつかの実施形態では、結合基は、 $-C(O)C(CH_3)-$ である。

30

【0119】

B B B 輸送融合タンパク質の特徴

本開示の B B B 輸送融合タンパク質は、カーゴ部位 (C)（例えば、治療用タンパク質のアミノ酸配列）の上流に位置する H S A 結合ドメイン (A B) 及び I G F 1 R 結合ドメイン (R B) を含む。いくつかの実施形態では、第 1 のリンカー部分（例えば、リンカーペプチド）は、A B と R B との間に位置し、第 2 のリンカー部分（例えば、リンカーペプチド）は、R B とカーゴ部分との間に位置する。

【0120】

H S A 結合ドメイン A B

B B B 輸送タンパク質の血清半減期は、A B ドメインを有しない以外は同一の融合タンパク質の血清半減期よりも長い。この半減期延長は、主に、A B を介した融合タンパク質の H S A との結合に起因する。成熟ヒト血清アルブミン (H S A) は、585 個のアミノ酸を有する単量体タンパク質 (GenBank 登録番号 A A A 98797.1) であり、3 つの相同ドメイン D I (図 2 B のアミノ酸 25～221)、D I I (図 2 B のアミノ酸 213～409)、及び D I I I (図 2 B のアミノ酸 405～609) を含む (Dockal, M., et al., J. Biol. Chem., Vol. 274, No. 41, pp. 29303-29310 (1999))。血液中のアルブミンの長い半減期は、主に 2 つの特徴：(i) 大きいサイズ (65 kDa) のアルブミンが、その糸球体濾過を制限することと、(ii) アルブミンが、低い pH (pH 6) で F c R n に結合し、初期のエンドソームから細胞外環境に戻すことによって、内皮細胞及び上皮細胞における受動的

40

50

エンドサイトーシス後のリソソームにおける分解からアルブミンを保護することと、によって駆動される。実施形態では、ABドメインは、BBB輸送融合タンパク質に、ヒトにおける6時間、12時間、24時間、72時間、1週間、2週間、または最大でヒトにおけるHSAの半減期（約19日と推定される）のうちのいずれかを超えるヒトにおける血清半減期（ $t_{1/2}$ - ベータとして表される）を付与する。

【0121】

いくつかの実施形態では、ABドメインは、血清アルブミンに特異的であり、すなわち、いずれの非アルブミンタンパク質にも実質的に結合しない。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、FcRnのHSAとの結合を実質的に阻害せず、その結合部位はDIIIIにある。実施形態では、FcRnのHSAとの結合の約20%、15%、10%、5%、または1%未満の阻害は、本開示の融合タンパク質の存在下で生じ、これは、当該技術分野で既知の任意の競合結合アッセイ、例えば、WO2019/204925の[0095]に、またはUS2019/0367596A1の実施例3に記載されるSPR競合結合アッセイによって決定され得る。FcRn結合との干渉の可能性は、DIIIIに結合しない抗HSA抗体からのABドメインに由来することによって低減することができる。実施形態では、融合タンパク質は、ABドメインを介してHSAのDIに結合する。実施形態では、融合タンパク質は、WO2019/204925に記載される単ドメイン抗体（sdAb）のアミノ酸配列、すなわち、R11、R28、M75、またはM79からなるsdAbとのHSA結合に対してABを介して交差競合する。

【0122】

いくつかの実施形態では、AB（融合タンパク質の一部として）はまた、1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上の他の哺乳動物種、例えば、マウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、ヒツジ、ウマ、ウシ、及びサル（例えば、アカゲサル及び／またはカニクイサル）のうちの2つ、3つ、4つ、またはそれ以上の任意の組み合わせからの血清アルブミンに結合する（例えば、それらと交差反応する）。実施形態では、融合タンパク質は、ABドメインを介して、少なくともマウス、ラット、サル（アカゲサルまたはカニクイサル）、及びヒトからの血清アルブミンに結合する。実施形態では、融合タンパク質は、ABドメインを介して、少なくともマウス、イヌ、及びヒトからの血清アルブミンに結合する。

【0123】

いくつかの実施形態では、ABドメイン（融合タンパク質の一部として）は、HSA、及び任意選択で少なくとも1つの他の哺乳動物血清アルブミンに、約5.0または約5.5～最大約7.4のpH範囲内において所望の親和性で結合する。実施形態では、所望の親和性は、約0.1 nM～約1,000 nM、約0.5 nM～約500 nM、約1 nM～約250 nM、約5 nM～約50 nM、約10 nM～約25 nM、または約0.5 nM～約1 nMのいずれかの範囲の解離定数（ K_D ）である。実施形態では、親和性は、表面プラズモン共鳴（SPR）によって25℃及び約5.5～約7.4のpH範囲で決定される。実施形態では、マウス、ラット、及びサルからの血清アルブミンに対する融合タンパク質の親和性は、HSAに対する親和性と同様であり、例えば、HSAに対する K_D の70%～130%、80%～120%、または90%～110%以内である。

【0124】

抗HSA抗体及び融合タンパク質の K_D を測定するための例示的なSPRアッセイは、WO2019/204925に[0092]に記載されている。5.0～7.4のpH範囲内における親和性を測定するための別の例示的なSPRアッセイは、US2019/0367597A1に記載されている。抗HSA抗体ならびにHSA及び哺乳動物オルソログに対する融合タンパク質の K_D もまた、WO2019/246003に[0994]～[0995]に記載されるように実質的に決定され得る。

【0125】

本開示のBBB輸送融合タンパク質のABドメインは、抗HSA抗体の重鎖可変領域（HCVR）のアミノ酸配列を含む。遺伝子改変細胞による融合タンパク質の発現を促進す

10

20

30

40

50

るために、いくつかの実施形態では、ABドメインは、約75 kDa、約50 kDa、または約25 kDaのいずれか未満の分子量を有する。ABドメインは、従来の4鎖抗体、抗原結合断片、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv（二本鎖及び単鎖（scFv））、ミニボディ、ダイアボディ、及びsdAbを含む、当該技術分野で既知の任意の抗HSA抗体分子に由来し得る。実施形態では、ABは、sdAbのHCVRアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。

【0126】

実施形態では、ABドメインは、WO2006/122787の表Iに記載の抗HSA sdAbのうちの1つにおける3つのCDRアミノ酸配列のセットを含む。実施形態では、ABは、WO2006/22787の表IIに記載の抗HSA sdAbのうちの1つ（例えば、Alb-1）、またはWO2006/22787の表IIIに記載のAlb-1のヒト化バリエーションのうちの1つ（例えば、Alb-8）におけるアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、ABは、WO2012/175400に記載のAlb-23配列のうちのいずれか（例えば、Alb-23D）から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、本開示のBBB輸送融合タンパク質は、HSAとの結合においてWO2006/22787（例えば、Alb-8）またはWO2012/175400（例えば、Alb-23D）に記載の抗HSA sdAbのうちのいずれかと交差競合する。実施形態では、BBB輸送融合タンパク質は、Alb-1のアミノ酸配列を含まない。実施形態では、BBB輸送融合タンパク質は、Alb-8のアミノ酸配列を含まない。

【0127】

別の実施形態では、ABドメインは、WO2019/246003の表7に記載されるアルブミン結合ドメイン（ABD）のアミノ酸配列、例えば、LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINNAKTVEGVKALIDEILAAP（配列番号40）から本質的になるか、またはそれからなり、HSAに対して約1.2 nMのK_Dを有するABDとしてWO2019/246003に記載されている。実施形態では、ABドメインは、WO2019/246003の表14に記載の抗HSA P367抗体の3つのCDRを含む。実施形態では、ABは、抗HSA P367抗体またはそのヒト化バリエーションP494のアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなり、これらの各々は、WO2019/246003の表14に列挙されている。実施形態では、本開示のBBB輸送融合タンパク質は、HSAとの結合においてWO2019/246003に記載のP494 sdAbと交差競合する。

【0128】

実施形態では、ABドメインは、WO2021/119551の表5に記載の抗HSA sdAbのうちの1つにおける3つの重鎖CDRアミノ酸配列のセットを含む。一実施形態では、ABは、WO2021/119551の表5に記載の抗HSA sdAbのうちの1つにおけるVHアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、本開示のBBB輸送融合タンパク質は、HSAとの結合においてWO2021/119551の表5に記載のsdAbのうちの1つ以上と交差競合する。

【0129】

別の実施形態では、US2019/0367597A1の表Bに記載のT0235002C06 sdAbにある3つのCDRアミノ酸配列のセットを含む。実施形態では、ABは、US2019/0367597A1の表Bに記載のT0235002C06のアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、本開示のBBB輸送融合タンパク質は、HSAとの結合においてUS2019/0367597A1の表Bに記載のT0235002C06 sdAbと交差競合する。

【0130】

別の実施形態では、ABドメインは、US2019/0367596A1の表Bに記載のT0235005D04 sdAbにある3つのCDRアミノ酸配列のセットを含む。実施形態では、ABは、US2019/0367596A1の表Bに記載のT02350

05D04のアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、本開示のBBB輸送融合タンパク質は、HSAとの結合においてUS2019/0367596A1の表Bに記載のT0235002D04 sdAbと交差競合する。

【0131】

更に別の実施形態では、ABドメインは、US2019/0367598A1の表Bに記載のT0235005G01またはT023500043 sdAbにある3つのCDRアミノ酸配列のセットを含む。実施形態では、ABは、US2019/0367598A1の表Bに記載のT0235005G01またはT023500043のアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、本開示のBBB輸送融合タンパク質は、HSAとの結合においてUS2019/0367598A1の表Bに記載のT0235005G01またはT023500043 sdAbと交差競合する。

10

【0132】

実施形態では、ABドメインは、WO2019/204925に記載のR28、R11、M75、またはM79 sdAbにある3つのCDRアミノ酸配列のセットを含む。これらのCDR配列は、以下の表2Aに示される。

【表2】

表2A：ABドメインにおける例示的なCDRアミノ酸配列。

sdAb	CDR1	CDR2	CDR3
R11	GFLRSNTM (配列番号 41)	IRPSGLT (配列番号 42)	HTRPPFQRDS (配列番号 43) もしくは ATRPPFQRDS (配列番号 44)
R28	GRTFIAYA (配列番号 1)	ITNFAGGTT (配列番号 2)	AADRSAQTMQRQVRPVLPLY (配列番号 3)
M75	GRTFDNYVM (配列番号 45)	ISGSGSIT (配列番号 46)	AAGSRRTYYREPKFYPS (配列番号 47)
M79	GSTFSSSSV (配列番号 48)	ITSGGST (配列番号 49)	NVAGRNWVPISRYSPGPY (配列番号 50) もしくは AVAGRNWVPISRYSPGPY (配列番号 51)

20

30

【0133】

実施形態では、ABは、WO2019/204925に記載のR28、R11、M75、またはM79 sdAbのアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、ABは、WO2019/204925に記載のR28、R11、M75、またはM79のヒト化バリエーションのうちの1つのアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。R28、R11、M75、及びM79の親及びヒト化バリエーションのアミノ酸配列が、WO2019/204925の46～48ページにおける配列表に示される。実施形態では、ABは、本明細書の以下の表2Bに示される親及びヒト化配列から選択されるアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、ABは、以下の表2Bに示されるR28の親またはヒト化アミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。

40

50

【表 3】

表 2 B : A B ドメインにおける例示的なアミノ酸配列。

sdAb	親配列	例示的なヒト化配列
R11	QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCVGPGL LRSNTMGWYRQAPGKERELVAFIRPSGL TNYNDAVQGRFTISRDNAKNTVYLQMNA LKPEDTAVYYCHTRPPFQRDSWGQGTQV TVSS (配列番号 52)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGPGFL LRSNTMGWYRQAPGKERELVAFIRPSGL TNYNDAVQGRFTISRDNAKNTVYLQMNS LRAEDTAVYYCHTRPPFQRDSWGQGTLV TVSS (配列番号 53)
R28	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRT FIAYAMGWFRQAPGKEREFVAAITNFAG GTTYADSVKGRFTISRDNAKTTVYLQM NSLKPEDTALYYCAADRSAQTMQRQVRPV LPYWGQGTQVTVSS (配列番号 4)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRT FIAYAMGWFRQAPGKEREFVAAITNFAG GTTYADSVKGRFTISRDNAKTTVYLQM NSLRAEDTAVYYCAADRSAQTMQRQVRPV LPYWGQGTQVTVSS (配列番号 5)
M75	QVQLVESGGGFVQAGGSLRLSCAASGRT FDNYVMAWFRQAPGKEREFVASISGSGS ITNYANSVKDRFTISRDSAKNAIYLQMN SLKPEDTALYYCAAGSRRTYYREPKFYP SWGQGTQVTVSS (配列番号 54)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRT FDNYVMAWFRQAPGKLEFVSSISGSGS ITNYANSVKDRFTISRDNASKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAAGSRRTYYREPKFYP SWGQGTQVTVSS (配列番号 55)
M79	QVKLEESGGGLVQAGGSLKLSCAASGST FSSSSVGWYRQAPGQRELVAAITSGGS TNTADSVKGRFTMSRDNAKNTVYLQMRD LKPEDTAVYYCNVAGRNWVPISRYSPGP YWGQGTQVTVSS (配列番号 56)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGST FSSSSVGWYRQAPGKLELVSAITSGGS TNTADSVKGRFTISRDNASKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCNVAGRNWVPISRYSPGP YWGQGTQVTVSS (配列番号 57)

10

20

【0134】

30

IGF1R 結合ドメイン R B

本開示の BBB 輸送融合タンパク質の RB ドメインは、CD221、IGF1R、IGFR、及び JTK13 としても知られる IGF1R によって媒介されるトランスサイトシスを介して BBB を横断する能力を融合タンパク質に付与する。ヒト IGF1R は、30 個アミノ酸のシグナル配列 (UniProtKB-P08069) を有する単量体の 1367 個のアミノ酸のプレプロレセプターとして合成される。シグナルペプチドの切断後、プロレセプターはグリコシル化され、二量体化されて、ゴルジ装置に輸送され、そこでフリン切断が、ジスルフィド結合四量体 (ベター-アルファ-アルファ-ベータ) を形成するアルファ及びベータサブユニットを生じ、形質膜に輸送される。完全に成熟した細胞膜結合型 IGF1R は、2 つの 130~135 kDa アルファサブユニット及び 2 つの 90~95 kDa ベータサブユニットからなり、いくつかのアルファ-アルファ及びアルファ-ベータジスルフィド結合を有する。アルファサブユニットは、完全に細胞外であり、リガンド結合ドメインを形成する。ベータサブユニットは、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む。リガンド結合は、多種多様な下流シグナル伝達分子のトランス自己リン酸化及びリン酸化を誘導する。

40

【0135】

本明細書に記載の融合タンパク質の hIGF1R 媒介性トランスサイトシスを付与する RB ドメインの能力は、当該技術分野で既知の任意の方法によって評価され得る。例えば、インビトロアッセイは、EP3725806A1 の [0317] ~ [0315] に記載されるように、MCF-7 細胞または一次ヒト微小血管脳内皮細胞 (HMBEC) など

50

の I G F 1 - R 発現細胞への融合タンパク質の内在化を評価し得る。R B がラット I G F 1 - R と交差反応するとき使用され得る同様のアッセイは、U S 1 0 , 1 0 0 , 1 1 7 に記載されるように、不死化ラット脳内皮細胞 (s v A R B E C) を用いる。また、既知のインビトロ及びインビボ B B B モデルを使用して、例えば、U S 1 0 , 1 0 0 , 1 1 7 の実施例 1 0 及び 1 2 に記載されるように、ヒト及びラット I G F 1 R に結合する融合タンパク質の B B B 輸送能力を評価し得る。

【 0 1 3 6 】

いくつかの実施形態では、R B ドメインは、I G F 1 R に特異的であり、すなわち、それはインスリン受容体または任意の他の非 I G F 1 R タンパク質に実質的に結合しない。R B を含有する融合タンパク質は、I G F 1 R または I R を介してシグナル伝達を誘導すべきではなく、また、インスリン、I G F - 1、または I G F - 2 によって誘導される I G F 1 R または I R を介するシグナル伝達を阻害すべきではない。本明細書に記載の B B B 輸送融合タンパク質のシグナル伝達効果は、I G F 1 R 及び I R のリン酸化及び／または受容体刺激した下流キナーゼ A k t のリン酸化を分析することによって評価することができる。この評価は、例えば、U S 1 0 , 1 0 0 , 1 1 7 の実施例 1 4 または E P 3 7 2 5 8 0 6 A 1 のパラグラフ [0 3 2 5] ~ [0 3 2 7] に記載されるように、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して行われ得る。I G F 1 R を介した I G F 1 シグナル伝達に対する融合タンパク質の任意の効果は、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して、例えば、E P 3 7 2 5 8 0 6 A 1 の [0 3 2 0] ~ [0 3 2 4] に記載される M C F - 7 細胞株増殖アッセイによって評価され得る。

【 0 1 3 7 】

リガンド結合との干渉の可能性は、R B ドメインをリガンド結合と干渉しないことが既知の抗 h I G F 1 R 抗体分子に由来させるか、またはアルファサブユニットに結合しない抗体を選択することによって低減することができる。実施形態では、融合タンパク質は、R B ドメインを介して、h I G F 1 R 結合において U S 1 0 , 1 0 0 , 1 1 7 に記載の I G F 1 R - 5 s d A b、U S 1 0 , 1 0 6 , 6 1 4 に記載の I G F 1 R - 3 s d A b、または U S 1 0 , 1 1 2 , 9 9 8 に記載の I G F 1 R - 5 s d A b と交差競合する。実施形態では、融合タンパク質は、R B ドメインを介して、h I G F 1 R 結合で E P 3 7 2 5 8 0 6 A 1 に記載の 9 9 6、1 2 2 6、及び 1 5 6 4 抗体のうちのいずれかと交差競合する。実施形態では、R B ドメインのエピトープは、3 つの結合部位を有し、結合部位 1 は、R 6 5 0、Y 7 7 5、P 7 7 6、F 7 7 8、E 7 7 9、S 7 9 1、及び L 7 9 8 のうちの 1 つ以上を含み、結合部位 2 は、L 6 4 1、H 8 0 8、E 8 0 9、及び L 8 1 3 のうちの 1 つ以上を含み、結合部位 3 は、V 3 9 7、W 4 3 4、D 4 3 5、Y 4 6 0、及び C 4 8 8 のうちの 1 つ以上を含む。

【 0 1 3 8 】

いくつかの実施形態では、R B (融合タンパク質の一部として) はまた、1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、またはそれ以上の他の哺乳動物種、例えば、マウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、ヒツジ、ウマ、ウシ、及びサル (例えば、アカゲサル及び／またはカニクイサル) のうちの 2 つ、3 つ、4 つ、またはそれ以上の任意の組み合わせからの I G F 1 R に結合する (例えば、それらと交差反応する)。実施形態では、融合タンパク質は、R B ドメインを介して、少なくともマウス、ラット、サル (アカゲサルまたはカニクイサル)、及びヒトからの I G F 1 R に結合する。実施形態では、融合タンパク質は、R B ドメインを介して、少なくともマウス、イヌ、及びヒトからの I G F 1 R に結合する。

【 0 1 3 9 】

いくつかの実施形態では、R B ドメイン (融合タンパク質の一部として) は、h I G F 1 R、及び任意選択で少なくとも 1 つの他の哺乳動物 I G F 1 R に、約 5 . 0 または約 5 . 5 ~ 最大約 7 . 4 の pH 範囲内において所望の親和性で結合する。実施形態では、所望の親和性は、(i) 約 0 . 1 n M ~ 約 1 , 0 0 0 n M、(i i) 約 0 . 2 n M から約 5 0 0 n M、約 2 5 0 n M、約 1 0 0 n M、約 5 0 n M、約 2 5 n M、もしくは約 1 0 n M の

うちのいずれか1つまで、(iii) 約0.5 nMから約250 nM、約100 nM、約50 nM、約25 nM、約10 nM、もしくは約5 nMのうちのいずれか1つまで、または(iv) 約1 nMから約100 nM、約50 nM、約25 nM、約10 nM、もしくは約5 nMのうちのいずれか1つまで、からの範囲にある解離定数(K_D)である。実施形態では、所望の親和性は、1 nM~10 nMの解離定数(K_D)である。実施形態では、親和性は、表面プラズモン共鳴(SPR)によって25℃及び約5.5~約7.4のpH範囲で決定される。実施形態では、マウス、ラット、及びサルからのIGF1Rに対する融合タンパク質の親和性は、hIGF1Rに対する親和性と同様であり、例えば、hIGF1Rに対する K_D の70%~130%、80%~120%、または90%~110%以内の K_D である。BBB含有融合タンパク質の K_D を測定するための例示的なSPRアッセイは、US10,100,117に記載されている。

10

【0140】

本開示のBBB輸送融合タンパク質のRBドメインは、抗hIGF1R抗体の重鎖可変領域(HCVR)のアミノ酸配列を含む。遺伝子改変細胞による融合タンパク質の発現を促進するために、いくつかの実施形態では、RBドメインは、約75 kDa、約50 kDa、または約25 kDaのいずれか未満の分子量を有する。RBドメインは、従来の4鎖抗体、抗原結合断片、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv(二本鎖及び単鎖(scFv))、ミニボディ、ダイアボディ、及びsdAbを含む、当該技術分野で既知の任意の抗IGF1R抗体分子に由来し得る。実施形態では、RBは、sdAbのHCVRアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。

20

【0141】

実施形態では、RBドメインは、US10,100,117に記載のIGF1R-5 sdAb、US10,106,614に記載のIGF1R-3 sdAb、及びUS10,112,998に記載のIGF1R-5 sdAbからなる群から選択されるsdAbにおける3つのCDRアミノ酸配列のセットを含む。これらのCDR配列は、以下の表3Aに示される。

【表4】

表3A：RBドメインにおける例示的なCDRアミノ酸配列

sdAb	CDR1	CDR2	CDR3
IGF1R-5	GRTIDNYA (配列番号7)	IDWGDGGX、 式中、XはAまたはT である (配列番号8)	AMARQSRVNLDVARYDY (配列番号9)
IGF1R-3	EYPSNFYA (配列番号58)	VSRDGLTT (配列番号59)	AIVITGVWNKVDVNSRSYHY (配列番号60)
IGF1R-4	GGTVSPTA (配列番号61)	ITWSRGTT (配列番号62)	AASTFLRILPEESAYTY (配列番号63)

30

40

【0142】

実施形態では、RBは、IGF1R-5、IGF1R-3、もしくはIGF1R-4の親アミノ酸配列、またはそれらのsdAbのうちの1つのヒト化バリエーションから本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、RBは、

(i) X₁VX₂LX₃ESGGGLVQX₄GGSLRLSCAASGRTIDNYA
MAWX₅RQAPGKX₆X₇EX₈VX₉TIDWGDGGX₁₀RYANSVKGR
FTISRDNX₁₁KX₁₂TX₁₃YLQMNX₁₄LX₁₅X₁₆EDTAVYX
17CAMARQSRVNLDVARYDYWGQGTX₁₈VTVSSであって、式中、
X₁がEまたはQであり、X₂がKまたはQであり、X₃がVまたはEであり、X₄が

50

A または P であり、X₅ が V または S であり、X₆ が D または G であり、X₇ が L または R であり、X₈ が F または W であり、X₉ が A または S であり、X₁₀ が A または T であり、X₁₁ が A または S であり、X₁₂ が G または N であり、X₁₃ が M または L であり、X₁₄ が N または R であり、X₁₅ が E または R であり、X₁₆ が P または A であり、X₁₇ が S または Y であり、X₁₈ が Q または L である、配列（配列番号 64）、

(i i) X₁VX₂LX₃ESGGGLVQX₄GGSLRLSCX₅ASEYPSNFYAMSWX₆RQAPGKX₇X₈EX₉VX₁₀GVSRDGLTTLYADSVKGRFTX₁₁SRDNX₁₂KNTX₁₃X₁₄LQMNSX₁₅X₁₆AEDTAVYYCAIVITGVWNKVDVNSRSYHYWGGQGTX₁₇VTVSS であって、式中、X₁ が E または Q、X₂ が K または Q であり、X₃ が V または E であり、X₄ が A または P であり、X₅ が V または A であり、X₆ が F または V であり、X₇ が E または G であり、X₈ が R または L であり、X₉ が F または W であり、X₁₀ が A または S であり、X₁₁ が M または I であり、X₁₂ が A または S であり、X₁₃ が V または L であり、X₁₄ が D または Y であり、X₁₅ が V または L であり、X₁₆ が K または R であり、X₁₇ が Q または L である、配列（配列番号 65）、及び

(i i i) X₁VX₂LX₃ESGGGLVQX₄GGSLRLSCX₅X₆SGGTVSPTAMGWX₇RQAPGKX₈X₉EX₁₀VX₁₁HITWSRGTTTRX₁₂ASSVKX₁₃RFTTISRDX₁₄X₁₅KNTX₁₆Y LQMNSLX₁₇X₁₈EDTAVYYCAASTFLRLPEESAYTYWGGQGTX₁₉VTVSS であって、式中、X₁ が E または Q であり、X₂ が K または Q であり、X₃ が V または E であり、X₄ が A または P であり、X₅ が A または E であり、X₆ が V または A であり、X₇ が V または F であり、X₈ が G または E であり、X₉ が L または R であり、X₁₀ が F または W であり、X₁₁ が G または S であり、X₁₂ が V または Y であり、X₁₃ が D または G であり、X₁₄ が N または S であり、X₁₅ が A または S であり、X₁₆ が L または V であり、X₁₇ が K または R であり、X₁₈ が A または S であり、X₁₉ が L または Q である、配列（配列番号 66）、からなる群から選択される配列から本質的になるか、またはなる。

【0143】

実施形態では、RB は、それぞれ、US10, 100, 117、US10, 106, 614、及び US10, 112, 998 に記載の IGF1R-5、IGF1R-3、または IGF1R-5 のヒト化バリエーションのうちのいずれかのアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、RB は、本明細書の以下の表 3B に示される親またはヒト化配列から選択されるアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、RB は、以下の表 3B に示される IGF1R-5 の親またはヒト化アミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる。

10

20

30

40

50

【表 5】

表 3 B : R B ドメインにおける例示的なアミノ酸配列。

sdAb	親配列	例示的なヒト化配列
IGF1R-5	QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRT IDNYAMAWSRQAPGKDREFVATIDWGDG GARYANSVKGRFTISRDNAGTMYLQMN NLEPEDTAVYSCAMARQSRVNLDVARYD YWGQGTQVTSS (配列番号 11)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRT IDNYAMAWVRQAPGKLEWVATIDWGDG GTRYANSVKGRFTISRDNASKNTMYLQMN SLRAEDTAVYYCAMARQSRVNLDVARYD WGQGILVTSS (配列番号 12)
IGF1R-3	QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCVASEYP SNFYAMSWFRQAPGKREFVAGVSRDGL TTLYADSVKGRFTMSRDNAKNTVDLQMN SVKAEDTAVYYCAIVITGVWNKVDVNSR SYHYWGQGTQVTSS (配列番号 67)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASEYP SNFYAMSWFRQAPGKREFVSGVSRDGL TTLYADSVKGRFTISRDNASKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAIVITGVWNKVDVNSR SYHYWGQGTQVTSS (配列番号 68)
IGF1R-4	QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCFVSGGT VSPTAMGWFRQAPGKREFVGHITWSRG TTRVASSVKDRFTISRDSAKNTVYLQMN SLKSEDVAVYYCAASTFLRLPEESAYT YWGQGTQVTSS (配列番号 69)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGGT VSPTAMGWVRQAPGKLEWVGHITWSRG TTRYASSVKGRFTISRDNASKNTVYLQMN SLRAEDTAVYYCAASTFLRLPEESAYT YWGQGTQVTSS (配列番号 70)

10

20

【0144】

HSA 及び hIGF1R 結合ドメインの生成

AB 及び RB ドメインは、本明細書に記載の所望の特性を有する任意の抗体またはその抗原結合断片に由来し得る。抗体または抗原結合断片は、当該技術分野で既知であり得るか、または当該技術分野で既知の任意のアプローチによって特定され得る。

【0145】

いくつかの実施形態では、AB ドメイン及び RB ドメインの一方または両方は、単ドメイン Ab に由来する。例えば、ラクダ科由来の sdAb は軽鎖を欠いており、したがって、それらの抗原結合部位は、V_HH と呼ばれる 1 つのドメインからなる。sdAb はまた、サメで観察されており、V_{NAR} と呼ばれている。他の sdAb は、ヒト Ig 重鎖及び軽鎖配列に基づいて操作され得る。本明細書で使用される場合、「sdAb」という用語は、ファージディスプレイまたは他の技術を通じて任意の起源の V_H、V_HH、V_L、または V_{NAR} リザーバから直接単離された sdAb、組換えで産生された sdAb、ならびにヒト化、親和性成熟、安定化、可溶化、または抗体工学の他の方法による、かかる sdAb の更なる改変によって生成されたこれらの sdAb を含む。また、親 sdAb の抗原結合機能及び特異性を保持する相同体、誘導体、または断片も本開示によって包含される。

30

40

【0146】

HSA に結合する V_HH sdAb、及び hIGF1R に結合する V_HH sdAb を生成するために、当業者は、例えば、それぞれ、実質的に WO 2019/204925 及び US 10,100,117 に記載されるような、当該技術分野で既知の任意のアプローチを用いて、所望の抗原で免疫したラマまたは他のラクダ科の重鎖のみの抗体レパートリーからファージディスプレイした V_HH ライブラリーを生成及びスクリーニングし得る。実施形態では、ラクダ科を免疫するのに使用される IGF1R 抗原は、前駆体 hIGF1R の断片であり、例えば、図 1 に示される配列のアミノ酸 1~932 を含む。実施形態では、抗原性 hIGF1R 断片は、シグナルペプチドを含まない。

【0147】

50

s d A bに由来するA BまたはR Bドメインは、親フレームワーク領域を含み得、代替的に、親C D Rは、他のs d A bのV_{N A R}、V_{H H}、V_H、もしくはV_Lフレームワーク領域、または任意の供給源（例えば、ヒト）の他のタイプの抗体断片もしくは抗体様分子（F v、s c F v、F a b）のフレームワーク領域、またはC D Rが移植され得る同様のサイズ及び性質のタンパク質に移植され得る（例えば、N i c a i s e, M. e t a l, P r o t e i n S c i 13:1882-91 2004を参照）。

【0148】

いくつかの実施形態では、A B及びR Bドメインの一方または両方におけるアミノ酸配列は、親可変領域のヒト化型（ヒト化バリエーション）である。抗体または抗体断片のヒト化は、抗原結合能力または特異性を失うことなく、ヒトコンセンサス配列に見出されるような、配列内のアミノ酸をヒト対応物と置き換えることを含み、このアプローチは、ヒト対象に導入されるとき、抗体またはその断片の免疫原性を低減する。親配列は、例えば、限定されないが、C D R移植及びベニアリング等の当該技術分野で既知の任意の好適な方法を使用してヒト化され得る。

【0149】

C D R移植の過程で、本明細書に定義されるC D Rのうちの1つ以上は、ヒト可変領域（V_H、またはV_L）に、別のヒト抗体（I g A、I g D、I g E、I g G、及びI g M）に、抗体断片フレームワーク領域（F v、s c F v、F a b）に、またはC D Rが移植され得る同様のサイズ及び性質のタンパク質に、融合または移植され得る。C D R移植は当該技術分野で既知であり、少なくとも以下：米国特許第6,180,370号、同第5,693,761号、同第6,054,297号、及び欧州特許第626390号に記載されている。

【0150】

「可変領域再表面化」とも称されるベニアリングは、抗体または抗体断片の溶媒暴露位置をヒト化することを含み、したがって、C D R立体構造にとって重要であり得る埋められた非ヒト化残基は保存され、一方、溶媒暴露領域に対する免疫学的反応の可能性が最小限に抑えられる。ベニアリングは当該技術分野で既知であり、少なくとも以下：米国特許第5,869,619号、同第5,766,886号、及び同第5,821,123号、ならびに欧州特許第519596号に記載されている。

【0151】

リンカー

B B B輸送融合タンパク質は、例えば、A BドメインとR Bドメインとの間、及び／またはR Bドメインとカーゴ部分（例えば、治療用ポリペプチド）との間に1つ以上のリンカーを含有し得る。各リンカーは、連結したポリペプチドが、所望の機能的活性、例えば、結合または治療的活性を有する三次元構造に個々に折り畳まれることを可能にするのに十分な長さであるべきである。また、各リンカーは、血清中に存在する任意のプロテアーゼまたは他の酵素によって切断されるべきではない。

【0152】

いくつかの実施形態では、リンカーは、少なくとも2、3、または4個のアミノ酸、及び約30個未満のアミノ酸、例えば、約25、約20、約15、または約10個未満のアミノ酸のうちのいずれかを含むペプチドリンカーである。ペプチドリンカーは当該技術分野で既知であり、非限定的な例が本明細書に記載される。

【0153】

ペプチドリンカーは、天然に存在する配列、または天然に存在しない配列を有し得る。例えば、重鎖のみ抗体のヒンジ領域に由来する配列は、リンカーとして使用され得る。例えば、W O 1996 / 34103を参照されたい。

【0154】

好適なリンカーペプチドは、典型的には、G及び／またはS残基を様々な形態で含み、例示的なリンカーには、G G G G（配列番号71）、T G G G G（配列番号72）、G G S S G G S G S S S G S G G S G S S G（配列番号73）、（G G S S）_n（配列番号7

10

20

30

40

50

4)、(GGGGS)_n(配列番号13)、(SGGGG)_n(配列番号75)、及びGGGG(SGGGG)_n(配列番号76)が含まれ、各場合において「n」は、概して、1～10、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10の数であり、ただし、約40アミノ酸の最大長さを超えない。別の例示的なペプチドリンカーは、SKPTCPPELLGGPSVFIFPPK(配列番号77)である。

【0155】

実施形態では、融合タンパク質は、2つのペプチドリンカーL1及びL2を含み、ペプチドリンカーL1は、ABとRBとの間に位置し、L2は、RBとカーゴポリペプチドとの間に位置する。実施形態では、L1及びL2の各々の長さは、約15～30アミノ酸、または約20～25アミノ酸である。L1及びL2は、同じかまたは異なるアミノ酸配列を有し得る。実施形態では、各L1及びL2は、独立して、(GGGGG)₄(配列番号14)または(GGGGS)₅(配列番号78)から本質的になるか、またはそれからなる。実施形態では、L1及びL2の各々は、(GGGGG)₄から本質的になるか、またはそれからなる。

10

【0156】

治療用及び診断用カーゴ

カーゴ部位は、hIGF1R結合ドメインに結合または連結され得る任意の治療用または診断用分子であり得る。

【0157】

実施形態では、治療用分子は、ポリペプチド、例えば、サイトカイン、酵素、成長因子、または抗体もしくはその抗原結合断片である。実施形態では、ポリペプチドは、哺乳動物、例えば、ヒトにおける神経障害を治療するのに有用な活性を有する。実施形態では、神経障害は、神経学的症状を有するLSD(nLSD)、アルツハイマー病(AD)、運動失調症(例えば、フリードライヒ運動失調症などの遺伝性運動失調症)、ハンチントン病、脳卒中、認知症、筋ジストロフィー(MD)、多発性硬化症(MS)、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、嚢胞性線維症、アンジェルマン症候群リドル症候群、パーキンソン病、ピック病、バジェット病、統合失調症、うつ病、脳炎、プリオン病、がん、及び外傷性脳損傷からなる群から選択される。

20

【0158】

実施形態では、治療用分子は、酵素である。実施形態では、酵素、例えば、Edelman, M. J. and Maegawa, G. H. B., *Frontiers in Molecular Biosciences*, Volume 7, Article 559804 (12 November 2020)の表1に列挙される欠損酵素のうちのいずれかが、LSDにおいて欠損している。実施形態では、酵素は、IDUA、IDS、SGSH、GLA、またはGAAである。実施形態では、LSDは、MPS-1であり、酵素は、IDUAである。実施形態では、酵素は、IDSである。実施形態では、酵素は、IDSではない。

30

【0159】

実施形態では、治療用分子は、脳内の標的タンパク質(例えば、抗原)に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片である。実施形態では、標的タンパク質は、Tauタンパク質(例えば、シスP-tau)、Aベータ、BACE1もしくはそのスプライスアイソフォーム、ヒト上皮成長因子受容体(2)(HER2)、アポリポタンパク質E4(ApoE4)、アルファシヌクレイン、CD20、プリオンタンパク質(PrP)、ロイシンリッチリピートキナーゼ2(LRRK2)、パーキンプレセニリン1、プレセニリン2、ガンマセクレターゼ、デスレセプター6(DR6)、アミロイド前駆体タンパク質(APP)、p75ニューロトロフィン受容体(p75NTR)、インターフェロンガンマ、インターロイキン-1受容体(IL-1R)、インターロイキン6(IL-6)、インターロイキン-6(IL-6R)、インターロイキン-12、インターロイキン-23、TNF受容体(TNFR1)、インターロイキン-1ベータ(IL-1ベータ)、カスパーゼ6、インターロイキン-17(IL-17)、CTLA-4、プログラム死受容体1(P

40

50

D-1)、プログラム死ーリガンド1 (PD-L1)、プログラム死ーリガンド2 (PD-L2)、TNF-アルファ、血管内皮増殖因子 (VEGF)、またはVEGF受容体 (VEGFR) である。

【0160】

実施形態では、治療用分子は、サイトカインまたは成長因子、例えば、免疫調節性サイトカイン、例えば、顆粒球ーマクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、インターフェロンーベータ、神経成長因子、グリア細胞株由来神経栄養因子 (GDNF)、毛様体神経栄養因子 (CNTF)、塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF)、線維芽細胞成長因子ー2 (FGF2)、上皮成長因子 (EGF)、または形質転換成長因子 (TGF)ーベータ2である。

10

【0161】

遺伝子改変細胞

上記のBBB輸送融合タンパク質のうちのいずれかは、融合タンパク質を発現及び分泌するように遺伝子改変された哺乳動物細胞 (複数可) によって発現され得る。遺伝子改変細胞 (複数可) は、上皮細胞、内皮細胞、線維芽細胞、間葉系幹細胞、ケラチノサイト細胞、及び幹細胞、例えば、胚性幹細胞または誘導多能性幹細胞を含む、様々な異なる哺乳動物細胞タイプ (例えば、ヒト細胞) に由来し得る。例示的な細胞タイプには、WO2017/075631に記述される細胞タイプが含まれる。いくつかの実施形態では、細胞は、表4に示される細胞株に由来する。

20

【表6】

30

40

表4：例示的な細胞株

細胞株	細胞タイプ	胚葉	商業的源
ARPE-19	上皮(網膜)	外胚葉	ATCC(CRL-2302)
BJ	線維芽細胞(Foreskin)	外胚葉	ATCC(CRL-2522)
CCD-841-CoN	上皮(結腸)	内胚葉	ATCC(CRL-1790)
HaCat	ケラチノサイト	外胚葉	Addexbio(T0020001)
HHSEC	内皮(肝類洞)	内胚葉	Sciencellonline.com(#5000)
Huv-EC-C	内皮(胎児臍帯)	中胚葉	ATCC(CRL-1730)
MCF-10A	上皮(乳腺)	外胚葉	ATCC(CRL-10317)
MRC-5	線維芽細胞(肺)	中胚葉	ATCC(CCL-171)
MSC,ヒト	間葉(骨髄)	中胚葉	ATCC(PCS-500-012)
MSC,マウス	間葉(骨髄)	中胚葉	Cyagen(MU BMX-01001)
WS-1	線維芽細胞(皮膚)	外胚葉	ATCC(CRL-1502)
293F	上皮(胎児腎臓)	中胚葉	Thermo Fisher(R790007)

【0162】

実施形態では、本明細書に記載の遺伝子改変哺乳動物細胞のうちのいずれかは、RPE

50

細胞、例えば、ARPE-19細胞に由来する。実施形態では、遺伝子改変ARPE-19細胞は、本明細書に記載の発現カセット、トランスポゾン、及びポリヌクレオチドのうちのいずれかを含む。

【0163】

細胞は、当該技術分野で既知である多様な遺伝子工学技法のいずれかを使用して所望のBBB輸送融合タンパク質を発現及び分泌するように遺伝子改変され得る。例えば、細胞は、遺伝子発現のために必要または有用な制御エレメント、例えば、プロモーター、リボソーム結合部位、エンハンサー、ポリAシグナルなどに操作可能に連結された所望の融合タンパク質をコードする外因性ヌクレオチド配列（複数可）を含む発現ベクターでトランスフェクトされ得る。いくつかの実施形態では、外因性ヌクレオチド配列は、親細胞のゲノムに安定的に組み込まれる転写単位の一部である。

【0164】

実施形態では、外因性配列は、融合タンパク質のための分泌シグナル配列をコードするヌクレオチド配列を含む。実施形態では、シグナル配列は、天然に分泌されるタンパク質からである。実施形態では、シグナル配列は、MELGLSWVVLAAALLQG VQA（配列番号79）である。いくつかの実施形態では、シグナル配列は、以下の表5に示されるアミノ酸配列から本質的になる。

【表7】

表5：例示的な分泌シグナルペプチド配列

タンパク質	アミノ酸配列
アルブミン	MKWVTFISLLFLFSSAYS(配列番号 80)
カッパーリーダー	MVLQTQVFISLLLWISGAYG(配列番号 81)
プラスミノーゲンアクチベーターインヒビター-1	MQMSPALTCLVLGLALVFGECSA(配列番号 82)
トロンボスポンジン-1	MGLAWGLGVFLMHVCGT(配列番号 83)
フィブロネクチン	MLRGPGPGLLLAVQCLGTAVPSTGASKSKR(配列番号 84)
基底膜特異的ヘパラン硫酸プロテオグリカンコアタンパク質(HSPG2)	MGWRAAGALLLALLHGRLLA(配列番号 85)
アグリン	MAGRSHPGPLRPLLPLLVVAACVLPAGAGG(配列番号 86)

【0165】

本明細書に記載のデバイス、組成物、及び方法で使用するための遺伝子改変哺乳動物細胞は、例えば、ヒドロゲルカプセル中の複数の細胞として、細胞周期の様々な段階にあり得る。いくつかの実施形態では、複数の遺伝子改変細胞における少なくとも1つの細胞が、細胞分裂を受けている。細胞分裂は、例えば、DeFazio A et al (1987) J Histochem Cytochem 35:571-577及びDolb eare F et al (1983) Proc Natl Acad Sci USA 80:5573-5577に記載されるように、当該技術分野における任意の既知の方法を使用して測定され得、これらの各々は、参照によりその全体が組み込まれる。実施形態では、細胞の少なくとも1、2、3、4、5、10、または20%が、例えば、5-エチニル-2'-デオキシウリジン（EdU）アッセイまたは5-ブロモ-2'-デオキシウリジン（BrdU）アッセイによって決定されるとき、細胞分裂を受けている。いくつかの実施形態では、細胞増殖は、顕微鏡（例えば、蛍光顕微鏡（例えば、低速度撮影または紡錘体形成の評価）またはフローサイトメトリー）によって視覚化または定量化される。いく

つかの実施形態では、複数の遺伝子改変細胞におけるいずれの細胞も、細胞分裂を受けておらず、静止している。実施形態では、1、2、3、4、5、10、または20%未満の細胞が、細胞分裂、5-エチニル-2'-デオキシウリジン (EdU) アッセイ、5-ブロモ-2'-デオキシウリジン (BrdU) アッセイ、顕微鏡検査 (例えば、蛍光顕微鏡検査 (例えば、低速度撮影または紡錘体形成の評価)、またはフローサイトメトリーを受けている。

【0166】

実施形態では、複数における遺伝子改変細胞のうちの少なくとも50%、60%、70%、80%、90%以上が生存可能である。細胞生存率は、当技術分野で任意の既知の方法を、例えば、Assay Guidance Manual (Sittapalam, G. S. et al, eds) におけるRiss, T. et al (2013) “Cell Viability Assays”に記載されるように使用して測定され得る。例えば、細胞生存率は、ATPアッセイ、5-エチニル-2'-デオキシウリジン (EdU) アッセイ、5-ブロモ-2'-デオキシウリジン (BrdU) アッセイによって測定または定量化され得る。いくつかの実施形態では、細胞生存率は、顕微鏡 (例えば、蛍光顕微鏡 (例えば、低速度撮影または紡錘体形成の評価) またはフローサイトメトリー) によって視覚化または定量化される。実施形態では、複数の操作された細胞の少なくとも80%が、例えば、ATPアッセイ、5-エチニル-2'-デオキシウリジン (EdU) アッセイ、5-ブロモ-2'-デオキシウリジン (BrdU) アッセイ、顕微鏡検査 (例えば、蛍光顕微鏡検査 (例えば、低速度撮影または紡錘体形成の評価)、またはフローサイトメトリーによ

10

20

【0167】

本明細書に記載のパラメータのうちのいずれかは、組織学、顕微鏡検査、及び様々な機能的アッセイ等の、当業者に既知の標準的な技法を使用して評価され得る。

【0168】

埋め込み可能な細胞カプセル化デバイス

本明細書に記載の遺伝子改変細胞または複数のかかる細胞は、CNS疾患または状態を有する対象、例えば、LSD、例えば、MPS-Iを有する患者に治療用または診断用カーゴを提供する際に使用するための埋め込み可能なデバイスに組み込まれ得る。

【0169】

本開示の埋め込み可能なデバイスは、免疫細胞がデバイス内部に含有される細胞に接触するのを防止する少なくとも1つのバリアを含む。バリアの少なくとも一部は、細胞によって発現及び分泌されるタンパク質 (例えば、融合タンパク質) がデバイスから出ることを可能にするのに十分な多孔性であることを必要とする。当該技術分野で既知の様々なデバイス構成が好適である。

30

【0170】

デバイス (例えば、粒子) は、意図した標的部位への埋め込み後に、含有された細胞の生存能力及び産生性を支持するのに適切な任意の構成及び形状を有することができる。非限定的な例として、デバイス形状は、円筒形、長方形、円盤形、卵形、星形、または球状であり得る。デバイスは、メッシュ状または入れ子構造から構成することができる。いくつかの実施形態では、デバイスは、特定のサイズを超える材料が孔または開口を通過するのを妨げることができる。いくつかの実施形態では、デバイス (例えば、粒子) は、50 kD、75 kD、100 kD、125 kD、150 kD、175 kD、200 kD、250 kD、300 kD、400 kD、500 kD、750 kD、または1,000 kDを超える材料が通過するのを妨げることができる。

40

【0171】

実施形態では、デバイスは、マクロカプセル化デバイスである。マクロデバイスの非限定的な例は、WO2019/068059、WO2019/169089、米国特許第9,526,880号、同第9,724,430号、及び同第8,278,106号、欧州特許第742818B1号、ならびにSang, S. and Roy, S., Biote

50

chnol. Bioeng. 113 (7) : 1381-1402 (2016) に記載されている。

【0172】

実施形態では、デバイスは、1つ以上の細胞含有区画を有するマクロデバイスである。2つ以上の細胞含有区画を有するデバイスは、2つ以上のタンパク質を産生するように構成され得、例えば、融合タンパク質を発現する細胞が、1つの区画に配置され、異なるタンパク質（例えば、標的化CNS疾患または状態の1つ以上の症状を緩和することができる治療用タンパク質）を発現する細胞が、別の区画に配置される。WO2018/232027は、微細組み立て体内に形成され、多孔性膜によって覆われた複数の細胞含有区画を有するデバイスを記載している。

10

【0173】

実施形態では、デバイスは、米国特許第10,493,107号に記載されるように、薄い可撓性ストランドとして構成される。このストランドは、基材、基材を囲む内側高分子コーティング、及び内側高分子コーティングを囲む外側ヒドロゲルコーティングを含む。タンパク質発現細胞は、外側コーティング内に配置される。

【0174】

いくつかの実施形態では、デバイス（例えば、粒子）は、少なくとも約0.5ミリメートル（mm）、好ましくは約1.0mm、約1.5mm、またはそれ以上である最大の線形寸法（LLD）、例えば、平均直径、またはサイズを有する。いくつかの実施形態では、デバイスは、直径またはサイズが10mmほどの大きさであることができる。例えば、本明細書に記載のデバイスまたは粒子は、0.5mm~10mm、1mm~10mm、1mm~8mm、1mm~6mm、1mm~5mm、1mm~4mm、1mm~3mm、1mm~2mm、1mm~1.5mm、1.5mm~8mm、1.5mm~6mm、1.5mm~5mm、1.5mm~4mm、1.5mm~3mm、1.5mm~2mm、2mm~8mm、2mm~7mm、2mm~6mm、2mm~5mm、2mm~4mm、2mm~3mm、2.5mm~8mm、2.5mm~7mm、2.5mm~6mm、2.5mm~5mm、2.5mm~4mm、2.5mm~3mm、3mm~8mm、3mm~7mm、3mm~6mm、3mm~5mm、3mm~4mm、3.5mm~8mm、3.5mm~7mm、3.5mm~6mm、3.5mm~5mm、3.5mm~4mm、4mm~8mm、4mm~7mm、4mm~6mm、4mm~5mm、4.5mm~8mm、4.5mm~7mm、4.5mm~6mm、4.5mm~5mm、5mm~8mm、5mm~7mm、5mm~6mm、5.5mm~8mm、5.5mm~7mm、5.5mm~6mm、6mm~8mm、6mm~7mm、6.5mm~8mm、6.5mm~7mm、7mm~8mm、または7.5mm~8mmのサイズ範囲にある。

20

30

【0175】

いくつかの実施形態では、本開示のデバイス（例えば、粒子、カプセル）は、例えば、材料の自由流動を可能にするために、少なくとも1つの孔または開口を含む。いくつかの実施形態では、デバイスの平均孔サイズは、約0.1μm~約10μmである。例えば、平均孔サイズは、0.1μm~10μm、0.1μm~5μm、0.1μm~2μm、0.15μm~10μm、0.15μm~5μm、0.15μm~2μm、0.2μm~10μm、0.2μm~5μm、0.25μm~10μm、0.25μm~5μm、0.5μm~10μm、0.75μm~10μm、1μm~10μm、1μm~5μm、1μm~2μm、2μm~10μm、2μm~5μm、または5μm~10μmであり得る。いくつかの実施形態では、デバイスの平均孔サイズは、約0.1μm~10μmである。いくつかの実施形態では、デバイスの平均孔サイズは、約0.1μm~5μmである。いくつかの実施形態では、デバイスの平均孔サイズは、約0.1μm~1μmである。

40

【0176】

いくつかの実施形態では、デバイスは、ポリマー組成物（例えば、アルギネートヒドロゲル）にカプセル化されている遺伝子改変細胞を囲む半透過性の生体適合性膜を含む。膜孔サイズは、免疫細胞が孔を通して横断するのを防ぎながら、酸素ならびに細胞の生存及

50

び機能に重要な他の分子が半透過性膜を通して移動することを可能にするように選択される。実施形態では、半透過性膜は、1000kD未満、または50～700kD、70～300kD、または70～150kD、または70～130kDの分子量カットオフを有する。

【0177】

実施形態では、デバイスは、Ma, Met al., Adv. Healthc Mater., 2(5):667-672(2012)に記載されるコア-シェルマイクロカプセルなどの細胞フリー生体適合性材料から形成されたバリア区画で囲まれる細胞含有区画を含有し得る。かかるバリア区画は、半透過性膜を用いて、または用いずに使用することができる。

10

【0178】

本開示のデバイスの細胞含有区画（複数可）内の細胞は、ポリマー組成物にカプセル化され得る。ポリマー組成物は、1つ以上のヒドロゲル形成ポリマーを含み得る。細胞含有区画（複数可）内のポリマー組成物に加えて、デバイス（例えば、マクロデバイス、粒子、ヒドロゲルカプセル）は、金属、金属合金、セラミック、ポリマー、繊維、不活性材料、及びそれらの組み合わせなどの材料を含むか、またはそれらから形成され得る。デバイスは、1つのタイプの材料で完全に作製され得るか、または他の材料を細胞含有区画及び任意の他の区画内に含み得る。

【0179】

いくつかの実施形態では、デバイスは、金属または金属合金を含む。実施形態では、デバイス内の区画のうちの1つ以上（例えば、第1の区画、第2の区画、または全ての区画）は、金属または金属合金を含む。例示的な金属または金属合金としては、チタン及びチタン基合金（例えば、ニチノール、ニッケルチタン合金、熱記憶合金材料）、白金、白金基合金、ステンレス鋼、タンタル、パラジウム、ジルコニウム、ニオブ、モリブデン、ニッケルクロム、クロムモリブデン合金、または特定のコバルト合金（例えば、コバルトクロム及びコバルトクロム-ニッケル合金、例えば、ELGILOY（登録商標）及びPHYNOX（登録商標））を含むものが挙げられる。例えば、金属材料は、ステンレス鋼グレード316（SS316L）（Fe、<0.3% C、16～18.5% Cr、10～14% Ni、2～3% Mo、<2% Mn、<1% Si、<0.45% P、及び<0.03% Sからなる）であり得る。金属含有デバイスでは、金属の量（例えば、重量%、実際の重量）は、少なくとも5%、例えば、少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、またはそれ以上、例えば、w/w、20%未満、例えば、20%、15%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%未満、またはそれ未満であり得る。

20

30

【0180】

いくつかの実施形態では、デバイスはセラミックを含む。実施形態では、デバイス内の区画のうちの1つ以上（例えば、第1の区画、第2の区画、または全ての区画）は、セラミックを含む。例示的なセラミック材料としては、酸化チタン、酸化ハフニウム、酸化イリジウム、酸化クロム、酸化アルミニウム、及び酸化ジルコニウム等の遷移元素の酸化物、炭化物、または窒化物が挙げられる。シリカ等のケイ素ベースの材料も使用され得る。セラミック含有デバイスでは、セラミックの量（例えば、重量%、実際の重量）は、少なくとも5%、例えば、少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、またはそれ以上、例えば、w/w、20%未満、例えば、20%、15%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%未満、またはそれ未満であり得る。

40

【0181】

いくつかの実施形態では、デバイスは2つのヒドロゲル区画を有し、内側の細胞含有区画は、第2の、外側（例えば、バリア）の区画によって完全に囲まれている。実施形態では、第2の区画の内側境界は、第1の区画の外側境界と界面を形成する。かかる実施形態では、第2の（外側）区画の厚さは、第2の区画の外側境界と、2つの区画間の界面との

50

間の平均距離、例えば、外側区画において視覚的に観察される最も薄い地点及び最も厚い地点の各々で測定される距離の平均を意味する。いくつかの実施形態では（例えば、デバイスは、直径が約1.5 mmである）、外側区画における最も薄い距離及び最も厚い距離は、それぞれ、25～110マイクロメートル（ μm ）及び270～480 μm である。いくつかの実施形態では、外側区画の厚さは、約10ナノメートル（nm）より大きく、好ましくは100 nm以上であり、1ミリメートル（mm）ほどの大きさであり得る。例えば、本明細書に記載のヒドロゲルカプセルデバイスにおける外側区画の厚さ（例えば、平均距離）は、10 nm～1 mm、100 nm～1 mm、500 nm～1ミリメートル、1マイクロメートル（ μm ）～1 mm、1 μm ～1 mm、1 μm ～500 μm 、1 μm ～250 μm 、1 μm ～1 mm、5 μm ～500 μm 、5 μm ～250 μm 、10 μm ～1 mm、10 μm ～500 μm 、または10 μm ～250 μm であり得る。いくつかの実施形態では、外側区画の厚さ（例えば、平均距離）は、100 nm～1 mm、1 μm ～1 mm、1 μm ～500 μm 、または5 μm ～1 mmである。いくつかの実施形態では、外側区画の厚さ（例えば、平均距離）は、約50 μm ～約100 μm である。いくつかの実施形態では（例えば、デバイスは直径が約1.5 mmである）、外側区画の厚さ（例えば、平均距離）は、約180 μm ～260 μm または約310 μm ～440 μm である。

10

20

30

40

50

【0182】

2区画ヒドロゲルカプセルデバイスのいくつかの実施形態では、細胞含有内側区画及び外側区画の平均孔サイズは、実質的に同じである。いくつかの実施形態では、内側区画及び第2の区画の平均孔サイズは、約1.5%、2%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、またはそれを超えて異なる。いくつかの実施形態では、デバイスの平均孔サイズ（例えば、第1の区画の平均孔サイズ及び／または第2の区画の平均孔サイズ）は、多数の要因、例えば、各区画内の材料（複数可）ならびに式（III）の化合物の存在及び密度に依存する。

【0183】

いくつかの実施形態では、細胞含有区画（複数可）内のポリマー組成物は、多糖または他のヒドロゲル形成ポリマー（例えば、アルギネート、ヒアルロン酸、またはコンドロイチン）を含む。いくつかの実施形態では、ポリマーは、アルギネートであり、 β -D-マンヌロン酸（M）及び α -L-グルロン酸（G）からなる多糖である。いくつかの実施形態では、アルギネートは、低分子量（例えば、<75 kDaのおよその分子量）及びG:M比 ≥ 1.5 、（ii）中分子量アルギネート、例えば、75～150 kDaのおよその分子量及びG:M比 ≥ 1.5 を有する、（iii）高分子量アルギネート、例えば、150 kDa～250 kDaのおよそのMW及びG:M比 ≥ 1.5 を有する、または（iv）これらのアルギネートの2つ以上のブレンド、を有する。いくつかの実施形態では、細胞含有区画（複数可）は、少なくとも1つの細胞結合物質（CBS）、例えば、WO2020/069429に記載の細胞結合ペプチド（CBP）または細胞結合ポリペプチド（CBPP）を更に含む。

【0184】

いくつかの実施形態では、細胞含有区画（複数可）は、リンカー-細胞結合ペプチド部分、例えば、GRGDまたはGRGDSPで共有結合的に修飾されたアルギネートを含む。実施形態では、細胞含有区画（複数可）における細胞結合ペプチド密度（例えば、WO2020/198695に記載されているように、燃焼分析によって決定される窒素%）は、少なくとも0.05%、0.1%、0.2%、または0.3%であるが、4%、3%、2%、または1%未満である。実施形態では、細胞含有区画におけるリンカー-CBPの総密度は、定量的ペプチドコンジュゲーションアッセイ、例えば、WO2020/198695に記載のアッセイによって決定される場合、溶液中で1 gのCBPポリマー（例えば、GRGD（配列番号88）またはGRGDSP（配列番号89）で共有結合的に修飾されたMMW-アルギネート）当たり約0.1～約1.0マイクロモルのCBPである。一実施形態では、リンカー-CBPは、GRGDSPであり、アルギネートは、75 k

D a ~ 1 5 0 k D a の分子量及び 1 . 5 以上の G : M 比を有する。実施形態では、細胞含有区画はまた、7 5 k D a ~ 1 5 0 k D a の分子量及び 1 . 5 以上の G : M 比を有する非修飾アルギネートを含む。

【 0 1 8 5 】

デバイスは、調製物（例えば、組成物）中に複数の実質的に同じデバイスの一部を形成し得る。いくつかの実施形態では、調製物中のデバイス（例えば、粒子、ヒドロゲルカプセル）は、約 0 . 5 mm ~ 約 8 mm の平均直径またはサイズを有する。いくつかの実施形態では、調製物中のデバイスの平均直径またはサイズは、約 0 . 5 mm ~ 約 4 mm または約 0 . 5 mm ~ 約 2 mm である。いくつかの実施形態では、調製物中のデバイスは、2 区画ヒドロゲルカプセルであり、約 0 . 7 mm ~ 約 1 . 3 mm または約 1 . 2 mm ~ 約 1 . 8 mm の平均直径またはサイズを有する。

10

【 0 1 8 6 】

いくつかの実施形態では、デバイスの表面は、対象への埋め込み時に F B R を軽減することができる化合物、以下に記載される非線維性化合物を含む。細胞含有区画を囲むバリア区画を含むデバイスでは、非線維性化合物は、バリア区画全体及び任意選択で細胞含有区画全体に配置されたポリマーを共有結合的に修飾し得る。

【 0 1 8 7 】

いくつかの実施形態では、デバイス内の 1 つ以上の区画は、非線維性ポリマー、例えば、ポリマーに共有結合的に結合した式 (I I I) の非線維性化合物を含む。実施形態では、非線維性ポリマーにおけるいくつかまたは全てのモノマーは、式 (I I I) の同じ化合物で修飾される。いくつかの実施形態では、非線維性ポリマーにおけるいくつかまたは全てのモノマーは、式 (I I I) の異なる化合物で修飾される。デバイスが 2 区画ヒドロゲルカプセルであるいくつかの実施形態では、非線維性ポリマーは、外側のバリア区画にのみ存在する。

20

【 0 1 8 8 】

デバイス内の 1 つ以上の区画は、デバイス内に存在する任意の非線維性ポリマーにおけるポリマーと同じであるかまたは異なる未修飾ポリマーを含み得る。実施形態では、デバイスにおける第 1 の区画、第 2 の区画、または全ての区画は、非修飾ポリマーを含む。

【 0 1 8 9 】

デバイスにおける修飾及び非修飾ポリマーの各々は、直鎖状、分岐状、もしくは架橋状のポリマー、または選択された分子量範囲、重合度、粘度、もしくはメルトフローレート

のポリマーであり得る。分岐状ポリマーには、以下のタイプ：星型ポリマー、型ポリマー、ブラシ型ポリマー、デンドリマー化ポリマー、はしご型、及びデンドリマーのうちの 1 つ以上が含まれ得る。ポリマーは、熱応答性ポリマー、例えば、ゲル（例えば、熱または所定の温度への曝露で固体または液体になる）または光架橋性ポリマーであり得る。例示的なポリマーには、ポリスチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリアセチレン、ポリ（塩化ビニル）（PVC）、ポリオレフィンコポリマー、ポリ（ウレタン）、ポリアクリレート及びポリメタクリレート、ポリアクリルアミド及びポリメタクリルアミド、ポリ（メチルメタクリレート）、ポリ（2-ヒドロキシエチルメタクリレート）、ポリエステル、ポリシロキサン、ポリジメチルシロキサン（PDMS）、ポリエーテル、ポリ（オルトエステル）、ポリ（カーボネート）、ポリ（ヒドロキシアルカノエート）、ポリフッ化炭素、PEEK（登録商標）、Teflon（登録商標）（ポリテトラフルオロエチレン、PTFE）、PEEK、シリコン、エポキシ樹脂、Kevlar（登録商標）、Dacron（登録商標）（エチレングリコール及びテレフタル酸から得られた縮合ポリマー）、ポリエチレングリコール、ナイロン、ポリアルケン、フェノール性樹脂、天然及び合成エラストマー、接着剤及びシーラント、ポリオレフィン、ポリスルホン、ポリアクリロニトリル、バイオポリマー、例えば、多糖及び天然ラテックス、コラーゲン、セルロースポリマー（例えば、アルキルセルロース等）、ポリエチレングリコール及び 2-ヒドロキシエチルメタクリレート（HEMA）、多糖、ポリ（グリコール酸）、ポリ（L-乳酸）（PLLA）、ポリ（乳酸グリコール酸）（PLGA）、ポリジオキサノン（PDA）

30

40

50

、またはラセミポリ（乳酸）、ポリカーボネート、（例えば、ポリアミド（例えば、ナイロン））、フッ素プラスチック、炭素繊維、アガロース、アルギネート、キトサン、及びそれらのブレンドまたはコポリマーが含まれる。ポリマー含有デバイスにおいて、ポリマーの量（例えば、デバイスの重量％、ポリマーの実際の重量）は、少なくとも５％、例えば、少なくとも５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、またはそれ以上、例えば、 w/w 、２０％未満、例えば、２０％未満、１５％、１０％、５％、１％、０．５％、０．１％、またはそれ未満であることができる。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、デバイスにおける修飾及び非修飾ポリマーのうちの１つ以上は、ポリエチレンを含む。例示的なポリエチレンとしては、極低密度ポリエチレン（ULDPE）（例えば、モノマーを含有する、 $0.890 \sim 0.905 \text{ g/cm}^3$ の範囲の密度を有するポリマーを伴う）、超低密度ポリエチレン（VLDPE）（例えば、モノマーを含有する、 $0.905 \sim 0.915 \text{ g/cm}^3$ の範囲の密度を有するポリマーを伴う）、線形低密度ポリエチレン（LLDPE）（例えば、モノマーを含有する、 $0.915 \sim 0.935 \text{ g/cm}^3$ の範囲の密度を有するポリマーを伴う）、低密度ポリエチレン（LDPE）（例えば、約 $0.915 \sim 0.935 \text{ g/cm}^3$ の範囲の密度を有するポリマーを伴う）、中密度ポリエチレン（MDPE）（例えば、モノマーを含有し得るかまたは含有し得ない、 $0.926 \sim 0.940 \text{ g/cm}^3$ の範囲の密度を有するポリマーを伴う）、高密度ポリエチレン（HDPE）（例えば、モノマーを含有し得るかまたは含有し得ない、 $0.940 \sim 0.970 \text{ g/cm}^3$ の範囲の密度を有するポリマーを伴う）、及びポリエチレングリコールが挙げられる。

【０１９１】

いくつかの実施形態では、デバイスにおける修飾及び非修飾ポリマーのうちの１つ以上は、ポリプロピレンを含む。例示的なポリプロピレンとしては、ホモポリマー、ランダムコポリマー（ホモフェーズコポリマー）、及びインパクトコポリマー（ヘテロフェーズコポリマー）が挙げられ、例えば、McKeen, Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices, 3-Plastics Used in Medical Devices, (2014): 21-53に記載されている。

【０１９２】

いくつかの実施形態では、デバイスにおける修飾及び非修飾ポリマーのうちの１つ以上は、ポリプロピレンを含む。例示的なポリスチレンとしては、汎用、または結晶（PSまたはGPPS）、ハイインパクト（HIPS）、及びシンジオタクチック（SPS）ポリスチレンが挙げられる。

【０１９３】

いくつかの実施形態では、修飾及び非修飾ポリマーのうちの１つ以上は、熱可塑性エラストマー（TPE）を含む。例示的なTPEとしては、（i）ハードブロック内にアミド化学結合及びソフトブロック内にエーテル及び／またはエステル結合を有するハードセグメントとソフトセグメントとが交互するブロックコポリマーを含むTPA-ポリアミドTPE、（ii）ハードセグメントとソフトセグメントとが交互するブロックコポリマーからなり、主鎖内の化学結合がエステル及び／またはエーテルである、TPC-コーポリエステルTPE、（iii）ポリオレフィン及び従来のゴムのブレンドからなり、ブレンド内のゴム相が架橋をほとんど有しないかまたは有しない、TPO-オレフィンTPE、（iv）スチレン及び特定のジエンの少なくともトリブロックコポリマーからなり、２つの末端ブロック（ハードブロック）がポリスチレンであり、内部ブロック（ソフトブロックまたは複数のソフトブロック）がポリジエンまたは水素化ポリジエンである、TPS-スチレンTPE、（v）ハードブロック内にウレタン化学結合及びソフトブロック内にエーテル、エステル、もしくは炭酸結合、またはそれらの混合物を有するハードセグメントとソフトセグメントとが交互するブロックコポリマーからなるTPU-ウレタンTPE、（

v i) 熱可塑性材料と、ゴムがブレンドするステップ及び混合するステップ中に動的加硫のプロセスによって架橋されている従来のゴムとのブレンドからなる、TPV-熱可塑性ゴム加硫物、ならびに(v i i) TPA、TPC、TPO、TPS、TPU、及びTPVに分類されるもの以外の任意の組成物または構造を含むTPZ未分類PEが挙げられる。

【0194】

いくつかの実施形態では、非修飾ポリマーは、非修飾アルギネートである。いくつかの実施形態では、アルギネートは、高グルロン酸(G)アルギネートであり、約50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、またはそれを超えるグルロン酸(G)を含む。いくつかの実施形態では、アルギネートは、高マンヌロン酸(M)アルギネートであり、約50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、またはそれを超えるマンヌロン酸(M)を含む。いくつかの実施形態では、M:Gの比は、約1である。いくつかの実施形態では、M:Gの比は、1未満である。いくつかの実施形態では、M:Gの比は、1超である。実施形態では、非修飾アルギネートは、150kDa~250kDaの分子量及び ≥ 1.5 のG:M比を有する。

10

【0195】

いくつかの実施形態では、非線維性ポリマーは、式(III)の化合物で化学的に修飾されたアルギネートを含む。修飾された非線維性ポリマーにおけるアルギネートは、デバイスに存在する任意の非修飾アルギネートと同じか、または異なり得る。実施形態では、非線維性アルギネートにおける式(III)の化合物の密度(例えば、コンジュゲーションの量)は、約4.0%~約8.0%、約5.0%~約7.0%、または約6.0%~約7.0%の窒素(例えば、窒素率について燃焼分析によって決定される場合)である。一実施形態では、化合物101の量は、(非修飾アルギネートと比較した場合)約0.5%~2%、2%~4%のN、約4%~6%のN、約6%~8%、または約8%~10%のN)のNの増加%をもたらし、%Nは、燃焼分析によって決定され、修飾されたアルギネートにおける化合物101の量に対応する。

20

【0196】

他の実施形態では、非線維性アルギネートにおける式(III)の化合物(例えば、化合物101)の密度(例えば、濃度)は、好適な定量的アミンコンジュゲーションアッセイによって(例えば、WO2020/069429に記載のアッセイによって)決定される場合、溶液(例えば、生理食塩水)における%w/w、例えば、アミンの重量/非線維性アルギネートの重量の%として定義され、所定の実施形態では、式(III)の化合物(例えば、化合物101)の密度は、約1.0%w/w~約3.0%w/w、約1.3%w/w~約2.5%w/wまたは約1.5%w/w~2.2%w/wである。

30

【0197】

アルギネート含有デバイスにおいて、修飾及び非修飾アルギネートの量(例えば、デバイスの重量%、アルギネートの実際の重量)は、少なくとも5%、例えば、少なくとも5%、少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、またはそれ以上、例えば、w/w、20%未満、例えば、20%未満、15%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%、またはそれ未満であることができる。

40

【0198】

非線維性ポリマーにおけるアルギネートは、当該技術分野で既知の任意の好適な方法を使用して式(III)の化合物で化学的に修飾され得る。例えば、アルギネートカルボン酸部分は、式(III)の化合物で修飾されたアルギネートを達成するために1つ以上のアミン官能化化合物にカップリングするために活性化され得る。アルギネートポリマーは、水(30mL/グラムポリマー)に溶解され、活性化剤(例えば、2-クロロ-4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン(0.5eq))及び塩基(例えば、N-メチルモルホリン(1eq))で処理され得る。この混合物にアセトニトリル中の式(III)の化合物の溶液(0.3M)が添加され得る。反応は、55℃に16時間加温され、次の

50

で室温に放冷され、回転蒸発を介して穏やかに濃縮され得、次いで残渣は、例えば、水に溶解され得る。次いで混合物は、例えば、シアノ修飾されたシリカゲル（S i l i c y c l e）床を介して濾過され、フィルターケーキが水で洗浄され得る。次いで得られた溶液は、例えば、水を2回交換して、水に対して24時間透析され得る（10,000 MWCO膜）。得られた溶液は、例えば、凍結乾燥を介して濃縮されて、所望の化学的に修飾されたアルギネートが提供され得る。非線維性ポリマーにおけるアルギネートは、例えば、WO2021/119522、WO2019/195055、WO2018/067615、WO2017/075631、WO2016/019391、及びWO2012/167223のいずれかに記載されるように、当技術分野で既知の任意の好適な方法を使用して、式（III）の化合物で化学的に修飾することができる。

10

【0199】

実施形態では、デバイスは、少なくとも1つの細胞含有区画を含み、いくつかの実施形態では、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上の細胞含有区画を含む。実施形態では、各細胞含有区画は、複数の細胞（例えば、生細胞）を含み、区画のうちの少なくとも1つにおける細胞は、デバイスが対象に埋め込まれるときに、BBB輸送融合タンパク質を発現及び分泌することができる。

【0200】

実施形態では、細胞含有区画における全ての細胞は、単一の親細胞タイプまたは少なくとも2つの異なる親細胞タイプの混合物に由来する。実施形態では、細胞含有区画における全ての細胞は、同じ親細胞タイプに由来するが、第1の複数の由来細胞は、BBB輸送融合タンパク質を発現するように操作され、第2の複数の由来細胞は、異なる治療用タンパク質を発現するように操作される。2つ以上の細胞含有区画を有するデバイスでは、細胞及びそれによって産生されるタンパク質（複数可）は、各細胞含有区画において同じかまたは異なり得る。いくつかの実施形態では、全ての細胞含有区画は、単一バリア区画によって囲まれる。いくつかの実施形態では、バリア区画は、実質的に細胞を含まない。

20

【0201】

実施形態では、本明細書に記載のデバイス、例えば、ヒドロゲルカプセルに組み込まれる細胞は、デバイス内にカプセル化される前に細胞懸濁液の形態で調製される。懸濁液における細胞は、単一細胞（例えば、単層細胞培養からのもの）の形態をとり、または例えば、マイクロキャリア（例えば、ビーズまたはマトリックス）上に配置された別の形態で、または細胞の三次元凝集体（例えば、細胞クラスターまたは楕円体）として提供され得る。細胞懸濁液は、複数の細胞クラスター（例えば、スフェロイドとして）またはマイクロキャリアを含み得る。

30

【0202】

カプセル化細胞によって分泌される融合タンパク質に加えて、デバイス（例えば、カプセル、粒子）は、細胞によって発現されない1つ以上の外因性物質を含み得、例えば、核酸（例えば、RNAまたはDNA分子）、タンパク質（例えば、ホルモン、酵素（例えば、グルコースオキシダーゼ、キナーゼ、ホスファターゼ、オキシゲナーゼ、レダクターゼ）抗体、抗体断片、抗原、またはエピトープ）、タンパク質もしくはポリペプチドの活性もしくは非活性断片、小分子、または薬物を含み得る。実施形態では、デバイスは、かかる外因性物質を放出するように構成される。

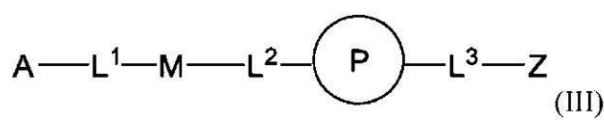
40

【0203】

非線維性（例えば、FBR軽減）化合物

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のデバイスは、少なくとも1つの式（III）の化合物：

【化 4】



またはその薬学的に許容可能な塩を含み、式中、

Aは、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリール、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-N(R^C)-$ 、 $-N(R^C)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^C)-$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルキレン})-$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_2-C_6\text{-アルケニレン})-$ 、 $-N(R^C)N(R^D)-$ 、 $-NCN-$ 、 $-C(=N(R^C))(R^D)O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)_x-$ 、 $-OS(O)_x-$ 、 $-N(R^C)S(O)_x-$ 、 $-S(O)_xN(R^C)-$ 、 $-P(R^F)_y-$ 、 $-Si(OR^A)_2-$ 、 $-Si(R^G)(OR^A)-$ 、 $-B(OR^A)-$ 、または金属であり、これらの各々は、結合基（例えば、本明細書に記載の結合基）に任意選択で連結されており、1つ以上の R^1 によって任意選択で置換されており、

10

L^1 及び L^3 の各々は、独立して、結合、アルキル、またはヘテロアルキルであり、各アルキル及びヘテロアルキルは、1つ以上の R^2 によって任意選択で置換されており、

20

L^2 は、結合であり、

Mは、非存在、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、これらの各々は、1つ以上の R^3 によって任意選択で置換されており、

Pは、非存在、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールであり、これらの各々は、1つ以上の R^4 によって任意選択で置換されており、

Zは、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、 $-OR^A$ 、 $-C(O)R^A$ 、 $-C(O)OR^A$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、1つ以上の R^5 によって任意選択で置換されており、

30

各 R^A 、 R^B 、 R^C 、 R^D 、 R^E 、 R^F 、及び R^G は、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、アジド、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、1つ以上の R^6 で任意選択で置換されており、

または R^C 及び R^D は、それらが結合した窒素原子と一緒にあって、1つ以上の R^6 で任意選択で置換された環（例えば、5～7員環）を形成し、

各 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、及び R^6 は、独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、シアノ、アジド、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、 $-C(O)R^{B1}$ 、 $-OC(O)R^{B1}$ 、 $-N(R^{C1})(R^{D1})$ 、 $-N(R^{C1})C(O)R^{B1}$ 、 $-C(O)N(R^{C1})$ 、 SR^{E1} 、 $S(O)_xR^{E1}$ 、 $-OS(O)_xR^{E1}$ 、 $-N(R^{C1})S(O)_xR^{E1}$ 、 $-S(O)_xN(R^{C1})(R^{D1})$ 、 $-P(R^{F1})_y$ 、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、1つ以上の R^7 によって任意選択で置換されており、

40

各 R^{A1} 、 R^{B1} 、 R^{C1} 、 R^{D1} 、 R^{E1} 、及び R^{F1} は、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリー

50

ル、またはヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールは、1つ以上の R^7 によって任意選択で置換されており、

各 R^7 は、独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、シアノ、オキソ、ヒドロキシル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

x は、1 または 2 であり、

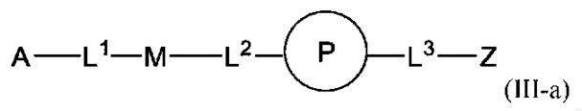
y は、2、3、または 4 である。

【0204】

いくつかの実施形態では、式 (III) の化合物は、式 (III-a) の化合物：

【化5】

10



またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、

A は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリール、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-N(R^C)-$ 、 $-N(R^C)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^C)-$ 、 $-N(R^C)N(R^D)-$ 、 $N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルキレン})-$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルケニレン})-$ 、 $-NCN-$ 、 $-C(=N(R^C)(R^D))O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)_x-$ 、 $-OS(O)_x-$ 、 $-N(R^C)S(O)_x-$ 、 $-S(O)_xN(R^C)-$ 、 $-P(R^F)_y-$ 、 $-Si(OR^A)_2-$ 、 $-Si(R^G)(OR^A)-$ 、 $-B(OR^A)-$ 、または金属であり、これらの各々は、結合基（例えば、本明細書に記載の結合基）に任意選択で連結されており、1つ以上の R^1 によって任意選択で置換されており、

20

L^1 及び L^3 の各々は、独立して、結合、アルキル、またはヘテロアルキルであり、各アルキル及びヘテロアルキルは、1つ以上の R^2 によって任意選択で置換されており、

L^2 は、結合であり、

30

M は、非存在、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、これらの各々は、1つ以上の R^3 によって任意選択で置換されており、

P は、1つ以上の R^4 によって任意選択で置換されたヘテロアリールであり、

Z は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、これらの各々は、1つ以上の R^5 によって任意選択で置換されており、

各 R^A 、 R^B 、 R^C 、 R^D 、 R^E 、 R^F 、及び R^G は、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、アジド、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、1つ以上の R^6 で任意選択で置換されており、

40

または R^C 及び R^D は、それらが結合した窒素原子と一緒に、1つ以上の R^6 で任意選択で置換された環（例えば、5～7員環）を形成し、

各 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、及び R^6 は、独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、シアノ、アジド、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、 $-C(O)R^{B1}$ 、 $-OC(O)R^{B1}$ 、 $-N(R^{C1})(R^{D1})$ 、 $-N(R^{C1})C(O)R^{B1}$ 、 $-C(O)N(R^{C1})$ 、 SR^{E1} 、 $S(O)_xR^{E1}$ 、 $-OS(O)_xR^{E1}$ 、 $-N(R^{C1})S(O)_xR^{E1}$ 、 $-S(O)_xN(R^{C1})(R^{D1})$ 、 $-P(R^{F1})_y$ 、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールであ

50

り、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、1つ以上の R^7 によって任意選択で置換されており、

各 R^{A1} 、 R^{B1} 、 R^{C1} 、 R^{D1} 、 R^{E1} 、及び R^{F1} は、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールは、1つ以上の R^7 によって任意選択で置換されており、

各 R^7 は、独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、シアノ、オキソ、ヒドロキシル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

x は、1または2であり、

y は、2、3、または4である。

10

【0205】

いくつかの実施形態では、式(III)及び(III-a)について、 A は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリール、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-N(R^C)C(O)-$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルキレン})-$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルケニレン})-$ 、または $-N(R^C)-$ である。いくつかの実施形態では、 A は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリール、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、または $-N(R^C)-$ である。いくつかの実施形態では、 A は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、または $-N(R^C)-$ である。いくつかの実施形態では、 A は、アルキル、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、または $-N(R^C)-$ である。いくつかの実施形態では、 A は、 $-N(R^C)C(O)-$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルキレン})-$ 、または $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルケニレン})-$ である。いくつかの実施形態では、 A は、 $-N(R^C)-$ である。いくつかの実施形態では、 A は、 $-N(R^C)-$ であり、 R^C 及び R^D は、独立して、水素またはアルキルである。いくつかの実施形態では、 A は、 $-NH-$ である。いくつかの実施形態では、 A は、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルキレン})-$ であり、アルキレンは、 R^1 で置換されている。いくつかの実施形態では、 A は、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルキレン})-$ であり、 R^1 は、アルキル(例えば、メチル)である。いくつかの実施形態では、 A は、 $-NHC(O)C(CH_3)_2-$ である。いくつかの実施形態では、 A は、 $-N(R^C)C(O)(\text{メチレン})-$ であり、 R^1 は、アルキル(例えば、メチル)である。いくつかの実施形態では、 A は、 $-NHC(O)CH(CH_3)-$ である。いくつかの実施形態では、 A は、 $-NHC(O)C(CH_3)-$ である。

20

30

【0206】

いくつかの実施形態では、式(III)または(III-a)について、 L^1 は、結合、アルキル、またはヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 L^1 は、結合またはアルキルである。いくつかの実施形態では、 L^1 は、結合である。いくつかの実施形態では、 L^1 は、アルキルである。いくつかの実施形態では、 L^1 は、 C_1-C_6 アルキルである。いくつかの実施形態では、 L^1 は、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、または $-CH_2CH_2-$ である。いくつかの実施形態では、 L^1 は、 $-CH_2-$ または $-CH_2CH_2-$ である。

40

【0207】

いくつかの実施形態では、式(III)及び(III-a)について、 L^3 は、結合、アルキル、またはヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 L^3 は、結合である。いくつかの実施形態では、 L^3 は、アルキルである。いくつかの実施形態では、 L^3 は、 C_1-C_{12} アルキルである。いくつかの実施形態では、 L^3 は、 C_1-C_6 アルキルである。いくつかの実施形態では、 L^3 は、 $-CH_2-$ である。いくつかの実施形態では

50

、 L^3 は、ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 L^3 は、1つ以上の R^2 （例えば、オキソ）で任意選択で置換された C_1-C_{12} ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 L^3 は、1つ以上の R^2 （例えば、オキソ）で任意選択で置換された C_1-C_6 ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 L^3 は、 $-C(O)OCH_2-$ 、 $-CH_2(OCH_2CH_2)_2-$ 、 $-CH_2(OCH_2CH_2)_3-$ 、 CH_2CH_2O- 、または $-CH_2O-$ である。いくつかの実施形態では、 L^3 は、 $-CH_2O-$ である。

【0208】

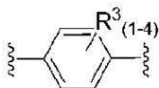
いくつかの実施形態では、式（III）及び（III-a）について、Mは、非存在、アルキル、ヘテロアルキル、アリール、またはヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、式（III）及び（III-a）について、Mは、非存在、アルキル、ヘテロアルキル、アリール、またはヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、Mは、ヘテロアルキル、アリール、またはヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、Mは、非存在である。いくつかの実施形態では、Mは、アルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）である。いくつかの実施形態では、Mは、 $-CH_2-$ である。いくつかの実施形態では、Mは、ヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）である。いくつかの実施形態では、Mは、 $(-OCH_2CH_2-)_z$ であり、zは、1～10から選択される整数である。いくつかの実施形態では、zは、1～5から選択される整数である。いくつかの実施形態では、Mは、 $-(OCH_2)_2-$ 、 $(-OCH_2CH_2-)_2$ 、 $(-OCH_2CH_2-)_3$ 、 $(-OCH_2CH_2-)_4$ 、または $(-OCH_2CH_2-)_5$ である。いくつかの実施形態では、Mは、 $-OCH_2CH_2-$ 、 $(-OCH_2CH_2-)_2$ 、 $(-OCH_2CH_2-)_3$ 、または $(-OCH_2CH_2-)_4$ である。いくつかの実施形態では、Mは、 $(-OCH_2-)_3$ である。いくつかの実施形態では、Mは、アリールである。いくつかの実施形態では、Mは、フェニルである。いくつかの実施形態では、Mは、非置換フェニルである。いくつかの実施形態では、Mは、

【化6】



である。いくつかの実施形態では、Mは、

【化7】

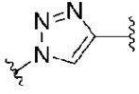


である。いくつかの実施形態では、Mは、1～4個の R^3 （例えば、1個の R^3 ）で置換されたフェニルである。いくつかの実施形態では、 R^3 は、 CF_3 である。

【0209】

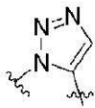
いくつかの実施形態では、式（III）及び（III-a）について、Pは、非存在、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、式（III）及び（III-a）について、Pは、非存在、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、Pは、非存在である。いくつかの実施形態では、式（III）及び（III-a）について、Pは、三環式、二環式、または単環式ヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、Pは、単環式ヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、Pは、窒素含有ヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、Pは、単環式、窒素含有ヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、Pは、5員窒素含有ヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、Pは、5員窒素含有ヘテロアリールである。いく

つかの実施形態では、Pは、テトラゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、またはトリアゾリル、またはピロリルである。いくつかの実施形態では、Pは、イミダゾリルである。いくつかの実施形態では、Pは、1，2，3-トリアゾリルである。いくつかの実施形態では、Pは、
【化8】



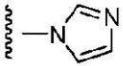
10

である。いくつかの実施形態では、Pは、
【化9】



である。いくつかの実施形態では、Pは、
【化10】

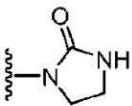
20



である。
【0210】

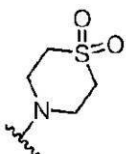
いくつかの実施形態では、Pは、ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Pは、ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Pは、5員ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Pは、イミダゾリジノニルである。いくつかの実施形態では、Pは、
【化11】

30



である。いくつかの実施形態では、Pは、チオモルホリニル-1，1-ジオキシジルである。いくつかの実施形態では、Pは、
【化12】

40



である。
【0211】

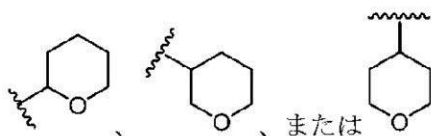
いくつかの実施形態では、式（III）及び（III-a）について、Zは、アルキル

50

、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、式 (I I I) または (I I I - a) について、Z は、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、Z は、ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Z は、単環式もしくは二環式ヘテロシクリル、5 員ヘテロシクリル、または 6 員ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Z は、6 員酸素含有ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Z は、テトラヒドロピラニルである。いくつかの実施形態では、Z は、

【化 1 3】

10



である。いくつかの実施形態では、Z は、4 員酸素含有ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Z は、

【化 1 4】

20



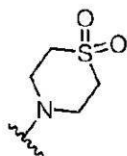
である。

【0 2 1 2】

いくつかの実施形態では、Z は、二環式酸素含有ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Z は、二環式酸素含有ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Z は、無水フタル酸である。いくつかの実施形態では、Z は、硫黄含有ヘテロシクリル

【化 1 5】

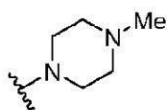
30



である。いくつかの実施形態では、Z は、6 員硫黄含有ヘテロシクリル

【化 1 6】

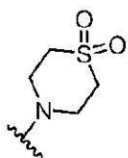
40



である。いくつかの実施形態では、Z は、窒素原子及び硫黄原子を含有する 6 員ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Z は、チオモルホリニル - 1, 1 - ジオキシジルである。いくつかの実施形態では、Z は、

50

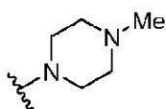
【化 1 7】



である。いくつかの実施形態では、Zは、窒素含有ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Zは、6員窒素含有ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Zは、

10

【化 1 8】



である。

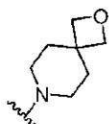
【0 2 1 3】

いくつかの実施形態では、Zは、二環式ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Zは、二環式ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Zは、1つ以上のR⁵で任意選択で置換された二環式窒素含有ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、Zは、2-オキサー-7-アザスピロ[3.5]ノナニルである。

いくつかの実施形態では、Zは、

20

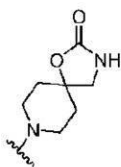
【化 1 9】



である。いくつかの実施形態では、Zは、1-オキサー-3,8-ジアザスピロ[4.5]デカン-2-オンである。いくつかの実施形態では、Zは、

30

【化 2 0】



である。

【0 2 1 4】

いくつかの実施形態では、式(III)及び(III-a)について、Zは、アリールである。いくつかの実施形態では、Zは、単環式アリールである。いくつかの実施形態では、Zは、フェニルである。いくつかの実施形態では、Zは、一置換フェニル(例えば、1個のR⁵を有する)である。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵が窒素含有基である一置換フェニルである。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵がNH₂である一置換フェニルである。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵が酸素含有基であ

40

50

る一置換フェニルである。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵が酸素含有基である酸素含有ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵がOCH₃である一置換フェニルである。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵がオルト位にある一置換フェニルである。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵がメタ位にある一置換フェニルである。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵がパラ位にある一置換フェニルである。

【0215】

いくつかの実施形態では、式(III)及び(III-a)について、Zは、アルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、C₁-C₁₂アルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、C₁-C₁₀アルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、C₁-C₈アルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、1~5個のR⁵で置換されたC₁-C₈アルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵で置換されたC₁-C₈アルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵で置換されたC₁-C₈アルキルであり、R⁵は、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキソ、-OR^{A1}、-C(O)OR^{A1}、-C(O)R^{B1}、-OC(O)R^{B1}、または-N(R^{C1})(R^{D1})である。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵で置換されたC₁-C₈アルキルであり、R⁵は、-OR^{A1}または-C(O)OR^{A1}である。いくつかの実施形態では、Zは、1個のR⁵で置換されたC₁-C₈アルキルであり、R⁵は、-OR^{A1}または-C(O)OHである。いくつかの実施形態では、Zは、-CH₃である。

【0216】

いくつかの実施形態では、式(III)及び(III-a)について、Zは、ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、C₁-C₁₂ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、C₁-C₁₀ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、C₁-C₈ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、C₁-C₆ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、1つ以上のR⁵で任意選択で置換された窒素含有ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、1~5個のR⁵で置換された窒素及び硫黄含有ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Zは、N-メチル-2-(メチルスルホニル)エタン-1-アミニルである。

【0217】

いくつかの実施形態では、Zは、-OR^Aまたは-C(O)OR^Aである。いくつかの実施形態では、Zは、-OR^A(例えば、-OHまたは-OCH₃)である。いくつかの実施形態では、Zは、-OCH₃である。いくつかの実施形態では、Zは、-C(O)OR^A(例えば、-C(O)OH)である。

【0218】

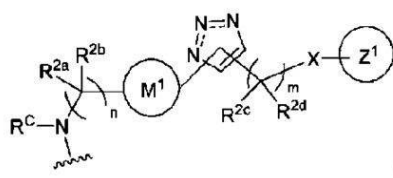
いくつかの実施形態では、Zは、水素である。

【0219】

いくつかの実施形態では、L²は、結合であり、P及びL³は、独立して、非存在である。いくつかの実施形態では、L²は、結合であり、Pは、ヘテロアリールであり、L³は、結合であり、Zは、水素である。いくつかの実施形態では、Pは、ヘテロアリールであり、L³は、ヘテロアルキルであり、Zは、アルキルである。

【0220】

いくつかの実施形態において、式(III)の化合物は、式(III-b)の化合物：
【化21】



(III-b)

10

20

30

40

50

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、環 M^1 は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、これらの各々は、1～5個の R^3 で任意選択で置換されており、環 Z^1 は、1～5個の R^5 で任意選択で置換されたシクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールであり、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、ニトロ、アミノ、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、もしくはヘテロアリールであるか、または R^{2a} 及び R^{2b} もしくは R^{2c} 及び R^{2d} の各々は、一緒になってオキソ基を形成し、 X は、非存在、 $N(R^{10})(R^{11})$ 、 O 、または S であり、 R^C は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールの各々は、1～6個の R^6 で任意選択で置換されており、各 R^3 、 R^5 、及び R^6 は、独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、シアノ、アジド、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、 $-C(O)R^{B1}$ 、 $-OC(O)R^{B1}$ 、 $-N(R^{C1})(R^{D1})$ 、 $-N(R^{C1})C(O)R^{B1}$ 、 $-C(O)N(R^{C1})$ 、 SR^{E1} 、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、 R^{10} 及び R^{11} の各々は、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、 $-C(O)OR^{A1}$ 、 $-C(O)R^{B1}$ 、 $-OC(O)R^{B1}$ 、 $-C(O)N(R^{C1})$ 、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールであり、各 R^{A1} 、 R^{B1} 、 R^{C1} 、 R^{D1} 、及び R^{E1} は、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールであり、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールの各々は、1～6個の R^7 で任意選択で置換されており、各 R^7 は、独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロゲン、シアノ、オキソ、ヒドロキシル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、各 m 及び n は、独立して、1、2、3、4、5、または6であり、
【化22】

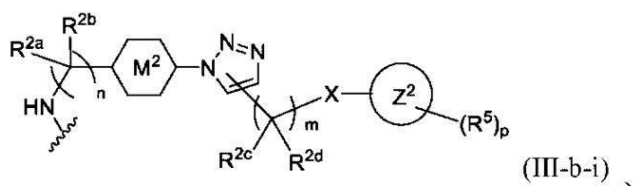
「」

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。いくつかの実施形態では、各 R^3 及び R^5 について、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールは、任意選択で及び独立して、ハロゲン、オキソ、シアノ、シクロアルキル、またはヘテロシクリルで置換されている。

【0221】

いくつかの実施形態では、式 (III-b) の化合物は、式 (III-b-i) の化合物：

【化23】



またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、環 M^2 は、1つ以上の R^3 で任意選択で置換されたアリールまたはヘテロアリールであり、環 Z^2 は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の

各々は、独立して、水素、アルキル、もしくはヘテロアルキルであるか、または R^{2a} 及び R^{2b} もしくは R^{2c} 及び R^{2d} の各々は、一緒になってオキソ基を形成し、 X は、非存在、 O 、または S であり、各 R^3 及び R^5 は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、各アルキル及びヘテロアルキルは、ハロゲンで任意選択で置換されており、または 2つの R^5 は、一緒になって環 Z^2 に縮合された 5～6 員環を形成し、各 R^{A1} 及び R^{B1} は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、 m 及び n は、それぞれ独立して、1、2、3、4、5、または 6 であり、 p は、0、1、2、3、4、5、または 6 であり、

【化 2 4】

10

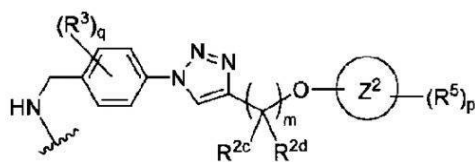
「」

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0 2 2 2】

いくつかの実施形態では、式 (III-b-i) の化合物は、式 (III-b-ii) の化合物：

【化 2 5】



(III-b-ii)

20

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、環 Z^2 は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールであり、 R^{2c} 及び R^{2d} の各々は、独立して、水素、アルキル、もしくはヘテロアルキルであるか、または R^{2c} 及び R^{2d} は、一緒になってオキソ基を形成し、各 R^3 及び R^5 は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、各アルキル及びヘテロアルキルは、ハロゲンで任意選択で置換されており、各 R^{A1} 及び R^{B1} は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、 p 及び q の各々は、独立して、0、1、2、3、4、5、または 6 であり、

【化 2 6】

30

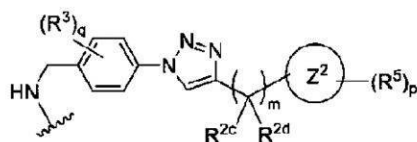
「」

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0 2 2 3】

いくつかの実施形態において、式 (III) の化合物は、式 (III-c) の化合物：

【化 2 7】



(III-c)

40

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、環 Z^2 は、シクロアルキル、ヘテロシク

50

リル、アリール、またはヘテロアリールであり、 R^{2c} 及び R^{2d} の各々は、独立して、水素、アルキル、もしくはヘテロアルキルであるか、または R^{2c} 及び R^{2d} は、一緒になってオキシ基を形成し、各 R^3 及び R^5 は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキシ、 $-OR$ 、 $-C(O)OR$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、各アルキル及びヘテロアルキルは、ハロゲンで任意選択で置換されており、各 R^{A1} 及び R^{B1} は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、 m は、1、2、3、4、5、または6であり、 p 及び q の各々は、独立して、0、1、2、3、4、5、または6であり、

【化28】

10

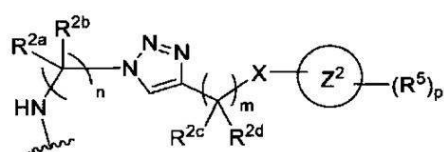
「」

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0224】

一部の実施形態では、式(III)の化合物は、式(III-d)の化合物

【化29】



(III-d)

20

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、環 Z^2 は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、 X は、非存在、 O 、または S であり、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素、アルキル、もしくはヘテロアルキルであるか、または R^{2a} 及び R^{2b} もしくは R^{2c} 及び R^{2d} の各々は、一緒になってオキシ基を形成し、各 R^5 は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキシ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、各アルキル及びヘテロアルキルは、ハロゲンで任意選択で置換されており、各 R^{A1} 及び R は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、 m 及び n の各々は、独立して、1、2、3、4、5、または6であり、 p は、0、1、2、3、4、5、または6であり、

【化30】

30

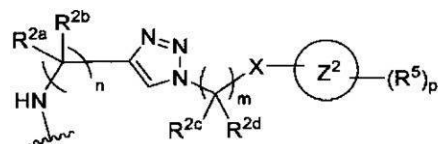
「」

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0225】

一部の実施形態では、式(III)の化合物は、式(III-e)の化合物

【化31】



(III-e)

40

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、環 Z^2 は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールであり、 X は、非存在、 O 、または S であり、 R^2

50

a 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素、アルキル、もしくはヘテロアルキルであるか、または R^{2a} 及び R^{2b} もしくは R^{2c} 及び R^{2d} の各々は、一緒になってオキソ基を形成し、各 R^5 は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、各 R^{A1} 及び R^{B1} は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、 m 及び n の各々は、独立して、1、2、3、4、5、または6であり、 p は、0、1、2、3、4、5、または6であり、

【化32】

「」

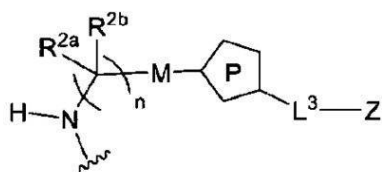
10

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0226】

一部の実施形態では、式(III)の化合物は、式(III-f)の化合物

【化33】



(III-f)、

20

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、 M は、1つ以上の R^3 で任意選択で置換されたアルキルであり、環 P は、1つ以上の R^4 で任意選択で置換されたヘテロアリールであり、 L^3 は、1つ以上の R^2 で任意選択で置換されたアルキルまたはヘテロアルキルであり、 Z は、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、これらの各々は、1つ以上の R^5 で任意選択で置換されており、 R^{2a} 及び R^{2b} の各々は、独立して、水素、アルキル、もしくはヘテロアルキルであるか、または R^{2a} 及び R^{2b} は、一緒になってオキソ基を形成し、各 R^2 、 R^3 、 R^4 、及び R^5 は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、各 R^{A1} 及び R^{B1} は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、 n は、独立して、1、2、3、4、5、または6であり、

30

【化34】

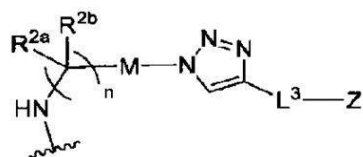
「」

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0227】

いくつかの実施形態では、式(III)の化合物は、式(IV)の化合物：

【化35】



(IV)、

50

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、Mは、結合、アルキルまたはアリールであり、アルキル及びアリールは、1つ以上の R^3 で任意選択で置換されており、 L^3 は、1つ以上の R^2 で任意選択で置換されたアルキルまたはヘテロアルキルであり、Zは、水素、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールまたは $-OR$ であり、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、1つ以上の R^5 で任意選択で置換されており、 R^A は、水素であり、 R^{2a} 及び R^{2b} の各々は、独立して、水素、アルキル、もしくはヘテロアルキルであるか、または R^{2a} 及び R^{2b} は、一緒になってオキシ基を形成し、各 R^2 、 R^3 、及び R^5 は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキシ、 $-OR^{A1}$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、各 R^{A1} 及び R^{B1} は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、nは、独立して、1、2、3、4、5、または6であり、

【化36】

10

「」

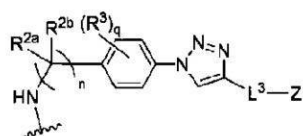
は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0228】

いくつかの実施形態では、式(IV)の化合物は、式(IV-a)の化合物：

【化37】

20



(IV-a)

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、 L^3 は、アルキルまたはヘテロアルキルであり、これらの各々は、1つ以上の R^2 で任意選択で置換されており、Zは、水素、アルキル、ヘテロアルキル、または $-OR^A$ であり、ヘテロアルキルは、1つ以上の R^5 で任意選択で置換されており、 R^{2a} 及び R^{2b} の各々は、独立して、水素、アルキル、もしくはヘテロアルキルであるか、または R^{2a} 及び R^{2b} は、一緒になってオキシ基を形成し、各 R^2 、 R^3 、及び R^5 は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキシ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ であり、 R^A は、水素であり、各 R^{A1} 及び R^{B1} は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、nは、独立して、1、2、3、4、5、または6であり、

30

【化38】

「」

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

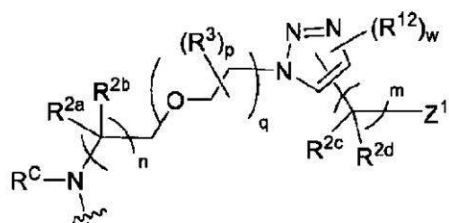
40

【0229】

いくつかの実施形態では、式(III)の化合物は、式(V)の化合物：

50

【化 3 9】



(V)

10

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、Z¹は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、これらの各々は、1～5個のR⁵で任意選択で置換されており、R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及びR^{2d}の各々は、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、ニトロ、アミノ、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、もしくはヘテロアリールであるか、またはR^{2a}及びR^{2b}もしくはR^{2c}及びR^{2d}の各々は、一緒になってオキシ基を形成し、R^Cは、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、またはヘテロアルキルであり、アルキル、アルケニル、アルキニル、またはヘテロアルキルの各々は、1～6個のR⁶で任意選択で置換されており、R³、R⁵、及びR⁶の各々は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキシ、-OR^{A1}、-C(O)OR^{A1}、または-C(O)R^{B1}であり、各R¹²は、独立して、重水素、アルキル、ヘテロアルキル、ハロアルキル、ハロ、シアノ、ニトロ、またはアミノであり、各R^{A1}及びR^{B1}は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、m及びnは、それぞれ独立して、1、2、3、4、5、または6であり、qは、0～25の整数であり、wは、0または1であり、

20

【化 4 0】

「~~~~~」

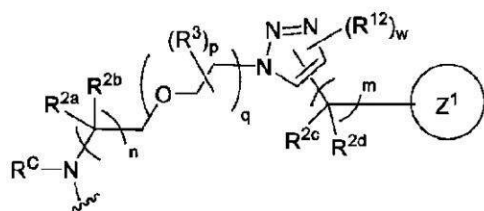
30

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0 2 3 0】

いくつかの実施形態では、式(V)の化合物は、式(V-a)の化合物：

【化 4 1】



(V-a)

40

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、環Z¹は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、これらの各々は、1～5個のR⁵で任意選択で置換されており、R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及びR^{2d}の各々は、独立して、水素、アルキル、ヘテロアルキル、ハロであるか、またはR^{2a}及びR^{2b}もしくはR^{2c}及びR^{2d}は、一緒になってオキシ基を形成し、R^Cは、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、またはヘテロアルキルであり、アルキル、アルケニル、アルキニル、またはヘテ

50

ロアルキルの各々は、1～6個の R^6 で任意選択で置換されており、 R^3 、 R^5 、及び R^6 の各々は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、各 R^{12} は、独立して、重水素、アルキル、ヘテロアルキル、ハロアルキル、ハロ、シアノ、ニトロ、またはアミノであり、各 R^{A1} 及び R^{B1} は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、 m 及び n は、各々独立して、1、2、3、4、5、または6であり、 o 及び p は、各々独立して、0、1、2、3、4、または5であり、 q は、0～25の整数であり、 w は、0または1であり、

【化42】

10

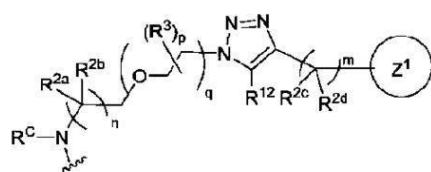
「」

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0231】

いくつかの実施形態では、式(V)の化合物は、式(V-b)の化合物：

【化43】



(V-b)

20

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、環 Z^1 は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、これらの各々は、1～5個の R^5 で任意選択で置換されており、 R^C は、水素、アルキル、 $-N(R^C)C(O)R^B$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルキル})$ 、または $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルケニル})$ であり、アルキル及びアルケニルの各々は、1～6個の R^6 で任意選択で置換されており、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素もしくはアルキルであるか、または R^{2a} 及び R^{2b} もしくは R^{2c} 及び R^{2d} は、一緒になってオキソ基を形成し、 R^3 、 R^5 、及び R^6 の各々は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、各 R^{12} は、独立して、水素、重水素、アルキル、ヘテロアルキル、ハロアルキル、ハロ、シアノ、ニトロ、またはアミノであり、各 R^{A1} 、 R^{B1} 、及び R^{E1} は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、 m 及び n は、各々独立して、1、2、3、4、5、または6であり、 q は、0～25の整数であり、 x は、0、1、または2であり、

30

【化44】

40

「」

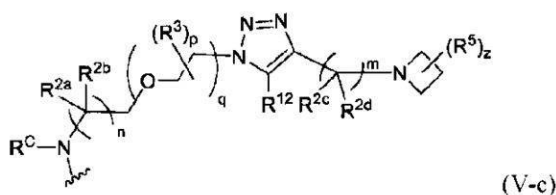
は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0232】

いくつかの実施形態では、式(V)の化合物は、式(V-c)の化合物：

50

【化 4 5】



10

またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、 R^C は、水素、アルキル、 $-N(R^C)C(O)R^B$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルキル})$ 、または $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルケニル})$ であり、アルキル及びアルケニルの各々は、1～6個の R^6 で任意選択で置換されており、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素もしくはアルキルであるか、または R^{2a} 及び R^{2b} もしくは R^{2c} 及び R^{2d} は、一緒になってオキソ基を形成し、 R^3 、 R^5 、及び R^6 の各々は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、 R^{12} は、水素、重水素、アルキル、ヘテロアルキル、ハロアルキル、ハロ、シアノ、ニトロ、またはアミノであり、各 R^{A1} 、 R^{B1} 、及び R^{E1} は、独立して、水素、アルキル、またはヘテロアルキルであり、 m 及び n は、各々独立して、1、2、3、4、5、または6であり、 q は、0～25の整数であり、 x は、0、1、または2であり、 z は、0、1、2、3、4、5、または6であり、

20

【化 4 6】

「」

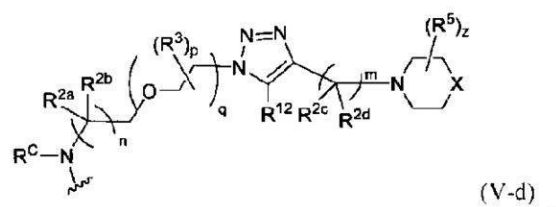
は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0233】

いくつかの実施形態では、式(V)の化合物は、式(V-d)の化合物：

【化 4 7】

30



またはその薬学的に許容可能な塩であり、式中、 X は、 $C(R')(R'')$ 、 $N(R')$ 、または $S(O)_x$ であり、 R' 及び R'' の各々は、独立して、水素、アルキル、またはハロゲンであり、 R^C は、水素、アルキル、 $-N(R^C)C(O)R^B$ 、 $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルキル})$ 、または $-N(R^C)C(O)(C_1-C_6\text{-アルケニル})$ であり、アルキル及びアルケニルの各々は、1～6個の R^6 で任意選択で置換されており、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素もしくはアルキルであるか、または R^{2a} 及び R^{2b} もしくは R^{2c} 及び R^{2d} は、一緒になってオキソ基を形成し、 R^3 、 R^5 、及び R^6 の各々は、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、ハロゲン、オキソ、 $-OR^{A1}$ 、 $-C(O)OR^{A1}$ 、または $-C(O)R^{B1}$ であり、各 R^{12} は、独立して、水素、重水素、アルキル、ヘテロアルキル、ハロアルキル、ハロ、シアノ、ニトロ、またはアミノであり、各 R^{A1} 、 R^{B1} 、及び R^{E1} は、独立して、水素、アルキル

40

50

、またはヘテロアルキルであり、 m 及び n は、各々独立して、1、2、3、4、5、または6であり、 q は、0～25の整数であり、 x は、0、1、または2であり、 z は、0、1、2、3、4、5、または6であり、

【化48】

「*www*」

は、本明細書に記載の結合基またはポリマーへの接続を指す。

【0234】

いくつかの実施形態では、 X は、 $S(O)_x$ である。いくつかの実施形態では、 x は、2である。いくつかの実施形態では、 X は、 $S(O)_2$ である。

10

【0235】

いくつかの実施形態では、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素である。

【0236】

いくつかの実施形態では、 R^C は、水素、 $-C(O)(C_1-C_6\text{-アルキル})$ 、または $-C(O)(C_1-C_6\text{-アルケニル})$ である。いくつかの実施形態では、アルキル及びアルケニルの各々は、1個の R^6 （例えば、 $-CH_3$ ）で置換されている。いくつかの実施形態では、 R^C は、水素である。

20

【0237】

いくつかの実施形態では、 n は、1である。いくつかの実施形態では、 q は、2、3、4、または5である。いくつかの実施形態では、 q は、3である。いくつかの実施形態では、 m は、1である。いくつかの実施形態では、 p は、0である。いくつかの実施形態では、 R^{12} は、ハロ（例えば、 Cl ）である。

【0238】

いくつかの実施形態では、化合物は、式(III)の化合物である。いくつかの実施形態では、 L^2 は、結合であり、 P 及び L^3 は、独立して、非存在である。

【0239】

いくつかの実施形態では、化合物は、式(III-a)の化合物である。式(IV-a)のいくつかの実施形態では、 L^2 は、結合であり、 P は、ヘテロアリールであり、 L^3 は、結合であり、 Z は、水素である。いくつかの実施形態では、 P は、ヘテロアリールであり、 L^3 は、ヘテロアルキルであり、 Z は、アルキルである。いくつかの実施形態では、 L^2 は、結合であり、 P 及び L^3 は、独立して、非存在である。いくつかの実施形態では、 L^2 は、結合であり、 P は、ヘテロアリールであり、 L^3 は、結合であり、 Z は、水素である。いくつかの実施形態では、 P は、ヘテロアリールであり、 L^3 は、ヘテロアルキルであり、 Z は、アルキルである。

30

【0240】

いくつかの実施形態では、化合物は、式(III-b)の化合物である。いくつかの実施形態では、 P は、非存在であり、 L^1 は、 $-NHCH_2$ であり、 L^2 は、結合であり、 M は、アリール（例えば、フェニル）であり、 L^3 は、 $-CH_2O$ であり、 Z は、ヘテロシクリル（例えば、窒素含有ヘテロシクリル、例えば、チオモルホリニル-1，1-ジオキシド）である。いくつかの実施形態では、式(III-b)の化合物は、化合物116である。

40

【0241】

式(III-b)のいくつかの実施形態では、 P は、非存在であり、 L^1 は、 $-NHCH_2$ であり、 L^2 は、結合であり、 M は、非存在であり、 L^3 は、結合であり、 Z は、ヘテロシクリル（例えば、酸素含有ヘテロシクリル、例えば、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、オキセタニル、またはオキシラニル）である。いくつかの実施形態では、式(III-b)の化合物は、化合物105である。

【0242】

50

いくつかの実施形態では、化合物は、式 (III-b-i) の化合物である。式 (III-b-i) のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 及び R^{2b} の各々は、独立して、水素または CH_3 であり、 R^{2c} 及び R^{2d} の各々は、独立して、水素であり、 m は、1 または 2 であり、 n は、1 であり、 X は、 O であり、 p は、0 であり、 M^2 は、1 つ以上の R^3 で任意選択で置換されたフェニルであり、 R^3 は、 $-CF_3$ であり、 Z^2 は、ヘテロシクリル (例えば、酸素含有ヘテロシクリル、例えば、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、オキセタニル、またはオキシラニル) である。いくつかの実施形態では、式 (III-b-i) の化合物は、化合物 100、化合物 106、化合物 107、化合物 108、化合物 109、または化合物 111 である。

[0243]

いくつかの実施形態では、化合物は、式 (III-b-ii) の化合物である。式 (III-b-ii) のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素であり、 q は、0 であり、 p は、0 であり、 m は、1 であり、 Z^2 は、ヘテロシクリル (例えば、酸素含有ヘテロシクリル、例えば、テトラヒドロピラニル) である。いくつかの実施形態では、式 (III-b-ii) の化合物は、化合物 100 である。

[0244]

いくつかの実施形態では、化合物は、式 (III-c) の化合物である。式 (III-c) のいくつかの実施形態では、 R^{2c} 及び R^{2d} の各々は、独立して、水素であり、 m は、1 であり、 p は、1 であり、 q は、0 であり、 R^5 は、 $-CH_3$ であり、 Z は、ヘテロシクリル (例えば、窒素含有ヘテロシクリル、例えば、ピペラジニル) である。いくつかの実施形態では、式 (III-c) の化合物は、化合物 113 である。

[0245]

いくつかの実施形態では、化合物は、式 (III-d) の化合物である。式 (III-d) のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素であり、 m は、1 であり、 n は、3 であり、 X は、 O であり、 p は、0 であり、 Z は、ヘテロシクリル (例えば、酸素含有ヘテロシクリル、例えば、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、オキセタニル、またはオキシラニル) である。いくつかの実施形態では、式 (III-d) の化合物は、化合物 110 または化合物 114 である。

[0246]

いくつかの実施形態では、化合物は、式 (III-f) の化合物である。式 (III-f) のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 及び R^{2b} の各々は、独立して、水素であり、 n は、1 であり、 M は、 $-CH_2-$ であり、 P は、窒素含有ヘテロアリール (例えば、イミダゾリル) であり、 L^3 は、 $-C(O)OCH_2-$ であり、 Z は、 CH_3 である。いくつかの実施形態では、式 (III-f) の化合物は、化合物 115 である。

[0247]

いくつかの実施形態では、化合物は、式 (IV-a) の化合物である。式 (IV-a) のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 及び R^{2b} の各々は、独立して、水素であり、 n は、1 であり、 q は、0 であり、 L^3 は、 $-CH_2(OCH_2CH_2)_2$ であり、 Z は、 $-OCH_3$ である。いくつかの実施形態では、式 (IV-a) の化合物は、化合物 112 である。

[0248]

式 (IV-a) のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 及び R^{2b} の各々は、独立して、水素であり、 n は、1 であり、 L^3 は、結合または $-CH_2$ であり、 Z は、水素または $-OH$ である。いくつかの実施形態では、式 (IV-a) の化合物は、化合物 103 または化合物 104 である。

[0249]

いくつかの実施形態では、化合物は、式 (V) の化合物である。式 (V) のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素であり、 m は、1 であり、 n は、2 であり、 q は、3 であり、 p は、0 であり、 R^c は、水素であり

10

20

30

40

50

、 Z^1 は、 R^5 （例えば、 $-N(CH_3)(CH_2CH_2)S(O)_2CH_3$ ）で任意選択で置換されたヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、式（V）の化合物は、化合物120である。

【0250】

いくつかの実施形態では、化合物は、式（V-b）の化合物である。式（V-b）のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素であり、 m は、0であり、 n は、2であり、 q は、3であり、 p は、0であり、 Z^2 は、1個の R^5 （例えば、 $-NH_2$ ）で置換されたアリール（例えば、フェニル）である。いくつかの実施形態では、式（III-b）の化合物は、化合物102である。

【0251】

いくつかの実施形態では、化合物は、式（V-b）の化合物である。式（V-b）のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素であり、 m は、1であり、 n は、2であり、 q は、3であり、 p は、0であり、 R^c は、水素であり、 Z^2 は、ヘテロシクリル（例えば、窒素含有ヘテロシクリル、例えば、窒素含有スピロヘテロシクリル、例えば、2-オキサー7-アザスピロ[3.5]ノナニル）である。いくつかの実施形態では、式（V-b）の化合物は、化合物121である。

【0252】

いくつかの実施形態では、化合物は、式（V-d）の化合物である。式（V-d）のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、及び R^{2d} の各々は、独立して、水素であり、 m は、1であり、 n は、2であり、 q は、1、2、3、または4であり、 p は、0であり、 X は、 $S(O)_2$ である。式（V-d）のいくつかの実施形態では、 R^{2a} 及び R^{2b} の各々は、独立して、水素であり、 m は、1であり、 n は、2であり、 q は、1、2、3、または4であり、 p は、0であり、 X は、 $S(O)_2$ である。いくつかの実施形態では、式（V-d）の化合物は、化合物101、化合物117、化合物118、または化合物119である。

【0253】

いくつかの実施形態では、化合物は、式（III-b）、（III-d）、または（III-e）の化合物である。いくつかの実施形態では、化合物は、式（III-b）、（III-d）、または（IV）の化合物である。いくつかの実施形態では、化合物は、式（III-b）、（III-d）、または（III-f）の化合物である。いくつかの実施形態では、化合物は、式（III-b）、（III-d）、または（V）の化合物である。

【0254】

いくつかの実施形態では、式（I）の化合物は、WO2012/112982、WO2012/167223、WO2014/153126、WO2016/019391、WO2017/075630、US2012/0213708、US2016/0030359、またはUS2016/0030360に開示される化合物ではない。

【0255】

いくつかの実施形態では、式（III）の化合物は、本明細書で以下の表6に示される化合物、またはその薬学的に許容可能な塩を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のデバイス内の外側表面及び／または1つ以上の区画は、表6に示される小分子化合物、またはその薬学的に許容可能な塩を含む。

10

20

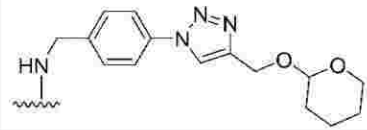
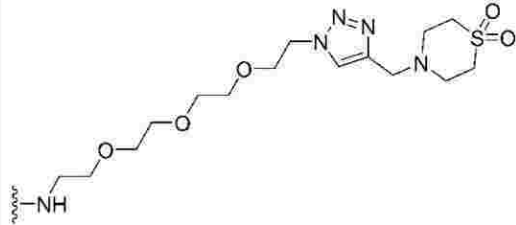
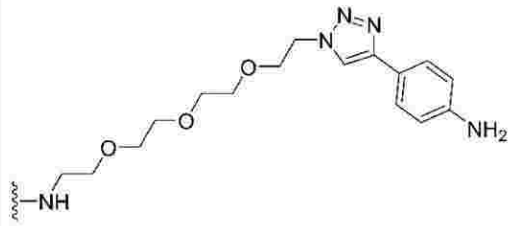
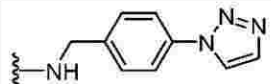
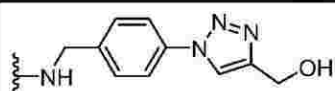
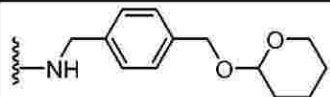
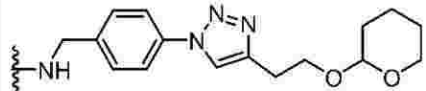
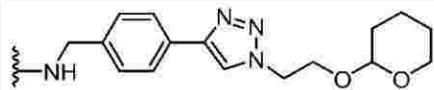
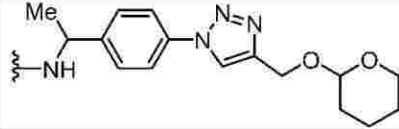
30

40

50

【表 8 - 1】

表 6：例示的な非線維性（FBR軽減）化合物

化合物番号	構造
100	
101	
102	
103	
104	
105	
106	
107	
108	

10

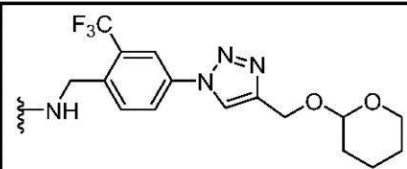
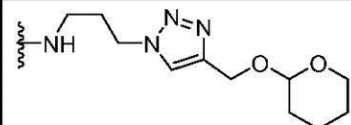
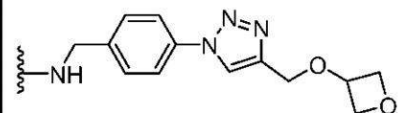
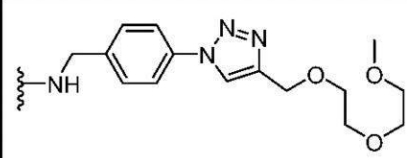
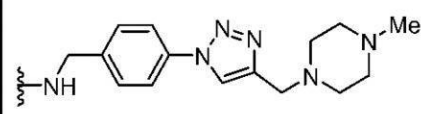
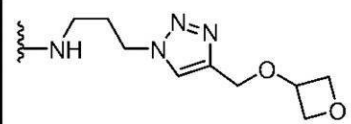
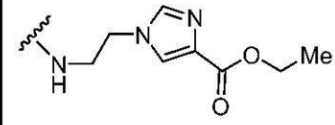
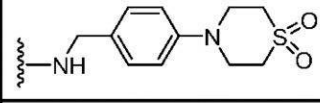
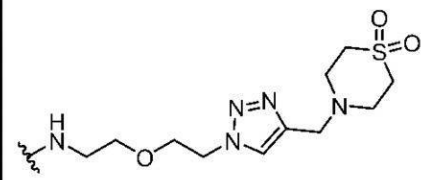
20

30

40

50

【表 8 - 2】

109	
110	
111	
112	
113	
114	
115	
116	
117	

10

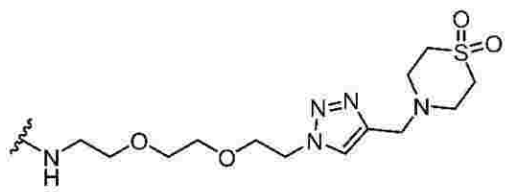
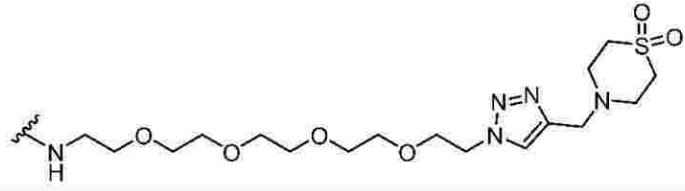
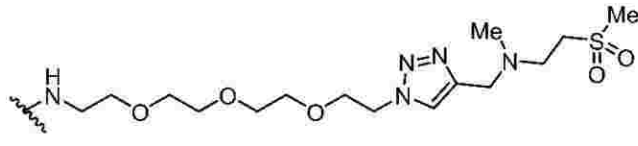
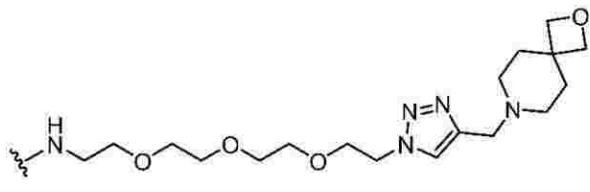
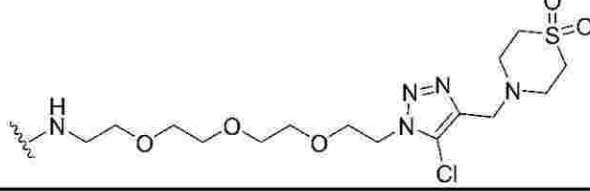
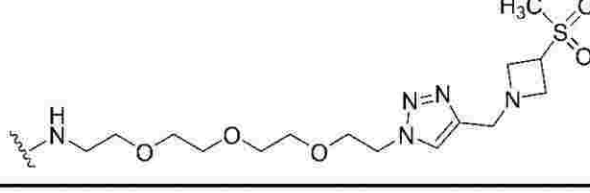
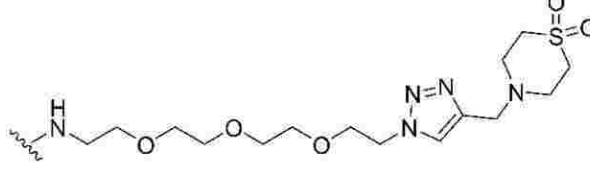
20

30

40

50

【表 8 - 3】

118	
119	
120	
121	
122	
123	
124	

10

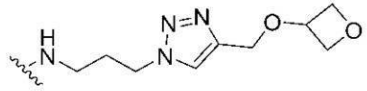
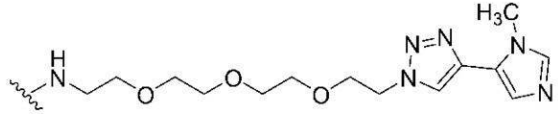
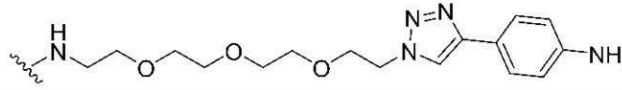
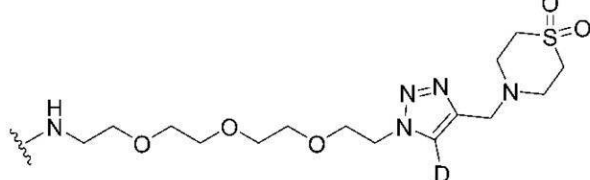
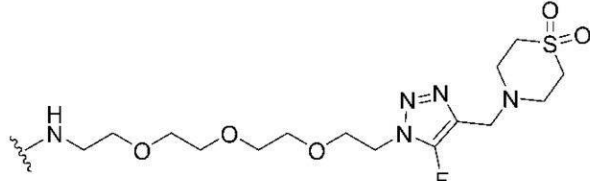
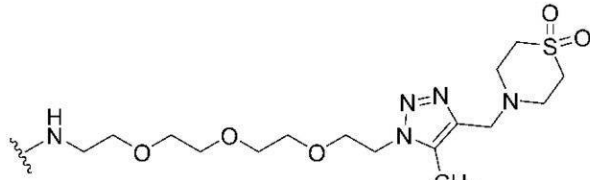
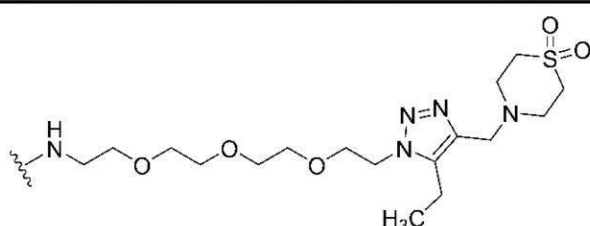
20

30

40

50

【表 8 - 4】

125	
126	
127	
128	
129	
130	
131	

10

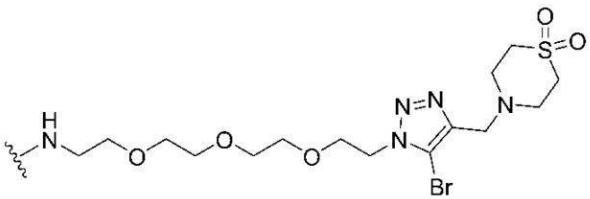
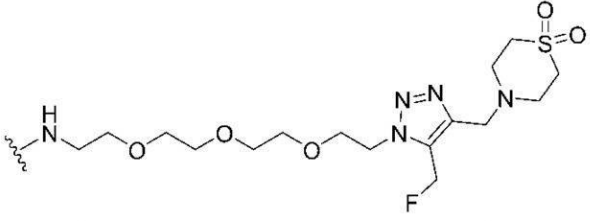
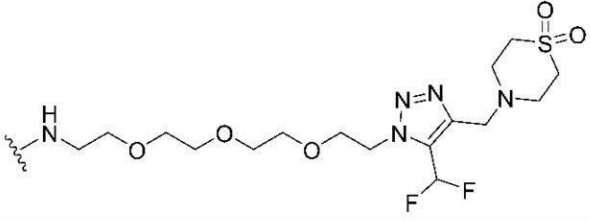
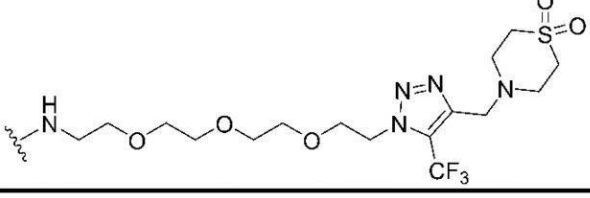
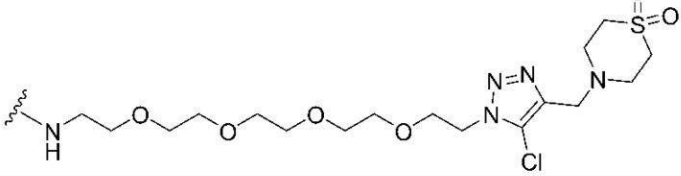
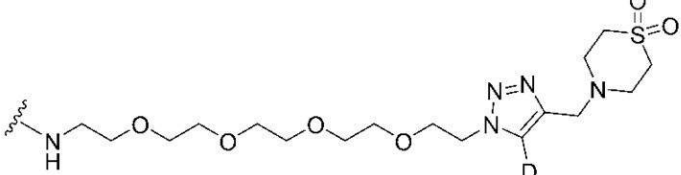
20

30

40

50

【表 8 - 5】

132	
133	
134	
135	
136	
137	

10

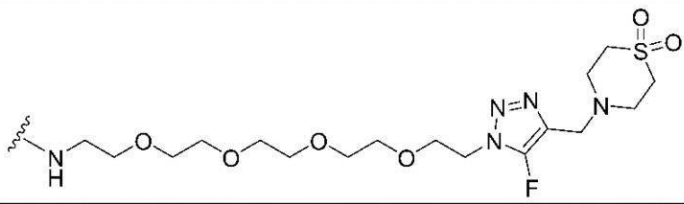
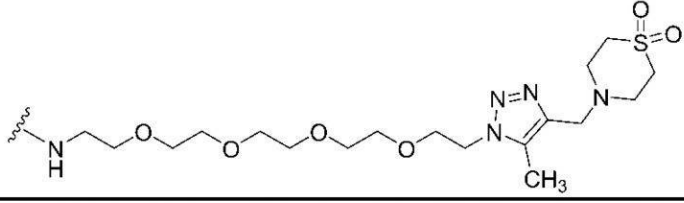
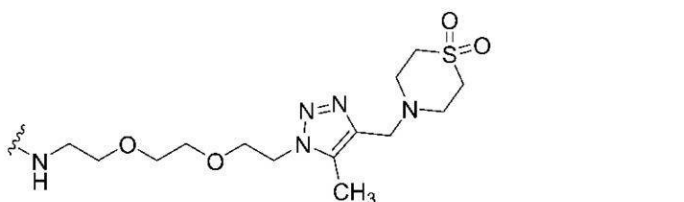
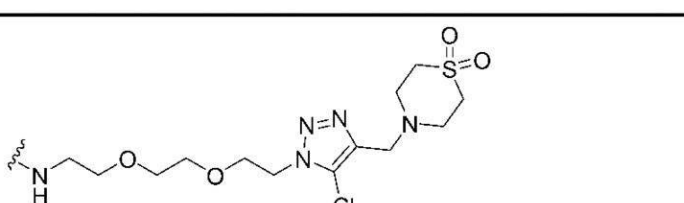
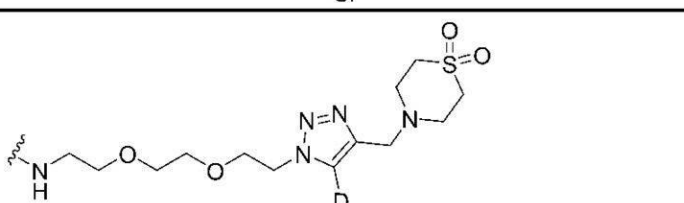
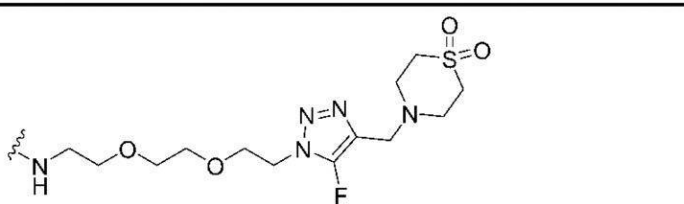
20

30

40

50

【表 8 - 6】

138	
139	
140	
141	
142	
143	

10

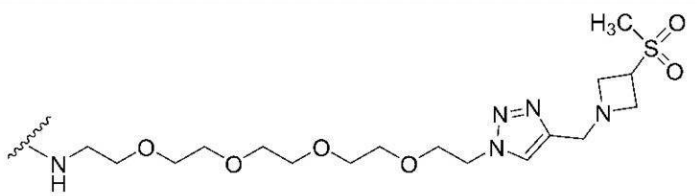
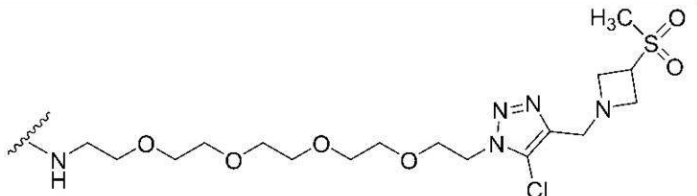
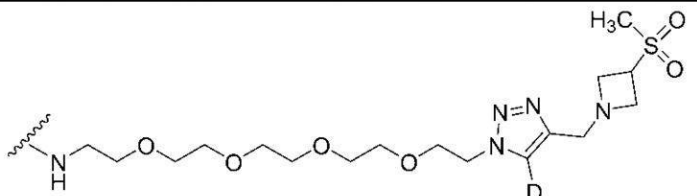
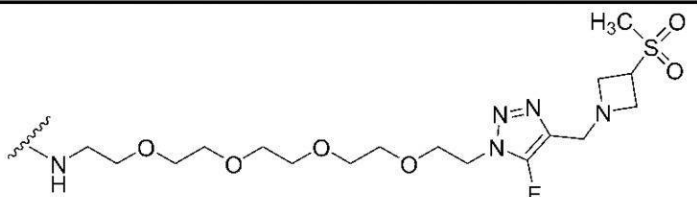
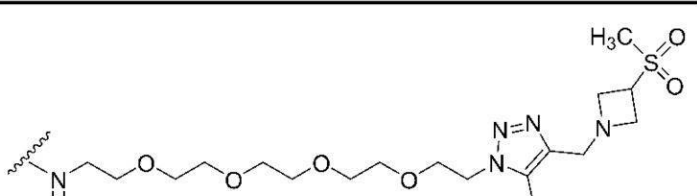
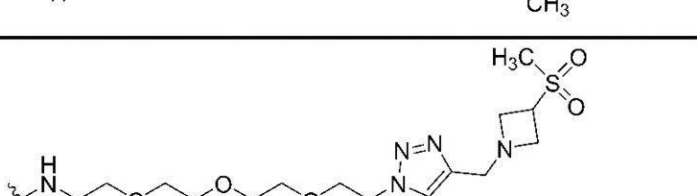
20

30

40

50

【表 8 - 7】

144	
145	
146	
147	
148	
149	

10

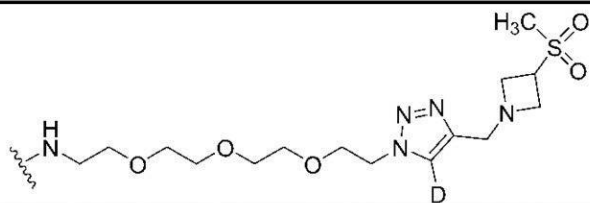
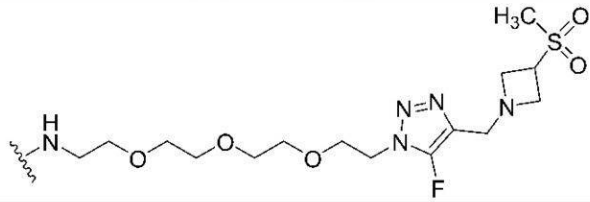
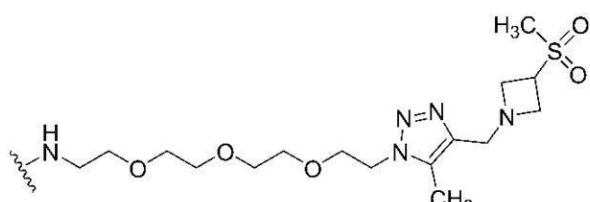
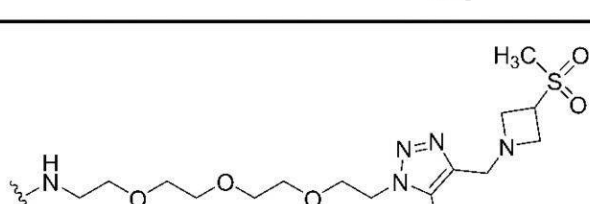
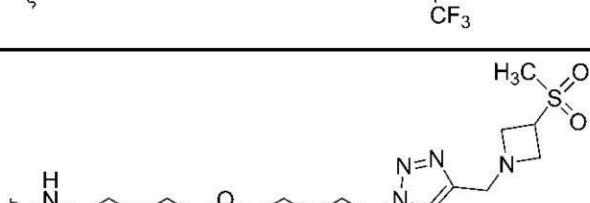
20

30

40

50

【表 8 - 8】

150	
151	
152	
153	
154	

10

20

30

【0256】

表6の化合物のいずれかとポリマー（例えば、アルギネート）とのコンジュゲーションは、WO2019/195055の実施例2に記載されているように、または任意の他の好適な化学反応で行われ得る。

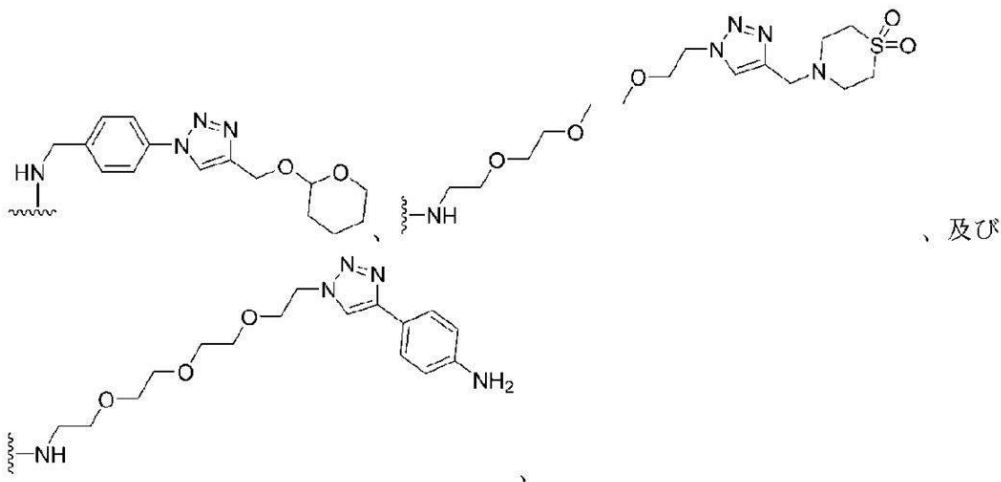
【0257】

いくつかの実施形態では、化合物は、式（III）の化合物またはその薬学的に許容可能な塩であり、

40

50

【化 4 9】



10

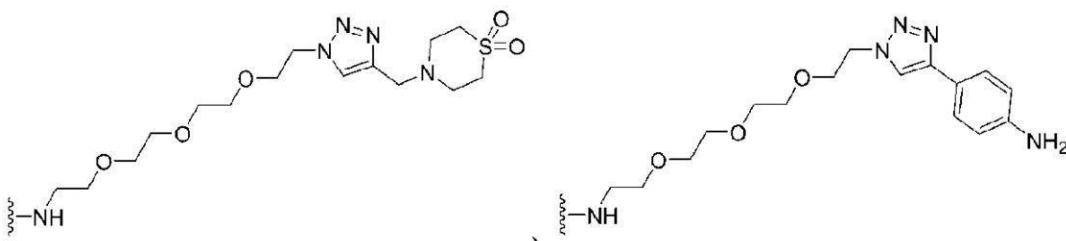
またはその薬学的に許容可能な塩から選択される。

【0258】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のデバイスは、

【化 5 0】

20



の化合物、またはいずれかの化合物の薬学的に許容可能な塩を含む。

30

【0259】

いくつかの実施形態では、式 (III) の化合物（例えば、表 6 における化合物 101）は、WO2020/069429 に記載されているように窒素率について燃焼分析によって決定される場合、少なくとも 2.0% かつ 9.0% 未満、または 3.0% ~ 8.0%、4.0% ~ 7.0%、5.0% ~ 7.0%、または 6.0% ~ 7.0%、または約 6.8 のコンジュゲーション密度でアルギネート（例えば、およその MW < 75 kDa、G:M 比 ≥ 1.5 を有するアルギネート）に共有結合的に結合される。一実施形態では、修飾されたアルギネートにおける化合物 101 のコンジュゲーション密度は、例えば、WO2020198695 に記載されているように、定量的遊離アミン分析によって決定され、決定されたコンジュゲーション密度は、1.0% w/w ~ 3.0% w/w、1.3% w/w ~ 2.8% w/w、1.3% w/w ~ 2.6% w/w、1.5% w/w ~ 2.4% w/w、1.5% w/w ~ 2.2% w/w、または 1.7% w/w ~ 2.2% w/w である。

40

【0260】

デバイス、デバイス調製物、またはデバイス組成物は、体の任意の部位もしくは部分の中、またはその上への埋め込みのために構成され得、あるいは埋め込まれるか、または配置される。いくつかの実施形態では、埋め込み可能なデバイスまたはデバイス調製物は、腹腔（例えば、小囊、網囊（omental bursa）または網囊（bursal is omentum）としても知られる）への埋め込みのために構成される。デバイス、デバイス調製物、またはデバイス組成物は、注射またはカテーテルを介して、腹腔（例えば、網、例えば、小囊）内に埋め込まれるか、または腹腔（例えば、網、例えば、小囊

50

）内の表面上に配置され得る。網（例えば、小嚢）へのデバイス、デバイス調製物、またはデバイス組成物の埋め込みまたは配置に関する追加の考慮事項が、M. P e l l i c c i a r o e t a l . (2 0 1 7) C e l l R 4 5 (3) : e 2 4 1 0 に提供されている。

【0261】

デバイス製造

本明細書に記載のデバイスを製造するために使用するための遺伝子改変ARPE-19細胞は、当該技術分野で既知の方法を使用して生成及び培養され得る。例えば、安定的に形質導入されたARPE-19細胞は、実質的にWO2020/198695に記載されるようにインビトロで培養され得る。

【0262】

式(III)の化合物及びかかる化合物で修飾されたアルギネートは、当該技術分野で既知の手順、例えば、実質的にWO2020/198695号に記載されているものを使用して得ることができる。

【0263】

非線維性の2区画ヒドロゲルカプセルを作製するためのアルギネート溶液は、当該技術分野で既知の手順、例えば、実質的にWO2020/198695に記載されるように使用して得ることができる。

【0264】

内側区画に遺伝子改変哺乳動物細胞及び外側層に非線維性アルギネートをカプセル化する2区画ヒドロゲルカプセル（「シールドカプセル」）は、当該技術分野で既知の手順、例えば、実質的にWO2020/198696に記載されるように使用して生成され得る。

【0265】

治療方法

本明細書に記載の薬学的組成物または遺伝子改変細胞の投与または埋め込みによって、対象におけるCNS疾患または状態（例えば、リソソーム貯蔵疾患、例えば、MPS-1）を予防または治療するための方法が、本明細書に記載される。実施形態では、薬学的組成物は、BBB輸送融合タンパク質を含み、静脈内または皮下投与のために製剤化される。別の実施形態では、薬学的組成物は、BBB輸送融合タンパク質を発現するように遺伝子改変されている複数の細胞を含む。実施形態では、細胞は、本明細書に記載のヒドロゲルカプセルにカプセル化される。別の実施形態では、細胞は、本明細書に記載のマクロデバイスにカプセル化される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法は、直接的または間接的に、CNS疾患または状態の少なくとも1つの症状を低減もしくは緩和するか、または疾患の発症を予防もしくは遅延させる。実施形態では、方法は、内側区画に本明細書に記載の遺伝子改変RPE細胞及び細胞結合ポリマーを含み、外部カプセル表面及び任意選択で外側区画に式(III)の化合物、例えば、化合物101を含む、2区画アルギネートヒドロゲルカプセルの有効量の組成物を投与すること（例えば、埋め込むこと）を含む。

【0266】

MPS-1を治療すること

本開示は、MPS-1を有するヒト患者を、本明細書に記載のBBB輸送IDUA融合タンパク質を患者に投与することによって治療する方法を提供する。実施形態では、投与するステップは、BBB輸送IDUA融合タンパク質を発現及び分泌するように操作された細胞を埋め込むことを含み、細胞は、本明細書に記載のマクロデバイスまたは2区画アルギネートヒドロゲルカプセルにカプセル化され得る。実施形態では、BBB輸送IDUA融合タンパク質を発現するカプセル化細胞が、腹腔（例えば、小嚢、網嚢（omental bursa）または網嚢bursalis omentum）としても知られる）に埋め込まれる。実施形態では、埋め込んだ細胞によって発現及び分泌されるBBB輸送IDUA融合タンパク質は、配列番号28または配列番号29を含む。

【0267】

BBB輸送IDUA融合タンパク質を用いた治療の治療有効性は、承認された実験的なMPS1療法に使用されている1つ以上の有効性測定を使用して評価され得る。かかる有効性測定には、典型的には、尿中グリコサミノグリカン（例えば、ヘパラン硫酸）レベルにおける低下、肝臓体積における低下、安定した強制肺活量、6分間の歩行距離における増加、無呼吸／低呼吸指数における改善、肩の屈曲における増加、小児健康評価アンケート（Child Health Assessment Questionnaire）／健康評価アンケート障害指数（Health Assessment Questionnaire disability index）における改善が含まれる。実施形態では、有効性測定は、GGG輸送IDUA融合タンパク質を発現する細胞の埋め込み後の所望の時点で行われ、埋め込み前のベースラインレベルと比較される。実施形態では、所望の時点は、15日、30日、60日、120日、1年、またはそれより長いうちのいずれか1つ以上である。

10

【0268】

実施形態では、本明細書に記載のBBB輸送IDUA融合タンパク質による対象の治療は、対象の脳、ならびに任意選択で1つ以上の非CNS器官及び組織、例えば、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、及び肺における低下したヘパラン硫酸レベルをもたらす。実施形態では、ヘパラン硫酸レベルは、所望の時点で少なくとも10%、25%、50%、またはそれ以上低下される。

20

【0269】

列挙された例示的な実施形態

1. 式I: AB-L1-RB-L2-Cまたは式II: RB-L1-AB-L2-Cによって定義されるN末端～C末端構造を含む融合タンパク質であって、式中、式I及びIIの各々において、

ABが、ヒト血清アルブミン（HSA）に結合するドメインを含み、

L1が、存在または非存在であり得、第1のリンカーアミノ酸配列を含み、

RBが、ヒトIGF1R（hIGF1R）の細胞外ドメインに結合するドメインを含み、

L2が、存在または非存在であり得、前記第1のリンカーアミノ酸配列と同じかまたは異なる第2のリンカーアミノ酸配列を含み、

30

Cが、カーゴ部分である、前記融合タンパク質。

【0270】

2. 式I: AB-L1-RB-L2-Cによって定義される、実施形態1に記載の融合タンパク質。

【0271】

3. 式II: RB-L1-AB-L2-Cによって定義される、実施形態1に記載の融合タンパク質。

【0272】

4. ABが、約75kDa、約50kDa、または約25kDaのいずれか未満の分子量を有する、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

40

【0273】

5. RBが、約75kDa、約50kDa、または約25kDaのいずれか未満の分子量を有する、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0274】

6. 前記カーゴ部分が、約1kD～約200kD、または約2kD～約100kDの分子量を有する、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0275】

7. 前記カーゴ部分が、ポリペプチドのアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0276】

50

8. (i) ABが、抗HSA抗体の重鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR1、CDR2、及びCDR3に対応する第1、第2、及び第3のアミノ酸配列を含むか、または(ii) ABが、表2Aに示されるR11 sdAb、R28 sdAb、M75 sdAb、またはM79 sdAbのCDR1、CDR2、及びCDR3配列を含む、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0277】

9. ABが、単ドメイン抗体(sdAb)からのアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、任意選択で、前記アミノ酸配列が、上記の表2Bに開示されるR11、R28、M75、及びM79アミノ酸配列、WO2006/22787の表II及び表IIIに記載されるAlb-1及びAlb-8アミノ酸配列、ならびにWO2012/175400に記載されるAlb-23アミノ酸配列からなる群から選択される、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

10

【0278】

10. 前記AB CDR1配列が、GRTFIAYA(配列番号1)または保存的に置換されたそのバリエーションであり、前記AB CDR2配列が、ITNFAAGGTT(配列番号2)または保存的に置換されたそのバリエーションであり、前記AB CDR3配列が、AADRSAQTMRQVRPVLPLY(配列番号3)または保存的に置換されたそのバリエーションである、請求項7に記載の融合タンパク質。

【0279】

11. ABが、sdAbからのアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

20

【0280】

12. ABが、上記の表2Bに示される親配列またはヒト化配列から本質的になるか、またはそれからなる、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0281】

13. ABが、

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFIAYAMGWFRQ
APGKEREFVAAITNFAAGGTTYADSVKGRFTISRDNAKTT
VYLQMNSLKPEDTALYYCAADRSAQTMRQVRPVLPLYWGQG
TQVTVSS(配列番号4)、または保存的に置換されたそのバリエーションから本質的になるか、またはそれからなる、実施形態1~12のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

30

【0282】

14. ABが、

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFIAYAMGWFRQ
APGKEREFVAAITNFAAGGTTYADSVKGRFTISRDNAKTT
VYLQMNSLRAEDTAVYYCAADRSAQTMRQVRPVLPLYWGQG
TLVTVSS(配列番号5)、または保存的に置換されたそのバリエーションから本質的になるか、またはそれからなる、実施形態1~12のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

40

【0283】

15. ABが、HSAとの結合のための配列番号4もしくは配列番号5からなるsdAbと交差競合する、抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる、実施形態1~10のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0284】

16. 前記融合タンパク質が、ABを介してHSAのドメイン1(DI)またはドメイン2(DII)に結合し、ヒトFcRnのHSAとの結合を実質的に阻害しない、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0285】

17. 前記融合タンパク質が、表面プラズモン共鳴によって25℃で決定されたとき、

50

前記 A B ドメインを介して H S A に、約 5 . 0 ~ 約 7 . 4 の p H 範囲内において約 0 . 1 n M 未満 ~ 約 1 , 0 0 0 n M の解離定数 (K _D) 親和性で結合する、上記実施形態のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

【 0 2 8 6 】

1 8 . 前記融合タンパク質が、前記 A B ドメインを介して H S A に、約 5 . 5 ~ 約 7 . 4 の p H 範囲内において、約 0 . 5 n M ~ 約 5 0 0 n M 、約 1 n M ~ 約 2 5 0 n M 、約 5 n M ~ 約 5 0 n M 、約 1 0 n M ~ 約 2 5 n M 、または約 0 . 5 n M ~ 約 1 n M の K _D で結合する、実施形態 1 7 に記載の融合タンパク質。

【 0 2 8 7 】

1 9 . 前記融合タンパク質が、A B を介して少なくとも 1 つの哺乳動物血清アルブミンオルソログに、約 5 . 5 ~ 約 7 . 4 の p H 範囲内において 2 5 ° C で結合する、上記実施形態のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

【 0 2 8 8 】

2 0 . 前記融合タンパク質が、A B を介して、マウス血清アルブミン、ラット血清アルブミン、ハムスター血清アルブミン、ウサギ血清アルブミン、モルモットアルブミン、ブタアルブミン、ネコアルブミン、イヌアルブミン、及び非ヒト霊長類血清アルブミンからなる群から選択される 2 つ以上の哺乳動物血清アルブミンに結合し、任意選択で、前記非ヒト霊長類血清アルブミンが、カニクイザル血清アルブミンまたはアカゲザル血清アルブミンである、上記実施形態のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

【 0 2 8 9 】

2 1 . 前記融合タンパク質が、R B ドメインを介して、ヒト脳内皮細胞の表面に発現された h I G F 1 R に結合する、上記実施形態のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

【 0 2 9 0 】

2 2 . 前記融合タンパク質が、ヒトインスリン受容体 (h - I R) に実質的に結合しない、上記実施形態のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

【 0 2 9 1 】

2 3 . 前記融合タンパク質が、インスリン、インスリン成長因子 1 (I G F 1) 、またはインスリン成長因子 2 (I G F 2) の h I G F 1 R との結合を実質的に阻害しない、上記実施形態のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

【 0 2 9 2 】

2 4 . 前記融合タンパク質が、R B を介して、F E N F L H N S I F V P R (配列番号 6) を含む h I G F 1 R 細胞外ドメインにおけるエピトープに結合する、上記実施形態のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

【 0 2 9 3 】

2 5 . 前記融合タンパク質が、表面プラズモン共鳴によって 2 5 ° C で決定されるとき、R B を介して h I G F 1 R に、約 5 . 0 ~ 約 7 . 4 の p H 範囲内において約 0 . 1 n M ~ 約 1 , 0 0 0 n M の K _D 親和性で結合する、上記実施形態のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

【 0 2 9 4 】

2 6 . 前記融合タンパク質が、R B を介して h I G F 1 R に、(i) 約 0 . 2 n M から約 5 0 0 n M 、約 2 5 0 n M 、約 1 0 0 n M 、約 5 0 n M 、約 2 5 n M 、もしくは約 1 0 n M のうちのいずれか 1 つまで、(i i) 約 0 . 5 n M から約 2 5 0 n M 、約 1 0 0 n M 、約 5 0 n M 、約 2 5 n M 、約 1 0 n M 、もしくは約 5 n M のうちのいずれか 1 つまで、または (i i i) 約 1 n M から約 1 0 0 n M 、約 5 0 n M 、約 2 5 n M 、約 1 0 n M 、もしくは約 5 n M のうちのいずれか 1 つまでの K _D で結合する、実施形態 2 4 に記載の融合タンパク質。

【 0 2 9 5 】

2 7 . 前記融合タンパク質が、R B を介して h I G F 1 R に、1 n M ~ 1 0 n M の K _D で結合する、実施形態 2 5 に記載の融合タンパク質。

【 0 2 9 6 】

28. 前記融合タンパク質が、RBを介して少なくとも1つの哺乳動物IGF1Rオルソログに、25℃及び約5.0～約7.4のpH範囲内で結合する、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0297】

29. 前記融合タンパク質が、RBを介して、マウスIGF1R、ラットIGF1R、ハムスターIGF1R、ウサギIGF1R、モルモットIGF1R、イヌIGF1R、ネコIGF1R、及び非ヒト霊長類IGF1Rからなる群から選択される2つ以上の哺乳動物IGF1Rタンパク質に結合し、任意選択で、前記非ヒト霊長類IGF1Rが、カニクイザルIGF1RまたはアカゲザルIGF1Rである、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

10

【0298】

30. (i) RBが、抗hIGF1R抗体の重鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR1、CDR2、及びCDR3に対応する第1、第2、及び第3のアミノ酸配列のセットを含むか、または(ii) RBが、上記の表3Aに示されるIGF1R-5 sdAb、IGF1R-3 sdAb、及びIGF1R-4 sdAbのCDR1、CDR2、及びCDR3アミノ酸配列から選択される第1、第2、及び第3のアミノ酸配列のセットを含む、上記の実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0299】

31. RB CDR1配列が、GRTIDNYA（配列番号7）もしくは保存的に置換されたそのバリエーションであり、RB CDR2配列が、IDWGDGGX（Xは、AもしくはTである）（配列番号8）もしくは保存的に置換されたそのバリエーションであり、B3 CDR3配列が、AMARQSRVNL DVARYDY（配列番号9）もしくは保存的に置換されたそのバリエーションである、実施形態30に記載の融合タンパク質。

20

【0300】

32. 前記RB CDR2配列が、IDWGDGGA（配列番号10）である、実施形態31に記載の融合タンパク質。

【0301】

33. RBが、上記の表3Bに示される親またはヒト化配列から本質的になるか、またはそれからなる、実施形態30に記載の融合タンパク質。

【0302】

34. RBが、QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTIDNY AMAWSRQAPGKDREFVATIDWGDGGARYANSVKGRFTISR DNAKG TMYLQMNNLEPEDTAVYSCAMARQSRVNL DVARYD YWGQGTQVTVSS（配列番号11）もしくは保存的に置換されたそのバリエーションから本質的になるか、またはそれからなる、実施形態30に記載の融合タンパク質。

30

【0303】

35. RBが、QVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGRTIDNY AMAWVRQAPGKGLEWVATIDWGDGGTRYANSVKGRFTISR DNSKNTMYLQMNSLRAEDTAVYYCAMARQSRVNL DVARYD YWGQGT LVT VSS（配列番号12）もしくは保存的に置換されたそのバリエーションから本質的になるか、またはそれからなる、実施形態30に記載の融合タンパク質。

40

【0304】

36. RBが、(i) hIGF1Rとの結合のための配列番号11もしくは配列番号12からなるsdAbと交差競合するか、または(ii) EP3725806A1に記載の996、1226、及び1564抗体のいずれかと交差競合する、抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなる、実施形態1～30のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0305】

37. L1及びL2が、存在する、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

50

【0306】

38. L1及びL2の各々が、長さが50アミノ酸未満のリンカーペプチドであり、任意選択でL1及びL2の各々の長さが約15～30アミノ酸、または約20～25アミノ酸である、実施形態37に記載の融合タンパク質。

【0307】

39. L1が、(GGGGS)mから本質的になるか、またはそれからなり、mが、4または5である、実施形態38に記載の融合タンパク質。

【0308】

40. L2が、(GGGGS)nから本質的になるか、またはそれからなり、nが、4または5である、実施形態37～39のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

10

【0309】

41. L1及びL2の各々が、GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS（配列番号14）から本質的になるか、またはそれからなる、実施形態39に記載の融合タンパク質。

【0310】

42. 前記カーゴ部分が、酵素、成長因子、サイトカイン、または抗体もしくはその抗原結合断片からなる群から選択されるカーゴポリペプチドである、上記実施形態のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0311】

43. 前記カーゴポリペプチドが、野生型ヒト遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含む、実施形態42に記載の融合タンパク質。

20

【0312】

44. 前記カーゴポリペプチドが、酵素である、実施形態42または43に記載の融合タンパク質。

【0313】

45. 前記カーゴポリペプチドが、酸性アルファーグルコシダーゼタンパク質(GAA)、アルファーガラクトシダーゼA(GLA)タンパク質、アルファーL-イズロニダーゼ(IDUA)タンパク質、アルファーN-アセチル-グルコサミニダーゼ(NAGLU)タンパク質、ベータ-グルコロニダーゼ(GUSB)タンパク質、ベータ-グルコシダーゼ(GBA)タンパク質、イズロネート-2-スルファターゼ(IDS)タンパク質、ヘパラン-アルファ-グルコサミニドN-アセチルトランスフェラーゼ(HGSNAT)タンパク質、N-アセチルガラクトサミン-6-スルファターゼ(GNS)タンパク質、またはN-スルホグルコサミンスルホヒドロラーゼ(SGSH)タンパク質であり、任意選択で、前記カーゴポリペプチドが、IDSタンパク質ではない、実施形態42～44のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

30

【0314】

46. 前記カーゴポリペプチドが、IDUAタンパク質であり、任意選択で、前記カーゴポリペプチドが、野生型ヒトIDUA遺伝子によってコードされる成熟アミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる、実施形態45に記載の融合タンパク質。

40

【0315】

47. 前記カーゴポリペプチドが、IDUAタンパク質であり、図1Hに示される前駆体ヒトIDUAアミノ酸配列のアミノ酸26、27、または28～アミノ酸653を含む、実施形態42～46のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0316】

48. 前記カーゴポリペプチドが、IDUAタンパク質であり、図1Hに示されるアミノ酸配列のアミノ酸27～653から本質的になる、実施形態42～47のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

【0317】

49. 野生型ヒトIDUAタンパク質の対応する酵素活性の80～120%以内である

50

ＩＤＵＡ酵素活性を有する、実施形態４６～４８のいずれか１つに記載の融合タンパク質。

【０３１８】

５０．前記カーゴポリペプチドが、ＩＤＳタンパク質であり、任意選択で、前記カーゴポリペプチドが、図１２のＡまたは図１２のＢに示されるアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる、実施形態４２～４５のいずれか１つに記載の融合タンパク質。

【０３１９】

５１．野生型ヒトＩＤＳタンパク質の対応する酵素活性の８０～１２０％以内であるＩＤＳ酵素活性を有する、実施形態５０に記載の融合タンパク質。

10

【０３２０】

５２．図３Ａ、図３Ｂ、図３Ｃ、図３Ｄ、図３Ｅ、または図３Ｆに示されるｈＩＤＵＡ融合タンパク質のアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、任意選択で、前記融合タンパク質が、配列番号２９に示されるアミノ酸配列から本質的になるか、またはそれからなり、 m 及び n の各々＝４である、実施形態１に記載の融合タンパク質。

【０３２１】

５３．式Ⅰ： $AB-L1-RB-L2-C$ を含み、式中、 AB が、配列番号４または配列番号５を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、 $L1$ が、 $(GGGGS)_n$ を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、式中、 n が、４または５であり、 RB が、配列番号１１または配列番号１２を含み、 $L1$ が、 $(GGGGS)_n$ を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、式中、 n が、４または５であり、 C が、配列番号２２のアミノ酸２７～６５３を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、 $L2$ が、 $(GGGGS)_n$ を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、式中、 n が４または５である、実施形態１に記載の融合タンパク質。

20

【０３２２】

５４．式Ⅱ： $RB-L1-AB-L2-C$ を含み、式中、 AB が、配列番号４または配列番号５を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、 $L1$ が、 $(GGGGS)_n$ を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、式中、 n が、４または５であり、 RB が、配列番号１１または配列番号１２を含み、 $L1$ が、 $(GGGGS)_n$ を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、式中、 n が、４または５であり、配列番号２２のアミノ酸２７～６５３を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、 $L2$ が、 $(GGGGS)_n$ を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなり、式中、 n が４または５である、実施形態１に記載の融合タンパク質。

30

【０３２３】

５５． AB が、配列番号５から本質的になり、 RB が、配列番号１２から本質的になる、実施形態５３または５４に記載の融合タンパク質。

【０３２４】

５６．上記実施形態のいずれか１つに記載の融合タンパク質をコードする第１のヌクレオチド配列を含む、ポリヌクレオチド。

40

【０３２５】

５７．前記第１のヌクレオチド配列が、前記融合タンパク質のための分泌シグナル配列をコードするヌクレオチド配列に操作可能に連結されており、任意選択で、前記分泌シグナル配列が、 (i) $MELGLSWVVLAA LLQGVQA$ （配列番号７９）、または (ii) 表５に示されるアミノ酸配列のうちの１つから本質的になるか、またはそれからなる、実施形態５６に記載のポリヌクレオチド。

【０３２６】

５８．前記分泌シグナル配列が、 $MELGLSWVVLAA LLQGVQA$ （配列番号７９）から本質的になるか、またはそれからなる、実施形態５７に記載のポリヌクレオチド。

50

【0327】

59. 前記第1のヌクレオチド配列が、プロモーター配列及びポリAシグナル配列に操作可能に連結されている、実施形態56～58のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド。

【0328】

60. 前記プロモーター配列が、図4Aに示されるpCAGプロモーター配列、図4Bに示されるEF1 α プロモーター配列、または図4Cに示されるEFSプロモーター配列である、実施形態59に記載のポリヌクレオチド。

【0329】

61. 前記プロモーター配列が、図4Bに示されるEF1 α プロモーター配列である、実施形態60に記載のポリヌクレオチド。

10

【0330】

62. 前記ポリAシグナル配列が、図5のAに示されるrBGポリAシグナル配列、図5のBに示されるSV40後期ポリAシグナル配列、または図5のCに示されるBGHポリAシグナル配列である、実施形態59～61のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド。

【0331】

63. 前記ポリAシグナル配列が、図5のAに示されるrBGポリAシグナル配列である、実施形態62に記載のポリヌクレオチド。

【0332】

64. 図7-1～図7-3に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態56に記載のポリヌクレオチド。

20

【0333】

65. 単離された二本鎖DNA分子における1つの鎖である、実施形態56～64のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド。

【0334】

66. 実施形態56～65のいずれか1つに記載のポリヌクレオチドで一過性または安定的にトランスフェクトされている、遺伝子改変哺乳動物細胞。

【0335】

67. 前記ポリヌクレオチドが、前記哺乳動物細胞のゲノムにおける少なくとも1つの位置に挿入されている、実施形態66に記載の遺伝子改変哺乳動物細胞。

30

【0336】

68. 前記細胞が、ヒト細胞に由来する、実施形態66または67に記載の遺伝子改変哺乳動物細胞。

【0337】

69. RPE細胞、任意選択で、ARPE-19細胞に由来する、実施形態68に記載の遺伝子改変哺乳動物細胞。

【0338】

70. 誘導多能性幹細胞(iPSC)または間葉系幹細胞に由来する、実施形態68に記載の遺伝子改変哺乳動物細胞。

40

【0339】

71. 複数の遺伝子改変細胞を含む組成物であって、前記複数における各細胞が、実施形態68～70のいずれか1つによって定義される遺伝子改変細胞である、前記組成物。

【0340】

72. 前記複数の遺伝子改変細胞が、モノクローナル細胞株の培養から得られる、実施形態71に記載の組成物。

【0341】

73. 埋め込み可能なデバイスであって、実施形態66～70のいずれか1つに記載の遺伝子改変細胞または実施形態71もしくは72に記載の組成物を含み、かつ前記デバイスが対象に埋め込まれるときに異物応答(FBR)を軽減するための少なくとも1つの手

50

段を更に含む、少なくとも1つの細胞含有区画を含む、前記埋め込み可能なデバイス。

【0342】

74. 前記細胞含有区画が、ポリマー組成物を含み、前記ポリマー組成物が、ペプチドで共有結合的に修飾されたアルギネートを含み、前記ペプチドが、GRGDS P（配列番号89）、GGRGDS P（配列番号90）、またはGGGRGDS P（配列番号91）から本質的になるか、またはそれからなる、実施形態74=3に記載の埋め込み可能なデバイス。

【0343】

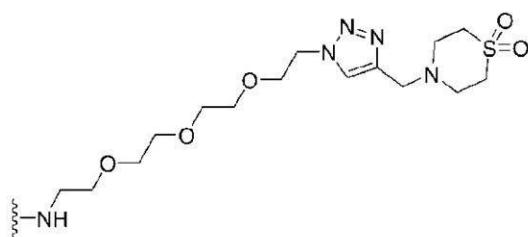
75. 前記細胞含有区画が、アルギネートヒドロゲル、及び任意選択で、バリア区画の外面に配置された式（III）の化合物を含む前記バリア区画によって囲まれている、実施形態73または74に記載の埋め込み可能なデバイス。

10

【0344】

76. 前記ポリマー組成物が、ペプチドで共有結合的に修飾されたアルギネートを含み、前記ペプチドが、GRGDS Pから本質的になるか、またはそれからなり、前記バリア区画が、

【化51】



20

で化学的に修飾されたアルギネート、またはその薬学的に許容可能な塩を含む、実施形態74または75に記載の埋め込み可能なデバイス。

【0345】

77. 直径が約0.75 mm～約2 mmの球状の2区画ヒドロゲルカプセルである、実施形態73～76のいずれか1つに記載の埋め込み可能なデバイス。

30

【0346】

78. デバイスの調製物であって、前記調製物における各デバイスが、実施形態73～77のいずれか1つに記載のデバイスである、前記調製物。

【0347】

79. ヒドロゲルカプセルであって、

(a) 第1のポリマー組成物にカプセル化された実施形態66～70のいずれか1つに記載の複数の遺伝子改変細胞を含む内側区画であって、前記第1のポリマー組成物が、ヒドロゲル形成ポリマーを含む、前記内側区画と、

(b) 前記内側区画を囲み、第2のポリマー組成物を含むバリア区画であって、前記第2のポリマー組成物が、少なくとも1つの式（III）の化合物またはその薬学的に許容可能な塩で共有結合的に修飾されたアルギネートを含む、前記バリア区画と、を含む、前記ヒドロゲルカプセル。

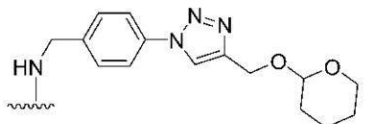
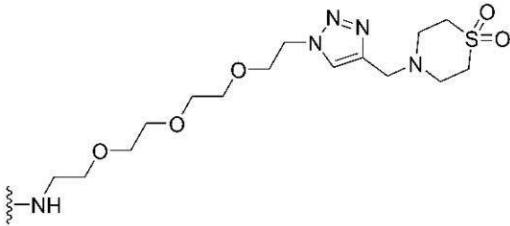
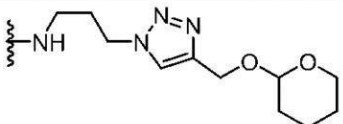
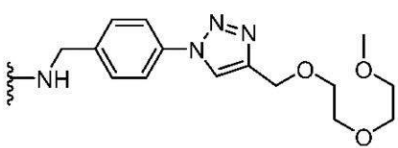
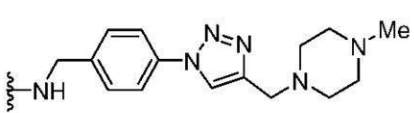
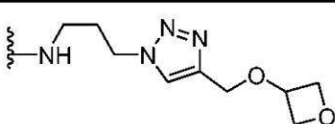
40

【0348】

80. 前記式（III）の化合物が、以下の表に提供される化合物から選択される、実施形態79に記載のヒドロゲルカプセル。

50

【表 9】

化合物番号	構造
100	
101	
110	
112	
113	
114	

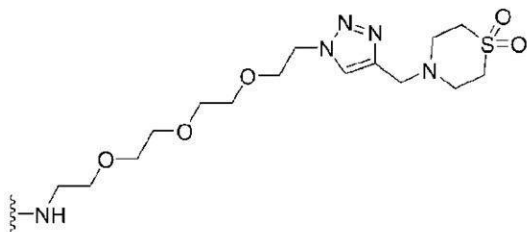
10

20

30

【0349】

81. 選択された化合物が、
【化52】



40

である、実施形態75または76に記載のヒドロゲルカプセル。

【0350】

82. 前記内側区画中の前記遺伝子改変細胞の濃度が、前記第1のポリマー組成物の1ml当たり少なくとも4000万個の細胞である、実施形態79～81のいずれか1つに記載のヒドロゲルカプセル。

【0351】

83. 実施形態79～82のいずれか1つに記載の複数のヒドロゲルカプセルを、薬学

50

的に許容可能な担体中に含む、カプセル組成物。

【0352】

84. 前記複数の前記ヒドロゲルカプセル中の前記遺伝子改変細胞が、実施形態51に記載のIDUA融合タンパク質を発現及び分泌する、実施形態83に記載のカプセル組成物。

【0353】

85. 実施形態1～55のいずれか1つに記載の融合タンパク質と、薬学的に許容可能な担体と、を含む、薬学的組成物。

【0354】

86. 前記融合タンパク質が、実施形態48に記載のIDUA融合タンパク質である、実施形態81に記載の薬学的組成物。

【0355】

87. 対象の中枢神経系(CNS)における疾患または状態を予防または治療する方法であって、

(i) 前記対象に、実施形態85もしくは86に記載の薬学的組成物を投与すること、

(ii) 前記対象に、実施形態73～78のいずれか1つに記載のデバイスもしくはデバイス調製物を埋め込むこと、または

(iii) 前記対象に、実施形態83もしくは84に記載のカプセル組成物を埋め込むこと、を含む、前記方法。

【0356】

88. ムコ多糖症1型(MPS-1)疾患と診断されたヒト対象を治療する方法であって、

(a) 実施形態86に記載のカプセル組成物を提供することと、

(b) 前記対象の体内に、前記カプセル組成物を配置することと、を含む、前記方法。

【0357】

89. 配置するステップが、前記カプセル組成物を前記対象の腹腔内空間内に配置することを含む、実施形態88に記載の方法。

【0358】

90. 配置するステップが、前記カプセル組成物を腹腔に配置することを含む、実施形態88に記載の方法。

【0359】

91. 前記カプセル組成物が、配列番号28または配列番号29を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなるBBB輸送IDUA融合タンパク質を産生する、実施形態87～90のいずれか1つに記載の方法。

【実施例】

【0360】

本明細書に記載の開示がより十分に理解され得るように、以下の実施例が示される。本出願に記載の実施例は、本明細書で提供されるBBB輸送融合タンパク質、遺伝子改変細胞、埋め込み可能なデバイス、ならびに組成物及び方法を例示するために提供され、それらの範囲を限定するものとしてどのようにも解釈されるべきではない。これらの実施例で使用されたMPS-1マウスは、Charles River Laboratory (Wilmington, MA) から得られ、IduaコドンW392 (Jackson Laboratory Stock No. 017681) にナンセンス変異を有する。

【0361】

実施例1：例示的なIGF1R結合ドメインをhIDUAに融合させることのインビトロhIDUA活性に対する効果。

DNA発現ベクターは、3、4、または5回反復した可変長G4Sリンカー単位を介してhIDUAオープンリーディングフレームのN末端またはC末端に融合したBBB透過性sdAb (IGF1R4) を含有する6つの異なるhIDUA融合酵素をコードするように操作された。ARPE-19細胞にこれらの発現ベクターをトランスフェクトし、h

10

20

30

40

50

hIDUA 融合酵素を安定に発現するポリクローナルコロニーを6つの異なるトランスフェクションの各々について生成した。発現ベクター及びトランスフェクトした細胞は、互いに対する複合モジュールのコード配列の方向に基づいて命名した。例えば、hIDUA-(G4S)₃-IGF1R4細胞は、IGF1R4が、3回反復したG4Sリンカーを介してhIDUAのC末端に融合されている融合酵素を発現する。

【0362】

6つのポリクローナルコロニーから分泌されるhIDUA融合タンパク質のインビトロIDUA活性を、各ポリクローナルコロニーからの細胞を、6ウェル組織培養プレートのウェルあたり2mlの新鮮培地中におよそ400,000個の細胞で播種することによって評価した。20~24時間後、条件細胞培養培地を収集し、IDUA活性アッセイを使用してIDUAタンパク質濃度についてアッセイし、実質的にOu, L., et al., (2014). Standardization of α -L-iduronidase enzyme assay with Michaelis-Menten kinetics. Molecular Genetics and Metabolism, 111(2), 113-115に記載されるように、既知の標準(ラロニダーゼ)と比較した。簡単に説明すると、8ulの細胞培養培地を、黒色96ウェルプレートにおける32ulの0.4Mギ酸ナトリウム、pH3.5に添加した。アッセイ緩衝液で希釈した20ulの700umの4-メチルウンベリフェリー- α -L-イズロニドを全てのウェルに加えた。プレートを37℃で10分間インキュベートした。反応を停止するために、100ulの停止溶液(0.5MのNaOH+0.5Mグリシン)を添加した。 α -L-イズロニダーゼは、非蛍光基質(4MU-イズロニド)の蛍光生成物(4-MU)への切断を触媒した。蛍光強度は、Biotek Cytation 3で、励起及び発光波長それぞれ365nm及び445nm(トップリード)で、エンドポイントモードで測定した。酵素活性レベルをラロニダーゼで生成した標準曲線と比較し、結果を図8に示す。最も高いインビトロIDUA活性を生成したポリクローナル培養は、IGF1R4-(G4S)₄-hIDUA融合酵素を発現するものであった。

【0363】

この融合での発現ベクターを使用して、ARPE-19細胞の新たなトランスフェクションを行い、より高いhIDUA活性のポリクローナルプールが特定された。このプールからの細胞は、本質的にWO2020/198696に記載されているように、シールドカプセルの内側区画に細胞5000万個/mlでカプセル化した。5匹のMPS-1マウスの各々のIP空間に、0.5ml用量カプセルを埋め込んだ。投与後28日目に、マウスを安楽死させ、肝臓及び血漿組織試料中のhIDUA活性の量を評価した。図8のBは、野生型hIDUAを発現及び分泌するように遺伝子改変されたARPE-19細胞をカプセル化している埋め込んだカプセルを用いた実質的に同様の実験で観察された典型的なhIDUAレベルと比較した、測定されたhIDUA活性レベルを示す。この比較は、IGF1R4-hIDUA融合を産生する細胞を埋め込んだMPS-1マウスが、野生型hIDUAを産生する細胞を埋め込んだものと比較して、より高い肝臓及び血漿hIDUA活性をもたらさなかったことを示す。

【0364】

実施例2：例示的なHSA及びIGF1R結合ドメインをhIDUAに融合させることのインビトロhIDUA活性に対する効果。

DNA発現ベクターは、オープンリーディングフレームの各々の間に配置された(G4S)₄アミノ酸リンカーを用いたBBB透過性sdAb(IGF1R5)、抗HSA sdAb(R28)、及びhIDUAのオープンリーディングフレームの異なる配向を含む6つの異なるhIDUA融合酵素をコードするように操作された。評価した異なる配向は、(i)sdAbが両方ともhIDUAのN末端に融合した2つの融合(N末端融合)、(ii)sdAbがhIDUAに隣接した2つの融合(隣接融合)、及び(iii)sdAbが両方ともhIDUAのC末端に融合した2つの融合(C末端融合)だった。ARPE-19細胞にこれらの発現ベクターをトランスフェクトし、hIDUA融合酵素を

安定に発現するポリクローナルコロニーを6つの異なるトランスフェクションの各々について生成した。発現ベクター及びトランスフェクトした細胞は、互いに対する複合モジュールのコード配列の方向に基づいて命名した。例えば、IGF1R5-R28-hIDUA細胞は、IGF1R5がR28に対してN末端であり、それ自体がhIDUAに対してN末端である融合酵素を発現する。

【0365】

6つのポリクローナルコロニーから分泌されたhIDUA融合タンパク質のインビトロhIDUA活性を、実施例1に記載されるように評価し、結果が図9Aに示される。N末端二重融合酵素を発現するポリクローナルプール（IGF1R5-R28-hIDUA及びR28-IGF1R5-hIDUA）は、隣接融合またはC末端融合を発現する細胞株よりも高いhIDUA活性レベルを示し、その結果は、C末端融合よりも単一のN末端融合で生成された高いhIDUA活性を示した実施例1で得られたhIDUA活性結果と一致する。驚くべきことに、N末端融合における抗HSA及び抗IGF1R s d A bの配向は、hIDUA活性に著しい効果を有し、IGF1R5の上流にR28を含有する融合は、R28の上流にIGF1R-5を有する融合よりも約50%高いhIDUA活性を生じる。これらの6つの細胞株の各々間の活性における差は統計的に有意である。

【0366】

HSA結合ドメインの付加が融合タンパク質のhIDUA活性に影響を及ぼすか評価するために、最上位性能の二重融合ポリクローナルプール（R28-(G4S)₄-IGF1R5-(G4S)₄-hIDUA）の細胞培養からの条件培地におけるインビトロhIDUA活性を、実施例1に記載のMPS-1マウス実験に使用したIGF1R4-(G4S)₄-hIDUAポリクローナルプールの細胞培養からの条件培地におけるインビトロhIDUA活性と比較した。図9Bに示されるように、単一N末端及び二重N末端融合培養におけるhIDUA活性の量には、本質的に差はなかった。

【0367】

実施例3：HSA及びIGF1R結合ドメインのインビボhIDUA活性に対する効果。

R28-(G4S)₄-IGF1R5-(G4S)₄-hIDUA融合酵素を分泌するポリクローナルプールからの細胞を、本質的にWO2020/198696に記載されるように、シールドカプセルの内側区画に細胞5000万個/mlでカプセル化した。6匹のMPS-1マウス（J）の各々のIP空間に0.5ml用量カプセルを埋め込んだ。投与後21日目に、マウスを安楽死させ、血漿及び様々な全身組織中のhIDUA活性の量を評価した。

【0368】

図10は、野生型hIDUAを発現及び分泌するように遺伝子改変されたARPE-19細胞をカプセル化している埋め込んだシールドカプセルを用いた実質的に同様の実験で観察された典型的なhIDUAレベルと比較した、測定されたhIDUA活性レベルを示す。R28-IGF1R5-hIDUA融合酵素を発現する細胞を埋め込んだマウスは、野生型hIDUA酵素を発現する細胞を埋め込んだマウスよりも、組織（腎臓を除く）及び血漿中に実質的に高いhIDUA活性を有した。

【0369】

実施例4：MPS-1マウスに例示的なBBB輸送融合タンパク質を産生するシールドカプセルを埋め込むことの脳ヘパラン硫酸レベルに対する効果。

R28-(G4S)₄-IGF1R5-(G4S)₄-hIDUA融合酵素を分泌するポリクローナルプールからの細胞をカプセル化するシールドカプセルを、6匹のMPS-1マウスの各々のIP空間に埋め込んだ。6匹の未処置MPS-1マウスの群を対照として観察した。投与後21日目に、両群のマウスを安楽死させ、2つの異なる脳領域（海馬及び前頭葉）におけるヘパラン硫酸の量を評価した。簡単に説明すると、各脳領域の組織ホモジネートを得て、組織ホモジネート（10ul）を等体積のヘパリナーゼカクテル（ヘパリナーゼ反応緩衝液中のヘパリナーゼI、ヘパリナーゼII、及びヘパリナーゼIIIの混合物）と混合した。個々のヘパリナーゼ及びヘパリナーゼ反応緩衝液は、New

10

20

30

40

50

England Biolabs、カタログ番号P0735S、P0736S、P0737S、及びB0735Sからだった。反応物を37℃で3日間インキュベートし、得られたヘパラン硫酸二糖をLC/MSで定量した。

【0370】

図11に示されるように、hIDUA BBB輸送融合タンパク質を分泌する細胞を埋め込んだMPS-1マウスは、対照マウスと比較して、両方の脳組織においてヘパラン硫酸が統計的に有意な低下を有した。

【0371】

実施例5：例示的なHSA及びIGF1R結合ドメインの異なる配向を有する二重IDS融合。

DNA発現ベクターは、オープンリーディングフレームの各々の間に配置された(G4S)₄アミノ酸リンカーを用いたBBB透過性sdAb(IGF1R5)、抗HSA sdAb(R28)、及びhIDSのオープンリーディングフレームの異なる配向を含有する2つの異なるhIDS融合酵素をコードするように操作された。評価した異なる配向は、R28-(G4S)₄-IGF1R5-(G4S)₄-hIDS(例えば、式I融合)及びIGF1R5-(G4S)₄-R28-(G4S)₄-hIDS(例えば、式II融合)であった。ARPE-19細胞に2つの発現ベクターのうちの1つをトランスフェクトし、hIDS融合酵素を安定に発現するポリクローマルコロニーを2つのトランスフェクションの各々について生成した。

【0372】

各ポリクローマルプールから分泌されるhIDS融合タンパク質のインビトロIDS活性を、6ウェル組織培養プレートのウェルあたり2mLの新鮮培地中で、各細胞株からの細胞をおよそ400,000個で播種することによって評価した。20~24時間後、条件細胞培養培地を収集し、2段階酵素IDS活性アッセイを使用してIDSタンパク質濃度についてアッセイし、既知の標準(イズルスルファーズ)と比較した。簡単に説明すると、3uLの細胞培養培地を、黒色96ウェルプレートにおいて、15.6uLの水及び0.2M酢酸ナトリウム(pH5.0)中に20mM酢酸鉛(II)を含有する20uLの緩衝液に添加した。1.4uLの20mM基質(DMSO中で再構成した4-メチルウンベリフェリル- α -L-イズロニド2-硫酸)を全てのウェルに添加した。プレートを37℃で10分間インキュベートした。第1の反応をクエンチするために、5ug/mLのラロニダーゼを補充した40uLの2xマッキルベイン緩衝液(0.40Mリン酸ナトリウム、0.20Mクエン酸、pH4.5)を各ウェルに添加した。プレートを37℃で10分間インキュベートした。第2の反応を停止するために、100uLの停止溶液を添加した(0.5MのNaOH+0.5Mグリシン)。第1の反応ステップでは、基質(4MU- α -イズロニド2-硫酸)をイズロネート2-スルファターゼ(IDS)によって加水分解して、4MU-イズロニドを生成する。第2の反応ステップでは、イズロネート2-スルファターゼ活性は、過剰なリン酸の添加によってクエンチされ、 α -L-イズロニダーゼは、第1の反応の非蛍光生成物(4MU-イズロニド)の蛍光生成物(4-MU)への切断を触媒した。蛍光強度は、Biotek Cytation 3で、励起及び発光波長それぞれ365nm及び445nm(トップリード)で、エンドポイントモードで測定した。酵素活性レベルをイズルスルファーズで生成した標準曲線と比較し、結果が図13に示される。R28-(G4S)₄-IGF1R5-(G4S)₄-hIDS(式I)二重融合酵素を発現するポリクローマルプールは、IGF1R5-(G4S)₄-R28-(G4S)₄-hIDS(式II)二重融合を発現する細胞株よりも高いhIDS活性レベルを示し、その結果は、式II融合(RB-L1-AB-L2-C)よりも式I融合(AB-L1-RB-L2-C)で生成された高いhIDUA活性を示した実施例3で得られたhIDUA活性結果と一致する。

【0373】

実施例6：MPS-1マウスに例示的なBBB輸送融合タンパク質を産生するシールドカプセルを埋め込むことの全身組織におけるヘパラン硫酸に対する効果。

10

20

30

40

50

R28-(G4S)₄-IGF1R5-(G4S)₄-hIDUA融合酵素を分泌するポリクロナルプールからの細胞をカプセル化しているシールドカプセルを、6匹のMPS-1マウスの各々のIP空間に埋め込んだ。6匹の未処置MPS-1マウスの群を対照として観察した。投与後21日目に、両群のマウスを安楽死させ、様々な器官（肝臓、脾臓、腎臓、肺、及び心臓）におけるヘパラン硫酸の量を評価した。簡単に説明すると、器官組織ホモジネートを得て、組織ホモジネート（10μl）を等体積のヘパリナーゼカクテル（ヘパリナーゼ反応緩衝液中のヘパリナーゼI、ヘパリナーゼII、及びヘパリナーゼIIIの混合物）と混合した。個々のヘパリナーゼ及びヘパリナーゼ反応緩衝液は、New England Biolabs、カタログ番号P0735S、P0736S、P0737S、及びB0735Sからだった。反応物を37℃で3日間インキュベートし、得られたヘパラン硫酸二糖をLC/MSで定量した。

10

【0374】

図14に示されるように、二重融合酵素（黒色バー）で処置されたMPS-1マウスは、未処置のマウス（灰色バー）と比較して、肝臓、脾臓、腎臓、肺、及び心臓組織試料の各々において、ヘパラン硫酸レベルにおける統計的に有意な低下を示した。

【0375】

実施例7：例示的なBBB輸送融合タンパク質の潜在的な免疫原性の評価。

商業ベンダー（EpiVax, Providence, Rhode Island, USA）は、コンピュータによる免疫原性評価を以下の分子について行った：R28-(G4S)₄-IGF1R5-(G4S)₄-hIDUA融合酵素、（2）R28-H5-(G4S)₄-IGF1R5-H2-(G4S)₄-hIDUA融合酵素であって、R28-H5成分が、アミノ酸配列（配列番号5）を有するヒト化R28バリエーションであり、IGF1R5-H2成分が、（配列番号12）のアミノ酸を有するヒト化IGF1R5バリエーションである、融合酵素、（3）天然ヒトIDUAタンパク質のみ（すなわち、任意の他の分子に融合されていない）、ならびに（4）2つの融合酵素に存在する個々の親sdAb及びヒト化sdAb。簡単に説明すると、EpiVaxは、独自のEpiMatrixアルゴリズムを使用して、融合構築物及び予測されるT細胞エпитープにおける分子を含む個体のアミノ酸配列を評価した。各分子は、総予測T細胞エпитープ含有量についてスコア化され、分子を既知の免疫原性のタンパク質と直接比較することができるEpiMatrixタンパク質免疫原性スケールに対してランク付けされた。直下の表に示されるように、融合酵素の各々は、天然hIDUA単独よりも低い予測免疫原性スコアを有した。

20

30

【表10】

分子	免疫原性 スコア	免疫原性 リスクレベル
R28	15.19	高
hIDUAのみ	6.19	中
R28-(G4S) ₄ -IGF1R5-(G4S) ₄ -hIDUA	-5.20	中
R28-H5-(G4S) ₄ -IGF1R5-H2-(G4S) ₄ -hIDUA	-14.08	中
IGF1R5	-22.32	低
R28-H5	-32.63	低
IGF1R5-H2	-46.54	低

40

50

【0376】

実施例8：例示的なヒト化及びラクダ科のBBB輸送融合タンパク質のインビボでの比較。

3群のMPS-1マウス（1群あたり6匹のマウス）に、ヒト化IDUA融合タンパク質[R28-H5-(G4S)₄-IGF1R5-H2-(G4S)₄-hIDUAもしくはIGF1R5-H2-(G4S)₄-R28-H5-(G4S)₄-hIDUA]またはラクダ科IDUA融合タンパク質[R28-(G4S)₄-IGF1R5-(G4S)₄-hIDUA]を分泌するポリクローナルブールからの細胞をカプセル化しているシールドカプセルを埋め込んだ。各融合タンパク質におけるIDUAアミノ酸配列は同一であった。4匹の未処置MPS-1マウスの群を対照として観察した。投与後28日目に、全てのマウスコホートを安楽死させ、中脳におけるヘパラン硫酸の量を評価した。簡単に説明すると、中脳組織ホモジネートを得て、組織ホモジネート（10μl）を等体積のヘパリナーゼカクテル（ヘパリナーゼ反応緩衝液中のヘパリナーゼI、ヘパリナーゼII、及びヘパリナーゼIIIの混合物）と混合した。個々のヘパリナーゼ及びヘパリナーゼ反応緩衝液は、New England Biolabs、カタログ番号P0735S、P0736S、P0737S、及びB0735Sからだった。反応物を37℃で3日間インキュベートし、得られたヘパラン硫酸二糖をLC/MSで定量した。図15に示されるように、3つの二重融合酵素（灰色バー）のうちのいずれかで処置されたMPS-1マウスは、未処置マウス（黒色バー）と比較して、中脳におけるヘパラン硫酸レベルに統計的に有意な低下を示した。処置されたマウスコホート間で、中脳ヘパラン硫酸低下に統計的に有意な差はなかった。

10

20

【0377】

等価物及び範囲

本出願は、様々な発行済み特許、公開特許出願、学術論文、及び他の刊行物を参照しており、その全てが参照により本明細書に組み込まれる。組み込まれる参考文献のいずれかと本明細書との間に矛盾がある場合、本明細書が優先されるものとする。また、先行技術に入る本開示の任意の特定の実施形態は、請求項のうちの任意の1つ以上から明白に除外され得る。そのような実施形態は、当業者に既知とみなされるので、それらは、除外が本明細書に明白に示されない場合であっても除外され得る。本開示の任意の特定の実施形態は、先行技術の存在に関連するかどうかにかかわらず、任意の理由により、任意の請求項から除外され得る。

30

【0378】

当業者は、慣例的なものにすぎない実験を使用して、本明細書に記載の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識し、または確認することができるであろう。本明細書に記載の本実施形態の範囲は、上記の明細書、図面、または実施例に限定されることは意図されておらず、添付の特許請求の範囲に示されるとおりである。当業者は、本明細書に対する様々な変更及び修飾が、以下の特許請求の範囲において定義されるように、本開示の趣旨または範囲から逸脱することなくなされ得ることを理解するであろう。

40

50

【図面】

【図 1 A】

ヒト前駆体G A A（配列番号 1 5）

10	20	30	40	50
MGVRHPPCSH	RLLAVALVS	LATAALLGHI	LLHDFLLVPR	ELSGSSPVLE
60	70	80	90	100
ETHPAHQQGA	SRPGPRDAQA	HPGRPRAVPT	QCDVPPNSRF	DCAPDKAITQ
110	120	130	140	150
EQCEARGCCY	IPAKQGLQGA	QMGQPWCFFP	PSYPSYKLEN	LSSSEMGYTA
160	170	180	190	200
TLTRTTPTF	PKDILTLRLD	VMMETENRLH	FTIKDPANRR	YEVPLET
210	220	230	240	250
HSRAPSPLYS	VEFSEEPFGV	IVRRQLDGRV	LLNTTVAPLF	FADQFLQLST
260	270	280	290	300
SLPSQYITGL	AEHLSPMLLS	TSWTRITLWN	RDLAPT	PGAN LYGSHPFYLA
310	320	330	340	350
LEDGGSAGHV	FLLNSNAMDV	VLQPSPALSW	RSTGGILDVY	IFLGPEPKSV
360	370	380	390	400
VQYLDVVGY	PFMPPYWGLG	FHLCRWGYSS	TAITRQVVEN	MTRAHFP
410	420	430	440	450
QWNDLDYMS	RRDFTFNKDG	FRDFPAMVQE	LHQGGRYMM	IVDPAISSSG
460	470	480	490	500
PAGSYRYPDE	GLRRGVFITN	ETGQPLIGKV	WPGSTAFP	DF TNPTALAWWE
510	520	530	540	550
DMVAEFHDQV	PFDMWIDMN	EPSNFIRGSE	DGCPNNELEN	PPYVPGVVG
560	570	580	590	600
TLQAATICAS	SHQFLSTHYN	LHNLYGLTEA	IASHRALVKA	RGTRFPVISR
610	620	630	640	650
STFAGHGRYA	GHWTDGVWSS	WEQLASSVPE	ILQFNLLGVP	LVGADVCGFL
660	670	680	690	700
GNTSEELCVR	WTQLGAFYFP	MRNHNSLLSL	PQEPYSFSEP	AQQAMRKALT
710	720	730	740	750
LRVALLPHLY	TLFHQAHVAG	ETVARPLFLE	FPKDSSTWTV	DHQLLWGEAL
760	770	780	790	800
LITPVLAQAK	AEVTGYFPLG	TWYDLQTPVP	EALGSLPPPP	AAPREPAIHS
810	820	830	840	850
EGQWVTL	PAP LDTINVHLRA	GYIIPLOQPG	LTTTESRQOP	MALAVALT
860	870	880	890	900
GEARGELEFWD	DGESLEVLER	GAYTQVIFLA	RNNIVNELV	RVTSEGAGLQ
910	920	930	940	950
LQKVTVLGVA	TAPQQVLSNG	VPVSNFTYSP	DTKVLDDICVS	LLMGEQFLVS

WC

【図 1 C】

ヒト前駆体G L A（配列番号 1 7）

10	20	30	40	50
MQLRNP	ELHL GCALALRFLA	LVSWDIPGAR	ALDNGLARTP	TMGWLHWERF
60	70	80	90	100
MCNLDCQEEP	DSCISEKLFM	EMAELMVSEG	WKDAGYEYLC	IDDCWMA
110	120	130	140	150
DSEGR	LQADP QRFPHGIRQL	ANYVHSGKGL	LGIIADVGNK	TCAGFP
160	170	180	190	200
YYDIDAQ	TFA DWGVDLLKFD	GCYCDSLENI	ADGYKHMSLA	LNRTGRS
210	220	230	240	250
SCEWPLYMWP	FQKPNYTEIR	QYCNHWRNFA	DIDD	SWKS I K SILDWTS
260	270	280	290	300
ERIVDVAGPG	GWNDP	MDLVI GNFLGSWNQ	VTQMALWAIM	AAPLFMSNDL
310	320	330	340	350
RHISPQAKAL	LQDKDVIAIN	QDPLGKQGYQ	LRQGDNFEVW	ERPLSGLA
360	370	380	390	400
VAMINRQ	EIG GPRSYTIAVA	SLGKGVACNP	ACFITQLLPV	KRKLGFYEW
410	420			
SRLRSHINPT	GTVLLQLENT	MQMSLKDLL		

【図 1 B】

ヒト前駆体G B A（配列番号 1 6）

10	20	30	40	50
MEFSSPSREE	CPKPLSRVSI	MAGSLTGLLL	LQAVSWASGA	RPCIPKSF
60	70	80	90	100
SSVVCVCNAT	YCDSFDPPTF	PALGTFSRYE	STRSGRRMEL	SMGPIQANHT
110	120	130	140	150
GTGLLLTLOP	EQKFQKVKGF	GGAMTDAAAL	NILALSPPAQ	NLLKSYFSE
160	170	180	190	200
EGIGYNIIRV	PMASCDFSIR	TTYADTPDD	FQLHNFSLPE	EDTKLKIPLI
210	220	230	240	250
HRALQLAORP	VSLLASPWT	PTWLKTNGAV	NGKSLKGQP	GDIYHQ
260	270	280	290	300
YFVKFLDAYA	EHLQFWAVT	AENEPSAGLL	SGYPFQCLGF	TPEHQ
310	320	330	340	350
RDLGPTLANS	THHNVRLML	DDQRLLLPHW	AKVVLTDPEA	AKYVHGI
360	370	380	390	400
WYLDFLAPAK	ATLGETHRLF	PNTMLFASEA	CVGSKFWEQS	VRLG
410	420	430	440	450
QYSHSIITNL	LYHVVGWTDW	NLALNPEGGP	NWVRNFVDSP	IIVDITK
460	470	480	490	500
YKQPMFYHLG	HFSKFIPEGS	QRVGLVASQK	NDLDAVALMH	PDGS
510	520	530		
NRSSKDVPLT	IKDPAVGFL	TISPGYSIHT	YLWRRQ	

【図 1 D】

ヒト前駆体G N S（配列番号 1 8）

10	20	30	40	50
MRLPLAPGR	LRRGSPRHLF	SCSPALLLV	LGGCLGVFGV	AAGTRRP
60	70	80	90	100
LLLTDQDEV	LGGMTPLKKT	KALIGEMGMT	FSSAYVPSAL	CCPSRAS
110	120	130	140	150
GKYPHNHVV	NNTLEGNCSS	KSWQKIQEPN	TFPAILRSMC	GYQTF
160	170	180	190	200
LNEYGAPDAG	GLEHVPLGWS	YWYALEKN	SK YNYT	LSING KARKH
210	220	230	240	250
VDYLT	DVLAN VSLDFLDYKS	NFEPFFMMIA	TPAPHS	PWTA APQY
260	270	280	290	300
VFAPRNKNFN	IHG	TNKH WLI	RQAKT	PTMNS SIQFL
310	320	330	340	350
DLVEKLVKRL	EFTGELMN	TY IFY	TS	DNGYH TGQFSL
360	370	380	390	400
PLIVRGPGIK	PNQTSKMLVA	NIDL	GPTILD	IAGYDL
410	420	430	440	450
RGASNL	TWRS DVLVEYQ	GG RNV	TDPT	CPS LSPGV
460	470	480	490	500
TYACVRT	MSA LWNLYCE	FD DQEV	FVEVIN	LTADP
510	520	530	540	550
GKMNYRL	MML QSCSGPT	CR	T PGV	FD
			PGYRF	DPRLM
				FSNRG
				SVRTR
				RF
				SKH

LL

10

20

30

40

50

【図 1 E】

ヒト前駆体G U S B（配列番号19）

10	20	30	40	50
MARGSAVAVA	ALGPLLWGCA	LGLQGGMLYP	QESPSRECKE	LDGLWSFRAD
60	70	80	90	100
FSDNRRRGFE	EQWYRRPLWE	SGPTVDMFVP	SSFNDISQDW	RLRHFGVWVW
110	120	130	140	150
YEREVILPER	WTQDLRTRVV	LRIGSAHSYA	IVVWNGVDTL	EHEGGYLPFE
160	170	180	190	200
ADISNLVQVG	PLPSRLRITI	AINNTLTPTT	LPPGTIQYLT	DTSKYPKGYF
210	220	230	240	250
VQNTYFDFFN	YAGLQRSVLL	YTTPTTYIDD	ITVTSVEQD	SGLVNYQISV
260	270	280	290	300
KGSNLFKLEV	RLDAENKVV	ANGTGTQGQL	KVPGVSLWWP	YLMHERPAYL
310	320	330	340	350
YSLEVQLTAQ	TSLGPVSDFY	TLPVGIRTVA	VTKSQFLING	KPFYFHGVNK
360	370	380	390	400
HEDADIRKGG	FDWPLLVKDF	NLLRWLGANA	FRTSHYPYAE	EVMQMCDRYG
410	420	430	440	450
IVVIDECPGV	GLALPQFFNN	VSLHHHMQVM	EEVVRDKNH	PAVVMWSVAN
460	470	480	490	500
EPASHLESAG	YYLKMVIAHT	KSLDPSRPVT	FVSNSNYAAD	KGAPYVDVIC
510	520	530	540	550
LNSYYSWYHD	YGHLELIQLQ	LATQFENWYK	KYQKPIIQSE	YGAETIAGFH
560	570	580	590	600
QDPPLMFTEE	YQKSLLEQYH	LGLDQKRRKY	VVGELIWNFA	DFMTEQSPTR
610	620	630	640	650
VLGNKKGIFT	RQRQPKSAAF	LLRERYWKIA	NETRYPHSVA	KSQCLENLSF

T

【図 1 F】

ヒト前駆体H G S N A T（配列番号20）

10	20	30	40	50
MTGARASAAE	QRRAGRSGQA	RAAERAAGMS	GAGRALAALL	LAASVLSAAL
60	70	80	90	100
LAPGGSSGRD	AQAAPPRDL	KKRHAELKMD	QALLLIHNEL	LWTNLTVYWK
110	120	130	140	150
SECCYHCLFQ	VLVNPQSPK	AGKPSAAAA	VSTQHGSILQ	LNDILEEKEV
160	170	180	190	200
CRLEYRFGF	GNYSLLVKNI	HNGVSEIACD	LAVNEDPVDS	NLPVSI AFLI
210	220	230	240	250
GLAVIIVISF	LRLLSLDDF	NNWISKAISS	RETDRLINSE	LGSPSRTDPL
260	270	280	290	300
DGDVQPATWR	LSALPPRLRS	VDTFRGIALI	LMVFVNYGGG	KIYWFKHASW
310	320	330	340	350
NGLTVADLVF	PWFVFIMGSS	IFLSMTSILQ	RGCSKFRLLG	KIAWRSFLLI
360	370	380	390	400
CIGIIVNPN	YCLGPLSWDK	VRIPGVQLRL	GVTYFVVAVL	ELLFAKPVE
410	420	430	440	450
HCASERSCLS	LRDITSSWPQ	WLLILVLEGL	WLGTLFLLPV	PGCPTGYLGP
460	470	480	490	500
GGIGDFGKYP	NCTGGAAGYI	DRLLLGDDHL	YQHPSSAVLY	HTEVAYDPEG
510	520	530	540	550
ILGTINSIVM	AFLGVQAGKI	LLYKARTKD	ILIRFTAWCC	ILGLISVALT
560	570	580	590	600
KVSENEGFI	VNKNLWSLSY	VTTLSFAFF	ILLVLYPVVD	VKGLWTGTFF
610	620	630	640	650
FYPGMNSILV	YVGHEVFENY	FPFQWKLDN	QSHKEHLTQN	IVATALWVLI
660				
AYILYRKKIF	WKI			

10

20

【図 1 G】

ヒト前駆体I D S（配列番号21）

10	20	30	40	50
MPPPRTRGRGL	LWLGLVLSSV	CVALGSETQA	NSTTDALNVL	LIIVDDL RPS
60	70	80	90	100
LGCGYGDKLVR	SPNIDQLASH	SLLFQNAFAQ	QAVCAPSRVS	FLTGRRPDTT
110	120	130	140	150
RLYDFNSYWR	VHAGNFSTIP	QYFKENGYVT	MSVGKVFHPG	ISSNHTDDSP
160	170	180	190	200
YSWSFPPYHP	SSEKYENIKT	CRGPDGELHA	NLLCPVDVLD	VPEGTLPDKQ
210	220	230	240	250
STEQAIOLE	KMKTSASFFF	LAVGYHKPHI	PFRYPKEFQK	LYPLENITLA
260	270	280	290	300
PDPEVPDGLP	PVAYNPWMDI	RQREDVQALN	ISVPYGPPIV	DFQRKIRQSY
310	320	330	340	350
FASVSYLDTO	VGRLLSALDD	LQLANSTIITA	FTSDHGWALG	EHGEWAKYSN
360	370	380	390	400
FDVATHVPLI	FYVPGRITASL	PEAGEKLFY	LDPFDSASQL	MEPGRQSMDL
410	420	430	440	450
VELVSLFPTL	AGLAGLQVPP	RCPVPSFHVE	LCREGKNLLK	HFRFRDLEED
460	470	480	490	500
PYLPGNPREL	IAYSQYPRPS	DIPQWNSDKP	SLKDIKIMGY	SIRTIDRYT
510	520	530	540	550
VWVGFPNDEF	LANFSDIHAG	ELYFVDSDDL	QDHNMYNDSQ	GCDLFQLIMP

【図 1 H】

ヒト前駆体I D U A（配列番号22）

10	20	30	40	50
MRPLRPRAAL	LALLASLLAA	PPVAPAEAPH	LVHVDAARAL	WPLRRFWRST
60	70	80	90	100
GFCPPLPHSQ	ADQYVLSWDQ	QLNLAYVGAV	PHRGIKQVRT	HWLLELVTTTR
110	120	130	140	150
GSTGRGLSYN	FTHLDDGYLDL	LRENQLPGF	ELMGSASGHF	TDFEDKQOVF
160	170	180	190	200
EWKDLVSSLA	RRYIGRYGLA	HVSKWNFTW	NEPDHDFDN	VSMTMQGFLN
210	220	230	240	250
YYDACSEGLR	AASPALRLGG	PGDSFHTPPR	SPLSWGLLRH	CHDGTNFTTG
260	270	280	290	300
EAGVRLDYIS	LHRKGARSSI	SILEQEKVVA	QQIRQLFPKF	ADTPIYNDEA
310	320	330	340	350
DPLVGWSLPQ	PWRADVTYAA	MVVKVIAHQH	NLLANTTSA	FPYALLSN
360	370	380	390	400
AFLSYHPHPF	AQRTLTAQRT	VNNTRPPHVQ	LLRKPVLITAM	GLIALLDDEQ
410	420	430	440	450
LWAEVSQAGT	VLDNSHTVGV	LASAHRPQGP	ADAWRAAVLI	YASDDTRAHP
460	470	480	490	500
NRSVAVTLRL	RGVPPGGLV	YVTRYLDNGL	CSPDGEWRR	GRPVFTAEQ
510	520	530	540	550
FRMRAAEDP	VAAAPRPLPA	GGRLTLRALP	RLPSLLLVHV	CARPEKPPGQ
560	570	580	590	600
VTRLRALPLT	QQQLVLVWSD	EHVGSKLWT	YEIQFSQDGK	AYTPVSRKPS
610	620	630	640	650
TFNLVVFSPD	TGAVSGSYRV	RALDYWARPG	PFSDPVPYLE	VPVPRGPPSP

GNP

30

40

50

【図 1 I】

ヒト前駆体NAGLU（配列番号 2 3）

10	20	30	40	50
MEAVAVAAAV	GVLLLAGAGG	AAGDEAREAA	AVRALVARLL	GP GPAADFSV
60	70	80	90	100
SVERALAAKP	GLDTYSLGGG	GAARVRVRGS	TGVAAAAGLH	RYLRDFCGCH
110	120	130	140	150
VAWSGSQLRL	PRPLPAVPGE	LTEATPNRYR	YYQNVCTQSY	SFVWWDWARW
160	170	180	190	200
EREIDWMALN	GINLALAWSG	QEAIWQRVYL	ALGLTQAEIN	EFFTGPAFLA
210	220	230	240	250
WGRMGNLHTW	DGPLPPSWHI	KQLYLQHRVL	QMRSGFMTP	VLPAFAGHVP
260	270	280	290	300
EAVTRVFPQV	NVTKMGSWGH	FNCYSYCSFL	LAPEDPIFPI	IGSLFLRELI
310	320	330	340	350
KEFGTDHIYG	ADTFNEMQPP	SSEPSYLA	TTAVYEAMTA	VDTEAVWLLQ
360	370	380	390	400
GWLQHQPOF	WGPAQIRAVL	GAVPRGRLLV	LDLFAESQPV	YTRTASFQGG
410	420	430	440	450
PFIWCMLNHF	GGNHGLFGAL	EAVNGGPEAA	RLFPNSTMVG	TGMAPEGISQ
460	470	480	490	500
NEVVYSLMAE	LGWRKDPVPD	LAAWVTSFAA	RRYGVSHPDA	GAAWRLLLRS
510	520	530	540	550
VYNCSGEACR	GHNRSPLVRR	PSLQMNSTW	YNRSDVFEAW	RLLLTSAPSL
560	570	580	590	600
ATSPAIFYDL	LDLTRQAVLE	LVSLYEEEAR	SAYLSKELAS	LLRAGGVLAY
610	620	630	640	650
ELLPALDEVL	ASDSRFLLSG	WLEQARAAAV	SEAEADFYEQ	NSRYQLTLWG
660	670	680	690	700
PEGNILDYAN	KQLAGLVANY	YTPRWRLFL	ALVDSVAQGI	PFQQHQFDKN
710	720	730	740	
VFQLEQAFVL	SKQRYPSQPR	GDITVDLAKKI	FLKYYPRWVA	GSW

【図 1 J】

ヒト前駆体SGSH（配列番号 2 4）

10	20	30	40	50
MSCPVPACCA	LLLVLGLCRA	RPRNALLLLA	DDGGFESGAY	NNSAIATPHL
60	70	80	90	100
DALARRSLLF	RNAFTSVSSC	SPSRASLLTG	LPQHONGMYG	LHQDVHHFNS
110	120	130	140	150
FDKVRSLPLL	LSQAGVRTGT	IGKKHVGPET	VYPFDAYTE	ENGSVLQVGR
160	170	180	190	200
NITRIKLLVR	KFLQTQDDRP	FFLYVAFHDP	HRCGHSQPOY	GTFCEKFGNG
210	220	230	240	250
ESGMGRIPDW	TFQAYDPLDV	LVPIYFVPNT	AARADLAAQY	TTVGRMDQGV
260	270	280	290	300
GLVLQELRDA	GVLNDTLVIF	TSDNIGIPFSS	GRNLYWPGT	AEPLLVSSPE
310	320	330	340	350
HPKRWGQVSE	AYVSLDLTLP	TILDWFSITY	PSYAIFGSKT	IHLTGRSLLP
360	370	380	390	400
ALAEPLWAT	VFGSQSHHEV	TMSYPMRSVO	HRHFRVLVHNL	NFKMPFPIDQ
410	420	430	440	450
DFYVSPTFOD	LLNRTTAGQP	TGWYKDLRHY	YYRARWELVD	RSRDPHETON
460	470	480	490	500
LATDPFRFAQL	LEMLRDQLAK	QWQWETHDPWV	CAPDGVLEEK	LSPQCQPLHN

EL

【図 2 A】

(配列番号 2 5)

MKSGSGGSP TSLWGLLFLS AALSIMPTSG EICGPGDIR NDYQOLKRLE NCTVIEGYLH
ILLISAEADY RSYRPFKLIV ITEYLLLLFRV AGLESIGDLF PNLTVIRGWK LFNVALYIF
EMTNLDIGL YNLRNITRGA IRIEKADLC YLSTVDWSLI LDAVSNNYIV GNKPPRECGD
LCFGTHEEK MCKETINNE YNRCWTNTR CQKPCPSTCG KRACTENEC CHEPCIGSGS
APDNDACVA CRHYIYAGC VPACPNTYR FEGWRCVDRD FCANILSAES SDESGFVLHD
GECMQCPSG FIRNGQSMY CIPCEGPCPK VCEEEKTKT IDSVTSQML QGCTIFKGNL
LINIRGNNI ASELENFMGL IEVVTGYVKI RSHALVSL S FLKNRLLLG EQLEGNYSF
YVLNDQNLQ LMDWDRNLT IKAGMYFAF NPKLCVSEIY RMEEVGTGKG RQSKGDINTR
NNGERASCS DVLGFTSTT SKNRIITWH RYRPDXRDL ISFTYIYKEA PEKNVTEYDG
QDAGGNSWN MVDVDLPPNK DVEEGILLHG LKPMYQYAVY VEAUTLNVRE NDHIGAKSE
ILVIRTNASV PSLEPLDLSA SNSSQLIVK WNPESLNGN ISYIYVRWQS QPDGYLYRH
NYCSKQIKPI RYVADGTIDI EEVTEPKTE VCGGEGPCC ACPTKEABKQ AEKEAEYRK
VEENLHNSI EVRBPETKTI DVMOVANTM SSRSENTAA DTYNITDPEE LETAEPFES
RVNKKERTVI SNRPTFLYR IDHSCNHEA EKLGCSASNF VFARTMPAEG ADDIFPVTW
EPRNSIFL KWPEPNPNG LILMYEIKYG SOVEDORECV SNOEYRKYGG AKINLRINFGN
YTARIQATSL SNGSWTDPV FFYQAKTGY ENFHLIAL PVAVILL YGG LVIMLYVFHR
KRNSRLNG VLYASVNPY FSAADYVVPD EWEVAREKIT MSRELGOGSF GMYEGYVAKG
VVKDEPHTV ALKIVNEAS MRERLEFNE ASVMEKEFENCH HVVRLGUVVS QGQPTLVIME
LMTRGDLKSY LRSLRPEMEN NPVLAPELS KMLQAGELIA DGMAYLNANK FVHRDIAARN
CMVAEDFTVK IGDFGWTROI YETDIYRKGG KGLLPVRWMS PESLKDGVFT TYSDVMSFGV
VLWEIATLAE QPYQGLSNEQ VLRFMGGGL LDKPDNCPDM LPELMRCMQ YNPKMRPSFL
EILSSIKEM EPGREVSFY YSEENKLPEP BELDLEPENM ESVPLDPAS SSSLPLPDRH
SGHKAENGPG PGVILVIRASF DERQPYAHWN GGRKNERALP LPQSSTC

【図 2 B】

(配列番号 9 5)

MKWTIFISLL FIFSSAYSRG VFRDAAHKE VAHRFKDLGE ENFKALVILIA 50
FAQYLQCCPE EDHYKLVNEV TEFAKTCVAD ESAENCDSKL HTLFGDKLCT 100
VATIRETYGE MADCAKQEP ERNECFIQHK DONPNLPRIV RPEVDVNCIA 150
PHONEITFLK KLYEIAARR PYFYAPELLF FAKRYKAFT ECCQAADKAA 200
CLLPKLDELIR DEKASSAKQ RLKCASLQKF GERAFKAWAV ARLSQRFPKA 250
EFAEVSKLVT DITKVHTECC HGDILLECADD RADLAKYICE NQDSISSKLK 300
ECCEKPLEEK SHCIAEVEND EMPADLPISA ADVESKDVC KNVAEAKDYF 350
LGMFLTEYAR RHPDYSVLL LRLAKTYETT LEKCCAAADP HECYAKVFDE 400
FKPLVEBPQN LKQNCLELFE QLGREYKFQNA LLVRYTKKVP QVSTPTLVEV 450
SRNLGKVGSK CCKHPEAKRM PCARDYLSVV INQLCVTHEK TPVSDRVTKC 500
CTESLVNRRP CFSALEVDET YVPKEFNAET FTFHADICTL SEKERIQQK 550
TALVELVKHK PRATKEQLKA VMDDFAAFVE KCKADDDRET CFAEKGKLV 600
AASQAALGL

10

20

30

40

50

【図 3 A】

(配列番号 2 6) : R28-(GGGGS)m-IGFIR5-(GGGGS)n-IDUA、式中、m及びnは独立して4または5

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFIAYAMGWRFRQAPGKEREFVAAITNFAGGTTITYADSVKGRFT
ISRDAKTTVYLQMNLSLKPEDTALYYCAADRSAGTMRQVRPVLPTWGGQTQVTYSS (GGGS)_mQVKLEES
GGGLVQAGGSLRLSCVASEYPSNIFYAMAWSRQAPGKREFVATIDWGGGARFYANSVKGRFTISRDAKNG
TMYLQMNLSLKPEDTAVYSCAMARQSRVNLDVARYDWGGQTQVTYSS (GGGS)_nEAPHLVHVDAAALWP
LRFRWRSTGFCPPILPHSQADQVYVLSWDOQLNLAIYGVAVPHRGIKQVTHWLLLELVTTTRGSTGRGLSYNFT
HLDGYLDLLRENQLLPGFELMGSSAGHFTDFEDKQOVFEWKDLVSSLARRYIGRYGLAHVSKWNFTWNE
PDHDFDNVSMTQGFNLNYDACSEGLRAASPALRLGGPGDSFHTPPKSPLSWGLLRHCHDGTNFTGEA
GVRLDYISLHRKGARSSISILEQEKVVAQQLRQLPKEADPTIYNDEADPLVGSLSLPPQWRADVTYAAWV
VKVIAQHONLLANTTSAPFYALLNSDNALFSYHPHFAQRTLTARFQVNNTRPPHVQLLRKPEVLTAAGL
LALLDEQIWAIEVSQAGTVLDSNHTVGLASAHRPQGPADAWAAVLIIYASDTRAHFNRSVAVTLRLRG
VPFGPLVYVTRYKLDNGLCSFDGEWRRLGRPVFTAEQFRMRRAEDPVAAAPRPLFAGGKLTLRPAIRL
PSLLLVHVCARPEKPPGQVTRLRALPLTQGGQLVIVMSDEHVGSKCLWTYELIQFSQDGKAYTPVSRKPSTF
NLVFSPDTGAVSGSYRVRAALDYWAREPGFSDVPVYLEVFPVRGPPSPGNE

【図 3 B】

(配列番号 2 7) : R28-(GGGGS)n-IGFIR3-(GGGGS)m-IDUA、式中、m及びnは独立して4または5

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFIAYAMGWRFRQAPGKEREFVAAITNFAGGTTITYADSVKGRFT
ISRDAKTTVYLQMNLSLKPEDTALYYCAADRSAGTMRQVRPVLPTWGGQTQVTYSS (GGGS)_mQVKLEES
GGGLVQAGGSLRLSCVASEYPSNIFYAMAWSRQAPGKREFVATIDWGGGARFYANSVKGRFTISRDAKNG
TMYLQMNLSLKPEDTAVYCAIYITGVNKKVDVNSRSHYMGQGTQVTYSS (GGGS)_nEAPHLVHVDAAALWP
LRFRWRSTGFCPPILPHSQADQVYVLSWDOQLNLAIYGVAVPHRGIKQVTHWLLLELVTTTRGSTGRGLSY
NFTHLDGYLDLLRENQLLPGFELMGSSAGHFTDFEDKQOVFEWKDLVSSLARRYIGRYGLAHVSKWNFT
WNEPDHDFDNVSMTQGFNLNYDACSEGLRAASPALRLGGPGDSFHTPPKSPLSWGLLRHCHDGTNFT
GEAGVRLDYISLHRKGARSSISILEQEKVVAQQLRQLPKEADPTIYNDEADPLVGSLSLPPQWRADVTYA
AMVKVIAQHONLLANTTSAPFYALLNSDNALFSYHPHFAQRTLTARFQVNNTRPPHVQLLRKPEVLTA
MGLLALLDEQIWAIEVSQAGTVLDSNHTVGLASAHRPQGPADAWAAVLIIYASDTRAHFNRSVAVTLRLRG
VPFGPLVYVTRYKLDNGLCSFDGEWRRLGRPVFTAEQFRMRRAEDPVAAAPRPLFAGGKLTLRPA
IRLPSLLLVHVCARPEKPPGQVTRLRALPLTQGGQLVIVMSDEHVGSKCLWTYELIQFSQDGKAYTPVSRKP
STENLNVFSPDTGAVSGSYRVRAALDYWAREPGFSDVPVYLEVFPVRGPPSPGNE

10

20

【図 3 C】

(配列番号 2 8) : R28-(GGGGS)m-IGFIR4-(GGGGS)n-IDUA、式中、m及びnは独立して4または5

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFIAYAMGWRFRQAPGKEREFVAAITNFAGGTTITYADSVKGRFT
ISRDAKTTVYLQMNLSLKPEDTALYYCAADRSAGTMRQVRPVLPTWGGQTQVTYSS (GGGS)_mQVKLEES
GGGLVQAGGSLRLSCVASEYPSNIFYAMAWSRQAPGKREFVCHITWSEGTTRVASSVKRFTISRDAKNG
TMYLQMNLSLKPEDTAVYCAASTIFLRILPEESAITTWGGQTQVTYSS (GGGS)_nEAPHLVHVDAAALWP
LRFRWRSTGFCPPILPHSQADQVYVLSWDOQLNLAIYGVAVPHRGIKQVTHWLLLELVTTTRGSTGRGLSYNFT
HLDGYLDLLRENQLLPGFELMGSSAGHFTDFEDKQOVFEWKDLVSSLARRYIGRYGLAHVSKWNFTWNE
PDHDFDNVSMTQGFNLNYDACSEGLRAASPALRLGGPGDSFHTPPKSPLSWGLLRHCHDGTNFTGEA
GVRLDYISLHRKGARSSISILEQEKVVAQQLRQLPKEADPTIYNDEADPLVGSLSLPPQWRADVTYAAWV
VKVIAQHONLLANTTSAPFYALLNSDNALFSYHPHFAQRTLTARFQVNNTRPPHVQLLRKPEVLTAAGL
LALLDEQIWAIEVSQAGTVLDSNHTVGLASAHRPQGPADAWAAVLIIYASDTRAHFNRSVAVTLRLRG
VPFGPLVYVTRYKLDNGLCSFDGEWRRLGRPVFTAEQFRMRRAEDPVAAAPRPLFAGGKLTLRPAIRL
PSLLLVHVCARPEKPPGQVTRLRALPLTQGGQLVIVMSDEHVGSKCLWTYELIQFSQDGKAYTPVSRKPSTF
NLVFSPDTGAVSGSYRVRAALDYWAREPGFSDVPVYLEVFPVRGPPSPGNE

【図 3 D】

(配列番号 2 9) : R28-H5-(GGGGS)m-IGFIR5-H2-(GGGGS)n-IDUA、式中、m及びnは独立して4または5

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFIAYAMGWRFRQAPGKEREFVAAITNFAGGTTITYADSVKGRFT
ISRDAKTTVYLQMNLSLKPEDTALYYCAADRSAGTMRQVRPVLPTWGGQTQVTYSS (GGGS)_mQVKLEES
GGGLVQAGGSLRLSCVASGRTIDNYAMAWSRQAPGKLEWATIDWGGGARFYANSVKGRFTISRDAKNG
TMYLQMNLSLKPEDTAVYCAVARQSRVNLDVARYDWGGQTQVTYSS (GGGS)_nEAPHLVHVDAAALWP
LRFRWRSTGFCPPILPHSQADQVYVLSWDOQLNLAIYGVAVPHRGIKQVTHWLLLELVTTTRGSTGRGLSYNFT
HLDGYLDLLRENQLLPGFELMGSSAGHFTDFEDKQOVFEWKDLVSSLARRYIGRYGLAHVSKWNFTWNEP
DHDHDFDNVSMTQGFNLNYDACSEGLRAASPALRLGGPGDSFHTPPKSPLSWGLLRHCHDGTNFTGEAG
VRLDYISLHRKGARSSISILEQEKVVAQQLRQLPKEADPTIYNDEADPLVGSLSLPPQWRADVTYAAWV
KVIQAQHONLLANTTSAPFYALLNSDNALFSYHPHFAQRTLTARFQVNNTRPPHVQLLRKPEVLTAAGL
LALLDEQIWAIEVSQAGTVLDSNHTVGLASAHRPQGPADAWAAVLIIYASDTRAHFNRSVAVTLRLRG
VPFGPLVYVTRYKLDNGLCSFDGEWRRLGRPVFTAEQFRMRRAEDPVAAAPRPLFAGGKLTLRPAIRL
PSLLLVHVCARPEKPPGQVTRLRALPLTQGGQLVIVMSDEHVGSKCLWTYELIQFSQDGKAYTPVSRKPSTF
NLVFSPDTGAVSGSYRVRAALDYWAREPGFSDVPVYLEVFPVRGPPSPGNE

30

40

50

【図 3 E】

(配列番号 3 0) : R28-H5 (GGGGS)m-IGF1R 3-H5 (GGGGS)n-IDUA、式中、m及びnは独立して 4 または 5
QVQLVESGGILVQPGGSLRLSCAASGRFTFAYAMGWFRQAPGKEREFVAAI TNFAGGTTYADSVKGRFT
ISRDNAKTVYLQWNSLRADDTAVYYCAADRSQAQTMQVRPVL PYWGQCTLVTVSS (GGGS)_mEVQLVES
GGGLVQPGGSLRLSCAASEPFSNYFAMSWEFRQAFPKEREEVSGVSRDGLTTLIYADSVKGRFTISRDNKSN
TLYLQWNSLRADDTAVYYCAIVITGWNKVDVNSRSHYWGQCTLVTVSS (GGGS)_nEAPHLVDAARALNP
LWPLRRFMRSTGFCFPLPHSQADQYVLSDQQLNLAYVGA VPHRGIKQVTRHWLLELVITRGTGRLSLY
NPTHLDGYLDLLRENQLLPGEFLMGSASGHTTFDEDKQVFEWKDLVSSLA PRYIGRYGLAHVSKNFEET
WNPFDDHDFDNVMTMQGFLNYYDACSEGLRAASTAURLGGPGDSFHTTPRSPUSWGLLRHCHDGNFTF
GEAGVRLDYISLRKGARSSISILEQEKVVAQIRQLFPKFAFTPIYND EAPLVGWSLTPQWRADVTYA
AMVKVIAQHNQLLLANTTSAPFYALLSNDNAFLSYHPHPFAORTLTARFQVNNTRP PHVQLLRKPVLTFA
MGLALLDEBQLMAEVSQAQTVLDLSNHTVGVLAGSAHREPQGPADAWRAAVLIYASDDTAHPNRSVAVTILR
LRGVPFGSLVTVTRYLDNGLCSFGDEMRLRGVPTAQGRMRMAEDPVAAAPRLPAGGLTLRLRA
LRLPSLLLVHVCARPEKPPGQVTRLRALPLTQGQLVLVWSDHEVGSKCLMTYEIQFSQDGKAYTPVSRKP
STENLFFVFPDITGAVSGSYRVRALDYWARPGFFGSDPVYILEVPVPRGPPSPGNP

【図 3 F】

(配列番号 3 1) : R28-H5 (GGGGS)m-IGF1 4-H2 (GGGGS)n-IDUA、式中、m及びnは独立して 4 または 5
QVQLVESGGILVQPGGSLRLSCAASGRFTFAYAMGWFRQAPGKEREFVAAI TNFAGGTTYADSVKGRFT
ISRDNAKTVYLQWNSLRADDTAVYYCAADRSQAQTMQVRPVL PYWGQCTLVTVSS (GGGS)_mQVQLVES
GGGLVQPGGSLRLSCAASVGTSTPAMGWVRQAQFEGLEWVGHITWISRGTT RYASSYKGRFTISRDNKSN
TVYLQWNSLRADDTAVYYCAASTFLLPPEESAYTTWQGTTLTVTSN GGGGS)_nEAPHLVDAARALNP
LRFWRSTGFCFPLPHSQADQYVLSDQQLNLAYVGA VPHRGIKQVTRHWLLELVITRGTGRLSLYNFT
HLDGYLDLLRENQLLPGEFLMGSASGHTTFDEDKQVFEWKDLVSSLA RRYIGRYGLAHVSKNFEETWNE
PDHDFDNVMTMQGFLNYYDACSEGLRAASTAURLGGPGDSFHTTPRSPUSWGLLRHCHDGNFTFGEA
GVRLDYISLRKGARSSISILEQEKVVAQIRQLFPKFAFTPIYND EAPLVGWSLTPQWRADVTYAMV
VKVIAQHNQLLLANTTSAPFYALLSNDNAFLSYHPHPFAORTLTARFOVNNTRP PHVQLLRKPVLTAMGL
LALLDREQMAEVSQAQTVLDNSHTVGVLAGSAHREPQGPADAWRAAVLIYASDDTAHPNRSVAVTILRG
VPPGGLVTVTRYLDNGLCSFGDEMRLRGVPTAQGRMRMAEDPVAAAPRLPAGGLTLRLRA
PSLLLVHVCARPEKPPGQVTRLRALPLTQGQLVLVWSDHEVGSKCLMTYEIQFSQDGKAYTPVSRKPSTF
NLFFVFPDITGAVSGSYRVRALDYWARPGFFGSDPVYILEVPVPRGPPSPGNP

10

20

【図 4 A】

(配列番号 3 2) : p CAGプロモーター

CTCGAGCTTGAATTGACTAGTTAATAAGTAATCAATACGGGTCAT TAGTTCATAGCCCATATAT
GGAGTTCCGGCTTACATACTTACGGTAATAGCCCGCTGGCTGACGCGC CAACGACCCCGCCCATTTG
ACGTCATPAAGACGTAUGTTCCCATAGTAACCCAAATAGGACATTCCTCAATGACGTCAATGGTGGAGT
ATTACCGTAAACTGCCACTTTGGCAGTACATCAAGTATCATTCCTCAATGACGTCAATGGTGGAGT
CAATGACGTAATAATGGCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATG GGACTTTCCTACTTTGACG
TACTATCTAGTATTAGTCAATGCTATTACATGTCGAGGTGAGCCACAG TTCTGCTTCACTTCGCCA
TCTCCCCCCTCCCAACCCCAATTGTTGATTATTTTATTTTATTTATTTT TTTGTCAGCATGGGGGC
GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGA
GGTGGGGGGAGCCCAATCAGAGTGGGCGCTCCGAAAGTTTCTTTTATG GGAGCGGGCGGGCGGGC
GGCCCTATAAAGACGCGCGCGCGGGAGTCTGCTGCGCTGCC TTTCGCCGCTGCCCGCTC
GGCCCGCTCCGCGCGCGCGCGCGCTGACTGACCGCTACTCCCC A CAGGTGAGCGGGCGGAG
GGCCCTTCTCCTCGGGCTGTAATTAAGCGTTTGTGTTAATGACGGCTTGT TTTCTTTCTGGCTGCGGTG
AAAGCCTTTGAGGGGCTTCGGGAGGCGCTTTGTGCGGGGAGCGGCTCG GGAGGTGCGTGGTGTGTGT
GTGCGTGGGAGCGCGCTGCGCTGCGCTGCGCGCGCTGTGAGCG CTTCGAGCGCTTCGCGCGGGG
CTTTCTGCGCTCCGAGTGTGCGAGGAGCGCGCGGGGCGGTGCC CCGCGCTCGGGGGGGGT
GCGAGGGACA A AAGCTCGGTGCGGGGTGTGTGCTGGGGGGGTGAGCAG GGGGTGTGGGCGCGTCTCGT
CGGCTGCAACCCCTCTGACGCCCCCTCCCGAGTTGCTGAGCACGGCC GGCTTCGGGTGCGGGGCTC
CGTACGGGCGTGGGGGCTCGCGCTGCGCGCTGCGCGCGGTGGCGGCG GTGGGCTTCGCGCGGGG
CGGGCGCGCTCGGGCGGGGAGGCTCGGGGAGGGGCGGGCGGCCCG GAGCGCGCGCGGCTGCG
AGGCGCGGCGAGCGCGAGCCATTGCCCTTTATGGTAATCGTGGAGAGG GCGAGGAGTCTCTTTGTCC
CAATCTGTGCGGAGCGGAATCTGGAGGCGCGCGCGCCCTCTAGC GGGCGCGGGGCGGAAGCGGT
GCGCGCGCGGAGGAAGAAATGGCGGGAGGGCTTCGTGCGTCCGCTCGCG CGCGCGCGCGCTTCTCC
TCTCGAGCTTCGGGCTGTGTCGCGGGGAGCGGCTGCTTCGGGGGAGCG GAGCAGGCGGGGTTCGCG
TTCGCGGTGTGACCGGGGCTTAGAGGCTCTGCTAACCATGTTCAAGCC TTCTTCTTTTCTCTACAGC
TCCTGGGCAACGTCGTGGTATTGTGCTCTCATCATTTTGGCAAGAATTG

【図 4 B】

(配列番号 3 3) : E F 1 アルファプロモーター

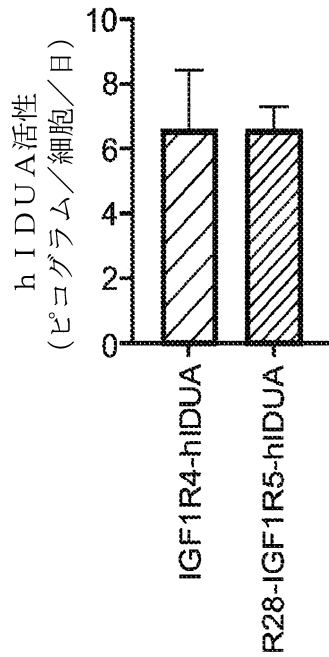
GGCTCCGGTCCGCTCAGTGGCGAGCGGCACATCCGCTCCCGAGAGT TGGGGGAGGGGCTCG
GCAATTGACCGGTGCTAGAGAAAGTGGCGGGGTAACTGGGAAGTG ATGTGCTGTACTGGCTCG
CCTTTTTCGCGAGGTGGGAGAACCTATATAAGTGCAGTAGTCGCGT GAACGTTCTTTTTCGCAAC
GGGTTTGGCGCAGAACACAGTAAGTCCGTGTGTGGTTCGCGGGGCT GGCCTCTTTACGGTTATG
GGCCTTGGTGGCTTCAATTACTCCACTGGCTGCAGTACGTATCTTGTG ATCCCGAGCTTCGGGTTGG
AAGTGGTGGGAGATTGAGGCTTCGCTTAAGGAGCCCTTCGCTCG TGCCTGAGTTGAGCGCTGT
CCTGAGCCATTAAATTTTGTAGACTGCTGGAGCCTTCGCGCTGT CTGCTGCTTTTCGATAAGT
GGGCCAGACTGCACACTGTTATTCGGTTTGTGGCGCGGCGGCGGCA CGGGGCGGCTGCTCAAGCTG
CCGACATTTGCGGAGCGGGGCTTCGAGCGCGGCCACAGAAATGGA GCGGGGTGATGCTCAAGCTG
GGCGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCGCGCGCTGATCCGCCCGCT GGCAGCAAGCTCGCCCG
GTCGGCACGATTGCTGAGCGGAAAGATGCGCTTCCCGGCTGCTGCG GAGGAGCTCAAAATGAGG
ACCGCGGCTCGGAGAGCGGGGTGATCACCCACAGAAAGGCGCTTCCGCTCTCAGCCG
TCGCTTCAATGACTCCAGGAGTACCGGGCGCTCCAGCACTCGATT AGTCTCGAGCTTTTGAG
TACGTCGCTTTTAGTTGGGGGAGGGTTTATGCGATGGAGTTTCCCA CACTGAGTGGGATGAGACT
GAGTTAGGCCACTTGGCACTTGATGTAATCTCCTTGAATTTGCCCTT TTTGAGTTTGGATCTTGGT
TCATCTCAGGCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTCTTCCATTTCTCAGGTGCTGTA

30

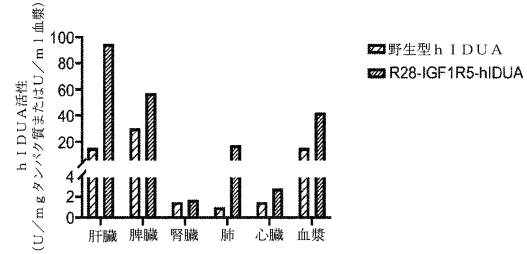
40

50

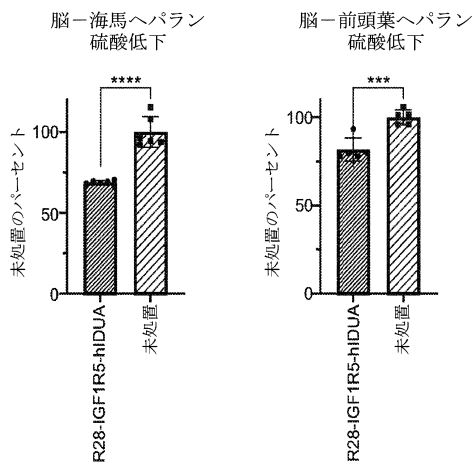
【図 9 B】



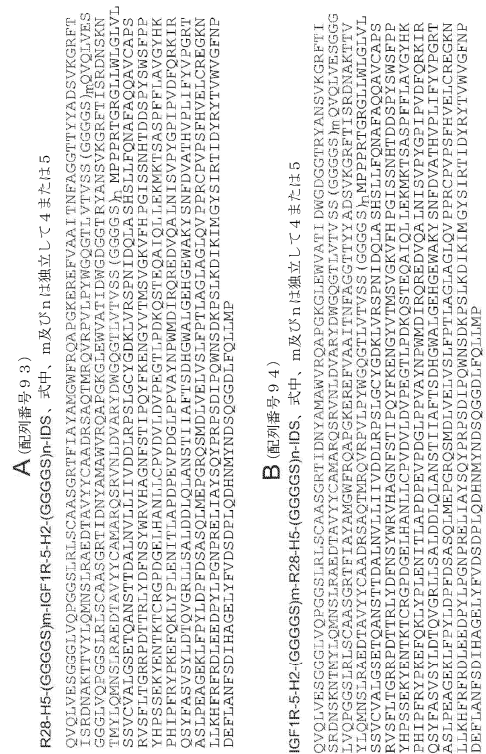
【図 1 0】



【図 1 1】



【図 1 2】



10

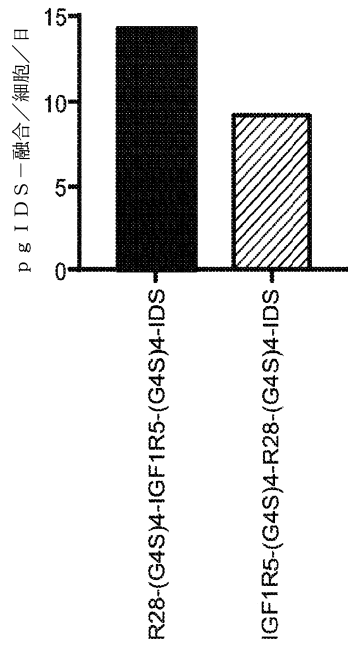
20

30

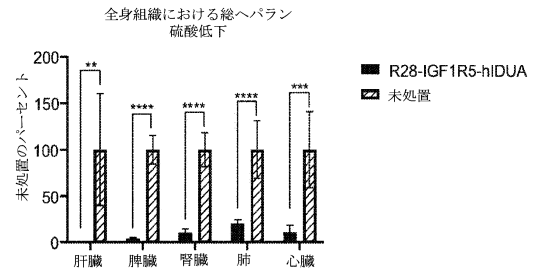
40

50

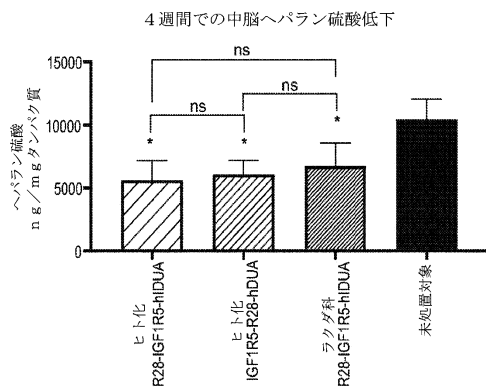
【図 1 3】



【図 1 4】



【図 1 5】



【配列表】

2025504936000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/011727

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - INV. - C07K 19/00; A61K 9/00; A61K 9/50; A61K 47/68; A61L 27/52; C07K 16/28 (2023.01) ADD. CPC - INV. - C07K 19/00; A61K 9/0024; A61K 9/5052; A61K 47/8811; A61L 27/52; A61P 21/00; C07K 16/2863; C12N 15/62 (2023.05) ADD. - C07K 2319/31; C07K 2319/74; C12N 2510/00 (2023.05) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2019/0338043 A1 (JCR PHARMACEUTICALS CO. LTD.) 07 November 2019 (07.11.2019) entire document	1-29, 34-48, 50
A	US 2021/0253715 A1 (NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF CANADA) 19 August 2021 (19.08.2021) entire document	1-29, 34-48, 50
A	US 2022/0000788 A1 (SIGILON THERAPEUTICS INC.) 06 January 2022 (06.01.2022) entire document	1-29, 34-48, 50
A	US 2019/0375823 A1 (ZYMEWORKS INC.) 12 December 2019 (12.12.2019) entire document	1-29, 34-48, 50
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 26 May 2023		Date of mailing of the international search report JUL 03 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Taina Matos Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/011727

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☐ forming part of the international application as filed.

b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/011727

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 49
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet(s).

20

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-29, 34-48, 50

30

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/011727

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-48 and 50 are drawn to fusion proteins, polynucleotides, genetically modified mammalian cells, compositions, implantable devices, a preparation of devices, hydrogel capsules, capsule compositions, methods of treating a human subject diagnosed with Mucopolysaccharidosis type 1 (MPS-1) disease, and pharmaceutical compositions.

The first invention of Group I+ is restricted to a fusion protein comprising an amino acid sequence selected to be SEQ ID NO: 28, polynucleotides encoding the same, genetically modified mammalian cells comprising the same, compositions comprising the same, implantable devices comprising the same, a preparation of devices comprising the same, hydrogel capsules comprising the same, capsule compositions comprising the same, methods of treating a human subject diagnosed with Mucopolysaccharidosis type 1 (MPS-1) disease comprising the same, and pharmaceutical compositions comprising the same. It is believed that claims 1-29, 34-48, and 50 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on.

Applicant is invited to elect additional fusion proteins, polynucleotides encoding the same, genetically modified mammalian cells comprising the same, compositions comprising the same, implantable devices comprising the same, a preparation of devices comprising the same, hydrogel capsules comprising the same, capsule compositions comprising the same, methods of treating a human subject diagnosed with Mucopolysaccharidosis type 1 (MPS-1) disease comprising the same, and pharmaceutical compositions comprising the same to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be a fusion protein comprising an amino acid sequence selected to be SEQ ID NO: 27, polynucleotides encoding the same, genetically modified mammalian cells comprising the same, compositions comprising the same, implantable devices comprising the same, a preparation of devices comprising the same, hydrogel capsules comprising the same, capsule compositions comprising the same, methods of treating a human subject diagnosed with Mucopolysaccharidosis type 1 (MPS-1) disease comprising the same, and pharmaceutical compositions comprising the same. Additional fusion proteins will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element responsible for fusion proteins requiring the selection of alternative amino acid sequences wherein (i) AB comprises a set of first, second and third amino acid sequences corresponding to the three complementarity determining regions CDR1, CDR2 and CDR3 of the heavy chain variable region of an anti-HSA antibody, optionally the set of first, second and third amino acid sequences are selected from: (a) GRTTFIAYA (SEQ ID NO:1), ITNFAGGTT (SEQ ID NO:2), AADRSAGTMRQVRPVL (SF1 1D NO:3); (b) GFLLRSNTM (SEQ ID NO:41), IRPSGLT (SEQ ID NO:42), HTRPPFQRDS (SEQ ID NO:43); (c) GFLLRSNTN (SEQ ID NO:41), IRPSGLT (SEQ ID NO:42), ATRPPFQRDS 30 (SEQ ID NO:44); (d) GRTEDNYVM (SEQ ID NO:45), ISGSGST (SEQ ID NO:46); AAGSRRTYR-EPKFYPS (SEQ ID NO:47); (e) STFSSSSV (SEQ ID NO:48), YESGGST (SEQ ID NO:49), NVAGRNVWVPISRYPSPGPY (SEQ ID NO:50); and (f) GSTFSSSV (SEQ ID NO:48), FTSGGST (SEQ ID NO:49), AVAGRNVWVPISRYPSPGPY (SEQ ID NO:51); or (ii) AB comprises, consists essentially of or consists of an amino acid sequence selected from: (a) QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFIAYAMGWFRQAPGKEREFVA AITNFAGGTTTAYDSVKGRTISRDNAKTTVYLMQNSLKPEDTALYYCA ADRSAQTMRQVRPVL PYWGGGTQVTVSS (SEQ ID NO:4) or a conservatively substituted variant thereof; (b) QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFIAYAMGWFRQAPGKEREFVA AITNFAGGTTTAYDSVKGRTISRDNAKTTVYLMQNSLRAEDTAVYYCA ADRSAQTMRQVRPVL PYWGGGTQVTVSS (SEQ ID NO:5) or a conservatively substituted variant thereof; (c) QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVGPGLLRNTMGWYRQAPGKERELV AFIRPSGLTNYNDVAVQGRFTISRDNAKNTVYLMQNSLKPEDTAVYYCHT RPPFQRDSWGQGTQV TVSS (SEQ ID NO:52) or a conservatively substituted variant thereof; (d) QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGPGLLRNTMGWYRQAPGKERELVA 20 FIRPSGLTNYNDVAVQGRFTISRDNAKNTVYLMQNSLRAEDTAVYYCHT RPPFQRDSWGQGTQV TVSS (SEQ ID NO:53) or a conservatively substituted variant thereof; (e) QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFDNYVMWFRQAPGKEREFV ASISGSGSTNYANSVKDRFTISRDNKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCAAG SRRTYRREP KFYPSPWGGGTQVTVSS (SEQ ID NO:54) or a conservatively substituted variant thereof; (f) EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFDNYVMWFRQAPGKGLFVS SISGSGSTNYANSVKDRFTISRDNKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCAAG SRRTYRREP KFYPSPWGGGTQVTVSS (SEQ ID NO:55) or a conservatively substituted variant thereof; (g) QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSSSVWYRQAPGQRELVA AITSGGSTNTADSVKGRFTISRDNKNTLYQMNSLKPEDTAVYYCNV AGRNVWVPISRYPSPGPYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:56) or a conservatively substituted variant thereof; and (h) EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSSSVWYRQAPGKGLVSA ITSGGSTNTADSVKGRFTISRDNKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCNVAGR NVWVPISRYPSPGPYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:57) or a conservatively substituted variant thereof."

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of a fusion protein which comprises an N-terminal to C-terminal structure defined by formula I: AB-L1-RB-L2-C or formula II: RB-L1-AB-L2-C, wherein for each of formula I and II: AB comprises a domain that binds to human serum albumin (HSA); L1, which may be present or absent, comprises a first linker amino acid sequence; RB comprises a domain that binds to the extracellular domain of human IGF1R (hIGF1R); L2, which may be present or absent, comprises a second linker amino acid sequence that is the same or different than the first linker amino acid sequence; and C is a cargo moiety, optionally the cargo moiety comprises, consists essentially of, or consists of, the amino acid sequence of a polypeptide; a polynucleotide which comprises a first nucleotide sequence that encodes the fusion protein, optionally wherein the polynucleotide is one strand in an isolated double-stranded DNA molecule; a genetically modified mammalian cell which is transiently or stably transfected with the polynucleotide, optionally wherein the cell is derived from a human cell; a composition comprising a plurality of genetically modified cells, wherein each cell in the plurality is a genetically modified cell, optionally wherein the plurality of genetically modified cells is obtained from a culture of a monoclonal cell line; an implantable device comprising at least one cell-containing compartment which comprises the genetically modified cell and further comprises at least one means for mitigating the foreign body response (FBR) when the device is implanted into the subject, optionally wherein the device comprises a spherical, two-compartment hydrogel capsule of about 0.75 mm to about 2 mm in diameter; a preparation of devices, wherein each device in the preparation is a device; a hydrogel capsule comprising: (i) an inner compartment which comprises a plurality of the genetically modified cell encapsulated in a first polymer composition, wherein the first polymer composition comprises a hydrogel-forming polymer, optionally wherein the concentration of the

Form PCT/ISA/210 (extra sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/011727

genetically modified cell in the inner compartment is at least 40 million cells per ml of the first polymer composition; and (ii) a barrier compartment surrounding the inner compartment and comprising a second polymer composition, wherein the second polymer composition comprises an alginate covalently modified with at least one compound of Formula (III) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, optionally wherein the compound of Formula (III) is selected from a compound provided in the table below; a capsule composition comprising a plurality of the hydrogel capsule in a pharmaceutically acceptable carrier; a method of treating a human subject diagnosed with Mucopolysaccharidosis type 1 (MPS-1) disease, comprising: (i) providing the capsule composition; and (ii) disposing the capsule composition in the body of the subject, optionally wherein the disposing step comprises placing the capsule composition into the intraperitoneal space of the subject or into the greater sac of the peritoneal cavity; a pharmaceutical composition comprising the fusion protein and a pharmaceutically acceptable carrier, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2021/0253715 A1 to National Research Council of Canada teaches a fusion protein which comprises an N-terminal to C-terminal structure defined by formula I: AB-L1-RB-L2-C or formula II: RB-L1-AB-L2-C, wherein for each of formula I and II: AB comprises a domain that binds to human serum albumin (HSA); L1, which may be present or absent, comprises a first linker amino acid sequence; RB comprises a domain that binds to the extracellular domain of human IGF1R (hIGF1R); L2, which may be present or absent, comprises a second linker amino acid sequence that is the same or different than the first linker amino acid sequence; and C is a cargo moiety (FIG. 1 depicts the arrangement of some of the constructs utilized herein. "BBB VHH" indicates BBB penetrating single domain antibodies (IGF1R3H5 or IGF1R5H2 or FCS), "anti-Alb" indicates anti albumin single domain antibodies (R26 VHH or M79 VHH), Para. [0067]; FIG. 1 discloses a fusion protein, fourth from the top, comprising a BBB VHH-anti-Alb-Iduronate-2-sulfatase); a polynucleotide which comprises a first nucleotide sequence that encodes the fusion protein (there is provided a nucleic acid vector comprising a nucleotide sequence encoding a compound of the present invention, Para. [0063]); a genetically modified mammalian cell which is transiently or stably transfected with the polynucleotide (a cell comprising the nucleic acid vector of the present invention for expressing the compound of the present invention, Para. [0064]); a composition comprising a plurality of genetically modified cells, wherein each cell in the plurality is a genetically modified cell (cells comprising the nucleic acid vector, for expressing the compound of the present invention, Para. [0148]); and a pharmaceutical composition comprising the fusion protein and a pharmaceutically acceptable carrier (there is provided a composition comprising the compound of the present invention and a pharmaceutically acceptable diluent, carrier, or excipient, Para. [0052]).

US 2022/0000789 A1 to Sigilon Therapeutics Inc. teaches an implantable device comprising at least one cell-containing compartment which comprises the genetically modified cell and further comprises at least one means for mitigating the foreign body response (FBR) when the device is implanted into the subject (Described herein are implantable devices comprising means for mitigating the foreign body response (FBR) and at least one cell-containing compartment which comprises a plurality of cells (e.g., live cells) encapsulated in a polymer composition comprising a cell-binding substance (CBS), as well as compositions and methods of making and using the same, Abstract; the polymer in the first CBP-polymer is a polysaccharide or other hydrogel-forming polymer, Para. [0007]); a preparation of devices, wherein each device in the preparation is a device (the present disclosure features a preparation (e.g., a composition) comprising a plurality (at least any of 3, 6, 12, 25, 50 or more) of cell-containing devices described herein, Para. [0018]); a hydrogel capsule (a 2-compartment hydrogel capsule, Para. [0015]) comprising: (i) an inner compartment which comprises a plurality of the genetically modified cell encapsulated in a first polymer composition, wherein the first polymer composition comprises a hydrogel-forming polymer (a cell-containing compartment (e.g., the inner compartment) comprising a plurality of cells (e.g., live cells) and one or more CBP-polymer(s), Para. [0015]); and (ii) a barrier compartment surrounding the inner compartment and comprising a second polymer composition (surrounded by a barrier compartment (e.g., the outer compartment) comprising an afibrotic polymer, Para. [0015]), wherein the second polymer composition comprises an alginate covalently modified with at least one compound of Formula (III) or a pharmaceutically acceptable salt thereof (the afibrotic compound is a compound of Formula (I); or a pharmaceutically acceptable salt thereof, Para. [0014]; Formula (I) of Sigilon is identical to instant Formula (II)); a capsule composition comprising a plurality of the hydrogel capsule in a pharmaceutically acceptable carrier (combining a device or hydrogel capsule with a second component, e.g., a buffer, carrier, or excipient, Para. [0440]); a method of treating a human subject diagnosed with Mucopolysaccharidosis type 1 (MPS-1) disease (A method of implanting a device in a subject, Para. [0430]; the disease, disorder or condition is a lysosomal storage disease. Exemplary lysosomal storage diseases include... Hurler syndrome (also known as mucopolysaccharidosis type I (MPS I)), Para. [0329]), comprising: (i) providing the capsule composition (providing a device or preparation of devices described herein, Para. [0431]); and (ii) disposing the capsule composition in the body of the subject (disposing the device or preparation in the body of the subject, Para. [0432]).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N	15/90	(2006.01)	C 1 2 N	15/90	Z
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	35/12	(2015.01)	A 6 1 K	39/395	Y
A 6 1 K	9/48	(2006.01)	A 6 1 K	35/12	
A 6 1 K	9/06	(2006.01)	A 6 1 K	9/48	
A 6 1 K	47/36	(2006.01)	A 6 1 K	9/06	
A 6 1 K	47/22	(2006.01)	A 6 1 K	47/36	
C 0 7 K	16/18	(2006.01)	A 6 1 K	47/22	
			C 0 7 K	16/18	

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,C O,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,I R,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX ,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV, SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士 池田 成人

(74)代理人 100162352

弁理士 酒巻 順一郎

(74)代理人 100123995

弁理士 野田 雅一

(72)発明者 マキノ, エリナ

アメリカ合衆国, マサチューセッツ州, ケンブリッジ, ビニー ストリート 1 0 0 スイート 6 0 0

(72)発明者 ピアソン, エリカ

アメリカ合衆国, マサチューセッツ州, ケンブリッジ, ビニー ストリート 1 0 0 スイート 6 0 0

(72)発明者 ハサック, グレゴリー

カナダ, ケー1エー 0アール6 オンタリオ, ミシサガ, モントリオール ロード 1 2 0 0

(72)発明者 スタニミロヴィッチ, ダニカ

カナダ, ケー1エー 0アール6 オンタリオ, ミシサガ, モントリオール ロード 1 2 0 0

F ターム (参考) 4B065 AA90X AA90Y AB01 AC14 CA24 CA25 CA44

4C076 AA09 AA53 BB32 CC01 CC09 DD60 DD61 EE36

4C085 AA16 AA25 BB11 CC23

4C087 AA01 AA02 BB65 CA12 MA27 MA37 MA67 NA05 ZA02 ZC54

4H045 AA10 AA30 BA41 CA40 DA76 EA20 FA74