

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和2年11月12日(2020.11.12)

【公開番号】特開2020-103296(P2020-103296A)

【公開日】令和2年7月9日(2020.7.9)

【年通号数】公開・登録公報2020-027

【出願番号】特願2020-22516(P2020-22516)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/31 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

C 0 7 K 14/25 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 11/06 (2006.01)

A 6 1 P 1/04 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 17/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/02 (2006.01)

A 6 1 P 31/18 (2006.01)

A 6 1 P 17/06 (2006.01)

A 6 1 P 9/14 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/574 (2006.01)

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/13 Z N A

C 1 2 N 15/31

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 16/18

C 0 7 K 14/25

C 0 7 K 14/47

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	47/68	
A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	31/18	
A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	9/14	
A 6 1 K	39/395	C
A 6 1 K	39/395	L
G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	33/574	A
G 0 1 N	33/574	E
G 0 1 N	33/53	Y
C 1 2 Q	1/04	

【手続補正書】

【提出日】令和2年9月10日(2020.9.10)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

a) 少なくとも1つの細胞外標的生体分子に特異的に結合することが可能な結合領域、
 b) 志賀毒素ファミリーの少なくとも1種のメンバーのAサブユニットのアミノ酸配列に由来するポリペプチドを含む志賀毒素エフェクター領域、及び
 c) KDELファミリーのメンバーのカルボキシ末端小胞体保留/回収シグナルモチーフを含むタンパク質。

【請求項2】

タンパク質が、細胞内への送達のための追加の外因性物質に連結され、前記細胞が、前記タンパク質の細胞外標的生体分子と物理的に結合している、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項3】

細胞が、細胞外標的生体分子、又はその一部を前記細胞の外部と結合させる、共有結合性及び/又は非共有結合性分子間相互作用によって前記細胞外標的生体分子と物理的に結合している；或いは、細胞外標的生体分子が、細胞によって発現される不可欠膜タンパク質、又は表在性膜タンパク質である、請求項2に記載のタンパク質。

【請求項4】

追加の外因性物質が、ペプチド、タンパク質、細胞毒性剤、検出促進剤、小分子の化学

療法剤、及びポリヌクレオチドのいずれか一つから選択される、請求項 2 又は 3 に記載のタンパク質。

【請求項 5】

追加の外因性物質が、抗原を含むペプチド又はタンパク質である、請求項 4 に記載のタンパク質。

【請求項 6】

抗原が、細菌タンパク質、ウイルスタンパク質、がんにおいて変異した若しくは異常に発現されたタンパク質、又は T 細胞相補性決定領域に由来する、請求項 5 に記載のタンパク質。

【請求項 7】

検出促進剤が、放射性核種である、請求項 4 に記載のタンパク質。

【請求項 8】

検出促進剤が、常磁性イオンである、請求項 4 に記載のタンパク質。

【請求項 9】

結合領域が、シングルドメイン抗体断片、 $V_{H H}$ 、 $V_{N A R}$ 、免疫グロブリン新規抗原受容体 (I g N A R) 断片、一本鎖可変断片、抗体可変断片、多量体化 s c F v (ダイアボディ、トリアボディ、又はテトラボディ)、二重特異性タンデム $V_{H H}$ 、二重特異性タンデム s c F v、相補性決定領域 3 断片、拘束 F R 3 - C D R 3 - F R 4 ポリペプチド、F d 断片、抗原結合断片、フィブロネクチン由来第 10 フィブロネクチン III 型ドメイン、テネイシン III 型ドメイン、アンキリン反復モチーフドメイン、低密度リポタンパク質受容体由来 A ドメイン、リポカリン、Kunitz ドメイン、プロテイン A 由来 Z ドメイン、ガンマ - B 結晶由来ドメイン、ユビキチン由来ドメイン、S a c 7 d 由来ポリペプチド、F y n 由来 S H 2 ドメイン、ミニタンパク質、C 型レクチン様ドメイン足場、改変抗体模倣物、及び結合機能性を保持する前述のもののいずれかの遺伝子操作された任意の対応物からなる群から選択されるポリペプチドを含む、請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載のタンパク質。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載のタンパク質であって、前記タンパク質を、前記タンパク質の結合領域の細胞外標的生体分子と物理的に結合している細胞に投与すると、前記タンパク質が前記細胞を死滅させることができる、前記タンパク質。

【請求項 11】

細胞が、細胞外標的生体分子、又はその一部を前記細胞の外部と結合させる、共有結合性及び / 又は非共有結合性分子間相互作用によって前記細胞外標的生体分子と物理的に結合している ; 或いは、前記細胞外標的生体分子が、前記細胞によって発現される不可欠膜タンパク質、又は表在性膜タンパク質である、請求項 10 に記載のタンパク質。

【請求項 12】

請求項 10 又は 11 に記載のタンパク質であって、前記タンパク質を、細胞外標的生体分子と物理的に結合している第 1 の細胞集団と、前記細胞外標的生体分子と物理的に結合していない第 2 の細胞集団とに投与すると、前記第 2 の細胞集団の細胞と比較して前記第 1 の細胞集団の細胞に対する前記タンパク質の細胞障害作用が少なくとも 3 倍大きい、前記タンパク質。

【請求項 13】

第 1 の細胞集団が、細胞外標的生体分子、又はその一部を前記細胞の外部と結合させる、共有結合性及び / 又は非共有結合性分子間相互作用によって前記細胞外標的生体分子と物理的に結合している ; 或いは、細胞外標的生体分子が、細胞によって発現される不可欠膜タンパク質、又は表在性膜タンパク質である、請求項 12 に記載のタンパク質。

【請求項 14】

結合領域が、C D 2 0、C D 2 2、C D 4 0、C D 7 4、C D 7 9、C D 2 5、C D 3 0、H E R 2 / n e u / E r b B 2、E G F R、E p C A M、E p h B 2、前立腺特異的膜抗原、C r i p t o、C D C P 1、エンドグリン / C D 1 0 5、線維芽細胞活性タンバ

ク質、Lewis-Y、CD19、CD21、CS1/SLAMF7、CD33、CD52、CD133、gpA33、ムチン、TAG-72、チロシン-プロテインキナーゼ膜貫通型受容体、炭酸脱水酵素IX、葉酸結合タンパク質、ガングリオシドGD2、ガングリオシドGD3、ガングリオシドGM2、ガングリオシドLewis-Y2、VEGFR、アルファVベータ3、アルファ5ベータ1、ErbB1/EGFR、Erb3、c-MET、IGF1R、EphA3、TRAIL-R1、TRAIL-R2、RANK、テネイシン、CD64、メソセリン、BRCA1、チロシナーゼ、TRP-1、TRP-2、MAGE-1、MAGE-3、GAGE-1/2、BAGE、RAGE、NY-ESO-1、CDK-4、ベータ-カテニン、MUM-1、カスパーゼ-8、KIAA0205、HPVE6、SART-1、PRAME、癌胎児抗原、前立腺特異的抗原、前立腺幹細胞抗原、ヒトアスパルチル(アスパラギニル)ベータ-ヒドロキシラーゼ、EphA2、HER3/ErbB-3、MUC1、MART-1/メラニンA、gp100、チロシナーゼ関連抗原、HPV-E7、エプスタイン・バーウイルス抗原、Bcr-Ab1、アルファ-フェトプロテイン抗原、17-A1、膀胱腫瘍抗原、CD38、CD15、CD23、CD53、CD88、CD129、CD183、CD191、CD193、CD244、CD294、CD305、C3AR、FcεRIα、ガレクチン-9、PD-L1、mrp-14、Siglec-8、Siglec-10、CD49d、CD13、CD44、CD54、CD63、CD69、CD123、CD193、TLR4、IgE、CD107a、CD203c、CD14、CD15、CD33、CD64、CD68、CD80、CD86、CD115、F4/80、ILT-3、ガレクチン-3、CD11a-c、GITRL、MHCクラスI分子、MHCクラスII分子、CD284/TLR4、CD107/Mac3、CD195/CCR5、HLA-DR、CD16/32、CD282/TLR2、CD11c、CD123、及び前述のものいずれかの任意の免疫原性断片から選択される細胞外標的生体分子に結合することが可能である、請求項1~13のいずれかに記載のタンパク質。

【請求項15】

志賀毒素エフェクター領域が、配列番号1、配列番号2、又は配列番号3のアミノ酸75~251を含むか又はそれからなる、請求項1~14のいずれかに記載のタンパク質。

【請求項16】

志賀毒素エフェクター領域が、配列番号1、配列番号2、又は配列番号3のアミノ酸1~241を含むか又はそれからなる、請求項1~14のいずれかに記載のタンパク質。

【請求項17】

志賀毒素エフェクター領域が、配列番号1、配列番号2、又は配列番号3のアミノ酸1~251を含むか又はそれからなる、請求項16に記載のタンパク質。

【請求項18】

志賀毒素エフェクター領域が、配列番号1、配列番号2、又は配列番号3のアミノ酸1~261を含むか又はそれからなる、請求項17に記載のタンパク質。

【請求項19】

カルボキシ末端小胞体保留/回収シグナルモチーフが、KDEL(配列番号34)、HDEF(配列番号35)、HDEL(配列番号36)、RDEF(配列番号37)、RDEL(配列番号38)、WDEL(配列番号39)、YDEL(配列番号40)、HEEF(配列番号41)、HEEL(配列番号42)、KEEL(配列番号43)、REEL(配列番号44)、KAEL(配列番号45)、KCEL(配列番号46)、KFEL(配列番号47)、KGEL(配列番号48)、KHEL(配列番号49)、KLEL(配列番号50)、KNEEL(配列番号51)、KQEL(配列番号52)、KREL(配列番号53)、KSEL(配列番号54)、KVEL(配列番号55)、KWEL(配列番号56)、KYEL(配列番号57)、KEDL(配列番号58)、KIEL(配列番号59)、DKEL(配列番号60)、FDEL(配列番号61)、KDEF(配列番号62)、KKEEL(配列番号63)、HADL(配列番号64)、HAEL(配列番号65)、HIEL(配列番号66)、HNEL(配列番号67)、HTEL(配列番号68)

、K T E L (配列番号 6 9)、H V E L (配列番号 7 0)、N D E L (配列番号 7 1)、Q D E L (配列番号 7 2)、R E D L (配列番号 7 3)、R N E L (配列番号 7 4)、R T D L (配列番号 7 5)、R T E L (配列番号 7 6)、S D E L (配列番号 7 7)、T D E L (配列番号 7 8)、S K E L (配列番号 7 9)、S T E L (配列番号 8 0)、及び E D E L (配列番号 8 1) からなる群から選択される、請求項 1 ~ 1 8 のいずれかに記載のタンパク質。

【請求項 2 0】

結合領域が、配列番号 4 ~ 1 6 のいずれかのアミノ酸 2 ~ 2 4 1 を含むか又はそれからなる、請求項 1 ~ 1 9 のいずれかに記載のタンパク質。

【請求項 2 1】

配列番号 4 ~ 3 3 のいずれかに示されるポリペプチドを含むか又はそれからなる、請求項 1 4 に記載のタンパク質。

【請求項 2 2】

志賀毒素エフェクター領域が、志賀毒素ファミリーのメンバーの自然に存在する A サブユニットに対して、前記志賀毒素エフェクター領域の酵素活性を変化させる変異を含み、前記変異が、少なくとも 1 つのアミノ酸残基の欠失、挿入、又は置換から選択される、請求項 1 ~ 2 0 のいずれかに記載のタンパク質。

【請求項 2 3】

変異が、志賀毒素エフェクター領域の細胞毒性を低減又は除去する、請求項 2 2 に記載のタンパク質。

【請求項 2 4】

ホモ多量体又はヘテロ多量体の形態の、請求項 1 ~ 2 3 のいずれかに記載のタンパク質

。 【請求項 2 5】

薬学的に許容される塩又は溶媒和物の形態の、請求項 1 ~ 2 4 のいずれかに記載のタンパク質。

【請求項 2 6】

請求項 1 ~ 2 5 のいずれかに記載のタンパク質と、少なくとも 1 つの薬学的に許容される賦形剤又は担体とを含む医薬組成物。

【請求項 2 7】

少なくとも 1 つの薬学的に許容される担体が、溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤、等張剤又は吸収遅延剤を含み；及び / 又は、医薬組成物が、水性若しくは非水性担体；界面活性剤；安定剤、保存剤、緩衝液、抗酸化剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤；等張剤；及び / 又は抗菌剤若しくは抗真菌剤；をさらに含む、請求項 2 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 8】

請求項 1 ~ 2 5 のいずれかに記載のタンパク質、及び検出促進剤を含む診断用組成物。

【請求項 2 9】

請求項 1 ~ 2 4 のいずれかに記載のタンパク質をコードするポリヌクレオチド、又はその相補体。

【請求項 3 0】

請求項 2 9 に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

【請求項 3 1】

請求項 2 9 に記載のポリヌクレオチド又は請求項 3 0 に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 3 2】

タンパク質に増強された細胞毒性を付与するためのインビトロでの方法であって、前記タンパク質又は前記タンパク質のポリペプチド成分のカルボキシ末端に、K D E Lファミリーのメンバーのカルボキシ末端小胞体保留 / 回収シグナルモチーフを付加するステップを含み、前記タンパク質が、

a) 少なくとも 1 つの細胞外標的生体分子に特異的に結合することが可能な結合領域、

及び

b) 志賀毒素ファミリーの少なくとも1種のメンバーのAサブユニットのアミノ酸配列に由来するポリペプチドを含む志賀毒素エフェクター領域を含む、前記方法。

【請求項33】

細胞内に外因性物質を送達する、インビトロでの方法であって、細胞を、請求項1～25のいずれかに記載のタンパク質、請求項26若しくは27に記載の医薬組成物、又は請求項28に記載の診断用組成物と接触させるステップを含み、前記細胞が、前記タンパク質によって結合されている細胞外標的生体分子と物理的に結合している、前記方法。

【請求項34】

インビトロで細胞を殺滅する方法であって、前記細胞を、請求項1～25のいずれかに記載のタンパク質、又は請求項26若しくは27に記載の医薬組成物と接触させるステップを含み、前記細胞が、前記タンパク質によって結合されている細胞外標的生体分子と物理的に結合している、前記方法。

【請求項35】

請求項1～25のいずれかに記載のタンパク質、又は請求項26若しくは27に記載の医薬組成物を含む、患者における疾患、障害又は状態の治療剤。

【請求項36】

疾患、障害又は状態が、がん、腫瘍、免疫障害、及び微生物感染から選択される、請求項35に記載の治療剤。

【請求項37】

がんが、骨がん、乳がん、中枢/末梢神経系がん、胃腸がん、胚細胞がん、腺がん、頭頸部がん、血液がん、腎・尿路癌、肝がん、肺/胸膜がん、前立腺がん、肉腫、皮膚がん、及び子宮がんから選択される、請求項36に記載の治療剤。

【請求項38】

関連する免疫障害が、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、喘息、クローン病、糖尿病、移植片拒絶、移植片対宿主病、橋本甲状腺炎、溶血性尿毒症症候群、HIV関連疾患、エリテマトーデス、多発性硬化症、結節性多発性動脈炎、多発性関節炎、乾癬、乾癬性関節炎、リウマチ様関節炎、強皮症、敗血症性ショック、シェーグレン症候群、潰瘍性大腸炎、及び血管炎から選択される疾患と関連するものである、請求項36に記載の治療剤。

【請求項39】

がん、腫瘍、又は免疫障害の治療又は予防のための、請求項1～31のいずれかに記載の物の組成物。

【請求項40】

がん、腫瘍、免疫障害又は微生物感染の治療又は予防のための医薬品の製造における、請求項1～31のいずれかに記載の物の組成物の使用。

【請求項41】

疾患、障害若しくは状態の診断、予後予測、又は特性評価における、請求項1～31のいずれかに記載の物の組成物の使用。

【請求項42】

請求項1～25のいずれかに記載のタンパク質の結合領域の細胞外標的と物理的に結合している細胞の存在に関する情報を収集するインビトロでの方法であって、

請求項28に記載の診断用組成物と細胞を接触させるステップ、及び検出促進剤の存在を検出するステップを含む、前記方法。

【請求項43】

請求項1～31のいずれかに記載の物の組成物と、さらなる試薬及び/又は医薬送達デバイスとを備えるキット。