

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】令和6年3月5日(2024.3.5)

【国際公開番号】WO2021/173879

【公表番号】特表2023-514452(P2023-514452A)

【公表日】令和5年4月5日(2023.4.5)

【年通号数】公開公報(特許)2023-063

【出願番号】特願2022-550908(P2022-550908)

【国際特許分類】

C 0 7 K 1 9 / 0 0 ( 2 0 0 6 . 0 1 )

C 0 7 K 1 4 / 1 6 5 ( 2 0 0 6 . 0 1 )

C 0 7 K 1 4 / 7 0 5 ( 2 0 0 6 . 0 1 )

C 0 7 K 1 6 / 0 0 ( 2 0 0 6 . 0 1 )

A 6 1 K 3 8 / 1 6 ( 2 0 0 6 . 0 1 )

A 6 1 K 4 7 / 6 4 ( 2 0 1 7 . 0 1 )

A 6 1 P 3 1 / 1 4 ( 2 0 0 6 . 0 1 )

C 1 2 N 1 5 / 6 2 ( 2 0 0 6 . 0 1 )

C 1 2 N 1 5 / 5 0 ( 2 0 0 6 . 0 1 )

C 1 2 N 1 5 / 1 3 ( 2 0 0 6 . 0 1 )

10

20

【 F I 】

C 0 7 K 1 9 / 0 0

C 0 7 K 1 4 / 1 6 5                    Z N A

C 0 7 K 1 4 / 7 0 5

C 0 7 K 1 6 / 0 0

A 6 1 K 3 8 / 1 6

A 6 1 K 4 7 / 6 4

A 6 1 P 3 1 / 1 4

C 1 2 N 1 5 / 6 2                    Z

C 1 2 N 1 5 / 5 0

C 1 2 N 1 5 / 1 3

30

【手続補正書】

【提出日】令和6年2月26日(2024.2.26)

【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】

40

【請求項1】

スキャフォールドの元となる天然のタンパク質の結合を模倣するスキャフォールドを取得する方法であって、

第1の結合パートナー及び第2の結合パートナーの三次元結合モデルを作製すること、前記結合モデルに基づいて、各結合パートナーの結合界面を決定すること、

前記結合界面を分析して、各結合パートナーの構造及び/又はコンフォメーションを、その天然、遊離又は結合状態で維持すること、

熱力学的計算( G )に基づいて重要な結合残基を決定すること、並びに

前記各結合パートナーの結合界面のアミノ酸配列を決定して、前記スキャフォールドを取得すること、

50

を含む、方法。

【請求項 2】

前記三次元結合が、既知の配列及び/又は構造のタンパク質に対する前記第 1 の結合パートナー又は前記第 2 の結合パートナーのいずれかの相同性に基づく、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記方法が、さまざまなコンフォメーション又はフォールディング状態のスキヤフォールドを設計して、対応する結合パートナーにフィッティングさせることを更に含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記第 1 の結合パートナー及び前記第 2 の結合パートナーが、それぞれ、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質及び ACE 2 である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記スキヤフォールドが、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質及び ACE 2 受容体それぞれの結合界面からの切断ペプチド断片を含み、かつ、天然の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又は ACE 2 受容体の、構造、コンフォメーション又は結合親和性を実質的に維持している、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

(i) 前記スキヤフォールドが、配列番号 2 の残基 433 ~ 511 のアミノ酸配列、若しくは配列番号 140 の残基 19 ~ 84 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 40 %、少なくとも 45 %、少なくとも 50 %、少なくとも 55 %、少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % 若しくは 100 % 同一である；及び/又は

(ii) 前記スキヤフォールドが、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の結合界面からの切断ペプチド断片を含み、シート構造を維持しているか、若しくは、ACE 2 の結合界面からの切断ペプチド断片を含み、ヘリックス構造を維持している；請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記スキヤフォールドが、挿入、欠失又は置換を含む 1 つ以上の修飾を有し、ここで、前記 1 つ以上の修飾は前記スキヤフォールドとその結合パートナーの結合親和性を実質的に低下させない、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記スキヤフォールドが、1 つ以上の免疫エピトープを更に含み、前記免疫エピトープが、通常、T 細胞エピトープ又は B 細胞エピトープである、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記スキヤフォールドが、1 つ以上のコンジュゲート可能なドメインを更に含み、前記コンジュゲート可能なドメインを介して、ナノ粒子、チップ、別の基質、別のペプチド又は別の治療剤に結合される、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

2 つ以上のスキヤフォールドを含む多価スキヤフォールドであって、前記 2 つ以上のスキヤフォールドのそれぞれが、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質及び ACE 2 受容体それぞれの結合界面からの切断ペプチド断片を含み、かつ、天然の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又は ACE 2 受容体の、構造、コンフォメーション又は結合親和性を実質的に維持している、多価スキヤフォールド。

【請求項 11】

(i) 1 つ以上のスキヤフォールドであって、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質及び ACE 2 受容体それぞれの結合界面からの切断ペプチド断片を含み、かつ、天然の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質若しくは ACE 2 受容体の、構造、コンフォメーション若しく

10

20

30

40

50

は結合親和性を実質的に維持している、スキャフォールド；

(ii) 1つ以上の請求項10に記載の多価スキャフォールド；

(iii) (a) 1つ以上のスキャフォールドであって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質及びACE2受容体それぞれの結合界面からの切断ペプチド断片を含み、かつ、天然のSARS-CoV-2スパイクタンパク質若しくはACE2受容体の、構造、コンフォメーション若しくは結合親和性を実質的に維持している、スキャフォールド；及び(b) 免疫応答誘発ドメイン；

を含む1つ以上の融合タンパク質；又は

(iv) 1つ以上のスキャフォールドであって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質及びACE2受容体それぞれの結合界面からの切断ペプチド断片を含み、かつ、天然のSARS-CoV-2スパイクタンパク質若しくはACE2受容体の、構造、コンフォメーション若しくは結合親和性を実質的に維持している、スキャフォールドを含む1つ以上のコンジュゲート、ここで、前記スキャフォールドは、別のペプチド又は別の治療剤にコンジュゲートされている；

10

並びに、1つ以上の薬学的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤；

を含む、組成物。

【請求項12】

前記組成物は、注射用、吸入用、経口、経鼻、局所、経皮、子宮内若しくは直腸内剤形に製剤化される、及び/又は、前記組成物は、対象に、非経口、経口、肺、頬、鼻、経皮、直腸若しくは眼経路による投与に使用する、請求項11に記載の組成物。

20

【請求項13】

前記組成物がワクチン組成物である、請求項11又は12に記載の組成物。

【請求項14】

対象におけるSAR-CoV-2感染の治療若しくは予防に使用する、又は、前記対象におけるSAR-CoV-2ウイルス侵入の阻止に使用する、請求項11～13のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項15】

前記組成物は、1つ以上のスキャフォールドとコンジュゲートした1つ以上の治療剤を含み、前記1つ以上のスキャフォールドは、SARS-CoV-2スパイクタンパク質及びACE2受容体それぞれの結合界面からの切断ペプチド断片を含み、かつ、天然のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はACE2受容体の、構造、コンフォメーション又は結合親和性を実質的に維持しており、

30

前記組成物は、前記1つ以上の治療剤の対象への標的送達に使用する、請求項11～14のいずれか一項に記載の組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0202

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0202】

40

【表 3】

表3: さまざまなCoV-2スキャフォールドの毒性及び抗ウイルス活性

表3. SARS-CoV-2 に対するリガンド化合物の毒性及び抗ウイルス活性											
濃度 (µg/ml)	毒性(%)				ウイルス力価 - CCID50/mL (Log10)				濃度 (µg/ml)	毒性(%)	ウイルス 力価 - C CID50/m L(Log10)
	スキャフォ ールド#4 (配列番 号 75)	スキャフォ ールド#7 (配列番 号 78)	スキャフォ ールド#8 (配列番 号 79)	スキャフォ ールド#9 (配列番 号 80)	スキャフォ ールド#4 (配列番 号 75)	スキャフォ ールド#7 (配列番 号 78)	スキャフォ ールド#8 (配列番 号 79)	スキャフォ ールド#9 (配列番 号 80)		M128533	M128533
20	6.3%	21.0%	0.0%	0.0%	4.3	3.0	4.3	2.5	100	16.1%	<1.7
6.3	17.7%	11.9%	0.0%	0.0%	4.0	3.7	4.7	4.3	32	0.0%	<1.7
2	13.8%	10.8%	0.0%	0.0%	4.7	5.3	5.3	4.7	10	0.0%	3.0
0.63	1.9%	0.0%	10.7%	0.8%	4.7	5.3	5.3	4.7	3.2	0.0%	4.3
0.2	15.1%	22.2%	6.9%	9.2%	4.7	5.0	5.0	5.0	1	8.4%	4.7
0.063	4.9%	13.4%	6.5%	2.8%	5.0	4.7	4.7	5.3	0.32	10.7%	5.0
0.02	11.3%	9.8%	13.2%	18.2%	4.5	5.0	5.5	5.3	0.1	9.5%	5.0
0.0063	0.0%	7.8%	12.3%	0.0%	4.7	4.7	5.0	5.0	0.032	10.0%	4.7
				ウイル ス対照	4.5	4.7	4.5	5.0			
ニュートラルレッド染料の Caco-2 細胞への取込みによって求めた毒性(%)											
Vero 76 細胞のエンドポイント希釈によって求めた50%細胞培養感染量(CCID50)											

10

20

以下に、出願当初の特許請求の範囲に記載された発明を付記する。

[ 1 ] SARS-CoV-2スパイクタンパク質及びACE2受容体それぞれの結合界面からの切断ペプチド断片を含むスキャフォールドであって、前記スキャフォールドが、天然のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はACE2受容体の、構造、コンフォメーション又は結合親和性を実質的に維持している、スキャフォールド。

[ 2 ] 前記スキャフォールドのサイズが、10~200アミノ酸残基、約50~約100アミノ酸残基、約55~約95アミノ酸残基、約60~約90アミノ酸残基、約65~約85アミノ酸残基、約70~約80アミノ酸残基である、[ 1 ]に記載のスキャフォールド。

[ 3 ] 前記スキャフォールドのサイズが、約120未満のアミノ酸残基、約110未満のアミノ酸残基、約100未満のアミノ酸残基、約90未満のアミノ酸残基、約80未満のアミノ酸残基、約70未満のアミノ酸残基、約60未満のアミノ酸残基、又は50未満のアミノ酸残基である、[ 1 ]又は[ 2 ]に記載のスキャフォールド。

[ 4 ] 前記スキャフォールドが、配列番号2の残基433~511のアミノ酸配列、又は配列番号140の残基19~84のアミノ酸配列に対して少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、又は100%同一である、[ 1 ]~[ 3 ]のいずれかに記載のスキャフォールド。

[ 5 ] 前記スキャフォールドが、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質の結合界面からの切断ペプチド断片を含み、シート構造を維持しているか、又は、ACE2の結合界面からの切断ペプチド断片を含み、ヘリックス構造を維持している、[ 1 ]~[ 4 ]のいずれかに記載のスキャフォールド。

[ 6 ] 前記スキャフォールドが、第1の重要な結合モチーフ、第2の重要な結合モチーフ及びこれらの重要な結合モチーフ間の主鎖領域を含む、[ 1 ]~[ 5 ]のいずれかに記載のスキャフォールド。

[ 7 ] 前記主鎖領域の全配列又は一部分の配列がリンカーによって置きかえられている

30

40

50

〔 6 〕に記載のスキヤフォールド。

〔 8 〕 前記リンカーがGSリンカーである、〔 7 〕に記載のスキヤフォールド。

〔 9 〕 前記リンカーのサイズが1～20アミノ酸残基である、〔 7 〕又は〔 8 〕に記載のスキヤフォールド。

〔 10 〕 前記スキヤフォールドが、挿入、欠失又は置換を含む1つ以上の修飾を有し、ここで、前記1つ以上の修飾は前記スキヤフォールドとその結合パートナーの結合親和性を実質的に低下させない、〔 1 〕～〔 9 〕のいずれかに記載のスキヤフォールド。

〔 11 〕 前記1つ以上の修飾は、前記スキヤフォールドとその結合パートナーの前記結合親和性を増加させる、〔 10 〕に記載のスキヤフォールド。

〔 12 〕 前記スキヤフォールドは、その所望の位置にジスルフィド結合が形成されるように1つ以上のCys置換を含む、〔 10 〕又は〔 11 〕に記載のスキヤフォールド。 10

〔 13 〕 1つ以上の免疫エピトープを更に含む、〔 1 〕～〔 12 〕のいずれかに記載のスキヤフォールド。

〔 14 〕 前記免疫エピトープが、T細胞エピトープ又はB細胞エピトープである、〔 13 〕に記載のスキヤフォールド。

〔 15 〕 前記免疫エピトープが、配列番号7～64及び67～71に示されるアミノ酸配列からなる群から選択される、〔 13 〕又は〔 14 〕に記載のスキヤフォールド。

〔 16 〕 1つ以上のタグ又は1つ以上のコンジュゲート可能なドメインを更に含む、〔 1 〕～〔 15 〕のいずれかに記載のスキヤフォールド。

〔 17 〕 前記タグがHisタグ及びCタグを含む、〔 16 〕に記載のスキヤフォールド。 20

〔 18 〕 前記コンジュゲート可能なドメインが、マレイミド-チオールコンジュゲーションを含む、〔 16 〕に記載のスキヤフォールド。

〔 19 〕 前記スキヤフォールドが、前記コンジュゲート可能なドメインを介して、ナノ粒子、チップ、別の基質、別のペプチド又は別の治療剤に結合される、〔 16 〕又は〔 18 〕に記載のスキヤフォールド。

〔 20 〕 N末端における極性頭部、C末端における極性尾部又は両者を更に含む、〔 1 〕～〔 19 〕のいずれかに記載のスキヤフォールド。

〔 21 〕 前記極性頭部又は前記極性尾部が、ポリ(アルギニン)、ポリ(リシン)、ポリ(ヒスチジン)、ポリ(グルタミン酸)又はポリ(アスパラギン酸)を含む、〔 20 〕に記載のスキヤフォールド。 30

〔 22 〕 前記極性頭部又は前記極性尾部は2～20の荷電アミノ酸を有する、〔 20 〕又は〔 21 〕に記載のスキヤフォールド。

〔 23 〕 前記スキヤフォールドが、直鎖状ペプチドである、〔 1 〕～〔 22 〕のいずれかに記載のスキヤフォールド。

〔 24 〕 前記スキヤフォールドが、頭部-尾部(head-to-tail)型環状ペプチドである、〔 1 〕～〔 22 〕のいずれかに記載のスキヤフォールド。

〔 25 〕 2つ以上の〔 1 〕～〔 24 〕のいずれかに記載のスキヤフォールドを含む、多価スキヤフォールド。

〔 26 〕 1つ以上の〔 1 〕～〔 24 〕のいずれかに記載のスキヤフォールド及び免疫応答誘発ドメインを含む、融合タンパク質。 40

〔 27 〕 前記免疫応答誘発ドメインがFcドメインである、〔 26 〕に記載の融合タンパク質。

〔 28 〕 別のペプチド又は別の治療剤にコンジュゲートされている、1つ以上の〔 1 〕～〔 24 〕のいずれかに記載のスキヤフォールドを含む、コンジュゲート。

〔 29 〕 1つ以上の〔 1 〕～〔 24 〕のいずれかに記載のスキヤフォールド、1つ以上の〔 25 〕に記載の多価スキヤフォールド、1つ以上の〔 26 〕又は〔 27 〕に記載の融合タンパク質、及び1つ以上の〔 28 〕に記載のコンジュゲートを含む、組成物。

〔 30 〕 1つ以上の薬学的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤を更に含む、〔 29 〕に記載の組成物。

〔 31 〕 前記組成物が、注射用、吸入用、経口、経鼻、局所、経皮、子宮内又は直腸内 50

剤形に製剤化される、[ 29 ]又は[ 30 ]に記載の組成物。

[ 32 ] 前記組成物が、非経口、経口、肺、頬、鼻、経皮、直腸又は眼経路によって対象に投与される、[ 29 ]～[ 31 ]のいずれかに記載の組成物。

[ 33 ] 前記組成物が、ワクチン組成物である、[ 29 ]～[ 32 ]のいずれかに記載の組成物。

[ 34 ] 対象におけるSAR-CoV-2感染を治療又は予防する方法であって、前記対象に、治療有効量の、1つ以上の[ 1 ]～[ 24 ]のいずれかに記載のスクャフォールド、1つ以上の[ 25 ]に記載の多価スクャフォールド、1つ以上の[ 26 ]又は[ 27 ]に記載の融合タンパク質、1つ以上の[ 28 ]に記載のコンジュゲート、又は1つ以上の[ 29 ]～[ 33 ]のいずれかに記載の組成物を投与することを含む、方法。

10

[ 35 ] 前記対象が哺乳動物である、[ 34 ]に記載の方法。

[ 36 ] 前記対象がヒトである、[ 34 ]又は[ 35 ]に記載の方法。

[ 37 ] 対象におけるSAR-CoV-2ウイルス侵入を阻止する方法であって、前記対象に、治療有効量の、1つ以上の[ 1 ]～[ 24 ]のいずれかに記載のスクャフォールド、1つ以上の[ 25 ]に記載の多価スクャフォールド、1つ以上の[ 26 ]又は[ 27 ]に記載の融合タンパク質、1つ以上の[ 28 ]に記載のコンジュゲート、又は1つ以上の[ 29 ]～[ 33 ]のいずれかに記載の組成物を投与することを含む、方法。

[ 38 ] 前記対象が哺乳動物である、[ 37 ]に記載の方法。

[ 36 ] 前記対象がヒトである、[ 37 ]又は[ 38 ]に記載の方法。

[ 37 ] 1つ以上の治療剤の標的送達方法であって、前記1つ以上の治療剤と、1つ以上の[ 1 ]～[ 24 ]のいずれかに記載のスクャフォールドをコンジュゲートすること、及び、必要とする対象に前記コンジュゲートを送達することを含む、方法。

20

[ 38 ] スクャフォールドの元となる天然のタンパク質の結合を模倣するスクャフォールドを取得する方法であって、

第1の結合パートナー及び第2の結合パートナーの三次元結合モデルを作製すること、

前記結合モデルに基づいて、各結合パートナーに対する結合界面を決定すること、

前記結合界面を分析して、各結合パートナーの構造及び/又はコンフォメーションを、その天然、遊離又は結合状態で維持すること、

熱力学的計算 ( G ) に基づいて重要な結合残基を決定すること、並びに

各結合パートナーの結合界面のアミノ酸配列を決定して、前記スクャフォールドを取得すること、

30

を含む、方法。

[ 39 ] 前記三次元結合が、コンピュータプログラムによって作製される、[ 38 ]に記載の方法。

[ 40 ] 前記コンピュータプログラムがSWISS-MODELである、[ 39 ]に記載の方法。

[ 41 ] 前記三次元結合が、既知の配列及び/又は構造のタンパク質に対する前記第1の結合パートナー又は前記第2の結合パートナーのいずれかの相同性に基づく、[ 38 ]～[ 40 ]のいずれかに記載の方法。

[ 42 ] さまざまなコンフォメーション又はフォールディング状態のスクャフォールドを設計して、対応する結合パートナーにフィッティングさせることを更に含む、[ 38 ]～[ 41 ]のいずれかに記載の方法。

40

[ 43 ] 前記第1の結合パートナー及び前記第2の結合パートナーが、それぞれ、SAR S-CoV-2スパイクタンパク質及びACE2である、[ 38 ]～[ 42 ]のいずれかに記載の方法。

50