(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号

特表2017-529352

(P2017-529352A)

(43)公表日　平成29年10月5日(2017.10.5)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 8/64	(2006.01)	A61K	8/64	4C083
A61Q 5/02	(2006.01)	A61Q	5/02	4H045
A61Q 5/12	(2006.01)	A61Q	5/12	
A61Q 5/00	(2006.01)	A61Q	5/00	
A61Q 1/02	(2006.01)	A61Q	1/02	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 39 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-514811 (P2017-514811)
(86)(22)出願日　平成27年9月17日 (2015.9.17)
(85)翻訳文提出日　平成29年4月28日 (2017.4.28)
(86)国際出願番号　PCT/US2015/050668
(87)国際公開番号　WO2016/044582
(87)国際公開日　平成28年3月24日 (2016.3.24)
(31)優先権主張番号　62/051,723
(32)優先日　平成26年9月17日 (2014.9.17)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　516162777
セーフホワイト　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　４３２１２　オハイオ州　コロンブス　キニアー　ロード　１２７５　スイート　２３７
(74)代理人　100102978
弁理士　清水　初志
(74)代理人　100102118
弁理士　春名　雅夫
(74)代理人　100160923
弁理士　山口　裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部　俊
(74)代理人　100142929
弁理士　井上　隆一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】髪、皮膚、または爪に作用物質を送達するための方法および材料

(57)【要約】
本文書は、1種または複数種の接着分子を単独で、または1種または複数種のインターロッキング金属、1種または複数種の色素、および/または1種もしくは複数種のポリペプチドとの組み合わせで用いて、髪、皮膚、および/または爪に作用物質を送達するための方法および材料を提供する。例えば、インターロッキング金属、色素、またはポリペプチドを哺乳動物(例えば、ヒト)の髪、皮膚、または爪に送達するための方法および材料が提供される。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
複数の3,4-ジヒドロキシフェニル-L-アラニン(DOPA)残基を含む接着分子、および
該DOPA残基の1つまたは複数との相互作用を介して該接着分子に付着させた金属イオンまたは色素
を含む組成物であって、該接着分子が、哺乳動物の髪、皮膚、または爪と相互作用または結合する能力を含む、組成物。
【請求項２】
前記接着分子がイガイ接着ポリペプチドである、請求項1記載の組成物。
【請求項３】
前記接着分子が、複数のリジン残基および前記複数のDOPA残基を含むポリマーである、請求項1～2のいずれか一項記載の組成物。
【請求項４】
前記接着分子が、複数のリジン残基、複数のグリシン残基、および前記複数のDOPA残基を含むポリマーである、請求項1～3のいずれか一項記載の組成物。
【請求項５】
前記接着分子が、前記複数のDOPA残基を含むポリメタクリレートポリマーである、請求項1～4のいずれか一項記載の組成物。
【請求項６】
前記金属イオンを含む、請求項1～5のいずれか一項記載の組成物。
【請求項７】
前記金属イオンが、銅イオン、ビスマスイオン、クロムイオン、鉄イオン、銀イオン、アルミニウムイオン、マンガンイオン、亜鉛イオン、またはそれらの組み合わせである、請求項6記載の組成物。
【請求項８】
前記色素を含む、請求項1～7のいずれか一項記載の組成物。
【請求項９】
前記色素が、カルミン、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、またはマイカである、請求項8記載の組成物。
【請求項１０】
ポリペプチドをさらに含む、請求項1～9のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１１】
前記ポリペプチドが、ケラチンポリペプチドまたは蛍光発光ポリペプチドである、請求項10記載の組成物。
【請求項１２】
前記ポリペプチドが前記接着分子にコンジュゲートされている、請求項10～11のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１３】
シャンプー、ヘアーコンディショナー、ジェル、ポリッシュ、またはペーストである、請求項1～12のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１４】
(a)複数のDOPA残基を含む接着分子を、髪、皮膚、または爪に適用する段階であって、該DOPA残基の1つまたは複数が該髪、皮膚、または爪と相互作用する、段階、および
(b)金属イオンまたは色素を該髪、皮膚、または爪に適用する段階であって、該金属イオンまたは該色素が、該接着分子の該DOPA残基の1つまたは複数と相互作用する、段階
を含み、該髪、皮膚、または爪の外観が変化する、髪、皮膚、または爪の外観を変化させるための方法。
【請求項１５】
前記接着分子と前記金属イオンまたは前記色素とが順次適用される、請求項14記載の方法。

【請求項１６】
前記接着分子と前記金属イオンまたは前記色素とが一緒に適用される、請求項14記載の方法。
【請求項１７】
前記接着分子が、前記複数のDOPA残基を含むポリメタクリレートポリマー；イガイ接着ポリペプチド；複数のリジン残基および前記複数のDOPA残基を含むポリマー；ならびに複数のリジン残基、複数のグリシン残基、および前記複数のDOPA残基を含むポリマーからなる群より選択される、請求項14～16のいずれか一項記載の方法。
【請求項１８】
前記接着分子がイガイ接着ポリペプチドである、請求項14～16のいずれか一項記載の方法。
【請求項１９】
前記接着分子が、複数のリジン残基および前記複数のDOPA残基を含むポリマーである、請求項14～16のいずれか一項記載の方法。
【請求項２０】
前記接着分子が、複数のリジン残基、複数のグリシン残基、および前記複数のDOPA残基を含むポリマーである、請求項14～16のいずれか一項記載の方法。
【請求項２１】
前記接着分子が、前記複数のDOPA残基を含むポリメタクリレートポリマーである、請求項14～16のいずれか一項記載の方法。
【請求項２２】
前記金属イオンを前記髪、皮膚、または爪に適用する段階を含む、請求項14～21のいずれか一項記載の方法。
【請求項２３】
前記金属イオンが、銅イオン、ビスマスイオン、クロムイオン、鉄イオン、銀イオン、アルミニウムイオン、マンガンイオン、亜鉛イオン、またはそれらの組み合わせである、請求項22記載の方法。
【請求項２４】
前記色素を前記髪、皮膚、または爪に適用する段階を含む、請求項14～23のいずれか一項記載の方法。
【請求項２５】
前記色素が、カルミン、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、またはマイカである、請求項24記載の方法。
【請求項２６】
ポリペプチドを前記髪、皮膚、または爪に適用することをさらに含む、請求項14～25のいずれか一項記載の方法。
【請求項２７】
前記ポリペプチドが、ケラチンポリペプチドまたは蛍光発光ポリペプチドである、請求項26記載の方法。
【請求項２８】
前記ポリペプチドが前記接着分子にコンジュゲートされている、請求項26～27のいずれか一項記載の方法。
【請求項２９】
請求項1～13のいずれか一項記載の前記組成物を、髪、皮膚、または爪に適用する段階を含み、前記DOPA残基の1つまたは複数が該髪、皮膚、または爪と相互作用し、かつ該髪、皮膚、または爪の外観が変化する、哺乳動物の髪、皮膚、または爪の外観を変化させるための方法。
【請求項３０】
前記組成物が髪に適用される、請求項29記載の方法。
【請求項３１】

前記組成物が皮膚に適用される、請求項29記載の方法。
【請求項３２】
前記組成物が爪に適用される、請求項29記載の方法。
【請求項３３】
3,4-ジヒドロキシフェニル-L-アラニン(DOPA)とポリマーとの凍結乾燥混合物を含む、送達フィルム。
【請求項３４】
前記ポリマーが、PMA、PEMA、およびPBMAである、請求項33記載の送達フィルム。
【請求項３５】
作用物質を含む、請求項33～34のいずれか一項記載の送達フィルム。
【請求項３６】
前記作用物質が、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、蛍光分子、抗生物質、治療剤、ホワイトニング粒子、または着色粒子である、請求項35記載の送達フィルム。
【請求項３７】
(a)請求項33～34のいずれか一項記載の送達フィルムを、髪、皮膚、または爪に接触させる段階、および
(b)該送達フィルムを作用物質と接触させる段階
を含む、哺乳動物の髪、皮膚、または爪に作用物質を送達するための方法。
【請求項３８】
前記作用物質が、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、蛍光分子、抗生物質、治療剤、ホワイトニング粒子、または着色粒子である、請求項37記載の方法。
【請求項３９】
請求項35～36のいずれか一項記載の送達フィルムを髪、皮膚、または爪と接触させ、それによって、該作用物質を該髪、皮膚、または爪に送達する段階を含む、哺乳動物の髪、皮膚、または爪に作用物質を送達するための方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
1．技術分野
本文書は、1種または複数種の接着分子を用いて髪、皮膚、および/または爪に作用物質を送達するための方法および材料に関する。本文書はまた、髪、皮膚、および/または爪の色、外観、または安定性を変化させることに関する。例えば、本文書は、インターロッキング金属(interlocking metal)(例えば、銅)、色素(例えば、カルミン)、および/またはポリペプチド(例えば、ケラチンまたはアルブミンポリペプチド)と組み合わせた1種または複数種の接着分子(例えば、1種または複数種のイガイ(mussel)接着ポリペプチド)を、髪、皮膚、および/または爪と接触させるための方法および材料に関する。
【背景技術】
【０００２】
2．背景情報
人々はさまざまな理由で自身の髪、皮膚、および/または爪を着色する。その主な理由は美容のためである（例えば、白髪を隠すため、または自分の髪、皮膚、もしくは爪をよりファッショナブルにまたはより魅力的に見える色に変えるため）。
【発明の概要】
【０００３】
概要
本文書は、1種または複数種の接着分子を単独で、または1種または複数種のインターロッキング金属、1種または複数種の色素および/もしくは1種または複数種のポリペプチドとの組み合わせで用いて、髪、皮膚、および/または爪に作用物質を送達するための方法および材料を提供する。例えば、本明細書に記載の方法および材料は、インターロッキング金属、色素、またはポリペプチドを哺乳動物(例えば、ヒト)の髪、皮膚、または爪に送

達するために使用することができる。いくつかの場合では、本明細書に記載の作用物質の送達は、髪、皮膚、または爪の外観を改善する、髪、皮膚、または爪の外観を変化させる、または髪、皮膚、または爪の完全性を強化することができる。

【０００４】

本文書はまた、哺乳動物(例えば、ヒト)の髪、皮膚、または爪の色を変化させるための方法および材料も提供する。例えば、本文書は、1種または複数種のインターロッキング金属および/または1種または複数種の色素と組み合わせた1種または複数種の接着分子(例えば、1種または複数種のイガイ接着ポリペプチド)と、髪、皮膚、または爪を接触させ、変化した色外観を有する髪、皮膚、または爪を提供するための方法および材料を提供する。本明細書に記載されているように、接着分子は、インターロッキング金属、色素、および/またはポリペプチドと組み合わせて髪、皮膚、または爪に適用することができる。接着分子は、複数の3,4-ジヒドロキシフェニル-L-アラニン(DOPA)残基を含むことができ、かつ髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力、ならびにインターロッキング金属、色素、および/またはポリペプチドと相互作用または結合する能力を有しうる。本明細書に記載の方法および材料は、乾燥した髪、皮膚、および/もしくは爪に対して、または濡れたまたは湿った髪、皮膚、および/もしくは爪に対して使用することができる。

【０００５】

一般に、本文書の一局面は、複数の3,4-ジヒドロキシフェニル-L-アラニン(DOPA)残基を含む接着分子、およびDOPA残基の1つまたは複数との相互作用を介して接着分子に付着した金属イオンまたは色素を含むか、または本質的にそれらからなる組成物を特徴とし、ここで、接着分子は哺乳動物の髪、皮膚、または爪と相互作用または結合する能力を含む。接着分子はイガイ接着ポリペプチドでありうる。接着分子は、複数のリジン残基および複数のDOPA残基を含むポリマーでありうる。接着分子は、複数のリジン残基、複数のグリシン残基、および複数のDOPA残基を含むポリマーでありうる。接着分子は複数のDOPA残基を含むポリメタクリレートポリマーでありうる。組成物は金属イオンを含むことができる。金属イオンは、銅イオン、ビスマスイオン、クロムイオン、鉄イオン、銀イオン、アルミニウムイオン、マンガンイオン、亜鉛イオン、またはそれらの組み合わせでありうる。組成物は色素を含むことができる。色素は、カルミン、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、またはマイカでありうる。組成物は、ポリペプチドをさらに含むことができる。ポリペプチドは、ケラチンポリペプチドまたは蛍光発光ポリペプチドでありうる。ポリペプチドは接着分子にコンジュゲートすることができる。組成物は、シャンプー、ヘアーコンディショナー、ジェル、ポリッシュ、またはペーストでありうる。

【０００６】

別の局面において、本文書は、哺乳動物の髪、皮膚、または爪の外観を変化させるための方法を特徴とする。方法は、前記段落の任意の組成物または本明細書で提供される任意の組成物を髪、皮膚、または爪に適用する方法を含むか、または本質的にそれらからなり、ここで、DOPA残基の1つまたは複数は、髪、皮膚、または爪と相互作用し、かつ髪、皮膚、または爪の外観は変化する。組成物は髪に適用することができる。組成物は皮膚に適用することができる。組成物は爪に適用することができる。

【０００７】

別の局面において、本文書は、髪、皮膚、または爪の外観を変化させるための方法を特徴とする。方法は、(a)複数のDOPA残基を含む接着分子を髪、皮膚、または爪に適用する段階であって、DOPA残基の1つまたは複数が髪、皮膚、または爪と相互作用する、段階、および(b)金属イオンまたは色素を髪、皮膚、または爪に適用する段階であって、金属イオンまたは色素が接着分子のDOPA残基の1つまたは複数と相互作用し、髪、皮膚、または爪の外観が変化する、段階を含む、またはから本質的になる。接着分子と金属イオンまたは色素とは、順次適用することができる。接着分子と金属イオンまたは色素とは、一緒に適用することができる。接着分子は、複数のDOPA残基を含むポリメタクリレートポリマー；イガイ接着ポリペプチド；複数のリジン残基および複数のDOPA残基を含むポリマー；お

よび複数のリジン残基、複数のグリシン残基、および複数のDOPA残基を含むポリマーからなる群より選択することができる。接着分子はイガイ接着ポリペプチドでありうる。接着分子は、複数のリジン残基および複数のDOPA残基を含むポリマーでありうる。接着分子は、複数のリジン残基、複数のグリシン残基、および複数のDOPA残基を含むポリマーでありうる。接着分子は、複数のDOPA残基を含むポリメタクリレートポリマーでありうる。方法は、金属イオンを髪、皮膚、または爪に適用する段階を含むことができる。金属イオンは、銅イオン、ビスマスイオン、クロムイオン、鉄イオン、銀イオン、アルミニウムイオン、マンガンイオン、亜鉛イオン、またはそれらの組み合わせでありうる。方法は、色素を髪、皮膚、または爪に適用する段階を含むことができる。色素は、カルミン、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、またはマイカでありうる。方法は、ポリペプチドを髪、皮膚、または爪に適用することをさらに含むことができる。ポリペプチドはケラチンポリペプチドまたは蛍光発光ポリペプチドでありうる。ポリペプチドは接着分子にコンジュゲートされていてもよい。

【０００８】

別の局面において、本文書は、3,4-ジヒドロキシフェニル-L-アラニン(DOPA)とポリマーとの凍結乾燥混合物を含むかまたはから本質的になる送達フィルムを特徴とする。ポリマーはPMA、PEMA、およびPBMAでありうる。送達フィルムは作用物質を含むことができる。作用物質は、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、蛍光分子、抗生物質、治療剤、ホワイトニング粒子、または着色粒子でありうる。

【０００９】

別の局面において、本文書は、作用物質を哺乳動物の髪、皮膚、または爪に送達するための方法を特徴とする。方法は、(a)送達フィルムを髪、皮膚、または爪に接触させる段階、および(b)送達フィルムを作用物質と接触させる段階を含む、またはから本質的になる。送達フィルムは、3,4-ジヒドロキシフェニル-L-アラニン(DOPA)とポリマーとの凍結乾燥混合物を含む、またはから本質的になる。ポリマーはPMA、PEMA、およびPBMAでありうる。作用物質は、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、蛍光分子、抗生物質、治療剤、ホワイトニング粒子、または着色粒子でありうる。

【００１０】

別の局面において、本文書は、送達フィルムを髪、皮膚、または爪に接触させ、それによって、作用物質を髪、皮膚、または爪に送達する段階を含む、哺乳動物の髪、皮膚、または爪に作用物質を送達するための方法を特徴とする。送達フィルムは、3,4-ジヒドロキシフェニル-L-アラニン(DOPAとポリマーとの凍結乾燥混合物を含むかまたはから本質的になり、かつ作用物質をさらに含む。ポリマーはPMA、PEMA、およびPBMAでありうる。作用物質は、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、蛍光分子、抗生物質、治療剤、ホワイトニング粒子、または着色粒子でありうる。

【００１１】

特に定義しない限り、本明細書で使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって通常理解されているのと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと類似または同等の方法および材料を、本発明の実施または試験の際に使用することができるが、適切な方法および材料が以下に記載される。本明細書中で挙げた全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、それらの全体が参照により組み入れられる。コンフリクトの場合には、定義を含めて、本明細書が支配するものとする。さらに、材料、方法、および実施例は、単なる例示にすぎず、限定を意図したものではない。

【００１２】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明から、および添付の特許請求の範囲から、明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【００１３】

【図１】例示的なイガイ接着ポリペプチドをコードする核酸配列(SEQ ID NO:1)の一覧で

ある(GenBankアクセッション番号AY521220.1；GI番号41350294)。
【図２】例示的なイガイ接着ポリペプチドのアミノ酸配列(SEQ ID NO:2)の一覧である(GenBankアクセッション番号AAS00463；GI番号41350295)。
【図３】例示的なイガイ接着ポリペプチドのアミノ酸配列(SEQ ID NO:3)の一覧である(GenBankアクセッション番号AAL35297.1；GI番号17066511)。
【図４】例示的なイガイ接着ポリペプチドのアミノ酸配列(SEQ ID NO:4)の一覧である(GenBankアクセッション番号ABE01084.1；GI番号90823165)。
【図５】例示的なイガイ接着ポリペプチドのアミノ酸配列(SEQ ID NO:5)の一覧である(GenBankアクセッション番号AAF89290.1；GI番号9587380)。
【図６】例示的なイガイ接着ポリペプチドのアミノ酸配列(SEQ ID NO:6)の一覧である(GenBankアクセッション番号AAY29129.1；GI番号63055693)。
【図７】例示的なイガイ接着ポリペプチドのアミノ酸配列(SEQ ID NO:7)の一覧である(GenBankアクセッション番号BAB16314.1；GI番号10641127)。
【図８】例示的なイガイ接着ポリペプチドのアミノ酸配列(SEQ ID NO:8)の一覧である(GenBankアクセッション番号AAX23968.1；GI番号60548042)。
【図９】例示的なイガイ接着ポリペプチドのアミノ酸配列(SEQ ID NO:9)の一覧である(GenBankアクセッション番号AAY29131.1；GI番号63055728)。
【図１０】例示的なBFPポリペプチドをコードする核酸配列(SEQ ID NO:10)の一覧である(GenBankアクセッション番号U70497.1；GI番号1619752)。
【図１１】例示的なBFPポリペプチドのアミノ酸配列(SEQ ID NO:11)の一覧である(GenBankアクセッション番号AAB16959.1；GI番号1619753)。
【図１２】例示的なBFPポリペプチドのアミノ酸配列(SEQ ID NO:12)の一覧である。
【発明を実施するための形態】
【００１４】
詳細な説明
本文書は、複数のDOPA残基を含む接着分子を用いて、別の化合物(例えば、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、蛍光分子、ポリマー、抗生物質、治療剤、核酸、ホワイトニング粒子、着色粒子、活性化粒子、変色性色素、複合色素、夜光着色剤、シリカ被覆粒子、液晶顔料、タトゥー色素、理論的化粧品(theoretical makeup)、または生物学的部分)を髪、皮膚、および/または爪に接着させるための方法および材料を提供する。いくつかの場合では、本文書は、変化した外観を提供するために、抗細菌剤を送達するために、または治療用途もしくは審美的用途を提供するために、作用物質を髪、皮膚、および/または爪に付着させるための方法および材料を提供する。例えば、本文書は、接着分子、およびインターロッキング金属または色素と髪を接触させ、色が変化した外観を有する髪を提供するための方法および材料を提供する。
【００１５】
本明細書で用いられる「DOPA残基」は、例えば、小さな合成DOPAペプチド、および/またはDOPA/Lysを模倣するカテコールポリマーを含むことができる(例えば、Ham et al. Angew. Chem. Int. Ed. 50:732-736 (2011)を参照されたい)。
【００１６】
本明細書において提供される接着分子は、複数のDOPA残基を含むことができ、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力、ならびに他の化合物(例えば、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、蛍光分子、ポリマー、抗生物質、または治療剤、核酸、ホワイトニング粒子、活性化粒子、または生物学的部分)と相互作用または結合する能力を有しうる。本明細書に記載のように使用することができる接着分子の例には、限定するものではないが、イガイ接着ポリペプチド(例えば、mussel foot protein 1、2、3、4、5、6、またはこれらの組み合わせ)が含まれる。イガイ接着ポリペプチドは、例えばチロシン残基の酵素的酸化を介して、形成された1つまたは複数のDOPA残基を含むことができる。例えば、イガイ接着ポリペプチドの総アミノ酸の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25パーセントまたはそれより多くは、DOPA残基でありうる。組換えポリ

ペプチドのチロシン残基は、チロシナーゼ(例えば、マッシュルームチロシナーゼ)を用いてDOPA残基に変換することができる。例えば、Choi et al., Microb. Cell. Fact., 11:139 (2012)を参照されたい。

【００１７】

例えば、接着分子は、SEQ ID NO:2～9および13～29に示されるアミノ酸配列のいずれか1つに対して少なくとも80％、85％、90％、95％、98％、または99％の配列同一性を有しうる。いくつかの場合では、接着分子は、SEQ ID NO:2～9および13～29に示されるアミノ酸配列を有しうる。特定のアミノ酸配列とSEQ ID NO:2～9および13～29のいずれか1つに示されるアミノ酸配列との間の同一性パーセントは、次のように決定することができる。最初に、BLASTPバージョン2.0.14を含むBLASTZのスタンドアロン・バージョンからのBLAST 2 Sequences(Bl2seq)プログラムを用いて、アミノ酸配列をアライメントさせる。このBLASTZのスタンドアロン・バージョンは、Fish & Richardsonのウェブサイト(例えば、www.fr.com/blast/)または米国政府の国立バイオテクノロジー情報センターのウェブサイト(www.ncbi.nlm.nih.gov)から取得することができる。Bl2seqプログラムの使い方を説明する指示書は、BLASTZに添付されるリードミー(readme)ファイルに見出すことができる。Bl2seqは、BLASTPアルゴリズムを用いて2つのアミノ酸配列間の比較を実行する。2つのアミノ酸配列を比較するために、Bl2seqのオプションは次のように設定される：-iは比較される第1のアミノ酸配列を含むファイルに設定される
(例えば、C:\seq1.txt)
；-jは比較される第2のアミノ酸配列を含むファイルに設定される
(例えば、C:\seq2.txt)
；-pはblastpに設定される；-oは任意の所望のファイル名に設定される
(例えば、C:\output.txt)
；および他の全てのオプションはデフォルト設定のままである。例えば、次のコマンドを用いて、2つのアミノ酸配列間の比較を含む出力ファイルを作成することができる：
C:\Bl2seq –i c:\seq1.txt –j c:\seq2.txt –p blastp –o c:\output.txt
。2つの比較した配列が相同性を共有する場合、指定された出力ファイルは、相同性を有する領域をアライメントされた配列として提示する。2つの比較した配列が相同性を共有しない場合、指定された出力ファイルは、アライメントされた配列を提示しない。核酸配列の場合は、blastnを使用する以外は同様の手順に従うことができる。

【００１８】

ひとたびアライメントされたら、同一のアミノ酸残基が両配列に提示されている位置の数を数えることによって、マッチの数を決定する。同一性パーセントは、マッチの数をSEQ ID NO:2～9および13～29のいずれか1つのアミノ酸配列の長さで割り、続いて得られた値に100を掛けることによって決定される。

【００１９】

同一性パーセント値は、小数第2位で四捨五入されることに留意されたい。例えば、78.11、78.12、78.13、および78.14は78.1に切り捨てられ、一方78.15、78.16、78.17、78.18、および78.19は78.2に切り上げられる。また、長さの値は常に整数であることにも留意されたい。

【００２０】

多数の核酸がSEQ ID NO:2～9および13～29に示されるアミノ酸配列をコードしうることは理解されるであろう。遺伝子コードの縮重は当技術分野でよく知られている；すなわち、多くのアミノ酸では、そのアミノ酸のコドンとして機能するヌクレオチドトリプレットが2つ以上存在している。

【００２１】

本明細書に記載のように使用することができるイガイ接着ポリペプチドは、各種タイプのイガイに天然に存在するアミノ酸配列を有しうる。例えば、本明細書に記載のように使用することができるイガイ接着ポリペプチドは、ヨーロッパイガイ(Mytilus edulis)(ムール貝(common blue mussel))、Mytilus byssus、ムラサキイガイ(Mytilus galloprovinc

ialis)、カリフォルニアイガイ(Mytilus californianus)、イガイ(Mytilus coruscus)、キタノムラサキイガイ(Mytilus trossulusor)、またはミドリイガイ(Perna viridis)(green mussel)に天然に存在するアミノ酸配列を有しうる。例えば、本明細書に記載のように使用することができるイガイ接着ポリペプチドには、限定するものではないが、ムラサキイガイ(GenBankアクセッション番号AAS00463)、ヨーロッパイガイ(GenBankアクセッション番号AAL35297.1)、もしくはカリフォルニアイガイ(GenBankアクセッション番号ABE01084.1)由来のmfp-5；ヨーロッパイガイ(GenBankアクセッション番号AAF89290.1、mfp-3前駆物質変異体11)、カリフォルニアイガイ(GenBankアクセッション番号AAY29129.1)、もしくはムラサキイガイ(GenBankアクセッション番号BAB16314.1)由来のmfp-3；またはヨーロッパイガイ(GenBankアクセッション番号AAX23968.1)、カリフォルニアイガイ(GenBankアクセッション番号AAY29131.1)、もしくはムラサキイガイ(UniProtKB/Swiss-Prot Q27409.1)由来のmfp-1、または天然に存在するイガイ接着ポリペプチドのいずれかの断片が含まれる。

【００２２】

いくつかの場合では、mfp-1イガイ接着ポリペプチドは、

AKPSYPPTYK (SEQ ID NO:13)またはPKISYPPTYK (SEQ ID NO:14)

などのコンセンサス配列を1コピーまたは複数コピー含むことができる。例えば、イガイ接着ポリペプチドは、SEQ ID NO:13またはSEQ ID NO:14に示されるコンセンサス配列の5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、または75のリピートを含みうる。いくつかの場合では、6位および/または7位のプロリン残基はヒドロキシプロリン残基である。いくつかの場合では、5位および/または9位のチロシン残基はDOPA残基である。

【００２３】

いくつかの場合では、mfp-2イガイ接着ポリペプチドは、

TDKAYKPNPCVVSKPCKNRGKCIWN-GKAYRCKCAYGYGGRHC (SEQ ID NO:15)

などのコンセンサス配列を1コピーまたは複数コピー含むことができる。例えば、イガイ接着ポリペプチドは、SEQ ID NO:15に示されるコンセンサス配列の2、4、5、6、7、8、9、10、または11のリピートを含みうる。いくつかの場合では、SEQ ID NO:15の5、29、35および/または37位のチロシン残基はDOPA残基である。

【００２４】

いくつかの場合では、mfp-3イガイ接着ポリペプチドは、

ADYYGPNYGPPRRYGGGNYNRYN-RYGRRYGGYKGWNNGWNRGRRGKYW (SEQ ID NO:16)

などのコンセンサス配列を1コピーまたは複数コピー含むことができる。いくつかの場合では、SEQ ID NO:16の3、4、8、14、19、22、25、29、32および/または47位のチロシン残基はDOPA残基である。

【００２５】

いくつかの場合では、mfp-4イガイ接着ポリペプチドは、

HVHTHRVLHK (SEQ ID NO:17)またはDDHVNDIAQTA (SEQ ID NO:18)

などのコンセンサス配列を1コピーまたは複数コピー含むことができる。例えば、イガイ接着ポリペプチドは、SEQ ID NO:17またはSEQ ID NO:18に示されるコンセンサス配列の5、10、12、14、16、20、25、30、32、34、35、または36のリピートを含みうる。

【００２６】

いくつかの場合では、mfp-5イガイ接着ポリペプチドは、

SSEEYKGGYYPGNAYHYSGGSYH-

GSGYHGGYKGKYYGKAKKYYYKYKNSGKYKYLKKARKYHRKGYKYYGG

SS (SEQ ID NO:19)

などのコンセンサス配列を1コピーまたは複数コピー含むことができる。いくつかの場合では、SEQ ID NO:19の5、9、10、15、17、22、27、31、35、36、42、43、44、46、52、54、61、66、68および/または69位のチロシン残基はDOPA残基である。

【００２７】
いくつかの場合では、mfp-6イガイ接着ポリペプチドは、
GGGNYRGYCSNKGCRSGYIFYDNR-
GFCKYGSSSYKYDCGNYACLPRNPYGRVKYYCTKKYSCPDDFYYYNNKGY
YYYNDKDYGCFNCGSYNGCCLRSGY (SEQ ID NO:20)
などのコンセンサス配列を1コピーまたは複数コピー含むことができる。いくつかの場合では、SEQ ID NO:20の5、8、18、21、29、34、36、41、49、54、55、60、67、68、69、74、75、76、77、82、90および/または99位のチロシン残基はDOPA残基である。
【００２８】
いくつかの場合では、図2～9のいずれか1つに示されるアミノ酸配列(SEQ ID NO:2～9)を有するか、または図1に示されるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を有するイガイ接着ポリペプチドは、本明細書に記載するように使用することができる。
【００２９】
いくつかの場合では、イガイ接着ポリペプチドは、完全長のイガイ接着ポリペプチドの一部でありうる。例えば、デカペプチド
AKPSYPPTYK (SEQ ID NO:13)
の6リピートを含むイガイ接着ポリペプチドは、本明細書に記載するように使用することができる。Kitamura et al., J. Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry, 37:729-736 (1991)を参照されたい。
【００３０】
いくつかの場合では、本明細書に記載のように使用することができるイガイ接着ポリペプチドは、MFP-3(例えば、SEQ ID NO:8)のN末端とC末端の両方に、MFP-1のデカペプチド
(AKPSYPPTYK; SEQ ID NO:13)
の6リピートを含むキメラポリペプチドでありうる。Lim, et al., Biomaterials, 31:3715-3722 (2010);およびHwang et al., Biomaterials, 28:3560-3568 (2007)を参照されたい。いくつかの場合では、SEQ ID NO:13の6位および/または7位のプロリン残基は、ヒドロキシプロリン残基である。いくつかの場合では、SEQ ID NO:13の5位および/または9位のチロシン残基は、DOPA残基である。
【００３１】
いくつかの場合では、本明細書に記載のように使用することができるイガイ接着ポリペプチドは、MFP-5のN末端とC末端の両方に、MFP-1のデカペプチド
(AKPSYPPTYK; SEQ ID NO:13)
の6リピートを含むキメラポリペプチドでありうる。Lim, et al., Biomaterials, 31:3715-3722 (2010)；およびHwang et al., Biomaterials, 28:3560-3568 (2007)を参照されたい。いくつかの場合では、SEQ ID NO:13の6位および/または7位のプロリン残基は、ヒドロキシプロリン残基である。いくつかの場合では、SEQ ID NO:13の5位および/または9位のチロシン残基は、DOPA残基である。イガイ接着ポリペプチドは、各種タイプのイガイから抽出するか、またはポリペプチド発現技術(例えば、細菌細胞、昆虫細胞、または哺乳動物細胞を用いた異種発現技術)を用いて組換え的に生産することができる。イガイから抽出されたイガイ接着ポリペプチドの調製物は、Cell-Tek社(カタログ番号354240)およびACRO Biosystems社(カタログ番号MAP-04012)から市販されている。いくつかの場合では、イガイ接着ポリペプチドは、他の文献に記載されるように作製することができる(例えば、Kitamura et al., J. Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry, 37:729-736 (1991)；Lim et al., Biomaterials, 31: 3715-3722 (2010)；およびHwang et al., Biomaterials, 28:3560-3568 (2007))。いくつかの場合では、標準的なポリペプチド合成技術(例えば、液相ポリペプチド合成技術または固相ポリペプチド合成技術)を用いて、イガイ接着ポリペプチドを合成的に生成することができる。
【００３２】
本明細書に記載のように使用することができる接着分子の他の例には、複数のDOPA残基

を含むポリマーが含まれる。例えば、複数のDOPA残基を含む表1の接着分子を参照されたい。いくつかの場合では、このようなポリマーは、コンセンサス配列
$XYX_4YX_3YX_3YYX_5YYYXYX_5YXYX_6YX_4YXYYX$
の1または複数のリピートを有することができ、式中、Xはリジン、グリシン、セリン、ヒスチジン、またはアスパラギンであり、かつYはチロシンに代わるDOPAを指す(SEQ ID NO:37)。セリンが該ポリマー中に含まれる場合には、セリン残基の1つまたは複数に代えてホスホセリン残基を使用することができる。例えば、SEQ ID NO:23～25のいずれか1つの接着分子では、セリン残基の1つまたは複数の代わりにホスホセリン残基を使用することができる。いくつかの場合では、接着分子は、DOPA残基およびリジン残基のランダムな混合物、DOPA残基、リジン残基、およびグリシン残基のランダムな混合物、またはDOPAおよびN5-(2-ヒドロキシエチル)-L-グルタミンのランダムな混合物を含むポリペプチドでありうる。例えば、Wang et al., Biomaterials, 28:3456-3468 (2007)；およびAnderson et al., Advanced Functional Materials, 20:4196-4205 (2010)を参照されたい。接着分子はまた、カテコールを含むポリアミノ酸であってもよい。例えば、米国特許第6,506,577号を参照されたい。

【００３３】

いくつかの場合では、接着分子は、大きさが10から1000アミノ酸の長さ(例えば、10～1000、10～900、10～800、10～700、10～600、10～500、10～400、10～300、10～200、10～100、20～750、20～500、20～350、20～300、20～250、20～200、20～150、20～125、20～100、30～600、30～550、30～500、30～450、30～400、30～350、30～300、30～250、30～200、30～150、30～125、30～100、50～750、50～700、50～650、50～600、50～550、50～500、50～450、50～400、50～350、50～300、50～250、50～200、50～150、50～125、または50～100アミノ酸の長さ)の範囲であるポリペプチドであってもよい。いくつかの場合では、接着分子は、大きさが5から10アミノ酸の長さの範囲であるポリペプチドであってもよい。

【００３４】

適切なポリマーは、ペプチドまたは非ペプチド骨格をもつことができ、かつ固相または液相合成によって合成することができる。このような合成技術は、高割合のDOPA(例えば、10％超、15％超、20％超、30％超のDOPA、または40％超のDOPA)をポリマーに組み込ませることが可能である。

【００３５】

（表１）複数のDOPA残基を含む接着分子

接着分子、ここでYはL-DOPAを指す	SEQ ID
KYKGKGYKGGYKGKYYGKGKKYYYKYKGKGKYKYGKKKGKYKGKGYKYYG	21
KYKKKKYKKKYKKKYYKKKKKYYYKYKKKKKYKYKKKKKKYKKKKYKYYK	22
SYHGSGYHGGYKGKYYGKAKKYYYKYKNSGKYKYLKKARKYHRKGYKYYG	23
SYSSSSYSSSYKSKYYSKSKKYYYKYKSSSKYKYSKKSSKYSSKSYKYYS	24
GYSGKNYHGSYKGKYYHKHKKYYYKYKLLHKYKYGKKGNKYGGKGYKYYH	25
KYKYKYYKYYYKYKYYYKYKKYYYKYKYKYKYKYYKKKYKYKYKYYKYYY	26
KYKGKGGKGGYKGKGYGKGKKGYGKYKGKGKGKYLKKKGKGKGKGYKGYG	27
KYKKKKYKKKYKKKYYKKKKKYYYKYKKKKKYKYKKKKKKYKKKKYKYYK	28
KKGGYYKGKYKYGKKKKGGYYGGKYYGKKKYGKYYYYYKGKYYGYKYGKK	29
GKYYG	30
GKYGGGKYGG	31
KYYGKGKKYYYKYKG	32
KYYGKGKKYYYKG	33
KGYGKGKKYYYKG	34
KGKGKGKKYYYKG	35
KYGKYGKYKG	36

【００３６】

接着分子は、複数のDOPA残基を有するポリ(アクリル酸)骨格をもつことができる。例えば、接着分子は、側鎖として結合された、複数のDOPA残基および任意で複数のリジン残基を有するポリ[ブタジエン-コ-(マレイン酸)]またはポリ[エチレン-コ-(マレイン酸)]骨格を持つことができる。例えば、Laulicht et al., Macromol. Biosci., 12:1555-1565 (2012)を参照されたい。複数のDOPA残基を含むこのようなポリマーは、塩基性pH値で可溶性である。リジン残基の付加は、酸性および塩基性の両方の値での溶解度を向上させることができる。接着分子は、複数のDOPA残基および任意で複数のリジン残基が組み込まれたポリメタクリレート骨格をもつことができる。Kim et al., J. Porous Mater., 20:177-182 (2013)を参照されたい。複数のDOPA残基を含むポリメタクリレートポリマーは、酸性および塩基性の両方のpH値で可溶性でありうる。

【００３７】

いくつかの場合では、接着分子は、DOPA含有ポリペプチドまたはポリ(ドーパミン)ポリマーでありうる。例えば、Fuller et al., Biopolymers, 17:2939-2943 (1998); およびLee et al., Adv. Mater., 21:431-434 (2009)を参照されたい。ポリ(ドーパミン)ポリマーは、例えば現場重合により、調製することができる。

【００３８】

いくつかの場合では、接着分子は、DOPAを末端に結合させたポリエチレングリコールでありうる。例えば、Dalsin et al., J. Am. Chem. Soc., 125:4253-4258 (2003)を参照されたい。

【００３９】

本明細書に記載されているように、本明細書で提供される接着分子は、別の作用物質(例えば、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、蛍光分子、ポリマー、抗生物質、または治療剤、核酸、ホワイトニング粒子、活性化粒子、または生物学的部分)を髪、皮膚、および/または爪に接着させるために使用できる。

【００４０】

本明細書で提供される接着分子に接着または結合することができるインターロッキング

金属の例には、これらに限定されないが、銅、酸化鉄、酸化亜鉛、オキシ塩化ビスマス、または酸化クロムが含まれる。一般に、本明細書で提供される接着分子は、1つまたは複数のDOPA部分を介して髪、皮膚、および/または爪に接着または結合することができ、かつ例えば、1つまたは複数のDOPA部分を介して、インターロッキング金属に接着または結合することができる。いくつかの場合では、本明細書で提供される接着分子は、1つまたは複数のチオール基またはマレイミド基を介してインターロッキング金属に接着または結合することができる。

【００４１】

本明細書で提供される接着分子に接着または結合することができる色素の例には、これらに限定されないが、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、ウルトラマリン、およびマイカが含まれる。一般に、本明細書で提供される接着分子は、1つまたは複数のDOPA部分を介して髪、皮膚、および/または爪に接着または結合することができ、かつ例えば、1つまたは複数のDOPA部分を介して、色素に接着または結合することができる。いくつかの場合では、本明細書で提供される接着分子は、1つまたは複数のチオール基、水酸基またはマレイミド基を介して色素に接着または結合することができる。

【００４２】

表2は、髪、皮膚、および/または爪に色を与えるために使用できる作用物質の例を提供する。

【００４３】

（表２）色を与えるために使用される作用物質の例

基体	色	作用物質
いずれか	オレンジ色	アナトー抽出物
いずれか	紫色	脱水ビート(ビート粉末)
いずれか	黄色	カンタキサンチン(3)
いずれか	茶色	カラメル
いずれか	オレンジ色	β-アポ-8’-カロテナール
いずれか	オレンジ色	β-カロテン
いずれか	赤色	コチニール抽出物
いずれか	赤色	カルミン
いずれか	緑色	銅クロロフィリンナトリウム(3)
いずれか	茶色	焙焼し部分脱脂した熱処理綿実粉

いずれか	茶色	グルコン酸鉄
いずれか	茶色	乳酸鉄
いずれか	紫色	ブドウ色素抽出物(3)
いずれか	紫色	ブドウの皮抽出物(エノシアニナ(enocianina))
いずれか		合成酸化鉄(3)
いずれか		フルーツジュース(3)
いずれか		野菜ジュース(3)
いずれか	オレンジ色	ニンジン油
いずれか	赤色	パプリカ
いずれか	赤色	パプリカオレオレジン
いずれか		マイカ系真珠光沢顔料(3)
いずれか		リボフラビン
いずれか	オレンジ色	サフラン
いずれか	白色	二酸化チタン
いずれか	赤色	トマトリコペン抽出物； トマトリコペン濃縮物(3)
いずれか	黄色	ウコン
いずれか	黄色	ウコンオレオレジン
いずれか	青色	FD&C Blue No. 1
いずれか	青色	FD&C Blue No. 2
いずれか	緑色	FD&C Green No. 3
いずれか	オレンジ色	Orange B(3)
いずれか	赤色	Citrus Red No. 2
いずれか	赤色	FD&C Red No. 3
いずれか	赤色	FD&C Red No. 40(3)
いずれか	黄色	FD&C Yellow No. 5
いずれか	黄色	FD&C Yellow No. 6
いずれか	アルミニウム色	アルミナ(乾燥水酸化アルミニウム)
いずれか	白色	炭酸カルシウム
いずれか		銅クロロフィリンカリウムナトリウム (クロロフィリン-銅錯体)
いずれか		ジヒドロキシアセトン
いずれか		オキシ塩化ビスマス
いずれか		合成酸化鉄
いずれか		フェロシアン化第二鉄アンモニウム
いずれか		フェロシアン化第二鉄
いずれか	緑色	水酸化クロムグリーン
いずれか	緑色	酸化クロムグリーン
いずれか		グアニン
いずれか	真珠光沢	マイカ系真珠光沢顔料(3)
いずれか		パイロフィライト
いずれか		マイカ
いずれか		タルク

いずれか	アルミニウム色	アルミニウム粉末
いずれか	青銅色	青銅粉末
いずれか	銅色	銅粉末
いずれか	亜鉛色	酸化亜鉛
いずれか	青色	D&C Blue No. 4
いずれか	緑色	D&C Green No. 5
いずれか	緑色	D&C Green No. 6
いずれか	緑色	D&C Green No. 8
いずれか	オレンジ色	D&C Orange No. 4
いずれか	オレンジ色	D&C Orange No. 5
いずれか	オレンジ色	D&C Orange No. 10
いずれか	オレンジ色	D&C Orange No. 11
いずれか	赤色	FD&C Red No. 4
いずれか	赤色	D&C Red No. 6
いずれか	赤色	D&C Red No. 7
いずれか	赤色	D&C Red No. 17
いずれか	赤色	D&C Red No. 21
いずれか	赤色	D&C Red No. 22
いずれか	赤色	D&C Red No. 27
いずれか	赤色	D&C Red No. 28
いずれか	赤色	D&C Red No. 30
いずれか	赤色	D&C Red No. 31
いずれか	赤色	D&C Red No. 33
いずれか	赤色	D&C Red No. 34
いずれか	赤色	D&C Red No. 36
いずれか	赤色	D&C Red No. 39
いずれか	すみれ色	D&C Violet No. 2
いずれか	黄色	D&C Yellow No. 7
いずれか	黄色	Ext. D&C Yellow No. 7
いずれか	黄色	D&C Yellow No. 8
いずれか	黄色	D&C Yellow No. 10
いずれか	黄色	D&C Yellow No. 11
いずれか	オレンジ色	アナトー
いずれか	オレンジ色	β-カロテン
髪	ビスマス色	クエン酸ビスマス(3)
髪	緑色	EDTA-二ナトリウム銅
いずれか	緑色	銅クロロフィリンカリウムナトリウム (クロロフィリン-銅錯体)
いずれか	アズレン色	グアイアズレン
髪	茶色	ヘンナ(3)
いずれか	赤色	酸化鉄
髪	鉛色	酢酸鉛(3)
爪	金属色	銀(3)

いずれか	青色	ウルトラマリン
いずれか	すみれ色	マンガンバイオレット
いずれか	黄緑色	発光硫化亜鉛(3)
爪および皮膚	黒色	D&C Black No. 2
爪および皮膚	黒色	D&C Black No. 3 (3)
いずれか	茶色	D&C Brown No. 1
いずれか	すみれ色	Ext. D&C Violet No. 2

【００４４】

本明細書で提供される接着分子に接着または結合することができるポリペプチドの例には、これらに限定されないが、ケラチンポリペプチド、蛍光発光ポリペプチド、コラーゲンポリペプチド、およびアルブミンポリペプチドが含まれる。一般的に、本明細書で提供される接着分子は、1つまたは複数のDOPA部分を介して髪、皮膚、および/または爪に接着または結合することができ、かつ、例えば1つまたは複数のDOPA部分を介して、ポリペプチドに接着または結合することができる。いくつかの場合では、本明細書で提供される接着分子は、1つまたは複数のチオール基またはマレイミド基を介してポリペプチドに接着または結合することができる。

【００４５】

任意の適切なケラチンポリペプチドは本明細書に記載されているように使用することができる。本明細書に記載されているように使用することができるケラチンポリペプチドの例には、これらに限定されないが、表皮ケラチン(GenBank(登録商標)アクセッション番号J00124；GI番号186704)、上皮細胞ケラチン(GenBank(登録商標)アクセッション番号X13320.1；GI番号1200071)、および髪特異的ケラチン(GenBank(登録商標)アクセッション番号AJ000263；GI番号2695878)が含まれる。

【００４６】

任意の適切な蛍光発光ポリペプチドは、本明細書に記載されているように使用することができる。蛍光発光ポリペプチドは特定の波長で蛍光を発することができる。BFPポリペプチドの場合、BFPポリペプチドは、約440 nmから約500 nmの範囲(例えば、約450 nm～約500 nm、約460 nm～約500 nm、約470 nm～約500 nm、約480 nm～約500 nm、約440 nm～約490 nm、約440 nm～約480 nm、約440 nm～約470 nm、約440 nm～約460 nm、約450 nm～約490 nm、または約460 nm～約480 nm)で蛍光を発することができる。いくつかの場合では、約420 nm～約450 nm、約430 nm～約450 nm、約440 nm～約450 nm、約420 nm～約440 nm、または約485 nm～約505 nmの発光波長で蛍光を発する蛍光発光ポリペプチドは、本明細書に記載されているように使用することができる。

【００４７】

異なる色の髪、皮膚、および/または爪を持つことが望みであれば、赤色、緑色または黄色スペクトルで蛍光を発するポリペプチドが使用されうる。赤色蛍光は、約555 nm～約655 nm(例えば、約565 nm～約645 nm、約575 nm～約635 nm、または約585 nm～約625 nm)の発光波長をもつことができる。緑色蛍光は、約500 nm～約525 nm(例えば、約505 nm～約520 nmまたは約510 nm～約515 nm)の発光波長をもつことができる。黄色蛍光は、約525 nm～約555 nm(例えば、約530 nm～約550 nmまたは535 nm～約545 nm)の波長をもつことができる。いくつかの場合では、異なる蛍光発光ポリペプチドの組み合わせが本明細書に記載されているように使用することができる。例えば、BFPポリペプチドと赤色蛍光タンパク質(RFP)ポリペプチドの組み合わせを人の髪、皮膚、および/または爪に適用することができる。いくつかの場合では、RFPポリペプチドと緑色蛍光タンパク質(GFP)ポリペプチドの組み合わせを人の髪、皮膚、および/または爪に適用することができる。

【００４８】

任意の適切なBFPポリペプチドは、本明細書に記載されているように使用することがで

きる。本明細書で記載されているように使用することができるBFPポリペプチドの例には、これらに限定されないが、EBFP(例えば、460nmの発光最大を有するEBFP)、蛍光タンパク質SBFP1(GenBank(登録商標)アクセッション番号ABM97856；GI番号124264536)、蛍光タンパク質SBFP2(GenBank(登録商標)アクセッション番号ABM97857, GI番号124264538)、EBFP2(GenBank(登録商標)アクセッション番号EF517318、GI番号145666498)、アズライト(Azurite)(Mena et al., Nature Biotechnology, 24:1569-1571 (2006))、mKalama1(GenBank(登録商標)アクセッション番号EF517317、GI番号145666496)、亜鉛フィンガータンパク質383(GenBank(登録商標)アクセッション番号EDU39924.1, GI番号187972425)、米国特許第7,166,424号に記載されるSEQ ID NO:445(GenBank(登録商標)アクセッション番号ABN30727.1；GI番号125148618)、可溶改変青色蛍光タンパク質(smBFP)(GenBank(登録商標)アクセッション番号U70497.1; GI番号1619752)、GenBank(登録商標)アクセッション番号CAE00365.1(GI番号32260521)に示される配列を有するポリペプチド、GenBank(登録商標)アクセッション番号CAE00361.1(GI番号32260509)に示される配列を有するポリペプチド、GenBank(登録商標)アクセッション番号CAE00361.1(GI番号32260509)に示される配列を有するポリペプチド、ECFPポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACO48275.1; GI番号226331138)、Ceruleanポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ADE48834.1; GI番号293612838)、蛍光タンパク質Cypetポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号3GEX_A；GI番号290789997)、MiCyポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ADE48830.1；GI番号293612833)、およびmTFP1蛍光タンパク質ポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACO48263.1；GI番号226320339)が含まれる。いくつかの場合では、米国特許出願公開第2010/0062460号に記載されるBFPポリペプチドは、本明細書に記載されているように使用することができる。

【００４９】

任意の適切なRFPポリペプチドおよびGFPポリペプチドは、本明細書に記載されるように使用することができる。本明細書に記載されているように使用することができるRFPポリペプチドの例には、これらに限定されないが、可溶性改変赤色シフト緑色蛍光タンパク質(smRSGFP)ポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号U70496.1；GI No.1619750)、GenBank(登録商標)アクセッション番号AAG16224.1 (GI番号10304307)；ABO38175.1 (GI No.133753343)；または AAU06852.1 (GI番号51593130)に示される配列を有する赤色蛍光タンパク質ポリペプチド、オレンジ色発光GFP様タンパク質ポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号2ZMW_D；GI番号209870302)、mOrange蛍光タンパク質ポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACO48285.1；GI番号226331152)、NLS-dTomatoポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ADC42843.1；GI番号288188779)、赤色蛍光タンパク質tdTomatoポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACQ43939.1；GI番号228484713)、DsRedポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号BAE53441.1；GI番号83016748)、DsRed2ポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号AAV73970.1；GI番号56119204)、DsRed-Expressポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACU30027.1；GI番号255689290)、DsRed-Monomerポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACF35425.1；GI番号194245628)、単量体オレンジ-赤色蛍光タンパク質ポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号AAV52170.1；GI番号55420625)、単量体オレンジ-赤色蛍光タンパク質ポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号AAV52166.1；GI番号55420617)、mCherryポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACY24904.1；GI番号262089840)、米国特許第7,393,923号に記載のSEQ ID NO:3のアミノ酸配列を有するポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACH06540.1；GI番号197013979)、および米国特許第7,393,923に記載のSEQ ID NO:5のアミノ酸配列を有するポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACH06541.1；GI番号197013980)が含まれる。

【００５０】

本明細書に記載されているように使用することができるGFPポリペプチドの例には、これらに限定されないが、可溶性改変緑色蛍光タンパク質(smGFP)ポリペプチド(GenBank(登

録商標)アクセッション番号U70495.1；GI No.1619748)、改変緑色蛍光タンパク質GFP-ER(mfgp4-ER)ポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号U87625.1；GI番号1842446)、GFPポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACJ06700.1, GI番号210076685)、増強GFPポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ACV20892.1；GI番号256708579)、turboGFPポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ADD23343.1；GI番号290131407)、VisGreen GFPポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号ABR26680.1；GI番号149393496)、およびアザミ-グリーン(Azami-Green)ポリペプチド(GenBank(登録商標)アクセッション番号BAD52001.1；GI番号52839539)が含まれる。

【００５１】

いくつかの場合では、蛍光発光ポリペプチド、例えばSubachら(Chem. Biol., 15:1116-1124 (2008))により記載されたものを、本明細書に記載されているように使用することができる。GenBank(登録商標)アクセッション番号3M24_A (GI番号296863586)、GenBank(登録商標)アクセッション番号3M24_B (GI:296863587)、GenBank(登録商標)アクセッション番号3M24_C (GI:296863588)、およびGenBank(登録商標)アクセッション番号3M24_D (GI:296863589)も参照されたい。本明細書に記載されているように使用することができる蛍光発光ポリペプチドのさらなる例には、これらに限定されないが、他の文献(Alieva et al. PLoS ONE, 3(7):e2680 (2008)およびChudafov et al., Physiol. Rev., 90:1103-1163 (2010))に記載されるものが含まれる。例えば、Alievaらの文献の表1、およびChudafovらの文献の図5、10、12、および14を参照されたい。いくつかの場合では、サンゴ蛍光発光ポリペプチドが本明細書に記載されているように使用することができる。いくつかの場合では、図11または12に示されるアミノ酸配列を有するか、または図10に示される配列によりコードされるアミノ酸配列を有する蛍光発光ポリペプチドが、本明細書に記載されているように使用することができる。

【００５２】

任意の適切なアルブミンポリペプチドは、本明細書に記載されているように使用することができる。本明細書に記載されているように使用することができるアルブミンポリペプチドの例には、これらに限定されないが、ヒト血清アルブミン(GenBank(登録商標)アクセッション番号M12523；GI番号J04457)、ヒトアルブミン(GenBank(登録商標)アクセッション番号EF649953.1；GI番号152112963)、および合成ヒトアルブミン(GenBank(登録商標)アクセッション番号DQ894588.2；GI番号123995824)が含まれる。

【００５３】

任意の適切な方法を用いて、ポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド、蛍光発光ポリペプチド、または非蛍光ポリペプチド)を作製することができる。例えば、ポリペプチド発現技術(例えば、細菌細胞、昆虫細胞、または哺乳動物細胞を用いた異種発現技術)を用いて、ポリペプチドを作製することができる。いくつかの場合では、BFGポリペプチドなどの蛍光発光ポリペプチドが、他の文献(Yakhnin et al., Protein Expr. Purif., 14:382-386 (1998)およびJain et al., J. Chromatography A, 1035:83-86 (2004))に記載されているように作製されうる。いくつかの場合では、標準的なペプチド合成技術(例えば、液相ポリペプチド合成技術または固相ポリペプチド合成技術)を用いて、ポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド、蛍光発光ポリペプチド、または非蛍光ポリペプチド)を合成的に生成することができる。

【００５４】

いくつかの場合では、本文書は、接着分子ならびに1種または複数種のインターロッキング金属および/または1種または複数種の色素、ならびに任意で1種または複数種のポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド)と髪、皮膚、および/または爪を接触させ、外観が改善された、外観が変化した、および/または完全性が強化された、髪、皮膚、および/または爪を提供するための方法および材料を提供する。

【００５５】

いくつかの場合では、接着分子および他の作用物質(例えば、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、核酸、蛍光成分、抗生物質、または他の薬物)は、髪、皮膚、お

よび/または爪に順次適用することができる。例えば、接着分子と1種または複数種のインターロッキング金属および/または1種または複数種の色素とは順次適用することができる、すなわち、接着分子が(乾燥状態または湿潤状態下で)髪、皮膚、および/または爪に適用され、次いで、1種または複数種のインターロッキング金属および/または1種または複数種の色素が適用されうる。

【００５６】

いくつかの場合では、接着分子および他の作用物質(例えば、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、核酸、蛍光成分、抗生物質、または他の薬物)は一緒に適用することができる。例えば、接着分子ならびに1種または複数種のインターロッキング金属および/または1種または複数種の色素は相互に付着させることができ(例えば、相互にコンジュゲートさせることができ)、該複合体が髪、皮膚、および/または爪に適用することができる。

【００５７】

ポリペプチドは、イガイ接着ポリペプチドまたは複数のDOPA残基を含むポリマーなどの接着分子に、共有結合または非共有結合的に付着させることができる。任意の適切な方法を用いて、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有する接着分子(例えば、ポリペプチドまたはポリマー)にポリペプチドを共有結合または非共有結合的に付着させることができる。例えば、ケラチンポリペプチド、コラーゲンポリペプチド、またはアルブミンポリペプチドなどのポリペプチドは、1つまたは複数の配位共有結合、共有結合、ジスルフィド結合、高エネルギー結合、水素結合、イオン結合、またはペプチド結合を介して、イガイ接着ポリペプチドまたはポリマーなどの接着分子に化学的にコンジュゲートされうる。いくつかの場合では、ポリペプチドは、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有するポリペプチド(例えば、イガイ接着ポリペプチドまたは複数のDOPA残基を有する他のポリペプチド)上に存在するアミン基に化学的にコンジュゲートされうる。このようなアミン基は、ポリペプチドのN末端、ポリペプチドのC末端、またはポリペプチドのN末端とC末端の間に位置することができる。

【００５８】

いくつかの場合では、コンジュゲートされるポリペプチドは、コンジュゲーションの前に活性化されうる。例えば、ポリペプチド(例えば、接着分子、ケラチンポリペプチド、または蛍光発光ポリペプチド)は、反応性チオール基を組み込むことにより活性化することができる(例えば、Traut's試薬などの2-イミノチオランとの反応、または一端にN-スクシンイミジル3-(2-ピリジルジチオ)-プロピオナート(SPDP)部分を含みかつもう一端にN-ヒドロキシスクシンイミドエステルを含むポリエチレングリコールポリマーとの反応、およびチオールを活性化するためのジチオスレイトール(DTT)などの還元剤でのSPDP部分の切断による)。例えば、イガイ接着ポリペプチドは、他の文献(McCall et al., Bioconjugate Chem., 1:222-226 (1990))に記載されるように、2-イミノチオラン(例えば、Traut's試薬)との反応によってチオール化することができる。反応条件は、コンジュゲーションが髪、皮膚、および/または爪への結合を妨げうる可能性を低減させるために、1つまたは2つのチオールで活性化された分子の収量を最大にするように変えることができる。蛍光ポリペプチドまたは非蛍光ポリペプチドによるチオール組み込みの程度は、他の文献(Lacy et al., Analytical Biochemistry, 382:66-68 (2008))に記載されているように高感度蛍光アッセイを用いて測定することができる。ポリペプチドコンジュゲートは、DOPAペプチドを用いて直接的に合成されるか、または組み替えFPの尾部に(例えば、架橋によって)付加されうる。

【００５９】

接着分子またはポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド、蛍光発光ポリペプチド、またはコラーゲンポリペプチド)は、マレイミド基および反応性N-ヒドロキシスクシンイミドエステルを含む2官能性試薬(例えば、一端にマレイミド基を含み、もう一端に反応性N-ヒドロキシスクシンイミドエステルを含むポリエチレングリコールポリマー)とポリペプチドのアミンとの反応を介して、1つまたは複数のマレイミド基で置換することがで

きる。マレイミドで置換されたポリペプチドは、次いで、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有する接着分子(例えば、接着ポリペプチド)のチオール基にコンジュゲートされうる。いくつかの場合では、マレイミドで置換された接着分子は、ポリペプチドのチオ基にコンジュゲートされうる。ポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド、蛍光発光ポリペプチド、またはコラーゲンポリペプチド)または接着分子がマレイミド基で置換される程度は、他の文献(Singh, Bioconjugate Chem., 5:348-351 (1994))に記載されるように変えることができる。

【００６０】

接着分子をポリペプチドにコンジュゲートするために使用できるコンジュゲーション法のさらなる例には、これらに限定されないが、他の文献(例えば、Hermanson, G.T. Bioconjugate Techniques, 第2版, 2008, Elsevier)に記載される方法が含まれる。例えば、パートI、セクション4およびパートII、セクション5を参照されたい。

【００６１】

いくつかの場合では、本明細書において提供される方法および材料を用いて得られる色強度または蛍光シグナルは、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有する単一の接着分子に、複数のインターロッキング金属、色素、および/または蛍光発光ポリペプチドを連結することによって、増強することができる。

【００６２】

いくつかの場合では、この増幅は、最初に、複数のインターロッキング金属、色素および/または蛍光発光ポリペプチドを含むポリマーを調製し、次に、このポリマーを、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有する接着分子(例えば、イガイ接着ポリペプチド)に連結することによって、効果的に達成することができる。いくつかの場合では、カゼインポリペプチドなどのポリペプチドに複数のインターロッキング金属、色素および/または蛍光発光ポリペプチドを連結させたポリマーを形成することができ、このポリマーは接着分子と共に適用することができる。複数のインターロッキング金属、色素、および/または蛍光発光ポリペプチドを含むポリマーを形成するために使用できる方法(例えば、重合方法)の例には、これらに限定されないが、他の文献(例えば、Hermanson, G.T. Bioconjugate Techniques, 第2版, 2008, Elsevier)に記載される方法が含まれる。例えば、パートII、セクション25を参照されたい。さらに、米国特許出願公開第2010/0203533号；カゼインポリペプチドへのコンジュゲーションを記述するセクションを含む、米国特許出願公開第2013/0022555号；米国特許第4,657,853号；米国特許第7,220,405号：米国特許第8,263,056号；およびHoshino et al., J. Biochem. 102:785-791 (1987)を参照されたい。

【００６３】

複数のマレイミド基で活性化された接着分子を複数のチオール基を含むポリペプチドにコンジュゲートすると、単量体の接着分子-ポリペプチドコンジュゲートだけでなく、異なる数の接着分子とポリペプチドを含むオリゴマー類を生成できる。このような共有結合で連結されたオリゴマー類の分子量分布は、変性条件下でのゲル電気泳動(SDS-PAGE)によって決定することができる。該生成物の分子量分布は、接着分子とポリペプチドが活性化される程度、コンジュゲーション反応のpH(例えば、約pH5～約pH7、例えばpH5～6)、およびコンジュゲーション反応中の接着分子対ポリペプチドの比率など、いくつかの要因によって決まる。

【００６４】

異なる数の接着分子とポリペプチドを含むオリゴマー類の分子量分布に加えて、このようなオリゴマー類は、凝集と呼ばれるプロセスにおいて、非共有結合性の相互作用を介して会合することがある。オリゴマー類の凝集状態は、未変性条件下でのサイズ排除クロマトグラフィー分析によって測定することができる。凝集を最小限にとどめるため、接着分子とポリペプチド(例えば、蛍光発光ポリペプチド)の濃度および活性化の程度だけでなく、コンジュゲーション反応のpH、保存pH、およびイオン強度などの要因も調整されうる。典型的には、コンジュゲーション反応のpHが約pH5～約pH6である場合、およびコンジュゲ

ーション反応が約pH5～約pH6.0のpHで保存される場合に、凝集は減少する。凝集はまた、典型的には、イオン強度が＞5 mM、例えば50 mM、である場合に最小限に抑えられる。接着分子およびポリペプチドの濃度の低下、例えば、＜1 mg/mL、＜0.5 mg/mL、＜0.2 mg/mL、または＜0.1 mg/mL、もまた、凝集を最小限にとどめることができる。

【００６５】

接着分子とポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド)とのコンジュゲーション反応はまた、得られるコンジュゲートが髪、皮膚、および/または爪上で通常見られる条件下で(例えば、1～7日間、または1週間または複数週間、例えば2、3、4週間もしくはそれ以上の期間)安定であり、かつ酸化または変色を起こさないように実施される。

【００６６】

いくつかの場合では、ポリペプチドは、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有するポリペプチドとの融合またはキメラポリペプチドとして生成させることができ、その結果、該融合またはキメラポリペプチドは、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有する。例えば、異種ポリペプチド発現技術または合成ポリペプチド合成技術を用いて、完全長のポリペプチドまたはその断片のアミノ酸配列と、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有する接着分子(例えば、イガイ接着ポリペプチドまたは複数のDOPA残基を含むポリマーなどの接着分子)のアミノ酸配列とを有する、単一のポリペプチド鎖を作製することができる。例えば、キメラポリペプチドは、完全長のケラチンポリペプチドまたは完全長のケラチンポリペプチドと少なくとも約90％同一であるその断片、および接着分子(例えば、完全長のイガイ接着ポリペプチドもしくは完全長のイガイ接着ポリペプチドと少なくとも約80％同一であるその断片、または表1に示されるポリマーなど複数のDOPA残基を含むポリマー)を含むことができる。

【００６７】

いくつかの場合では、単一のポリペプチド鎖は、(a)ポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド、蛍光発光ポリペプチド、またはコラーゲンポリペプチド)のアミノ酸配列と、これに続く髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有するポリペプチドのアミノ酸配列、または(b)髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有するポリペプチドのアミノ酸配列と、これに続くポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド、蛍光発光ポリペプチド、またはコラーゲンポリペプチド)のアミノ酸配列を有しうる。いくつかの場合では、単一のポリペプチド鎖は、各配列がポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド、蛍光発光ポリペプチド、またはコラーゲンポリペプチド)をコードする、1つまたは複数(例えば、1、2、3、4または5つ)のアミノ酸配列、および各配列が髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有するポリペプチドをコードする、1つまたは複数(例えば、1、2、3、4または5つ)のアミノ酸配列を有しうる。

【００６８】

いくつかの場合では、本明細書において提供される融合またはキメラポリペプチドは、他のアミノ酸配列(例えば、スペーサーまたは結合残基)を含むことができる。例えば、ポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド、蛍光発光ポリペプチド、またはコラーゲンポリペプチド)のアミノ酸配列と、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有するポリペプチドのアミノ酸配列とを有する、融合またはキメラポリペプチドは、1つまたは複数の追加のアミノ酸残基、例えば、グリシン、リジン、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、トレオニン、トリプトファン、プロリン、ヒスチジン、バリン、セリン、チロシン、オルニチン、タウリン、ピロリジン、もしくはセレノシステイン残基、またはアミノ酸誘導体(例えば、5-ヒドロキシトリプトファン、L-ジヒドロキシフェニルアラニン、もしくはα-ジフルオロメチルオルニチン)を含むことができる。このような追加のアミノ酸残基は、スペーサー(例えば、5個以上の一続きのグリシン残基)であるように設計されるか、またはポリペプチドまたは他の分子を該

融合またはキメラポリペプチドに化学的にコンジュゲートすることができるように設計されうる。例えば、ポリペプチド(例えば、ケラチンポリペプチド、蛍光発光ポリペプチド、またはコラーゲンポリペプチド)のアミノ酸配列と、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有するポリペプチドのアミノ酸配列とを有する、融合またはキメラポリペプチドは、髪、皮膚、および/または爪と相互作用または結合する能力を有する1つまたは複数のポリペプチド(例えば、イガイ接着ポリペプチド)が該融合またはキメラポリペプチドに化学的にコンジュゲートできるように、1、2、3、4、5個またはそれ以上の追加のリジン残基を含むことができる。

【００６９】

本明細書に記載の方法は、髪、皮膚、および/または爪の色外観を変化させることを目的として、接着分子と任意で別の物質(例えば、ポリペプチド)を使用して、例えば、ヒドロキシアパタイト、置換ヒドロキシアパタイト、非晶質リン酸カルシウム、フッ化物、カルシウム、マグネシウム、リン酸、鉄、錫イオン、二酸化チタン、オキシ塩化ビスマス、酸化鉄、酸化クロム、銀、アルミニウム、青銅、銅、マンガン、酸化亜鉛、発光硫化亜鉛、カルミン、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、マイカ、およびその任意の塩形態(例えば、ヘキサメタリン酸ナトリウム、塩化マグネシウム、硫酸第一鉄)で構成される、着色粒子またはホワイトニング粒子を歯に適用することを含むことができる。

【００７０】

着色粒子またはホワイトニング粒子は、ナノ粒子もしくはマイクロ粒子、またはナノ粒子もしくはマイクロ粒子の凝集体とすることができ、大きさは1ナノメートル(nm)から100マイクロメートル(μm)までのサイズ範囲、例えば、1 nm～50 μm、1 nm～20 μm、5 nm～20 μm、10 nm～20 μm、1 nm～10 μm、5 nm～10 μm、10 nm～10 μm、1 nm～1 μm、5 nm～1 μm、10 nm～1 μm、100 nm～1 μm、1 nm～500 nm、1 nm～250 nm、1 nm～125 nm、1 nm～100 nm、1 nm～75 nm、1 nm～50 nm、5 nm～500 nm、5 nm～250 nm、5 nm～125 nm、5 nm～100 nm、5 nm～75 nm、5 nm～50 nm、5 nm～20 nm、10 nm～150 nm、10 nm～125 nm、10 nm～100 nm、10 nm～75 nm、10 nm～50 nm、または50 nm～150 nm、または50 nm～125 nmのサイズの範囲内とすることができる。着色粒子またはホワイトニング粒子は、マイカ、ヒドロキシアパタイト、または二酸化チタンで構成することができる。他の有用な着色粒子またはホワイトニング粒子は、オキシ塩化ビスマス、酸化鉄、酸化クロム、銀、アルミニウム、青銅、銅、マンガン、発光硫化亜鉛、二酸化ケイ素、ケイ酸ジルコニウム、リン酸カルシウム、または酸化亜鉛で構成することができる。例えば、Photochem. Photobiol. Sci, 9, 495-509 (2010); および米国特許第6,004,567号を参照されたい。

【００７１】

いくつかの場合では、接着分子と着色粒子またはホワイトニング粒子(またはインターロッキング金属もしくは色素などの他の作用物質)とは順次適用することができる。例えば、接着分子が髪、皮膚、および/または爪に適用され、次に、着色粒子またはホワイトニング粒子(または他の化合物)が適用されうる。いくつかの場合では、接着分子と着色粒子またはホワイトニング粒子(または他の化合物)とは同時に適用することができる。いくつかの場合では、接着分子、ポリペプチド、および着色またはホワイトニング粒子は順次適用することができる。いくつかの場合では、接着分子、ポリペプチド、および着色またはホワイトニング粒子は同時に適用することができる。例えば、着色粒子またはホワイトニング粒子は、接着分子およびポリペプチドを含むコンジュゲートに結合されて、着色粒子またはホワイトニング粒子とコンジュゲートとを含む複合体が髪、皮膚、および/または爪に適用されうる。いくつかの場合では、インターロッキング金属および/または色素と組み合わせた着色粒子またはホワイトニング粒子の使用は、髪、皮膚、および/または爪の外観を向上するのに役立ちうる。

【００７２】

二酸化チタン、酸化鉄、酸化クロム、または他の粒子を使用するいくつかの場合では、該粒子は、二酸化チタンに非特異的に結合する、アルブミンまたは免疫グロブリンなどの

1種または複数種の血清タンパク質で(例えば、該粒子を血清と共にインキュベートすることによって)コーティングされ、そのコーティング粒子が接着分子(例えば、複数のDOPA残基を含むポリマー)と組み合わせて適用されうる。いくつかの場合では、血清タンパク質を活性化して、接着分子/ポリペプチドコンジュゲートに化学的にコンジュゲートし、次いで、血清タンパク質、接着分子、およびポリペプチドを含むコンジュゲートを、二酸化チタン粒子、酸化鉄粒子、または酸化クロム粒子などの着色粒子またはホワイトニング粒子に結合させることができる。

【００７３】

接着分子および1種または複数種の他の分子を含む本明細書で提供される組成物(例えば、抗生物質または他の治療用分子、例えば、コンディショナー(シーラントを含む)、着色剤、芳香剤、およびサンスクリーン剤等に付着させた接着分子を、髪、皮膚、または爪に通常用いられる他の物質と共に含む組成物)は、哺乳動物の髪、皮膚、および/または爪に投与することができる。例えば、接着分子、インターロッキング金属、および抗生物質を含む組成物はジェルとして製剤化されうる。いくつかの場合では、組成物は1種または複数種の薬学的賦形剤を含むことができる。

【００７４】

任意の適切な方法を用いて、本明細書で提供される組成物を髪、皮膚、および/または爪に送達することができる。例えば、本明細書で提供される組成物は、髪、皮膚、または爪をケアする製品または化粧品、例えば、シャンプー、コンディショナー、整髪用ジェル、ムース、ローション、オイル、サンスクリーン剤、石けん、ボディウォッシュ、香水、またはネイルポリッシュ内に取り入れることができる。いくつかの場合では、組成物は1種または複数種の薬学的賦形剤を含みうる。例えば、接着分子、インターロッキング金属、および任意でポリペプチドを含むジェルは、1種または複数種の増粘剤(例えば、ミネラルコロイドまたはポリエチレングリコール(PEG))、緩衝剤、界面活性剤、および/または抗細菌剤(例えば、トリクロサンまたは塩化亜鉛)を含むことができる。

【００７５】

いくつかの場合では、本明細書で提供される組成物の有効量は、髪、皮膚、および/または爪に送達され、髪、皮膚、または爪の外観を改善する、髪、皮膚、または爪の外観を変化させる、および/または髪、皮膚、または爪の完全性を強化することができる。

【００７６】

接着分子、インターロッキング金属、色素、ポリペプチド、着色粒子、ホワイトニング粒子、それらの組み合わせ、または本明細書で提供される組成物の有効量は、重篤な毒性を誘発することなく、髪、皮膚、または爪の外観を改善する、髪、皮膚、または爪の外観を変化させる、および/または髪、皮膚、または爪の完全性を強化する任意の量とすることができる。例えば、本明細書で提供される組成物は、1グラムの化粧品またはケア製品当たり約0.0001 mg～約100 mg(例えば、約0.001 mg～約100 mg、約0.01 mg～約100 mg、約0.1 mg～約100 mg、約0.5 mg～約100 mg、約0.5 mg～約50 mg、約0.5 mg～約25 mg、約1 mg～約100 mg、約1 mg～約50 mg、または約1 mg～約25 mg)の着色化合物をもたらす量で、髪、皮膚、または爪のケア製品または化粧品、例えば、シャンプー、コンディショナー、整髪用ジェル、ムース、ローション、オイル、サンスクリーン剤、石けん、ボディウォッシュ、香水、またはネイルポリッシュ内に取り入れることができる。この量は、ある特定の処方物、例えば徐放のコンディショニング剤では、より高くなってもよいことが理解されよう。

【００７７】

いくつかの場合では、本明細書で提供される組成物は、ある時間にわたって髪、皮膚、または爪に適用することができる。例えば、本明細書に記載されている組成物は、髪、皮膚、または爪に適用(例えば、直接的に適用)して、すすぐことなく、髪、皮膚、または爪との接触状態が30秒～10分(例えば、30秒～5分、30秒～2.5分、30秒～2分、1分～10分、2分～10分、または1分～5分)にわたり維持される。リーブインコンディショニング剤などを用いるいくつかの場合では、本明細書で提供される組成物は、組成物が髪、皮膚、また

は爪に染み込むような時間にわたって髪、皮膚、または爪と接触させることができる。本明細書に記載される組成物は、湿潤または乾燥条件下で髪、皮膚、または爪に適用することができる。

【００７８】

いくつかの場合では、本明細書で提供される組成物を送達する前に、人の髪、皮膚、または爪の準備を行うことができる。例えば、本明細書で提供される組成物を送達する前に、人の髪、皮膚、または爪を洗浄する、ブラッシングする、または磨く(例えば、軽石で磨く)ことができる。いくつかの場合では、処置される髪、皮膚、または爪の表面は、髪、皮膚、または爪の結合部位を露出させることができる1種または複数種の作用物質で処置されうる。例えば、本明細書で提供される組成物で処置される髪、皮膚、または爪を、EDTA、リン酸、アセトン、または軽石と接触させ、髪、皮膚、または爪上に存在する結合部位を露出させることができる。

【００７９】

いくつかの場合では、2段階以上のプロセスを用いて、接着分子および他の作用物質を髪、皮膚、または爪に適用することができる。例えば、1段階として、髪、皮膚、または爪と相互作用または結合する能力を有する接着分子(例えば、イガイ接着ポリペプチド、または複数のDOPA残基を含むポリマー)を含む組成物を、処置される髪、皮膚、または爪に送達し、その後に、該接着分子と相互作用または結合する能力を有する、例えば、インターロッキング金属、色素、および/またはポリペプチドを送達する段階が続く。いくつかの場合では、これらの2段階は、ポリペプチドと分離した該分子を含む単一の組成物を用いて、または一方の組成物が接着分子を含有し、かつ別の組成物が1種または複数種の他の作用物質を含む別個の組成物を用いて、同時に行うことができる。

【００８０】

いくつかの場合では、アッセイを実施して、本明細書で提供される組成物または本明細書で提供される組成物の成分(例えば、イガイ接着ポリペプチド、または複数のDOPA残基を含むポリマー)が、髪、皮膚、または爪に対する結合親和性を有することを確認することができる。例えば、試験される材料を髪、皮膚、または爪の基質とインキュベートし、結合後の溶液中の材料の量を初期濃度と比較して、結合した材料の量を差によって決定することができる。例えば、Raj et al., J. Biol. Chem., 267:5968-5976 (1992)を参照されたい。ポリペプチド材料の場合には、溶液中のポリペプチドの濃度は、ビシンコニン酸アッセイおよび/またはオルト-フタルアルデヒドアミンアッセイを用いて測定することができる。結合定数は、Langmuirモデルを用いて決定することができる(Bouropoulos and Moradian-Oldak, Calcif. Tissue Int., 72:599-603 (2003))。

【００８１】

任意の適切な方法を用いて、髪、皮膚、もしくは爪または髪、皮膚、もしくは爪の基質に対する本明細書で提供される組成物の親和性を評価することができる。例えば、結合組成物および未結合組成物を定量することができる。

【００８２】

任意の適切な方法を用いて、髪、皮膚、または爪の外観を変化させる能力について、本明細書で提供される組成物を評価することができる。例えば、目視検査技術を用いて、本明細書で提供される組成物が髪、皮膚、または爪の外観を変えられるか否かを判定することができる。このような目視検査技術は、他の文献(Paravina et al., J. Esthet. Restor. Dent., 19:276-283 (2007))に記載されるような、比較用のシェードガイド(shade guide)の使用を含むことができる。いくつかの場合では、本明細書で提供される組成物の髪、皮膚、または爪の外観を変化させる能力は、反射分光光度法を用いて測定することができる。このような場合には、髪、皮膚、または爪に白色光源を照射して、異なる波長で吸収された光の量に関して反射分光光度法(比色分析)によって髪、皮膚、または爪を分析する。その後、光源からフィルタリングされたUV光を用いて、これらの測定を繰り返す。UV光の包含と排除により得られた反射率の値の差は、髪、皮膚、または爪の表面のUV蛍光スペクトルである。いくつかの場合では、本明細書で提供される組成物の髪、皮膚、または

爪にインターロッキング金属を結合させる能力は、例えば、走査型電子顕微鏡、プロフィロメトリー、またはバイオパニングを用いて、観察することができる。

【００８３】

本明細書で提供される組成物は、該組成物を使用する人への毒性のリスクが低く、ヒト由来の1種または複数種のポリペプチドを含み、飲食品中に天然に存在する1種または複数種のポリペプチドを含み、かつ/または潜在的に毒性を有する色素を欠くことができる。

【００８４】

本文書はまた、送達構造物、送達構造物を作製する方法、および送達構造物を用いて髪、皮膚、または爪に作用物質を送達するための方法も提供する。例えば、3種の異なるポリマー：ポリメタクリル酸(PMA)、ポリ[エチレン-コ-(無水マレイン酸)(PEMA)、およびポリ[ブタジエン-コ-(無水マレイン酸)(PBMA)を用いて、ポリマー薄膜フィルムを生成することができる。例えば、ポリL-DOPA-PMAポリマーは、PMA溶液を含有するPBS溶液中に溶解した1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドおよびN-ヒドロキシスクシンイミドを用いて、異なる濃度のDOPAを用いて合成することができる。L-DOPAをポリマー溶液に添加し、沈殿したポリ(L-DOPA)を乾燥させ、ポリマーを生成することができる。

【００８５】

ポリマー薄膜フィルムは、合成したポリL-DOPA-PEMAおよびポリL-DOPA-PBMAポリマーを用いて生成することができる。例えば、ポリ[エチレン-コ-(無水マレイン酸)]およびポリ[ブタジエン-コ-(無水マレイン酸)]は別々に、エタノール溶液中のDOPAにそれぞれ添加されうる。反応を広範に加熱および冷却し、沈殿したポリマーを乾燥させ、ポリマー(例えば、メタクリレート骨格に対するカテコールアミン/リジンポリマーミメティック)を生成することができる。

【００８６】

薄膜フィルムを作製するために、ポリL-DOPA溶はトレイの上に積層され、薄いシート状に凍結されうる。凍結した溶液は凍結乾燥され、そのシート構造を保持するフィルムを生成することができる。フィルムの片側には、髪、皮膚、または爪への送達のために作用物質溶液が配置されうる。例えば、コンディショニング剤または治療剤の層が、フィルムの片側上に適用され、髪、皮膚、および爪の表面に配置されうる。

【００８７】

本発明は以下の実施例においてさらに説明されるが、これらの実施例は添付の特許請求の範囲に記載される本発明の範囲を限定するものではない。

【実施例】

【００８８】

実施例1－髪の着色で使用するためのインターロッキング金属を使用する着色化合物を調製する方法

22.6 kDaイガイ接着ポリペプチド(MAP-22)を、Traut's試薬(2-イミノチオラン(IT))を用いてリジン残基をチオール化することによって、コンジュゲーションのために活性化する。MAP-22(0.4 mg/mL)を1.8 mMまたは5 mM ITと共にホウ酸ナトリウムの存在下でpH8にて40分間室温でインキュベートし、MAP-22のDOPA残基を酸化から保護する。異なる数のチオールが付着した2つのバッチのMAP-22、MAP-22-Hi-SH(5 mM IT)およびMAP-22-Lo-SH(1.8 mM IT)を生成する。

【００８９】

この場合では、Cuが着色剤として用いられるが、オキシ塩化ビスマス、酸化鉄、酸化クロム、銀、アルミニウム、青銅、銅、マンガン、酸化亜鉛、または発光硫化亜鉛などの類似の金属をCuの代わりに用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-Lo-SH＋Cuを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/Cu比で含む3つの反応。

MAP-Hi-SH＋Cuを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/Cu比で含む3つの反応。

【００９０】

反応生成物を髪に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後

、髪試料を水ですすぎ、試料を着色の有効性について分析する。

【００９１】

実施例2－爪の着色で使用するためのインターロッキング金属を用いる着色化合物を調製する方法

MAP-22を、Traut's試薬(2-イミノチオラン(IT))を用いてリジン残基をチオール化することによって、コンジュゲーションのために活性化する。MAP-22(0.4 mg/mL)を1.8 mMまたは5 mM ITと共にホウ酸ナトリウムの存在下でpH8にて40分間室温でインキュベートし、MAP-22のDOPA残基を酸化から保護する。異なる数のチオールが付着した2つのバッチのMAP-22、MAP-22-Hi-SH(5 mM IT)およびMAP-22-Lo-SH(1.8 mM IT)を生成する。

【００９２】

この場合では、Cuが着色剤として用いられるが、オキシ塩化ビスマス、酸化鉄、酸化クロム、銀、アルミニウム、青銅、銅、マンガン、酸化亜鉛、または発光硫化亜鉛などの類似の金属をCuの代わりに用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-Lo-SH＋Cuを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/Cu比で含む3つの反応。

MAP-Hi-SH＋Cuを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/Cu比で含む3つの反応。

【００９３】

反応生成物を爪に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、爪試料を水ですすぎ、試料を着色の有効性について分析する。

【００９４】

実施例3－皮膚の着色で使用するためのインターロッキング金属を用いる着色化合物を調製する方法

MAP-22を、Traut's試薬(2-イミノチオラン(IT))を用いてリジン残基をチオール化することによって、コンジュゲーションのために活性化する。MAP-22(0.4 mg/mL)を1.8 mMまたは5 mM ITと共にホウ酸ナトリウムの存在下でpH8にて40分間室温でインキュベートし、MAP-22のDOPA残基を酸化から保護する。異なる数のチオールが付着した2つのバッチのMAP-22、MAP-22-Hi-SH(5 mM IT)およびMAP-22-Lo-SH(1.8 mM IT)を生成する。

【００９５】

この場合では、Cuが着色剤として用いられるが、オキシ塩化ビスマス、酸化鉄、酸化クロム、銀、アルミニウム、青銅、銅、マンガン、酸化亜鉛、または発光硫化亜鉛などの類似の金属をCuの代わりに用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-Lo-SH＋Cuを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/Cu比で含む3つの反応。

MAP-Hi-SH＋Cuを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/Cu比で含む3つの反応。

【００９６】

反応生成物を皮膚に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、皮膚試料を水ですすぎ、試料を着色の有効性について分析する。

【００９７】

実施例4－髪の着色で使用するためのミネラルおよび色素を用いる着色化合物を調製する方法

MAP-22を、Traut's試薬(2-イミノチオラン(IT))を用いてリジン残基をチオール化することによって、コンジュゲーションのために活性化する。MAP-22(0.4 mg/mL)を1.8 mMまたは5 mM ITと共にホウ酸ナトリウムの存在下でpH8にて40分間室温でインキュベートし、MAP-22のDOPA残基を酸化から保護する。異なる数のチオールが付着した2つのバッチのMAP-22、MAP-22-Hi-SH(5 mM IT)およびMAP-22-Lo-SH(1.8 mM IT)を生成する。

【００９８】

この場合では、カルミンが着色剤として用いられるが、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、またはマイカなどの類似のミネラルおよび色素を用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-Lo-SH＋カルミンを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/カルミン比で含む3つの反応。

MAP-Hi-SH＋カルミンを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/カルミン比で含む3つの反応。

【００９９】

反応生成物を髪に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、髪試料を水ですすぎ、着色の有効性について分析する。

【０１００】

実施例5－爪の着色で使用するためのミネラルおよび色素を用いる着色化合物を調製する方法

MAP-22を、Traut's試薬(2-イミノチオラン(IT))を用いてリジン残基をチオール化することによって、コンジュゲーションのために活性化する。MAP-22(0.4 mg/mL)を1.8 mMまたは5 mM ITと共にホウ酸ナトリウムの存在下でpH8にて40分間室温でインキュベートし、MAP-22のDOPA残基を酸化から保護する。異なる数のチオールが付着した2つのバッチのMAP-22、MAP-22-Hi-SH(5 mM IT)およびMAP-22-Lo-SH(1.8 mM IT)を生成する。

【０１０１】

この場合では、カルミンが着色剤として用いられるが、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、またはマイカなどの類似のミネラルおよび色素を用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-Lo-SH＋カルミンを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/カルミン比で含む3つの反応。

MAP-Hi-SH＋カルミンを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/カルミン比で含む3つの反応。

【０１０２】

反応生成物を爪に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、爪試料を水ですすぎ、着色の有効性について分析する。

【０１０３】

実施例6－皮膚の着色で使用するためのミネラルおよび色素を用いる着色化合物を調製する方法

MAP-22を、Traut's試薬(2-イミノチオラン(IT))を用いてリジン残基をチオール化することによって、コンジュゲーションのために活性化する。MAP-22(0.4 mg/mL)を1.8 mMまたは5 mM ITと共にホウ酸ナトリウムの存在下でpH8にて40分間室温でインキュベートし、MAP-22のDOPA残基を酸化から保護する。異なる数のチオールが付着した2つのバッチのMAP-22、MAP-22-Hi-SH(5 mM IT)およびMAP-22-Lo-SH(1.8 mM IT)を生成する。

【０１０４】

この場合では、カルミンが着色剤として用いられるが、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、またはマイカなどの類似のミネラルおよび色素を用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-Lo-SH＋カルミンを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/カルミン比で含む3つの反応。

MAP-Hi-SH＋カルミンを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/カルミン比で含む3つの反応。

【０１０５】

反応生成物を皮膚に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、皮膚試料を水ですすぎ、着色の有効性について分析する。

【０１０６】

実施例7－髪の着色で使用するためのインターロッキング金属および足場タンパク質としてケラチンを用いる着色化合物を調製する方法

分子のサイズを増大させるための足場ポリマーとして用いられるケラチンを次のように調製して活性化する。足場ポリマーケラチンを2つのバッチに分ける：一方のバッチはTrauts試薬(2-イミノチオランまたは2-IT)で活性化してチオール基を足場ポリマーに付加し、第2のバッチはMAL-dPEG4-NHSエステルで活性化してマレイミド基を足場ポリマーケラチンに付加する。

【０１０７】

Trauts試薬による足場ポリマーケラチンの活性化を、2 mM EDTAおよび0.05％Tween-20を含有する50 mMホウ酸塩緩衝液pH8.0中で行う。イミノチオランの最終濃度は45 mMとする。足場ポリマーケラチンを1 mg/mLで維持する。この反応を室温で40分間インキュベー

トする。未反応のITを、50 mMリン酸塩緩衝液、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20 pH7.0中でのゲル濾過により反応物から除去する。マレイミド反応では、足場ポリマーケラチンは1mg/mLの濃度とし、MAL-dPEG4-NHSエステルを、50 mMリン酸塩、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20の緩衝液中で3 mg/mLの最終濃度となるように添加する。この反応を室温で40分間インキュベートする。結果として生じるコンジュゲートされた材料の反応物を精製するために、未反応のMAL-dPEG4-NHSエステルを、5 mM MES、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20 pH6中のSephadex G25カラム(GE Healthcare社)でのゲル濾過クロマトグラフィーにより足場ポリマーケラチンから分離する。

【０１０８】

次に、これら2つの活性化足場ポリマーケラチン種を一緒に反応させて、ポリ足場ポリマーを形成させる。活性化足場ポリマーケラチン種を、1：3比の足場ポリマーケラチン-マレイミドと足場ポリマーケラチン-SHで組み合わせて、50 mMリン酸塩緩衝液pH7.0、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20中で室温にて1時間インキュベートする。この反応はNMMで停止させる。この試料を濃縮し、サイズ排除カラム(Superdex 200, GE Healthcare社)にアプライして、異なるサイズのポリ足場ポリマーケラチンを分離し、かつ未反応の足場ポリマーケラチンを取り除く。

【０１０９】

ポリ足場ポリマーケラチンをMAP-22-SHと反応させるために、220 kDaを上回る分子量を有するポリ足場ポリマーケラチン画分を用いる。重合足場ポリマーケラチンを、2 mM EDTAおよび0.05% Tween 20を含有する50 mMリン酸塩緩衝液pH 7中で0.33 mg/mL MAL-dPEG4-NHSエステルと反応させることによって、活性化する。未反応試薬をゲル濾過により除去した後に、それを、異なるMAP-22/ポリケラチン比(MAP-22：ケラチン；4：1；2：1；1：1；1：2；1：4)でMAP-22-SH (5mMイミノチオランで活性化)と反応させる。

【０１１０】

これらの条件下では、重合足場タンパク質ケラチンをコーティングするのに十分な材料が存在し、さらなる重合または凝集とその後の沈殿は生じない可能性がある。

【０１１１】

この場合では、Cuが着色剤として用いられるが、オキシ塩化ビスマス、酸化鉄、酸化クロム、銀、アルミニウム、青銅、銅、マンガン、酸化亜鉛、または発光硫化亜鉛などの類似の金属を、Cuの代わりに用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-22：ケラチン＋Cuを3:1、1:1、および1:3のMAP-22：ケラチン/Cu比で含む3つの反応。

【０１１２】

この化合物を髪に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、髪試料を水ですすぎ、着色の有効性について分析する。

【０１１３】

実施例8－爪の着色で使用するためのインターロッキング金属および足場タンパク質としてケラチンを用いる着色化合物を調製する方法

分子のサイズを増大させるための足場ポリマーとして用いられるケラチンを次のように調製して活性化する。足場ポリマーケラチンを2つのバッチに分ける：一方のバッチはTrauts試薬(2-イミノチオランまたは2-IT)で活性化してチオール基を足場ポリマーに付加し、第2のバッチはMAL-dPEG4-NHSエステルで活性化してマレイミド基を足場ポリマーケラチンに付加する。

【０１１４】

Trauts試薬による足場ポリマーケラチンの活性化を、2 mM EDTAおよび0.05%Tween-20を含有する50 mMホウ酸塩緩衝液pH8.0中で行う。イミノチオランの最終濃度は45 mMとする。足場ポリマーケラチンを1 mg/mLで維持する。この反応を室温で40分間インキュベートする。未反応のITを、50 mMリン酸塩緩衝液、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20 pH7.0中でのゲル濾過により反応物から除去する。マレイミド反応では、足場ポリマーケラチン

は1mg/mLの濃度とし、MAL-dPEG4-NHSエステルを、50 mMリン酸塩、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20の緩衝液中で3 mg/mLの最終濃度となるように添加する。この反応を室温で40分間インキュベートする。結果として生じるコンジュゲートされた材料の反応物を精製するために、未反応のMAL-dPEG4-NHSエステルを、5 mM MES、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20 pH6中のSephadex G25カラム(GE Healthcare社)でのゲル濾過クロマトグラフィーにより足場ポリマーケラチンから分離する。

【０１１５】

次に、これら2つの活性化足場ポリマーケラチン種を一緒に反応させて、ポリ足場ポリマーを形成させる。活性化足場ポリマーケラチン種を、1：3比の足場ポリマーケラチン-マレイミドと足場ポリマーケラチン-SHで組み合わせて、50 mMリン酸塩緩衝液pH7.0、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20中で室温にて1時間インキュベートする。この反応はNMMで停止させる。この試料を濃縮し、サイズ排除カラム(Superdex 200, GE Healthcare社)にアプライして、異なるサイズのポリ足場ポリマーケラチンを分離し、かつ未反応の足場ポリマーケラチンを取り除く。

【０１１６】

ポリ足場ポリマーケラチンをMAP-22-SHと反応させるために、220 kDaを上回る分子量を有するポリ足場ポリマーケラチン画分を用いる。重合足場ポリマーケラチンを、2 mM EDTAおよび0.05% Tween 20を含有する50 mMリン酸塩緩衝液pH 7中で0.33 mg/mL MAL-dPEG4-NHSエステルと反応させることによって、活性化する。未反応試薬をゲル濾過により除去した後に、それを、異なるMAP-22/ポリケラチン比(MAP-22：ケラチン；4：1；2：1；1：1；1：2；1：4)でMAP-22-SH (5mMイミノチオランで活性化)と反応させる。

【０１１７】

これらの条件下では、重合足場タンパク質ケラチンをコーティングするのに十分な材料が存在し、さらなる重合または凝集とその後の沈殿は生じない可能性がある。

【０１１８】

この場合では、Cuが着色剤として用いられるが、オキシ塩化ビスマス、酸化鉄、酸化クロム、銀、アルミニウム、青銅、銅、マンガン、酸化亜鉛、または発光硫化亜鉛などの類似の金属を、Cuの代わりに用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-22：ケラチン＋Cuを3:1、1:1、および1:3のMAP-22：ケラチン/Cu比で含む3つの反応。

【０１１９】

この化合物を爪に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、爪試料を水ですすぎ、着色の有効性について分析する。

【０１２０】

実施例9－皮膚の着色で使用するためのインターロッキング金属および足場タンパク質としてアルブミンを用いる着色化合物を調製する方法

分子のサイズを増大させるための足場ポリマーとして用いられるアルブミンを次のように調製して活性化する。足場ポリマーアルブミンを2つのバッチに分ける：一方のバッチはTrauts試薬(2-イミノチオランまたは2-IT)で活性化してチオール基を足場ポリマーに付加し、第2のバッチはMAL-dPEG4-NHSエステルで活性化してマレイミド基を足場ポリマーアルブミンに付加する。

【０１２１】

Trauts試薬による足場ポリマーアルブミンの活性化を、2 mM EDTAおよび0.05%Tween-20を含有する50 mMホウ酸塩緩衝液pH8.0中で行う。イミノチオランの最終濃度は45 mMとする。足場ポリマーアルブミンを1 mg/mLで維持する。この反応を室温で40分間インキュベートする。未反応のITを、50 mMリン酸塩緩衝液、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20 pH7.0中でのゲル濾過により反応物から除去する。マレイミド反応では、足場ポリマーアルブミンは1 mg/mLの濃度とし、MAL-dPEG4-NHSエステルを、50 mMリン酸塩、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20の緩衝液中で3 mg/mLの最終濃度となるように添加する。この反応を室

温で40分間インキュベートする。結果として生じるコンジュゲートされた材料の反応物を精製するために、未反応のMAL-dPEG4-NHSエステルを、5 mM MES、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20 pH6中のSephadex G25カラム(GE Healthcare社)でのゲル濾過クロマトグラフィーにより足場ポリマーアルブミンから分離する。

【０１２２】

次に、これら2つの活性化足場ポリマーアルブミン種を一緒に反応させて、ポリ足場ポリマーを形成させる。活性化足場ポリマーアルブミン種を、1：3比の足場ポリマーアルブミン-マレイミドと足場ポリマーアルブミン-SHで組み合わせて、50 mMリン酸塩緩衝液pH7.0、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20中で室温にて1時間インキュベートする。この反応はNMMで停止させる。この試料を濃縮し、サイズ排除カラム(Superdex 200, GE Healthcare社)にアプライして、異なるサイズのポリ足場ポリマーアルブミンを分離し、かつ未反応の足場ポリマーアルブミンを取り除く。

【０１２３】

ポリ足場ポリマーアルブミンをMAP-22-SHと反応させるために、220 kDaを上回る分子量を有するポリ足場ポリマーアルブミン画分を用いる。重合足場ポリマーアルブミンを、2 mM EDTAおよび0.05% Tween 20を含有する50 mMリン酸塩緩衝液pH 7中で0.33 mg/mL MAL-dPEG4-NHSエステルと反応させることによって、活性化する。未反応試薬をゲル濾過により除去した後に、それを、異なるMAP-22/ポリアルブミン比(MAP-22：アルブミン；4：1；2：1；1：1；1：2；1：4)でMAP-22-SH (5mMイミノチオランで活性化)と反応させる。

【０１２４】

これらの条件下では、重合足場タンパク質アルブミンをコーティングするのに十分な材料が存在し、さらなる重合または凝集とその後の沈殿は生じない可能性がある。

【０１２５】

この場合では、Cuが着色剤として用いられるが、オキシ塩化ビスマス、酸化鉄、酸化クロム、銀、アルミニウム、青銅、銅、マンガン、酸化亜鉛、または発光硫化亜鉛などの類似の金属を、Cuの代わりに用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-22：アルブミン＋Cuを3:1、1:1、および1:3のMAP-22：アルブミン/Cu比で含む3つの反応。

【０１２６】

この化合物を皮膚に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、皮膚試料を水ですすぎ、着色の有効性について分析する。

【０１２７】

実施例10－髪の着色で使用するためのミネラル/色素および足場タンパク質としてケラチンを用いる着色化合物を調製する方法

分子のサイズを増大させるための足場ポリマーとして用いられるケラチンを次のように調製して活性化する。足場ポリマーケラチンを2つのバッチに分ける：一方のバッチはTrauts試薬(2-イミノチオランまたは2-IT)で活性化してチオール基を足場ポリマーに付加し、第2のバッチはMAL-dPEG4-NHSエステルで活性化してマレイミド基を足場ポリマーケラチンに付加する。

【０１２８】

Trauts試薬による足場ポリマーケラチンの活性化を、2 mM EDTAおよび0.05%Tween-20を含有する50 mMホウ酸塩緩衝液pH8.0中で行う。イミノチオランの最終濃度は45mMとする。足場ポリマーケラチンを1 mg/mLで維持する。この反応を室温で40分間インキュベートする。未反応のITを、50 mMリン酸塩緩衝液、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20 pH7.0中でのゲル濾過により反応物から除去する。マレイミド反応では、足場ポリマーケラチンは1 mg/mLの濃度とし、MAL-dPEG4-NHSエステルを、50 mMリン酸塩、2 mM EDTA、および0.05%Tween-20の緩衝液中で3 mg/mLの最終濃度となるように添加する。この反応を室温で40分間インキュベートする。結果として生じるコンジュゲートされた材料の反応物を精製するために、未反応のMAL-dPEG4-NHSエステルを、5 mM MES、2 mM EDTA、および0.05%Twee

n-20 pH6中のSephadex G25カラム(GE Healthcare社)でのゲル濾過クロマトグラフィーにより足場ポリマーケラチンから分離する。

【０１２９】

次に、これら2つの活性化足場ポリマーケラチン種を一緒に反応させて、ポリ足場ポリマーを形成させる。活性化足場ポリマーケラチン種を、1：3比の足場ポリマーケラチン-マレイミドと足場ポリマーケラチン-SHで組み合わせて、50 mMリン酸塩緩衝液pH7.0、2 mM EDTA、および0.05％Tween-20中で室温にて1時間インキュベートする。この反応はNMMで停止させる。この試料を濃縮し、サイズ排除カラム(Superdex 200, GE Healthcare社)にアプライして、異なるサイズのポリ足場ポリマーケラチンを分離し、かつ未反応の足場ポリマーケラチンを取り除く。

【０１３０】

ポリ足場ポリマーケラチンをMAP-22-SHと反応させるために、220 kDaを上回る分子量を有するポリ足場ポリマーケラチン画分を用いる。重合足場ポリマーケラチンを、2 mM EDTAおよび0.05% Tween 20を含有する50 mMリン酸塩緩衝液pH 7中で0.33 mg/mL MAL-dPEG4-NHSエステルと反応させることによって、活性化する。未反応試薬をゲル濾過により除去した後に、それを、異なるMAP-22/ポリケラチン比(MAP-22：ケラチン；4：1；2：1；1：1；1：2；1：4)でMAP-22-SH (5mMイミノチオランで活性化)と反応させる。

【０１３１】

これらの条件下では、重合足場タンパク質ケラチンをコーティングするのに十分な材料が存在し、さらなる重合または凝集とその後の沈殿は生じない可能性がある。

【０１３２】

この場合では、カルミンが着色剤として用いられるが、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、またはマイカなどの類似のミネラルおよび色素を用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-22：ケラチン＋カルミンを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/カルミン比で含む3つの反応。

【０１３３】

この反応生成物を髪に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、髪試料を水ですすぎ、着色の有効性について分析する。

【０１３４】

実施例11－爪の着色で使用するためのミネラル/色素および足場タンパク質としてケラチンを用いる着色化合物を調製する方法

分子のサイズを増大させるための足場ポリマーとして用いられるケラチンを次のように調製して活性化する。足場ポリマーケラチンを2つのバッチに分ける：一方のバッチはTrauts試薬(2-イミノチオランまたは2-IT)で活性化してチオール基を足場ポリマーに付加し、第2のバッチはMAL-dPEG4-NHSエステルで活性化してマレイミド基を足場ポリマーケラチンに付加する。

【０１３５】

Trauts試薬による足場ポリマーケラチンの活性化を、2 mM EDTAおよび0.05％Tween-20を含有する50 mMホウ酸塩緩衝液pH8.0中で行う。イミノチオランの最終濃度は45 mMとする。足場ポリマーケラチンを1 mg/mLで維持する。この反応を室温で40分間インキュベートする。未反応のITを、50 mMリン酸塩緩衝液、2 mM EDTA、および0.05％Tween-20 pH7.0中でのゲル濾過により反応物から除去する。マレイミド反応では、足場ポリマーケラチンは1 mg/mLの濃度とし、MAL-dPEG4-NHSエステルを、50 mMリン酸塩、2 mM EDTA、および0.05％Tween-20の緩衝液中で3 mg/mLの最終濃度となるように添加する。この反応を室温で40分間インキュベートする。結果として生じるコンジュゲートされた材料の反応物を精製するために、未反応のMAL-dPEG4-NHSエステルを、5 mM MES、2 mM EDTA、および0.05％Tween-20 pH6中のSephadex G25カラム(GE Healthcare社)でのゲル濾過クロマトグラフィーにより足場ポリマーケラチンから分離する。

【０１３６】

次に、これら2つの活性化足場ポリマーケラチン種を一緒に反応させて、ポリ足場ポリマーを形成させる。活性化足場ポリマーケラチン種を、1：3比の足場ポリマーケラチン-マレイミドと足場ポリマーケラチン-SHで組み合わせて、50 mMリン酸塩緩衝液pH7.0、2 mM EDTA、および0.05％Tween-20中で室温にて1時間インキュベートする。この反応はNMMで停止させる。この試料を濃縮し、サイズ排除カラム(Superdex 200, GE Healthcare社)にアプライして、異なるサイズのポリ足場ポリマーケラチンを分離し、かつ未反応の足場ポリマーケラチンを取り除く。

【０１３７】

ポリ足場ポリマーケラチンをMAP-22-SHと反応させるために、220 kDaを上回る分子量を有するポリ足場ポリマーケラチン画分を用いる。重合足場ポリマーケラチンを、2 mM EDTAおよび0.05% Tween 20を含有する50 mMリン酸塩緩衝液pH 7中で0.33 mg/mL MAL-dPEG4-NHSエステルと反応させることによって、活性化する。未反応試薬をゲル濾過により除去した後に、それを、異なるMAP-22/ポリケラチン比(MAP-22：ケラチン；4：1；2：1；1：1；1：2；1：4)でMAP-22-SH (5mMイミノチオランで活性化)と反応させる。

【０１３８】

これらの条件下では、重合足場タンパク質ケラチンをコーティングするのに十分な材料が存在し、さらなる重合または凝集とその後の沈殿は生じない可能性がある。

【０１３９】

この場合では、カルミンが着色剤として用いられるが、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、またはマイカなどの類似のミネラルおよび色素を用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-22：ケラチン＋カルミンを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/カルミン比で含む3つの反応。

【０１４０】

この反応生成物を爪に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、爪試料を水ですすぎ、着色の有効性について分析する。

【０１４１】

実施例12－皮膚の着色で使用するためのミネラル/色素および足場タンパク質としてアルブミンを用いる着色化合物を調製する方法

分子のサイズを増大させるための足場ポリマーとして用いられるアルブミンを次のように調製して活性化する。足場ポリマーアルブミンを2つのバッチに分ける：一方のバッチはTrauts試薬(2-イミノチオランまたは2-IT)で活性化してチオール基を足場ポリマーに付加し、第2のバッチはMAL-dPEG4-NHSエステルで活性化してマレイミド基を足場ポリマーアルブミンに付加する。

【０１４２】

Trauts試薬による足場ポリマーアルブミンの活性化を、2 mM EDTAおよび0.05％Tween-20を含有する50 mMホウ酸塩緩衝液pH8.0中で行う。イミノチオランの最終濃度は45 mMとする。足場ポリマーアルブミンを1 mg/mLで維持する。この反応を室温で40分間インキュベートする。未反応のITを、50 mMリン酸塩緩衝液、2 mM EDTA、および0.05％Tween-20 pH7.0中でのゲル濾過により反応物から除去する。マレイミド反応では、足場ポリマーアルブミンは1 mg/mLの濃度とし、MAL-dPEG4-NHSエステルを、50 mMリン酸塩、2 mM EDTA、および0.05％Tween-20の緩衝液中で3 mg/mLの最終濃度となるように添加する。この反応を室温で40分間インキュベートする。結果として生じるコンジュゲートされた材料の反応物を精製するために、未反応のMAL-dPEG4-NHSエステルを、5 mM MES、2 mM EDTA、および0.05％Tween-20 pH6中のSephadex G25カラム(GE Healthcare社)でのゲル濾過クロマトグラフィーにより足場ポリマーアルブミンから分離する。

【０１４３】

次に、これら2つの活性化足場ポリマーアルブミン種を一緒に反応させて、ポリ足場ポリマーを形成させる。活性化足場ポリマーアルブミン種を、1：3比の足場ポリマーアルブミン-マレイミドと足場ポリマーアルブミン-SHで組み合わせて、50 mMリン酸塩緩衝液pH7

.0、2 mM EDTA、および0.05％Tween-20中で室温にて1時間インキュベートする。この反応はNMMで停止させる。この試料を濃縮し、サイズ排除カラム(Superdex 200, GE Healthcare社)にアプライして、異なるサイズのポリ足場ポリマーアルブミンを分離し、かつ未反応の足場ポリマーアルブミンを取り除く。

【０１４４】

ポリ足場ポリマーアルブミンをMAP-22-SHと反応させるために、220 kDaを上回る分子量を有するポリ足場ポリマーアルブミン画分を用いる。重合足場ポリマーアルブミンを、2 mM EDTAおよび0.05% Tween 20を含有する50 mMリン酸塩緩衝液pH 7中で0.33 mg/mL MAL-dPEG4-NHSエステルと反応させることによって、活性化する。未反応試薬をゲル濾過により除去した後に、それを、異なるMAP-22/ポリアルブミン比(MAP-22：アルブミン；4：1；2：1；1：1；1：2；1：4)でMAP-22-SH (5mMイミノチオランで活性化)と反応させる。

【０１４５】

これらの条件下では、重合足場タンパク質アルブミンをコーティングするのに十分な材料が存在し、さらなる重合または凝集とその後の沈殿は生じない可能性がある。

【０１４６】

この場合では、カルミンが着色剤として用いられるが、ヘンナ、グアニン、パイロフィライト、またはマイカなどの類似のミネラルおよび色素を用いることができる。以下を含む一連の小規模の組み合わせ反応を実施する：

MAP-22：アルブミン＋カルミンを3:1、1:1、および1:3のMAP-22/カルミン比で含む3つの反応。

【０１４７】

この反応生成物を皮膚に適用し、室温で20分間インキュベートさせる。インキュベーション後、皮膚試料を水ですすぎ、着色の有効性について分析する。

【０１４８】

実施例13－送達構造として使用するための薄膜ポリマー接着フィルムを調製する方法

ポリDOPAを、3種類の異なるポリマー：ポリメタクリル酸(PMA)、ポリ[エチレン-コ-(無水マレイン酸)](PEMA)、およびポリ[ブタジエン-コ-(無水マレイン酸)](PBMA) を用いて合成した。

【０１４９】

ポリL-DOPA-PMAポリマーを、異なる濃度のDOPAを用いて合成した。1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC；0.5g)およびN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS；0.5g)を、2.5gのPMA(MW 9.5 kDa、Sigma社)溶液を含有するPBS溶液中に溶解した。この溶液を室温で4時間混合した後、L-DOPA(PMA1では0g、PMA2では0.25g、およびPMA3では0.75g)を各ポリマー溶液に添加した(表3)。反応容量をPBSで10mLに調整し、これらの反応物を約2時間撹拌した。次に、沈殿した反応生成物をエタノールで十分に洗浄し、沈殿したポリ(L-DOPA)を乾燥させ、この生成物を減圧デシケーター内に保存した。

【０１５０】

ポリL-DOPA-PEMAポリマーおよびポリL-DOPA-PBMAポリマーを、次のように合成した。冷水コンデンサーを取り付けた丸底フラスコ内で、0.5 gの各ポリマー、ポリ[エチレン-コ-(無水マレイン酸)]1：1(PEMA, MW 400 kDa, Polysciences社)およびポリ[ブタジエン-コ-(無水マレイン酸)]1：1(PBMA, MW 10～15 kDa, Polysciences社)を、50 mLのエタノール中の0.65gのDOPAに添加した。この反応物を、絶えず撹拌しながら、水浴または油浴中のホットプレート上で70～90℃にて12時間還流した。12時間後、この反応物を室温まで冷却し、沈殿したポリマーを乾燥させて減圧デシケーター内に保存した(表3)。

【０１５１】

（表３）PMA、PEMA、およびPBMAを用いたポリL-DOPA合成

ポリマー	分子量 (平均) kDa	色	溶解性	収量 グラム	重量% DOPA
PMA1	9.5	白色	水	2.11	0
PMA2	11-12	白色	水	2.23	9.91%
PMA3	12-13	白色	水	2.56	22.24%
PBMA	20-25	オフホワイト色	アルカリ/0.5MHCl	0.767	33.4%
PEMA	600	白色	アルカリ/0.2MHCl	0.964	39.9%

【０１５２】

これらの結果は、所望の高L-DOPA含量を伴うポリマーを作製できることを実証した。

【０１５３】

薄膜フィルムを作製するために、ポリL-DOPA溶液を、ステンレス鋼トレイの上に積層し、溶液の結晶構造が薄いシート状になるように凍結させる。凍結した溶液は、乾燥され、昇華および解凍後に、薄膜フィルムがそのシート構造を保持することが予想される。フィルムの片側には、作用物質溶液が送達のために配置される。薄膜フィルムは、その高いL-DOPA含量のために、髪、爪、および/または皮膚に接着することができる。

【０１５４】

他の態様

本発明は、その詳細な説明に関連して説明してきたが、前述の説明は、例示するためのものであり、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲を限定するものではないことが理解されるべきである。他の局面、利点、および修飾は添付の特許請求の範囲内である。

【図１】

```
  1 agttctgaag aatacaaagg tggttattac ccaggcaata cttaccacta tcattcaggt
 61 ggtagttatc acggatccgg ctatcatgga ggatataagg gaaagtatta cggaaaggca
121 aagaaatact attataaata taaaaacagc ggaaaataca agtatccgaa gaaagctaga
181 aaataccata gaaagggtta caagaagtat tatggaggtg gtagcagtta g
```

【図２】

```
SSEEYKGGYYPGNTYHYHSGGSYHGSGYHGGYKGKYYGKAKKYYYKYKNSGKYKYLKKA
RKYERKGYKKYYGGGSS
```

【図３】

```
  1 mklscivlvlflvtlaaysdvgssssseeykggyypgnayhyhsggsyhgsgyhggykgky
 61 ygkakkyyyk yknsgkykyl kkarkyhrkg ykyyggss
```

【図４】

```
1  mklscvvlvlflvtlaacidvgsgydgysdgyypgsaynypsgshgyaghgykgkyygkg
61 kkyyykykrl gkyky kkar kyhrkgykky ygggss
```

【図５】

```
1  mnntsvsvlvalvligsfavqsdaadyygpnygpprrygggnynrynrygrryggykgwn
61 ngwnrgrrgk yw
```

【図６】

```
1  mnkfsvtvllalvliqffavqsdaqyqydlqydyykqynnpwpyqgkynqykqyprqyqw
61 nkgwnkgwnk grwgrkyy
```

【図７】

```
1  mnnisvavlvalvligsfavqsdaadyygpkygpprrygggnynrygrryggykgwnngw
61 krgrwgrkyy
```

【図８】

```
1   megiklnlcllciftfdvlgfsngniynahvssyagasagaykklpnaypygtkpepvyk
61  pvktsysapykpptyqglkkkvdyrptksypptygskstnylplakklssykpikttynak
121 tnyppvykpkmtypptykpkpsypptykskptykpkitcpptykakpsypptykpkktyp
181 ptykpkvtypptykpkpsypptykskptykpkttypptykakpsypptykakpsypptyk
241 akptykakptypstykakptypptykakpsypptykakpsypptykakptyiakpsyppt
301 ykakpsypptykakpsypptykakssypptykakptykakptypstykakpsypptykak
361 ptykakptypstykakptypstykakpsypptykpkisypptykakpsypstykakssyp
421 ptykakpsypptykakptykakptypstykakptykakptypptykakpsypptykpkps
481 ypptyksksspssykpkstypptykpkltypptykpkpsyppsykpkitypstykkkps
541 ypptyksktspptynkkisypsqy
```

【図９】

```
1 megiklnlcl lcifscdvfa lsngfihnay gsayagasag aykplpgsyg skhvpvykpm
61 nkiptsyisk ksypapykpk gyhptnsyqp tygsktnypp iykpvakkls sykaikttyl
121 vykaktsypp vykkkitnpp tykpkitypp tykpkpsypp tykpkpsypp tykakktyps
181 tykpkpsypp tykpkitypp tykpkpsypp sykakksyps tykpkpsypp tykakktyps
241 tykpkpsypp tykpkitypp tykpkpsypp sykakksyps tykpkpsypp tykpkitypp
301 tykpkpsypp tykakktypp tykpkitypp tykpkpsypt sykskktypp tykpkitypp
361 tykpkpsypp sykpkitypp tykpkksypp aykskasypp syqpkktylp sykpkktypp
421 tykrkisypp tyklkpsyps sykrkisyps tykrkisyps tykpkisyps tyklkpsypp
481 tykakktypp tykpkitypp tykpkpsypt sykskktypp tykpkitypp tykpkpsypp
541 sykpkitypp tykpkksypp aykskasypp sycpkktylp sykpkktypp tykrkisypp
601 tyktkpsypa sykrktsyps tykrktsypp tykpkisyps tyktkpsypp tykpkpsyas
661 sykpkirypp tykpkpsyas sykpkitypp tykpkisypp tykpkitypp sykpkisylp
721 aykpkisyps qy
```

【図１０】

```
ggatccaagg agatataaca atgagtaaag gagaagaact tttcactgga gttgtcccaa
ttcttgttga attagatggt gatgttaatg ggcacaaatt ttctgtcagt ggagagggtg
aaggtgatgc aacatacgga aaacttaccc ttaaatttat ttgcactact ggaaaactac
ctgttccatg gccaacactt gtcactactt tctctcatgg tgttcaatgc ttttcaagat
acccagatca tatgaagcgg cacgactttct tcaagagcgc catgcctgag ggatacgtgc
aggagaggac catctctttc aaggacgacg ggaactacaa gacacgtgct gaagtcaagt
ttgagggaga caccctcgtc aacaggatcg agcttaaggg aatcgatttc aaggaggacg
gaaacatcct cggccacaag ttggaatata actacaactc ccacaacgta tacatcacgg
cagacaaaca aaagaatgga atcaaagcta acttcaaaat tagacacaac attgaagatg
gaagcgttca actagcagac cattatcaac aaaatactcc aattggcgat ggccctgtcc
ttttaccaga caaccattac ctgtccacac aatctgccct ttcgaaagat cccaacgaaa
agagagacca catggtcctt cttgagtttg taacagctgc tgggattaca catggcatgg
atgaactata caaataagag ctc
```

【図１１】

```
MSKGEELFTG VVPILVELDG DVNGHKFSVS GEGEGDATYG KLTLKFICTT GKLPVPWPTL
VTTFSHGVQC FSRYPDHMKR HDFFKSAMPE GYVQERTISF KDDGNYKTRA EVKFEGDTLV
NRIELKGIDF KEDGNILGHK LEYNYNSHNV YITADKQKNG IKANFKIRHN IEDGSVQLAD
HYQQNTPIGD GPVLLPDNHY LSTQSALSKD PNEKRDHMVL LEFVTAAGIT HGMDELYK
```

【図１２】

```
MSEELIKENMHMKLYMEGTVDNHFFKCTSEGEGKPYEGTQTMRIKVVEGGPLPFAFDILATSFLY
GSKTFINHTQGIPDFFKQSFPEGFTWERVTTYEDGGVLTATQDTSLQDGCLIYNVKIRGVNFTSN
GPVMQKKTLGWEAFTETLYPADGGLEGRNDMALKLVGGSHLIANIKTTYRSKKPAKNLKMPGVYY
VDYRLERIKEANNETYVEQHEVAVARYCDLPSKLGHKLN
```

【配列表】
2017529352000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCII REPORT

International application No.
PCT/US 15/50668

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 8/00 (2016.01)
CPC - A61Q 5/065; A61Q 5/10; A61K 8/64
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)
IPC(8) - A61K 8/00 (2016.01)
CPC - A61Q 5/065; A61Q 5/10; A61K 8/64

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
UC - 424/70.6

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
Minesoft Patbase, Google Scholar, keywords: DELIVERING AGENTS HAIR SKIN NAIL
3 ,4-dihydroxyphenyl-L-alanine metal ion film hair dye

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2009/0036611 A1 (Wilker et al.) 05 February 2009 (05.02.2009) para [0009], [0013], [0165]	1-3
Y	US 4,806,360 A (Leong et al.) 21 February 1989 (21.02.1989) col 1, lines 14-15, col 2, lines 10-15; lines 50-68; col 6, lines 55-60; col 8, lines 10-15	14-21
Y	WO 2013/123946 A1 (AARHUS UNIVERSITET) 29 August 2013 (29.08.2013) page 2, lines 1-5, 6-15, page 4, lines 1-14, page 42, lines 7-8; page 109, lines 21-28	14-21
Y	US 2007/0208141 A1 (Shull et al.) 06 September 2007 (06.09.2007) para [004], [0006]	21

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"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	Date of mailing of the international search report
12 January 2016	02 FEB 2016
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 15/50668

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.: 4-13, 22-32 and 39
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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:
—please see continuation in supplemental box —

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.:
1-3, 14-21

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 15/50668

Box III: lack of unity

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 must be paid.

Group I: Claims 1-3 and 14-21 are directed to a composition and method for altering the appearance of hair, skin, or nails.

Group II: claims 33-38 directed to a delivery film comprising a lyophilized mixture of 3,4-dihydroxyphenyl-L- alanine (DOPA) and a polymer

The inventions listed as Groups I-II 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:

Special Technical Features

Group II does not require a composition and method for altering the appearance of hair, skin, or nails, as required by Group I.

Group I does not require a delivery film comprising a lyophilized mixture of 3,4-dihydroxyphenyl-L- alanine (DOPA) and a polymer , as required by Group II.

Common Technical Features

Groups I-II share the common feature of 3,4-dihydroxyphenyl-L-alanine (DOPA) and a polymer.

However, this shared technical feature, does not represent a contribution over prior art, as being anticipated by WO 2014/118266 A1 to Wang et al. (hereinafter 'Wang'). Wang discloses a composition comprising: an adhesive molecule (para [0009]: a bio-compatible topical skin adhesive) comprising a plurality of 3 ,4-dihydroxyphenyl-L-alanine (DOPA) residues (para [0014]: in the dendritic or hyperbranched polymer of the invention the catechol moiety is derived from a DOPA moiety or dopamine moiety or substituted phenethylamine. It will be understood that a DOPA moiety is one based on dihydroxyphenylalanine (DOPA), which can be unsubstituted or substituted with at least one other functional group);

Therefore, Groups I-II lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Note: claims 4-13, 22-32 and 39 determined unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｑ	*3/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｑ	3/00		
Ａ６１Ｋ	*8/81*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	8/81		
Ａ６１Ｋ	*8/98*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	8/98		
Ａ６１Ｋ	*8/9789*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	8/9789		
Ｃ０７Ｋ	*14/435*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/435	ＺＮＡ	
Ｃ１２Ｎ	*15/09*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/00	Ａ	

(81)指定国 AP(BW,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,MC,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,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
(74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
(72)発明者 ブロディ リチャード サイモン
アメリカ合衆国 ４３２１４ オハイオ州 コロンブス オレンタンジー ブールバード ３５３９
(72)発明者 ブリッジマン スコット ジョセフ
アメリカ合衆国 ４３０１５ オハイオ州 デラウェア ディクソン ストリート ２２１９
(72)発明者 サンドボー ウダイ ビー.
アメリカ合衆国 ４３０２６ オハイオ州 ヒリアード ベニンガン ドライブ １８５２
(72)発明者 ホーファー ニコル
アメリカ合衆国 ４３２０９ オハイオ州 ベクスレー リビングストン アベニュー ２４６６

Ｆターム(参考) 4C083 AA071 AA072 AA111 AA112 AB191 AB192 AB212 AB222 AB232 AB431
AB432 AB441 AB442 AC851 AC852 AD091 AD092 AD411 AD412 BB21
CC11 CC28 CC31 CC33 CC38 DD22 DD23 DD27 DD41 EE11
EE21 FF01
4H045 AA10 AA30 BA61 BA62 BA63 BA70 CA50 EA15