

【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 5 年 10 月 5 日(2023.10.5)

【公開番号】特開 2023-71853(P2023-71853A)

【公開日】令和 5 年 5 月 23 日(2023.5.23)

【年通号数】公開公報(特許)2023-094

【出願番号】特願 2023-31534(P2023-31534)

【国際特許分類】

A 6 1 K 9/51(2006.01)

10

A 6 1 K 9/14(2006.01)

A 6 1 K 47/02(2006.01)

A 6 1 K 47/04(2006.01)

A 6 1 K 47/34(2017.01)

A 6 1 K 47/64(2017.01)

A 6 1 K 38/16(2006.01)

A 6 1 K 38/18(2006.01)

A 6 1 K 45/00(2006.01)

A 6 1 K 31/7088(2006.01)

A 6 1 P 3/10(2006.01)

20

A 6 1 P 7/04(2006.01)

A 6 1 P 25/02(2006.01)

A 6 1 P 25/14(2006.01)

A 6 1 P 25/16(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

【F I】

A 6 1 K 9/51

A 6 1 K 9/14

30

A 6 1 K 47/02

A 6 1 K 47/04

A 6 1 K 47/34

A 6 1 K 47/64

A 6 1 K 38/16

A 6 1 K 38/18

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 P 3/10

A 6 1 P 7/04

40

A 6 1 P 25/02

A 6 1 P 25/14

A 6 1 P 25/16

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 43/00 1 2 1

A 6 1 K 48/00

【手続補正書】

【提出日】令和 5 年 9 月 27 日(2023.9.27)

50

## 【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 )

( i ) 1つ以上のアニオン性アミノ酸の D - 異性体のポリマーおよび / または 1つ以上のアニオン性アミノ酸の L - 異性体のポリマーを含む、アニオン性ポリマー組成物、

10

( i i ) 1つ以上のカチオン性アミノ酸の D - 異性体のポリマーおよび / または 1つ以上のカチオン性アミノ酸の L - 異性体のポリマーを含む、カチオン性ポリマー組成物、

( i i i ) カチオン性ポリペプチド組成物、および

( i v ) 核酸および / またはタンパク質ペイロード

を含むコア、

( b ) 該コアを封入している脱落可能層、ならびに

( c ) S E Q I D N O : 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、62、88、137、181、182、183、184、185、186、187、188、271、272、273、274、275、276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、および 301 からなる群より選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも 85 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、標的指向リガンド

20

を含む、ナノ粒子。

【請求項 2】

前記標的指向リガンドが前記脱落可能層内に含まれる、請求項 1 に記載のナノ粒子。

【請求項 3】

前記脱落可能層を囲む表面コートを含み、請求項 1 または 2 に記載のナノ粒子。

【請求項 4】

第 2 の標的指向リガンドをさらに含む、請求項 3 に記載のナノ粒子。

30

【請求項 5】

前記第 2 の標的指向リガンドが、R V G 9 R、幹細胞因子 ( S C F ) またはその標的指向フラグメント、C D 7 0 またはその標的指向フラグメント、および S H 2 ドメイン含有タンパク質 1 A ( S H 2 D 1 A ) またはその標的指向フラグメントからなる群より選択される、請求項 4 に記載のナノ粒子。

【請求項 6】

前記表面コートが細胞透過性ペプチドを含む、請求項 3 に記載のナノ粒子。

【請求項 7】

前記細胞透過性ペプチドが、T A T、V P 2 2 ドメイン、D r o s o p h i l a A n t e n n a p e d i a タンパク質導入ドメイン、欠損ヒトカルシトニンペプチド、S E Q I D N O : 1 6 0、S E Q I D N O : 1 6 1、S E Q I D N O : 1 6 2、S E Q I D N O : 1 6 3、S E Q I D N O : 1 6 4、S E Q I D N O : 1 6 5、S E Q I D N O : 1 6 8、および S E Q I D N O : 1 6 9 からなる群より選択される、請求項 6 に記載のナノ粒子。

40

【請求項 8】

前記カチオン性ポリマー組成物が、任意でヒストンテールペプチド ( H T P ) または核局在シグナル ( N L S ) を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のナノ粒子。

【請求項 9】

前記 N L S が、S E Q I D N O : 1 5 1 ~ 1 5 7 および 2 0 1 ~ 2 6 4 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む、請求項 8 に記載のナノ粒子。

50

## 【請求項 10】

少なくとも1つの標的指向リガンドが、前記脱落可能層と相互作用するアンカードメインにコンジュゲートしている、請求項1～9のいずれか一項に記載のナノ粒子。

## 【請求項 11】

アンカードメインがSEQ ID NO: 15およびSEQ ID NO: 16から選択される、請求項10に記載のナノ粒子。

## 【請求項 12】

(a)

(i) 1つ以上のアニオン性アミノ酸のD-異性体のポリマーおよび/または1つ以上のアニオン性アミノ酸のL-異性体のポリマーを含む、アニオン性ポリマー組成物、

10

(ii) 1つ以上のカチオン性アミノ酸のD-異性体のポリマーおよび/または1つ以上のカチオン性アミノ酸のL-異性体のポリマーを含む、カチオン性ポリマー組成物、

(iii) カチオン性ポリペプチド組成物、および

(iv) 核酸および/またはタンパク質ペイロード

を含むコア、

(b) 該コアを封入している脱落可能層、ならびに

(c) c-Kit、CD27、およびCD150からなる群より選択される細胞表面タンパク質への標的指向された結合を提供するアミノ酸配列を含む、標的指向リガンドを含む、ナノ粒子。

## 【請求項 13】

20

前記標的指向リガンドが、SEQ ID NO: 184、185、186、189、190、191、192、および193からなる群より選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項12に記載のナノ粒子。

## 【請求項 14】

前記標的指向リガンドが前記脱落可能層内に含まれる、請求項12または13に記載のナノ粒子。

## 【請求項 15】

前記脱落可能層を囲む表面コートを含み、請求項12～14のいずれか一項に記載のナノ粒子。

## 【請求項 16】

30

前記表面コートが細胞透過性ペプチドを含む、請求項15に記載のナノ粒子。

## 【請求項 17】

前記細胞透過性ペプチドが、TAT、VP22ドメイン、Drosophila Antennapediaタンパク質導入ドメイン、欠損ヒトカルシトニンペプチド、SEQ ID NO: 160、SEQ ID NO: 161、SEQ ID NO: 162、SEQ ID NO: 163、SEQ ID NO: 164、SEQ ID NO: 165、SEQ ID NO: 168、およびSEQ ID NO: 169からなる群より選択される、請求項16に記載のナノ粒子。

## 【請求項 18】

前記カチオン性ポリマー組成物が、任意でHTPまたはNLSを含む、請求項12～17のいずれか一項に記載のナノ粒子。

40

## 【請求項 19】

前記NLSが、SEQ ID NO: 151～157および201～264のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、請求項18に記載のナノ粒子。

## 【請求項 20】

少なくとも1つの標的指向リガンドが、前記脱落可能層と相互作用するアンカードメインにコンジュゲートしている、請求項12～19のいずれか一項に記載のナノ粒子。

## 【請求項 21】

前記アンカードメインがSEQ ID NO: 15およびSEQ ID NO: 16から選択される、請求項20に記載のナノ粒子。

50

## 【請求項 22】

(a) DNAドナーテンプレートを含むペイロードを含む内部コアと、  
 (b) 該内部コアを囲む第1の脱落可能層と、  
 (c) 該第1の脱落可能層を囲む中間コアであって、(i) CRISPR/CasガイドRNA、(ii) CRISPR/CasガイドRNAをコードするDNA分子、(iii) CRISPR/Cas RNA誘導ポリペプチドをコードする核酸分子、(iv) CRISPR/Cas RNA誘導ポリペプチド、(v) CRISPR/Cas RNA誘導ポリペプチドと複合したCRISPR/CasガイドRNA、(vi) ジンクフィンガータンパク質(ZFP)、(vii) ZFPをコードするDNA分子、(viii) 転写活性化因子様エフェクター(TALE)タンパク質、および(ix) TALEタンパク質をコードするDNA分子、のうちの1つ以上を含む、中間コアと、  
 (d) 該中間コアを囲む第2の脱落可能層とを含む、多層ナノ粒子。

10

## 【請求項 23】

前記第1および/または第2の脱落可能層が、シリカ、ペプトイド、ポリシステイン、カルシウム、リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、マンガン、リン酸マンガン、硫酸マンガン、マグネシウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、鉄、リン酸鉄、硫酸鉄、リチウム、リン酸リチウム、および硫酸リチウムのうちの1つ以上を含む、請求項22に記載の多層ナノ粒子。

20

## 【請求項 24】

前記第2の脱落可能層を囲む表面コートを含む、請求項22または23に記載の多層ナノ粒子。

## 【請求項 25】

前記表面コートが、前記第2の脱落可能層と静電的に相互作用するカチオン性成分を含む、請求項24に記載の多層ナノ粒子。

## 【請求項 26】

前記表面コートが、カチオン性アミノ酸のポリマー、ポリ(アルギニン)、細胞透過性ペプチド、ウイルス性糖タンパク質、ヘパリン硫酸プロテオグリカン、および標的指向リガンドのうちの1つ以上を含む、請求項24または請求項25に記載の多層ナノ粒子。

30

## 【請求項 27】

前記表面コートが双性イオン性および多価である、請求項22～26のいずれか一項に記載の多層ナノ粒子。

## 【請求項 28】

前記表面コートが、1つ以上の標的指向リガンドを含む、請求項22～27のいずれか一項に記載の多層ナノ粒子。

## 【請求項 29】

(a) 請求項1～21のいずれか一項に記載の第1のナノ粒子であって、前記ペイロードが、(i) CRISPR/CasガイドRNA、(ii) CRISPR/CasガイドRNAをコードするDNA分子、(iii) CRISPR/Cas RNA誘導ポリペプチドをコードする核酸分子、(iv) CRISPR/Cas RNA誘導ポリペプチド、(v) CRISPR/Cas RNA誘導ポリペプチドと複合したCRISPR/CasガイドRNA、(vi) ジンクフィンガータンパク質(ZFP)をコードする核酸分子、(vii) ZFP、(viii) 転写活性化因子様エフェクター(TALE)タンパク質をコードする核酸分子、および(ix) TALEタンパク質、のうちの1つ以上を含む、第1のナノ粒子と、  
 (b) DNAドナーテンプレートを含む核酸ペイロードを含む第2のナノ粒子とを含む、ナノ粒子製剤。

40

## 【請求項 30】

核酸および/またはタンパク質ペイロードを標的細胞に送達する方法における使用のための医薬であって、

50

該医薬が、請求項 1 ~ 21 のいずれか一項に記載のナノ粒子、請求項 29 に記載のナノ粒子製剤、および / または請求項 22 ~ 28 のいずれか一項に記載の多層ナノ粒子を含み、該方法が、真核生物の標的細胞と、請求項 1 ~ 21 のいずれか一項に記載のナノ粒子、請求項 29 に記載のナノ粒子製剤、および / または請求項 22 ~ 28 のいずれか一項に記載の多層ナノ粒子とを接触させる工程を含む、

医薬。

【請求項 31】

前記ペイロードが、遺伝子編集ツールを含む、請求項 30 に記載の医薬。

【請求項 32】

前記ペイロードが、CRISPR/Cas ガイド RNA、CRISPR/Cas ガイド RNA をコードする DNA 分子、CRISPR/Cas RNA 誘導ポリペプチド、CRISPR/Cas RNA 誘導ポリペプチドをコードする核酸分子、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼをコードする核酸分子、TALE または TALEN、TALE または TALEN をコードする核酸分子、および DNA ドナーテンプレートのうちの 1 つ以上を含む、請求項 30 または 31 に記載の医薬。

10

【請求項 33】

前記標的細胞が哺乳動物細胞である、請求項 30 ~ 32 のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項 34】

前記哺乳動物細胞がヒト細胞である、請求項 33 に記載の医薬。

【請求項 35】

前記標的細胞がインビトロで培養下にある、請求項 30 ~ 34 のいずれか一項に記載の医薬。

20

【請求項 36】

前記標的細胞がインビボである、請求項 30 ~ 34 のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項 37】

前記接触させる工程が、前記ナノ粒子を個体に投与することを含む、請求項 30 ~ 36 のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項 38】

前記個体が、ハンチントン病、ALS、パーキンソン病、膵臓癌、糖尿病、またはフォンヴィレブランド病を有する、請求項 37 に記載の医薬。

30

【請求項 39】

前記ナノ粒子が、標的指向リガンドを含む表面コートを含む、請求項 30 ~ 38 のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項 40】

前記標的指向リガンドが、骨髄細胞、造血幹細胞 (HSC)、造血幹細胞および前駆細胞 (HSPC)、末梢血単核細胞 (PBMC)、骨髄前駆細胞、リンパ球前駆細胞、T 細胞、B 細胞、NK T 細胞、NK 細胞、樹状細胞、単球、顆粒球、赤血球、巨核球、肥満細胞、好塩基球、好酸球、好中球、マクロファージ、赤血球前駆細胞、巨核球 - 赤血球前駆細胞 (MEP)、骨髄共通前駆細胞 (CMP)、多能性前駆細胞 (MPP)、造血幹細胞 (HSC)、短期 HSC (ST-HSC)、IT-HSC、長期 HSC (LT-HSC)、内皮細胞、ニューロン、アストロサイト、膵臓細胞、膵臓島細胞、肝臓細胞、筋肉細胞、骨格筋細胞、心筋細胞、肝細胞、脂肪細胞、腸細胞、結腸の細胞、ならびに胃の細胞からなる群より選択される細胞への標的指向された結合を提供する、請求項 39 に記載の医薬。

40

【請求項 41】

前記標的細胞が、骨髄細胞、造血幹細胞 (HSC)、造血幹細胞および前駆細胞 (HSPC)、末梢血単核細胞 (PBMC)、骨髄前駆細胞、リンパ球前駆細胞、T 細胞、B 細胞、NK T 細胞、NK 細胞、樹状細胞、単球、顆粒球、赤血球、巨核球、肥満細胞、好塩基球、好酸球、好中球、マクロファージ、赤血球前駆細胞、巨核球 - 赤血球前駆細胞 (MEP)、骨髄共通前駆細胞 (CMP)、多能性前駆細胞 (MPP)、造血幹細胞 (HSC)

50

、短期HSC(ST-HSC)、IT-HSC、長期HSC(LT-HSC)、内皮細胞、ニューロン、アストロサイト、膵臓細胞、膵臓島細胞、肝臓細胞、筋肉細胞、骨格筋細胞、心筋細胞、肝細胞、脂肪細胞、腸細胞、結腸の細胞、ならびに胃の細胞からなる群より選択される、請求項30～40のいずれか一項に記載の医薬。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

10

2023071853000001.xml

20

30

40

50