

【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 6 部門第 1 区分

【発行日】平成29年2月2日 (2017.2.2)

【公表番号】特表2016-505826(P2016-505826A)

【公表日】平成28年2月25日 (2016.2.25)

【年通号数】公開・登録公報2016-012

【出願番号】特願2015-545941(P2015-545941)

【国際特許分類】

G 0 1 N	33/68	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
C 0 7 K	14/00	(2006.01)
C 0 7 K	1/13	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/00	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/02	(2006.01)
A 6 1 P	25/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 P	3/00	(2006.01)
G 0 1 N	33/15	(2006.01)
C 4 0 B	30/04	(2006.01)
G 0 1 N	33/50	(2006.01)
G 0 1 N	33/58	(2006.01)
G 0 1 N	27/62	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【 F I 】

G 0 1 N	33/68	Z N A
C 0 7 K	19/00	
C 0 7 K	14/00	
C 0 7 K	1/13	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	43/00	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	3/00	
G 0 1 N	33/15	Z
C 4 0 B	30/04	
G 0 1 N	33/50	Z
G 0 1 N	33/58	Z
G 0 1 N	27/62	V
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成28年12月12日(2016.12.12)

【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】

質量で定義された(mass-defined)薬物候補ライブラリーを作製する方法であって、  
複数の薬物候補を生成し、前記薬物候補の少なくとも幾つかがそれぞれ特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを有すること、

質量分析を利用して前記複数の薬物候補を分析して、前記薬物候補の少なくとも幾つかに関して前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを測定すること、及び

薬理学的性質に基づいて作製された、前記複数の薬物候補の少なくとも幾つかを含む質量で定義された薬物候補ライブラリーを作製すること、

を含み、前記質量で定義された薬物候補ライブラリー内の前記薬物候補の同一性が、前記薬物候補それぞれの前記特有の質量シグネチャを又は消化フラグメント質量シグネチャにより決定され得る、方法。

【請求項2】

前記薬理学的性質が、経口生物学的利用度、血液脳関門を通過する能力、血液脳関門による排除、血清中半減期、細胞を透過する能力、細胞内オルガネラ若しくは他の細胞内ドメインに侵入する能力、臓器若しくは組織をターゲットとする能力、癌組織をターゲットとする能力、ターゲットに結合する能力、又はそれらの組み合わせを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記複数の薬物候補が、100を超える薬物候補、1000を超える薬物候補、又は10000を超える薬物候補を含む、請求項1および2のいずれか1項に記載の方法。

【請求項4】

前記複数の薬物候補が、ノットのあるペプチド(knotted-peptides)を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記複数の薬物候補の少なくとも1つが、前記少なくとも1つの薬物候補の前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを修飾するための重同位体原子を所定の数含む、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記複数の結び目のあるペプチドの少なくとも1つの前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャが、前記少なくとも1つの結び目のあるペプチドにコンジュゲートされた部分により定義される、請求項4に記載の方法。

【請求項7】

前記部分が、前記少なくとも1つの結び目のあるペプチドのN末端にコンジュゲートされている、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記部分が、前記少なくとも1つの結び目のあるペプチドの前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを修飾するために重同位体原子を所定の数含む、請求項6又は7に記載の方法。

【請求項9】

異なる投与経路により対象に投与される結び目のあるペプチドの分布プロファイルを決定する方法であって、

軽い結び目のあるペプチドを前記対象に投与し、前記軽い結び目のあるペプチドが、第

一の送達経路により投与され、前記軽い結び目のあるペプチドと同じ配列を有する重い結び目のあるペプチドよりも低い分子量を有すること；

前記重い結び目のあるペプチドを前記対象に投与し、前記重い結び目のあるペプチドが、前記第一の送達経路とは異なる第二の送達経路により投与されること；並びに

前記対象の組織又は体液試料から得られた前記軽い結び目のあるペプチドの量を前記重い結び目のあるペプチドの量と比較し、それによりそれぞれ前記第一の送達経路及び前記第二の送達経路に基づき、前記対象における前記軽い結び目のあるペプチド及び前記重い結び目のあるペプチドの前記分布プロファイルを決定すること、を含む、方法。

【請求項 10】

前記軽い結び目のあるペプチドが、前記重い結び目のあるペプチドよりも少なくかつ重い同位体を含む、請求項9に記載の方法。

【請求項 11】

前記重い結び目のあるペプチドが、前記軽い結び目のあるペプチドよりも少なくとも1つ多い<sup>13</sup>C原子又はジウテリウム原子を含む、請求項9および10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 12】

前記軽い結び目のあるペプチドが、第一の部分にコンジュゲートされていて、前記重い結び目のあるペプチドが、第二の部分にコンジュゲートされている、請求項9～11のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 13】

前記第一の部分、前記第二の部分又はそれらの両方が、それぞれ前記軽い結び目のあるペプチド及び前記重い結び目のあるペプチドのN末端にコンジュゲートされている、請求項12に記載の方法。

【請求項 14】

前記第一及び第二の送達経路が、独立して、経口経路、局所経路、経粘膜経路、静脈内経路、筋肉内経路、又は吸入経路から選択される、請求項9～13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 15】

少なくとも1つの<sup>13</sup>C原子が、前記第一の部分、前記第二の部分又はそれらの両方の中に存在する、請求項12に記載の方法。

【請求項 16】

前記軽い結び目のあるペプチド、前記重い結び目のあるペプチド、及びそれらの両方が、質量分析により分析されると、特有の質量シグネチャ又は消化質量シグネチャを有する、請求項9～15のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 17】

前記複数の薬物候補が、ペプチド、タンパク質又はそれらの組み合わせを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 18】

前記複数の薬物候補が、リジン残基を欠くペプチドを含む、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

前記複数の薬物候補が、チップによるオリゴヌクレオチド合成を利用して生成される、請求項1～8および17～18のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 20】

前記複数の薬物候補のうちの少なくとも1つの薬物候補が、前記少なくとも1つの薬物候補を対象において追跡するための検出可能な標識を含む、請求項1～8および17～19のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 21】

薬理的性質を有するペプチドを同定する方法であって、  
複数のペプチドを含む組成物を対象に投与すること；

前記複数における前記ペプチドのうちの少なくとも幾つかを含む試料を前記対象から得ること；

前記試料を分析して、前記薬理的性質を有する前記ペプチドのうちの前記少なくとも幾つかの同一性を決定すること；及び

前記ペプチドのうちの前記少なくともいくつかをスクリーニングして、どのペプチドが、タンパク質：タンパク質相互作用を阻害する活性、リセプターの拮抗を阻害する活性、リセプターへのアゴニスト結合を阻害する活性、イオンチャネルを調節する活性、シグナル伝達経路を阻害する活性、シグナル伝達経路を活性化する活性、又はタンパク質：低分子相互作用を阻害する活性のうちの1つまたは複数の活性を示すかを同定することを含む、方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0013】

本開示の幾つかの態様において、クロロトキシントargetを発現する細胞に関連する疾患を処置する方法であって、本開示によるペプチドを含む医薬組成物、又は本開示のペプチドを含む組成物の治療有効量を、それを必要とする対象に投与し、それにより該疾患を処置することを含む、方法が提供される。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目1)

薬理的性質を有する薬物候補を同定する方法であって、

複数の薬物候補を対象に投与した後、前記対象から単離された試料を分析すること；及び

前記単離された試料中で、前記薬理的性質を有する少なくとも1つの薬物候補を同定すること、

を含む、方法。

(項目2)

薬理的性質を有する薬物候補を同定する方法であって、

複数の薬物候補を含む組成物を対象に投与すること；

前記複数の薬物候補のうちの少なくとも幾つかを含む試料を前記対象から得ること；及び

前記試料を分析して、前記薬理的性質を有する前記薬物候補の少なくとも幾つかの同一性を決定すること、

を含む、方法。

(項目3)

前記薬物候補が、低分子化学分子、生物製剤、及びペプチドからなる群から選択される、項目1又は2に記載の方法。

(項目4)

前記複数の薬物候補が、複数のペプチドを含む、項目1又は2に記載の方法。

(項目5)

前記複数の薬物候補が、複数の低分子化学分子を含む、項目1又は2に記載の方法。

(項目6)

前記複数の薬物候補が、複数の生物製剤を含む、項目1又は2に記載の方法。

(項目7)

前記薬理的性質が、経口生物学的利用度、血液脳関門を通過する能力、血液脳関門による排除、血清中半減期、細胞を透過する能力、細胞内オルガネラ若しくは他の細胞内ドメインに侵入する能力、臓器若しくは組織をターゲットとする能力、癌組織をターゲットとする能力、又はそれらの組み合わせを含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

( 項目 8 )

前記薬理学的性質を有する前記ペプチドの少なくとも幾つかを含むペプチドライブラリーを作製することをさらに含む、項目 6 に記載の方法。

( 項目 9 )

前記ペプチドの少なくとも幾つかをスクリーニングして、どのペプチドが、タンパク質：タンパク質相互作用を阻害する活性、リセプターの拮抗を阻害する活性、リセプターへのアゴニスト結合を阻害する活性、イオンチャネルを調節する活性、シグナル伝達経路を阻害する活性、シグナル伝達経路を活性化する活性、及び / 又はタンパク質：低分子相互作用を阻害する活性を示すか、を同定することをさらに含む、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 10 )

前記タンパク質：タンパク質相互作用が、癌、感染性疾患、炎症性疾患、免疫疾患、代謝疾患、心臓疾患、加齢に関連する疾患、及び神経疾患からなる群から選択される疾患又は障害に関連づけられる、項目 9 に記載の方法。

( 項目 11 )

前記タンパク質：タンパク質相互作用が、癌に関連づけられる、項目 9 又は 10 に記載の方法。

( 項目 12 )

前記対象から複数の試料を得ることをさらに含み、各試料が前記複数のペプチドを投与した後の異なる時点で得られる、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 13 )

前記複数の試料のうちの少なくとも幾つかの試料を分析して、前記複数のうちの各試料において、前記薬理学的性質を有する前記ペプチドの少なくとも幾つかの同一性を決定することをさらに含む、項目 12 に記載の方法。

( 項目 14 )

前記ペプチドの少なくとも幾つかの同一性が、質量分析を利用して決定され、そこで前記ペプチドのそれぞれが、質量分析計により検出される特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを含む、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 15 )

前記複数の薬物候補が、5 を超える薬物候補、10 を超える薬物候補、100 を超える薬物候補、1000 を超える薬物候補、又は 10000 を超える薬物候補を含む、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 16 )

前記複数のペプチドのうちの少なくとも 1 つのペプチドが、前記対象において前記少なくとも 1 つのペプチドを追跡するために検出可能な標識を含む、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 17 )

前記検出可能な標識が、近赤外色素を含む、項目 16 に記載の方法。

( 項目 18 )

前記複数のペプチドのうちの少なくとも 1 つのペプチドが、前記少なくとも 1 つのペプチドの N 末端にコンジュゲートされた疎水性部分を含み、前記少なくとも 1 つのペプチドが、前記疎水性部分を欠く前記少なくとも 1 つのペプチドと比較して、半減期の増加を示す、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 19 )

前記疎水性部分が、疎水性蛍光色素、又は飽和若しくは不飽和アルキル基を含む、項目 18 に記載の方法。

( 項目 20 )

前記試料が、組織試料又は体液試料を含む、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 21 )

前記体液試料が、血液、尿、粘液、又は脳脊髄液を含む、項目 20 に記載の方法。

( 項目 2 2 )

前記試料が、血液を含む、項目 2 1 に記載の方法。

( 項目 2 3 )

前記組織試料が、生検又は剖検組織を含む、項目 2 0 に記載の方法。

( 項目 2 4 )

前記組織が、脳、肺、腎臓、筋肉、肝臓、心臓、胃、脾臓、又は臓器からの組織を含む、項目 2 0 又は 2 3 に記載の方法。

( 項目 2 5 )

前記薬物候補に共通する前記薬理学的性質を利用して、前記薬理学的性質を有する更なる薬物候補を生成することをさらに含む、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 2 6 )

前記対象が、動物である、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 2 7 )

前記対象が、ヒトである、項目 2 6 に記載の方法。

( 項目 2 8 )

前記薬物候補の構造と薬理学的性質との関連性を確立することをさらに含む、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 2 9 )

前記関連性に基づく薬物候補のサブセットを選択することをさらに含む、項目 2 8 に記載の方法。

( 項目 3 0 )

投与後の選択された期間に選択された時間間隔で、複数の試料を得ることをさらに含む、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 3 1 )

選択された時間間隔が、5 分、10 分、20 分、30 分、40 分、50 分、又は 60 分である、項目 3 0 に記載の方法。

( 項目 3 2 )

選択された期間が、1 時間、2 時間、3 時間、4 時間、5 時間、6 時間、7 時間、8 時間、9 時間、10 時間、11 時間、12 時間、15 時間、30 時間、45 時間、60 時間、75 時間、90 時間、105 時間、又は 120 時間である、項目 3 0 に記載の方法。

( 項目 3 3 )

質量で定義された (mass-defined) 薬物候補ライブラリーを作製する方法であって、複数の薬物候補を生成し、前記薬物候補の少なくとも幾つかがそれぞれ特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを有すること、

質量分析を利用して前記複数の薬物候補を分析して、前記薬物候補の少なくとも幾つかに関して前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを測定すること、及び

薬理学的性質に基づいて作製された、前記複数の薬物候補の少なくとも幾つかを質量で定義された薬物候補ライブラリーを作製すること、

を含み、前記質量で定義された薬物候補ライブラリー内の前記薬物候補の同一性が、前記薬物候補それぞれの前記特有の質量シグネチャを又は消化フラグメント質量シグネチャにより決定され得る、方法。

( 項目 3 4 )

薬理学的性質を有するライブラリー薬物候補を同定する方法であって、

複数の薬物候補を対象に投与した後、前記対象から単離された試料を分析し、前記ライブラリー薬物候補が、項目 3 3 に記載の質量で定義された薬物候補ライブラリーのものであること；及び

前記単離された試料中で、前記薬理学的性質を有する少なくとも 1 つの薬物候補を同定すること、

を含む、方法。

( 項目 3 5 )

薬理学的性質を有するライブラリー薬物候補を同定する方法であって、

項目 2 6 に記載の質量で定義された薬物候補ライブラリーのものである、複数のライブラリー薬物候補を対象に投与すること、

前記対象から、前記複数のライブラリー薬物候補のうちの少なくとも幾つかを含む試料を得ること、及び

前記試料を分析して、前記薬理学的性質を有する前記複数のライブラリー薬物候補のうちの少なくとも幾つかの同一性を決定すること、を含む、方法。

( 項目 3 6 )

前記薬理学的性質が、経口生物学的利用度、血液脳関門を通過する能力、血液脳関門による排除、血清中半減期、細胞を透過する能力、細胞内オルガネラ若しくは他の細胞内メインに侵入する能力、又はそれらの組み合わせを含む、項目 3 3 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 3 7 )

前記薬理学的性質が、経口生物学的利用度を含む、項目 3 6 に記載の方法。

( 項目 3 8 )

前記複数の薬物候補が、5 を超える薬物候補、10 を超える薬物候補、100 を超える薬物候補、1000 を超える薬物候補、又は10000 を超える薬物候補を含む、項目 3 3 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 3 9 )

前記複数の薬物候補が、ノットのあるペプチド ( knotted-peptides ) を含む、項目 3 3 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 4 0 )

前記結び目のあるペプチドの特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャが、前記結び目のあるペプチドの天然のアミノ酸配列により定義される、項目 3 9 に記載の方法。

( 項目 4 1 )

前記複数の薬物候補の少なくとも 1 つが、前記少なくとも 1 つの薬物候補の前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを修飾するための重同位体原子を所定の数含む、項目 3 3 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 4 2 )

前記重同位体原子が、 $^{13}\text{C}$  又はジウテリウムを含む、項目 4 1 に記載の方法。

( 項目 4 3 )

前記複数の結び目のあるペプチドの少なくとも 1 つの前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャが、前記少なくとも 1 つの結び目のあるペプチドにコンジュゲートされた部分により定義される、項目 3 9 又は 4 0 に記載の方法。

( 項目 4 4 )

前記部分が、前記少なくとも 1 つの結び目のあるペプチドの N 末端にコンジュゲートされている、項目 4 0 に記載の方法。

( 項目 4 5 )

前記部分が、前記少なくとも 1 つの結び目のあるペプチドの前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを修飾するために重同位体原子を所定の数含む、項目 4 3 又は 4 4 に記載の方法。

( 項目 4 6 )

前記重同位体原子が、 $^{13}\text{C}$  又はジウテリウムを含む、項目 4 5 に記載の方法。

( 項目 4 7 )

前記複数の結び目のあるペプチドが、100 を超えるペプチド、1000 を超えるペプチド、又は10000 を超えるペプチドを含む、項目 3 9 に記載の方法。

( 項目 4 8 )

前記薬物候補の構造と薬理学的性質との関連性を確立することをさらに含む、項目 3 3 ~ 4 7 に記載の方法。

(項目 4 9)

前記関連性に基づく薬物候補のサブセットを選択することをさらに含む、項目 4 8 に記載の方法。

(項目 5 0)

投与後の選択された期間に選択された時間間隔で、複数の試料を得ることをさらに含む、項目 3 3 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 1)

選択された時間間隔が、5 分、1 0 分、2 0 分、3 0 分、4 0 分、5 0 分、又は 6 0 分である、項目 5 0 に記載の方法。

(項目 5 2)

選択された期間が、1 時間、2 時間、3 時間、4 時間、5 時間、6 時間、7 時間、8 時間、9 時間、1 0 時間、1 1 時間、1 2 時間、1 5 時間、3 0 時間、4 5 時間、6 0 時間、7 5 時間、9 0 時間、1 0 5 時間、又は 1 2 0 時間である、項目 5 0 に記載の方法。

(項目 5 3)

異なる投与経路により対象に投与される結び目のあるペプチドの分布プロファイルを決定する方法であって、

軽い結び目のあるペプチドを前記対象に投与し、前記軽い結び目のあるペプチドが、第一の送達経路により投与され、前記軽い結び目のあるペプチドと同じ配列を有する重い結び目のあるペプチドよりも低い分子量を有すること；

前記重い結び目のあるペプチドを前記対象に投与し、前記重い結び目のあるペプチドが、前記第一の送達経路とは異なる第二の送達経路により投与されること；並びに

前記対象の組織又は体液試料から得られた前記軽い結び目のあるペプチドの量を前記重い結び目のあるペプチドの量と比較し、それによりそれぞれ前記第一の送達経路及び前記第二の送達経路に基づき、前記対象における前記軽い結び目のあるペプチド及び前記重い結び目のあるペプチドの前記分布プロファイルを決定すること、を含む、方法。

(項目 5 4)

異なる投与経路により対象に投与される結び目のあるペプチドの分布プロファイルを決定する方法であって、

軽い結び目のあるペプチドを含む組成物を対象に投与した後、前記対象から単離された試料を分析し、前記軽い結び目のあるペプチドが、第一の送達経路により投与され、前記軽い結び目のあるペプチドと同じ配列を有する重い結び目のあるペプチドよりも低い分子量を有すること；

前記重い結び目のあるペプチドを含む組成物を対象に投与した後、前記対象から単離された試料を分析し、前記重い結び目のあるペプチドが、前記第一の送達経路とは異なる第二の送達経路により投与されること；並びに

前記対象の組織又は体液試料から得られた前記軽い結び目のあるペプチドの量を前記重い結び目のあるペプチドの量と比較し、それによりそれぞれ前記第一の送達経路及び前記第二の送達経路に基づき、前記対象における前記軽い結び目のあるペプチド及び前記重い結び目のあるペプチドの前記分布プロファイルを決定すること、を含む、方法。

(項目 5 5)

前記軽い結び目のあるペプチドが、前記軽い結び目のあるペプチドよりも少なくかつ重い同位体を含む、項目 5 3 又は 5 4 に記載の方法。

(項目 5 6)

前記重い結び目のあるペプチドが、前記軽い結び目のあるペプチドよりも少なくとも 1 つ多い  $^{13}\text{C}$  原子又はジウテリウム原子を含む、項目 5 3 ~ 5 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 5 7 )

前記第一の結び目のあるペプチドが、第一の部分にコンジュゲートされていて、前記重い結び目のあるペプチドが、第二の部分にコンジュゲートされている、項目 5 3 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 5 8 )

前記第一の部分、前記第二の部分又はそれらの両方が、それぞれ前記軽い結び目のあるペプチド及び前記重い結び目のあるペプチドの N 末端にコンジュゲートされている、項目 5 7 に記載の方法。

( 項目 5 9 )

前記第一の部分、前記第二の部分又はそれらの両方が、疎水性部分を含む、項目 5 7 に記載の方法。

( 項目 6 0 )

前記第一及び第二の送達経路が、独立して、経口経路、局所経路、経粘膜経路、静脈内経路、筋肉内経路、及び吸入経路から選択される、項目 5 3 ~ 5 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 6 1 )

前記第一又は前記第二の送達経路のいずれかが、経口経路を含む、項目 5 3 ~ 6 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 6 2 )

少なくとも 1 つの  $^{13}\text{C}$  原子が、前記第一の部分、前記第二の部分又はそれらの両方の中に存在する、項目 5 7 に記載の方法。

( 項目 6 3 )

前記軽い結び目のあるペプチド、前記重い結び目のあるペプチド、及びそれらの両方が、質量分析により分析されると、特有の質量シグネチャ又は消化質量シグネチャを有する、項目 5 3 ~ 6 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 6 4 )

前記薬物候補の構造と薬理学的性質との関連性を確立することをさらに含む、項目 5 3 ~ 6 3 に記載の方法。

( 項目 6 5 )

前記関連性に基づく薬物候補のサブセットを選択することをさらに含む、項目 6 4 に記載の方法。

( 項目 6 6 )

投与後の選択された期間に選択された時間間隔で、複数の試料を得ることをさらに含む、項目 5 3 ~ 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 6 7 )

選択された時間間隔が、5 分、10 分、20 分、30 分、40 分、50 分、又は 60 分である、項目 6 6 に記載の方法。

( 項目 6 8 )

選択された期間が、1 時間、2 時間、3 時間、4 時間、5 時間、6 時間、7 時間、8 時間、9 時間、10 時間、11 時間、12 時間、15 時間、30 時間、45 時間、60 時間、75 時間、90 時間、105 時間、又は 120 時間である、項目 6 6 に記載の方法。

( 項目 6 9 )

薬理学的性質を有する薬物候補を同定する方法であって、

複数の薬物候補を含む組成物を対象に投与すること；

前記複数の薬物候補のうちの少なくとも幾つかを含む試料を前記対象から得ること；及び

前記試料を分析して、前記薬理学的性質を有する前記薬物候補の少なくとも幾つかの同一性を決定すること、を含む、方法。

( 項目 7 0 )

前記薬物候補が、低分子化学分子、生物製剤、及びペプチドからなる群から選択される、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 1)

前記複数の薬物候補が、複数のペプチドを含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 2)

前記薬理学的性質が、経口生物学的利用度、血液脳関門を通過する能力、血液脳関門による排除、血清中半減期、細胞を透過する能力、細胞内オルガネラ若しくは他の細胞内ドメインに侵入する能力、臓器若しくは組織をターゲットとする能力、癌組織をターゲットとする能力、又はそれらの組み合わせを含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 3)

前記薬理学的性質を有する前記ペプチドの少なくとも幾つかを含むペプチドライブラリーを作製することをさらに含む、項目 7 1 に記載の方法。

(項目 7 4)

前記ペプチドの少なくとも幾つかをスクリーニングして、どのペプチドが、タンパク質：タンパク質相互作用を阻害する活性、リセプターの拮抗を阻害する活性、リセプターへのアゴニスト結合を阻害する活性、イオンチャネルを調節する活性、シグナル伝達経路を阻害する活性、シグナル伝達経路を活性化する活性、及び/又はタンパク質：低分子相互作用を阻害する活性を示すか、を同定することをさらに含む、項目 7 1 に記載の方法。

(項目 7 5)

前記タンパク質：タンパク質相互作用が、癌、感染性疾患、炎症性疾患、免疫疾患、代謝疾患、心臓疾患、加齢に関連する疾患、及び神経疾患からなる群から選択される疾患又は障害に関連づけられる、項目 7 4 に記載の方法。

(項目 7 6)

前記タンパク質：タンパク質相互作用が、癌に関連づけられる、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 7)

前記対象から複数の試料を得ることをさらに含み、各試料が前記複数のペプチドを投与した後の異なる時点で得られる、項目 7 1 に記載の方法。

(項目 7 8)

前記複数の試料のうちの少なくとも幾つかの試料を分析して、前記複数のうちの各試料において、前記薬理学的性質を有する前記ペプチドの少なくとも幾つかの同一性を決定する、項目 7 7 に記載の方法。

(項目 7 9)

前記ペプチドの少なくとも幾つかの同一性が、質量分析を利用して決定され、そこで前記ペプチドのそれぞれが、質量分析計により検出される特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを含む、項目 7 1 に記載の方法。

(項目 8 0)

前記複数の薬物候補が、5 を超える薬物候補を含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 8 1)

前記複数の薬物候補が、10 を超える薬物候補を含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 8 2)

前記複数の薬物候補が、100 を超える薬物候補を含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 8 3)

前記複数の薬物候補が、1000 を超える薬物候補を含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 8 4)

前記複数の薬物候補が、10000 を超える薬物候補を含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 8 5)

前記複数のペプチドが、100 を超えるペプチドを含む、項目 7 1 に記載の方法。

(項目 8 6)

前記複数のペプチドが、1000 を超えるペプチドを含む、項目 7 1 に記載の方法。

( 項目 8 7 )

前記複数のペプチドが、10000を超えるペプチドを含む、項目71に記載の方法。

( 項目 8 8 )

前記複数のペプチドのうちの少なくとも1つのペプチドが、前記対象において前記少なくとも1つのペプチドを追跡するために検出可能な標識を含む、項目71に記載の方法。

( 項目 8 9 )

前記検出可能な標識が、近赤外色素を含む、項目88に記載の方法。

( 項目 9 0 )

前記複数のペプチドのうちの少なくとも1つのペプチドが、前記少なくとも1つのペプチドのN末端にコンジュゲートされた疎水性部分を含み、前記少なくとも1つのペプチドが、前記疎水性部分を欠く少なくとも1つのペプチドと比較して、半減期の増加を示す、項目71に記載の方法。

( 項目 9 1 )

前記疎水性部分が、疎水性蛍光色素、又は飽和若しくは不飽和アルキル基を含む、項目90に記載の方法。

( 項目 9 2 )

前記試料が、組織試料又は体液試料を含む、項目69に記載の方法。

( 項目 9 3 )

前記体液試料が、血液、尿、粘液、又は脳脊髄液を含む、項目92に記載の方法。

( 項目 9 4 )

前記試料が、血液を含む、項目69に記載の方法。

( 項目 9 5 )

前記組織試料が、生検又は剖検組織を含む、項目92に記載の方法。

( 項目 9 6 )

前記組織が、脳、肺、腎臓、筋肉、肝臓、心臓、胃、脾臓、又は臓器からの組織を含む、項目92に記載の方法。

( 項目 9 7 )

前記薬物候補に共通する前記薬理学的性質を利用して、前記薬理学的性質を有する更なる薬物候補を生成することをさらに含む、項目69に記載の方法。

( 項目 9 8 )

前記対象が、動物である、項目69に記載の方法。

( 項目 9 9 )

前記対象が、ヒトである、項目69に記載の方法。

( 項目 1 0 0 )

質量で定義された薬物候補ライブラリーを作製する方法であって、

複数の薬物候補を生成し、前記薬物候補の少なくとも幾つかがそれぞれ特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを有すること、

質量分析を利用して前記複数の薬物候補を分析して、前記薬物候補の少なくとも幾つかに関して前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを測定すること、及び

薬理学的性質に基づいて作製された、前記複数の薬物候補の少なくとも幾つかを含む質量で定義された薬物候補ライブラリーを作製すること、

を含み、前記質量で定義された薬物候補ライブラリー内の前記薬物候補の同一性が、前記薬物候補それぞれの前記特有の質量シグネチャを又は消化フラグメント質量シグネチャにより決定され得る、方法。

( 項目 1 0 1 )

前記薬理学的性質が、経口生物学的利用度、血液脳関門を通過する能力、血液脳関門による排除、血清中半減期、細胞を透過する能力、細胞内オルガネラ若しくは他の細胞内ドメインに侵入する能力、又はそれらの組み合わせを含む、項目100に記載の方法。

( 項目 1 0 2 )

前記薬理学的性質が、経口生物学的利用度を含む、項目 1 0 0 に記載の方法。

( 項目 1 0 3 )

前記薬物候補が、低分子化学分子、生物製剤、及びペプチドからなる群から選択される、項目 1 0 0 に記載の方法。

( 項目 1 0 4 )

前記複数の薬物候補が、5 を超える薬物候補を含む、項目 1 0 0 に記載の方法。

( 項目 1 0 5 )

前記複数の薬物候補が、10 を超える薬物候補を含む、項目 1 0 0 に記載の方法。

( 項目 1 0 6 )

前記複数の薬物候補が、100 を超える薬物候補を含む、項目 1 0 0 に記載の方法。

( 項目 1 0 7 )

前記複数の薬物候補が、1000 を超える薬物候補を含む、項目 1 0 0 に記載の方法。

( 項目 1 0 8 )

前記複数の薬物候補が、10000 を超える薬物候補を含む、項目 1 0 0 に記載の方法

。

( 項目 1 0 9 )

前記複数の薬物候補が、結び目のあるペプチドを含む、項目 1 0 0 に記載の方法。

( 項目 1 1 0 )

前記結び目のあるペプチドの特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャが、前記結び目のあるペプチドの天然のアミノ酸配列により定義される、項目 1 0 9 に記載の方法。

( 項目 1 1 1 )

前記複数の薬物候補の少なくとも1つが、前記少なくとも1つの薬物候補の前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを修飾するための重同位体原子を所定の数含む、項目 1 0 0 に記載の方法。

( 項目 1 1 2 )

前記重同位体原子が、 $^{13}\text{C}$  又はジウテリウムを含む、項目 1 0 1 に記載の方法。

( 項目 1 1 3 )

前記複数の結び目のあるペプチドの少なくとも1つの前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャが、前記少なくとも1つの結び目のあるペプチドにコンジュゲートされた部分により定義される、項目 1 0 9 に記載の方法。

( 項目 1 1 4 )

前記部分が、前記少なくとも1つの結び目のあるペプチドのN末端にコンジュゲートされている、項目 1 1 3 に記載の方法。

( 項目 1 1 5 )

前記部分が、前記少なくとも1つの結び目のあるペプチドの前記特有の質量シグネチャ又は消化フラグメント質量シグネチャを修飾するために重同位体原子を所定の数含む、項目 1 1 3 に記載の方法。

( 項目 1 1 6 )

前記重同位体原子が、 $^{13}\text{C}$  又はジウテリウムを含む、項目 1 1 5 に記載の方法。

( 項目 1 1 7 )

前記複数の結び目のあるペプチドが、100 を超えるペプチドを含む、項目 1 0 9 に記載の方法。

( 項目 1 1 8 )

前記複数の結び目のあるペプチドが、1000 を超えるペプチドを含む、項目 1 0 9 に記載の方法。

( 項目 1 1 9 )

前記複数の結び目のあるペプチドが、10000 を超えるペプチドを含む、項目 1 0 9 に記載の方法。

( 項目 1 2 0 )

異なる投与経路により対象に投与される結び目のあるペプチドの分布プロファイルを決定する方法であって、

軽い結び目のあるペプチドを前記対象に投与し、前記軽い結び目のあるペプチドが、第一の送達経路により投与され、前記軽い結び目のあるペプチドと同じ配列を有する重い結び目のあるペプチドよりも低い分子量を有すること；

前記重い結び目のあるペプチドを前記対象に投与し、前記重い結び目のあるペプチドが、前記第一の送達経路とは異なる第二の送達経路により投与されること；並びに

前記対象の組織又は体液試料から得られた前記軽い結び目のあるペプチドの量を前記重い結び目のあるペプチドの量と比較し、それによりそれぞれ前記第一の送達経路及び前記第二の送達経路に基づき、前記対象における前記軽い結び目のあるペプチド及び前記重い結び目のあるペプチドの前記分布プロファイルを決定すること、を含む、方法。

(項目 1 2 1)

前記軽い結び目のあるペプチドが、前記軽い結び目のあるペプチドよりも少なくかつ重い同位体を含む、項目 1 2 0 に記載の方法。

(項目 1 2 2)

前記重い結び目のあるペプチドが、前記軽い結び目のあるペプチドよりも少なくとも 1 つ多い  $^{13}\text{C}$  原子又はジウテリウム原子を含む、項目 1 2 0 に記載の方法。

(項目 1 2 3)

前記第一の結び目のあるペプチドが、第一の部分にコンジュゲートされていて、前記重い結び目のあるペプチドが、第二の部分にコンジュゲートされている、項目 1 2 0 に記載の方法。

(項目 1 2 4)

前記第一の部分、前記第二の部分又はそれらの両方が、それぞれ前記軽い結び目のあるペプチド及び前記重い結び目のあるペプチドの N 末端にコンジュゲートされている、項目 1 2 3 に記載の方法。

(項目 1 2 5)

前記第一の部分、前記第二の部分又はそれらの両方が、疎水性部分を含む、項目 1 2 3 に記載の方法。

(項目 1 2 6)

前記第一及び第二の送達経路が、独立して、経口経路、局所経路、経粘膜経路、静脈内経路、筋肉内経路、及び吸入経路から選択される、項目 1 2 0 に記載の方法。

(項目 1 2 7)

前記第一又は前記第二の送達経路のいずれかが、経口経路を含む、項目 1 2 0 に記載の方法。

(項目 1 2 8)

少なくとも 1 つの  $^{13}\text{C}$  原子が、前記第一の部分、前記第二の部分又はそれらの両方の中に存在する、項目 1 2 0 に記載の方法。

(項目 1 2 9)

前記軽い結び目のあるペプチド、前記重い結び目のあるペプチド、及びそれらの両方が、質量分析により分析されると、特有の質量シグネチャ又は消化質量シグネチャを有する、項目 1 2 0 に記載の方法。

(項目 1 3 0)

対象の腫瘍を画像化するためのペプチドであって、少なくとも 3 つの D - アミノ酸を有するアミノ酸配列を含むクロトキシンを含み、前記腫瘍に結合するように構成された二次構造を有し、検出可能な標識をさらに含む、ペプチド。

(項目 1 3 1)

前記ペプチド内の前記アミノ酸の少なくとも 10 %、少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、少なくとも 50 %、少なくとも 60 %、少なくとも 70 %、少なくとも 80 %、又は少なくとも 90 % が、D - アミノ酸である、項目 1 3 0 に記載のペ

プチド。

( 項目 1 3 2 )

以下の配列：

M C M P C F T T D H Q M A R X C D D C C G G X G R G X C Y G P Q C L C R ( 配列番号 4 7 ) ( ここで、X は、K、A 及び R から選択される ) と少なくとも 8 0 %、8 3 %、8 6 %、8 9 %、9 0 % 又は 9 2 % 同一のアミノ酸配列を有する、項目 1 3 0 又は 1 3 1 に記載のペプチド。

( 項目 1 3 3 )

以下の配列：

M C M P C F T T D H Q M A R X C D D C C G G X G R G X C Y G P Q C L C R ( 配列番号 4 7 ) ( ここで、アミノ酸配列内のアミノ酸の少なくとも 3 つは、D - アミノ酸であり、X は、K、A 及び R から選択される ) と少なくとも 8 0 % 同一のアミノ酸配列を含むペプチド。

( 項目 1 3 4 )

前記ペプチド内の前記アミノ酸の少なくとも 5 0 %、少なくとも 6 0 %、又は少なくとも 7 0 % が、D - アミノ酸である、項目 1 3 3 に記載のペプチド。

( 項目 1 3 5 )

検出可能な標識をさらに含む、項目 1 3 3 ~ 1 3 4 のいずれかに記載のペプチド。

( 項目 1 3 6 )

前記のペプチド内のアミノ酸全てが、D - アミノ酸である、項目 1 3 0 ~ 1 3 5 のいずれかに記載のペプチド。

( 項目 1 3 7 )

前記検出可能な標識が、前記ペプチドの N 末端にコンジュゲートされているか、又は前記ペプチド内のリジン残基にコンジュゲートされている、項目 1 3 0 ~ 1 3 2 又は 1 3 5 ~ 1 3 7 のいずれかに記載のペプチド。

( 項目 1 3 8 )

前記検出可能な標識が、近赤外色素を含む、項目 1 3 7 に記載のペプチド。

( 項目 1 3 9 )

前記検出可能な標識が、シアニン色素を含む、項目 1 3 7 に記載のペプチド。

( 項目 1 4 0 )

項目 1 3 0 ~ 1 3 9 のいずれか 1 項に記載のペプチド、又はそれらの組み合わせを含む組成物。

( 項目 1 4 1 )

対象におけるペプチドを検出する方法であって、  
前記対象に、項目 1 3 0 ~ 1 3 2 のいずれかに記載のペプチド又は項目 1 3 5 ~ 1 3 9 のいずれかに記載のペプチド又は項目 1 2 6 に記載の組成物の有効量を投与すること、及び  
検出可能な標識を検出すること、  
を含む、方法。

( 項目 1 4 2 )

前記検出することが、前記検出可能な標識を検出することにより前記対象における領域の画像を得ることを含む、項目 1 4 1 に記載の方法。

( 項目 1 4 3 )

前記検出することが、癌組織の手術中の視覚化を含む、項目 1 4 2 に記載の方法。

( 項目 1 4 4 )

前記検出可能な標識の視覚化が、前記対象の腫瘍の外科的除去を誘導する、項目 1 4 2 に記載の方法。

( 項目 1 4 5 )

クロロトキシントーゲットを発現する細胞に関連する疾患を処置する方法であって、それを必要とする対象に、項目 1 3 0 ~ 1 3 9 に記載のペプチドを含む医薬組成物又は項目 1 4 0 に記載の組成物の治療有効量を投与し、それにより前記疾患を処置すること、

を含む、方法。

(項目146)

前記組成物の前記ペプチドが、細胞毒性剤、毒素、アンチセンスヌクレオチド、癌用薬物、ヌクレオチド薬、代謝モジュレータ、放射線増感剤、ペプチド治療薬、ペプチド-薬物コンジュゲート、又はそれらの組み合わせをさらに含む、項目145に記載の方法。

(項目147)

前記疾患が、神経膠腫、皮膚癌、肺癌、リンパ腫、髄芽細胞腫、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、乳腺癌(mammary cancer)、結腸癌、肉腫、口腔扁平上皮癌、血液外皮腫、又はそれらの組み合わせに関連する癌組織を含む、項目145又は146に記載の方法。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

【図1】本発明の実施形態による、様々なスカフォールドを示すゲル画像を提供する。

【図2】PCRアセンブリからタンパク質回収までの初期ライブラリー創出の図解を示す。表面残基(DHQRूप)の1つの潜在的パッチを示して、初期ペプチドライブラリーのためのランダムな突然変異誘発アプローチを例示している。残基K15及びK23は、アラニンに対して化学的コンジュゲーションを容易にするように変異している。図2は、配列番号74を開示する。

【図3】本発明の一実施形態による、ペプチドライブラリーを作製する例示的方法を示している。

【図4】本発明の一実施形態による、ペプチドライブラリーを生成する例示的方法を示している。

【図5】本発明の一実施形態による、ノッチン(例えば、バブルプロテイン(bubble protein))を作製するのに用いられ得る例示的融合系を示している。

【図6】本発明の一実施形態による、質量分析を利用した大きなライブラリーの分析を示している。

【図7】本発明の一実施形態による、ノッチン変異体を発現するためにシデロカリン融合物を利用する例示的方法を示している。

【図8】本発明の一実施形態による、発現するノッチンスカフォールドのSDS-PAGE分析を示している。

【図9A】本発明の一実施形態による、プールされたライブラリーの生成の図解を提供する。図9Bは、9Aの拡大図である。図9Aは、出現する順で、それぞれ、配列番号75~78を開示し、図9Bは、出現する順で、それぞれ、配列番号79~80を開示する。

【図9B】本発明の一実施形態による、プールされたライブラリーの生成の図解を提供する。図9Bは、9Aの拡大図である。図9Aは、出現する順で、それぞれ、配列番号75~78を開示し、図9Bは、出現する順で、それぞれ、配列番号79~80を開示する。

【図10】本発明の一実施形態による、クローン化されたノッチンライブラリーからの代表的シーケンシングデータを記載している。図10は、出現する順で、それぞれ、配列番号81~109を開示する。

【図11】本発明の複数の実施形態による、3000の要素からなるノッチンライブラリーのSDS-PAGE分析を示している。

【図12】本発明の一実施形態による、リバースプロテオミクスによる突然変異耐性の評価を示している。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0052

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0052】

ペプチド（例えば、結び目のあるペプチド）の変異体は、ランダムにすること（縮重コドン又はエラープローンPCRなどの技術による）又は完全に定義することができる。チップによるオリゴヌクレオチド合成の進展により、DNAライブラリーの作製が安価かつルーチンになり、DNAから作製されたペプチドライブラリーの組成の完全な定義を可能にした。それぞれが特有の質量フラグメント又はトリプシン分解フラグメントを有するようにペプチドを設計することにより、質量分析を、ペプチドそれぞれの存在について同時にスクリーニングするために用いることができる。幾つかの態様において、本開示は、対象の腫瘍を画像化するためのペプチドであって、少なくとも3つのD-アミノ酸を有するアミノ酸配列を含むクロトキシンを含み、腫瘍に結合するように構成された二次構造を有し、検出可能な標識をさらに含む、ペプチドを提供する。本開示の更なる態様において、該ペプチド内のアミノ酸の少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、又は少なくとも90%が、D-アミノ酸である。幾つかの態様において、本発明のペプチドは、以下の配列：

M C M P C F T T D H Q M A R X C D D C C G G X G R G X C Y G P Q C L C R (配列番号47) (ここで、Xは、K、A及びRから選択される)と少なくとも80%、83%、86%、89%、90%又は92%同一のアミノ酸配列を有し得る。幾つかの態様において、本発明のペプチドは、以下の配列：

M C M P C F T T D H Q M A R X C D D C C G G X G R G X C Y G P Q C L C R (配列番号47) (ここで、アミノ酸配列内のアミノ酸の少なくとも3つは、D-アミノ酸であり、Xは、K、A及びRから選択される)と少なくとも80%同一のアミノ酸配列を含む。さらなる態様において、本開示のペプチドは、該ペプチド内のアミノ酸の少なくとも50%、少なくとも60%、又は少なくとも70%が、D-アミノ酸である。幾つかの態様において、本開示のペプチドは、検出可能な標識をさらに含む。本開示の幾つかの態様において、所定のペプチド内のアミノ酸全てが、D-アミノ酸である。本開示の幾つかの態様において、検出可能な標識は、該ペプチドのN末端にコンジュゲートされているか、又は該ペプチド内のリジン残基にコンジュゲートされている。本開示の他の態様において、検出可能な標識は、近赤外色素を含む。本開示の他の態様において、検出可能な標識は、シアニン色素を含む。本開示の様々な態様において、本明細書に記載されたペプチドのいずれか、又はそれらの組み合わせを含む組成物を、生成することができる。本発明の幾つかの態様において、対象におけるペプチドを検出する方法であって、対象に、本開示のペプチド又はその組成物の有効量を投与すること、及びそれに含まれる検出可能な標識を検出すること、を含む、方法が提供される。さらなる態様において、本開示は、検出可能な標識を検出することにより対象における領域の画像を得ることをさらに含む。さらなる態様において、該検出することは、癌組織の手術中の視覚化を含む。さらなる態様において、検出可能な標識の視覚化は、対象の腫瘍の外科的除去を誘導する。本開示の幾つかの態様において、クロトキシントーゲットを発現する細胞に関連する疾患を処置する方法であって、それを必要とする対象に、本開示によるペプチドを含む医薬組成物、又は本開示のペプチドを含む組成物の治療有効量を投与し、それにより該疾患を処置すること、を含む、方法が提供される。さらなる態様において、該ペプチド組成物は、細胞毒性剤、毒素、アンチセンスヌクレオチド、癌用薬物、ヌクレオチド薬、代謝モジュレータ、放射線増感剤、ペプチド治療薬、ペプチド-薬物コンジュゲート、又はそれらの組み合わせをさらに含む。さらなる態様において、該疾患は、神経膠腫、皮膚癌、肺癌、リンパ腫、髄芽細胞腫、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、乳腺癌(mammary cancer)、結腸癌、肉腫、口腔扁平上皮癌、血液外皮腫、又はそれらの組み合わせに関連する癌組織を含む。

## 【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0061

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0061】

例示的实施形態において、特定の表面残基の位置を、縮重コドンを利用したランダム突然変異誘発のターゲットとするオリゴヌクレオチド構成アプローチ（本明細書にさらに記載される）を利用して、ペプチドライブラリーを創出することができる（図2）。一態様において、該方法は、10の特有の、又は重複する3つのアミノ酸サブドメインを変異させることにより、スカフォールドを通して解析することを含むことができる。本発明者らは、どの部位が突然変異に耐容するかを決定したら、より大きなランダム化ライブラリーを構築するであろう。これらのライブラリーは、その後、個別に、又はプール形式でスクリーニングすることができる。例えばXhoI/BamHI部位を含むプライマーを用いて、アセンブリの反応を増幅させることができ、精製されたPCR産物を、ベクター（例えば、ダイダロスベクター：pCVL-sUCOE-SFFV-IRES-GFP）にクローニングすることができる。得られたレンチウイルスライブラリーを利用して、細胞（例えば、HEK293フリースタイル細胞）に形質導入して、変異体を分泌する細胞のポリクローナル集団を創出することができる。分泌された構築物を、N末端分泌シグナル及びC末端タグ（例えば、STREPIIタグ（SAWSHPQFEK）（配列番号34））で操作することができる。分泌されたペプチドを、例えばサイズ排除又はアフィニティークロマトグラフィーを利用して、培養上清から回収することができる。多様性が限定された、又は多様性が広範囲である複数のライブラリーを、このアプローチを利用して作製することができる。分泌されたタンパク質ライブラリーの多様性を計測して、下流のスクリーニング用途での検出限界を確立するために、精製されたペプチドプールをタンデム質量分析を利用して分析することができる。

## 【手続補正6】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0073

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0073】

幾つかの態様において、本発明は、D-アミノ酸を有し、クロロトキシンスカフォールドを基にしたペプチド、例えばD-アミノ酸クロロトキシン及び/又はD-アミノ酸クロロトキシン変異体を包含する。クロロトキシンを基にしたペプチドは、様々な量のD-アミノ酸を含むことができる。クロロトキシンの天然のペプチドは、以下のアミノ酸配列を有する：MCMPCFTTDHQM ARKCD DCCGGKG R G K C Y G P Q C L C R（配列番号35）。該ペプチドは、配列内に存在するシステイン残基の間に形成された4つのジスルフィド結合によりさらに架橋させることができる。天然のペプチドは、L-アミノ酸の全てを含む。化学的には、インビボで存在するものなどのキラル環境以外では、クロロトキシンの全D-アミノ酸形態が、クロロトキシンの全L-アミノ酸形態と識別不能の可能性がある。D-アミノ酸は、本質的には極めてまれであるため、D-アミノ酸を含むペプチドは、タンパク質分解に対して抵抗性であり得る。したがってD-アミノ酸のクロロトキシンは、例えば対象への投与後の生体液中で、切断に抵抗し得る。こうしてD-アミノ酸のペプチドは、例えば経口投与することができ、より低い免疫反応を有していてもよい。D-アミノ酸は、抗原プロセッシング及び提示の予防を支援し、それにより抗原性を低下させることもできる。本発明において使用されるD-アミノ酸としては、例えばdArg、dHis、dLys、dAsp、dGlu、dSer、dThr、dAsn、dGln、dCys、dGly、dPro、dAla、dVal、dIle、dLeu、dMet、dPhe、dTyr、及びdTrpを挙げることができる。

## 【手続補正7】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0075

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0075】

例えば本発明のペプチドを作製する方法によれば、非常に様々なクロロトキシン変異体を、作製することができる。例えば、従来の突然変異誘発及び合成に基づくシステムを利用して、何千ものクロロトキシンD-アミノ酸変異体を、クロロトキシンの天然由来アミノ酸配列を基にして調製することができる。幾つかの実施形態において、本発明のペプチドは、以下の配列：M C M P C F T T D H Q M A R K C D D C C G G K G R G K C Y G P Q C L C R (配列番号35)と少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、83%、85%、86%、89%、90%、92%又は95%同一であり、アミノ酸の全て又は幾つかがD-アミノ酸である、アミノ酸配列を含むことができる。幾つかの実施形態において、クロロトキシン変異体は、天然アミノ酸の代わりにD-アミノ酸である、少なくとも3つの配列内アミノ酸を有することができる。幾つかの実施形態において、クロロトキシン変異体の配列内のアミノ酸の少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも10、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、又は少なくとも35が、天然アミノ酸の代わりにD-アミノ酸を含むことができる。ある特定の実施形態において、クロロトキシン変異体の配列内のアミノ酸の少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、又は少なくとも90%が、天然アミノ酸の代わりにD-アミノ酸を含むことができる。

## 【手続補正8】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0076

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0076】

一実施形態において、D-アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる：  
H - d M e t - d C y s - d M e t - d P r o - d C y s - d P h e - d T h r - d T h r - d A s p - d H i s - d G l n - d M e t - d A l a - d A r g - d X a a - d C y s - d A s p - d A s p - d C y s - d C y s - d G l y - d G l y - d X a a - d G l y - d A r g - d G l y - d X a a - d C y s - d T y r - d G l y - d P r o - d G l n - d C y s - d L e u - d C y s - d A r g - O H 酢酸塩 (ジスルフィド結合、空気酸化) (式中、d X a aは、d A r g、d A l a、又はd L y sである) (配列番号36)。

## 【手続補正9】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0077

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0077】

別の実施形態において、D-アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる：  
H - d M e t - d C y s - d M e t - d P r o - d C y s - d P h e - d T h r - d T h r - d A s p - d H i s - d G l n - d M e t - d A l a - d A r g - d X a a - d C y s - d A s p - d A s p - d C y s - d C y s - d G l y - d G l y - d X a a - d G l y - d A r g - d G l y - d L y s - d C y s - d T y r - d G l y - d P r o - d G l n - d C y s - d L e u - d C y s - d A r g - O H 酢酸塩 (ジスルフィド結合、空気酸化) (式中、d X a aは、d A r g、d A l a、又はd L y sである) (配列番号37)。

## 【手続補正10】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0078

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0078】

別の実施形態において、D - アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる： $\text{H} - \text{dMet} - \text{dCys} - \text{dMet} - \text{dPro} - \text{dCys} - \text{dPhe} - \text{dThr} - \text{dThr} - \text{dAsp} - \text{dHis} - \text{dGln} - \text{dMet} - \text{dAla} - \text{dArg} - \text{dArg} - \text{dCys} - \text{dAsp} - \text{dAsp} - \text{dCys} - \text{dCys} - \text{dGly} - \text{dGly} - \text{dArg} - \text{dGly} - \text{dArg} - \text{dGly} - \text{dLys} - \text{dCys} - \text{dTyr} - \text{dGly} - \text{dPro} - \text{dGln} - \text{dCys} - \text{dLeu} - \text{dCys} - \text{dArg} - \text{OH}$ 酢酸塩（ジスルフィド結合、空気酸化）；分子量：4065.6Da（配列番号38）。

## 【手続補正11】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0079

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0079】

別の実施形態において、D - アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる： $\text{H} - \text{dMet} - \text{dCys} - \text{dMet} - \text{dPro} - \text{dCys} - \text{dPhe} - \text{dThr} - \text{dThr} - \text{dAsp} - \text{dHis} - \text{dGln} - \text{dMet} - \text{dAla} - \text{dArg} - \text{dArg} - \text{dCys} - \text{dAsp} - \text{dAsp} - \text{dCys} - \text{dCys} - \text{dGly} - \text{dGly} - \text{dAla} - \text{dGly} - \text{dArg} - \text{dGly} - \text{dLys} - \text{dCys} - \text{dTyr} - \text{dGly} - \text{dPro} - \text{dGln} - \text{dCys} - \text{dLeu} - \text{dCys} - \text{dArg} - \text{OH}$ 酢酸塩（ジスルフィド結合、空気酸化）（配列番号39）。

## 【手続補正12】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0080

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0080】

別の実施形態において、D - アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる： $\text{H} - \text{dMet} - \text{dCys} - \text{dMet} - \text{dPro} - \text{dCys} - \text{dPhe} - \text{dThr} - \text{dThr} - \text{dAsp} - \text{dHis} - \text{dGln} - \text{dMet} - \text{dAla} - \text{dArg} - \text{dAla} - \text{dCys} - \text{dAsp} - \text{dAsp} - \text{dCys} - \text{dCys} - \text{dGly} - \text{dGly} - \text{dAla} - \text{dGly} - \text{dArg} - \text{dGly} - \text{dLys} - \text{dCys} - \text{dTyr} - \text{dGly} - \text{dPro} - \text{dGln} - \text{dCys} - \text{dLeu} - \text{dCys} - \text{dArg} - \text{OH}$ 酢酸塩（ジスルフィド結合、空気酸化）（配列番号40）。

## 【手続補正13】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0081

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0081】

別の実施形態において、D - アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる： $\text{H} - \text{dMet} - \text{dCys} - \text{dMet} - \text{dPro} - \text{dCys} - \text{dPhe} - \text{dThr} - \text{dThr} - \text{dAsp} - \text{dHis} - \text{dGln} - \text{dMet} - \text{dAla} - \text{dArg} - \text{dAla} - \text{dCys} - \text{dAsp} - \text{dAsp} - \text{dCys} - \text{dCys} - \text{dGly} - \text{dGly} - \text{dArg} - \text{dGly} - \text{dArg} - \text{dGly} - \text{dLys} - \text{dCys} - \text{dTyr} - \text{dGly} - \text{dPro} - \text{dGln} - \text{dCys} - \text{dLeu} - \text{dCys} - \text{dArg} - \text{OH}$ 酢酸塩（ジスルフィド結合、空気酸化）（配列番号41）。

## 【手続補正14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0082

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0082】

別の実施形態において、D-アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる： $\text{H-dMet-dCys-dMet-dPro-dCys-dPhe-dThr-dThr-dAsp-dHis-dGln-dMet-dAla-dArg-dXaa-dCys-dAsp-dAsp-dCys-dCys-dGly-dGly-dXaa-dGly-dArg-dGly-dLys(6-ICGヘキサノイル)-dCys-dTyr-dGly-dPro-dGln-dCys-dLeu-dCys-dArg-OH}$  酢酸塩（ジスルフィド結合、空気酸化）（式中、dXaaは、dArg、dAla、又はdLysである（配列番号42））。

【手続補正15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0083

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0083】

別の実施形態において、D-アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる： $\text{H-dMet-dCys-dMet-dPro-dCys-dPhe-dThr-dThr-dAsp-dHis-dGln-dMet-dAla-dArg-dArg-dCys-dAsp-dAsp-dCys-dCys-dGly-dGly-dArg-dGly-dArg-dGly-dLys(6-ICGヘキサノイル)-dCys-dTyr-dGly-dPro-dGln-dCys-dLeu-dCys-dArg-OH}$  酢酸塩（ジスルフィド結合、空気酸化）；分子量：4765Da（配列番号43）。

【手続補正16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0084

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0084】

別の実施形態において、D-アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる： $\text{H-dMet-dCys-dMet-dPro-dCys-dPhe-dThr-dThr-dAsp-dHis-dGln-dMet-dAla-dArg-dArg-dCys-dAsp-dAsp-dCys-dCys-dGly-dGly-dAla-dGly-dArg-dGly-dLys(6-ICGヘキサノイル)-dCys-dTyr-dGly-dPro-dGln-dCys-dLeu-dCys-dArg-OH}$  酢酸塩（ジスルフィド結合、空気酸化）（配列番号44）。

【手続補正17】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0085

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0085】

別の実施形態において、D-アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる： $\text{H-dMet-dCys-dMet-dPro-dCys-dPhe-dThr-dThr-dAsp-dHis-dGln-dMet-dAla-dArg-dAla-dCys-dAsp-dAsp-dCys-dCys-dGly-dGly-dAla-dGly-dArg-dGly-dLys(6-ICGヘキサノイル)-dCys-dTyr}$

r - d G l y - d P r o - d G l n - d C y s - d L e u - d C y s - d A r g - O H 酢酸塩 (ジスルフィド結合、空気酸化) (配列番号45)。

【手続補正18】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0086

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0086】

別の実施形態において、D - アミノ酸ペプチドの全てが、以下の式を有することができる：H - d M e t - d C y s - d M e t - d P r o - d C y s - d P h e - d T h r - d T h r - d A s p - d H i s - d G l n - d M e t - d A l a - d A r g - d A l a - d C y s - d A s p - d A s p - d C y s - d C y s - d G l y - d G l y - d A r g - d G l y - d A r g - d G l y - d L y s (6 - I C G ヘキサノイル) - d C y s - d T y r - d G l y - d P r o - d G l n - d C y s - d L e u - d C y s - d A r g - O H 酢酸塩 (ジスルフィド結合、空気酸化) (配列番号46)。

【手続補正19】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0088

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0088】

例えば、本発明は、以下の配列：M C M P C F T T D H Q M A R X C D D C C G G X G R G X C Y G P Q C L C R (配列番号47) (ここで、アミノ酸の幾つか又は全ては、D - アミノ酸であり、Xは、K、A又はRを含み得る)と少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、83%、85%、86%、89%、90%、92%又は95%同一のアミノ酸配列を有する、D - アミノ酸クロロトキシシン及びD - アミノ酸クロロトキシシン変異体を含むことができる。幾つかの実施形態において、クロロトキシシン変異体は、天然アミノ酸の代わりにD - アミノ酸である、少なくとも3つの配列内アミノ酸を有することができる。幾つかの実施形態において、クロロトキシシン変異体の配列内のアミノ酸の少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも10、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、又は少なくとも35が、天然アミノ酸の代わりにD - アミノ酸を含むことができる。ある特定の実施形態において、クロロトキシシン変異体の配列内のアミノ酸の少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、又は少なくとも90%が、天然アミノ酸の代わりにD - アミノ酸を含むことができる。

【手続補正20】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0135

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0135】

幾つかの実施形態において、L c n 2 との融合物としてのペプチド (例えば、結び目のあるペプチド) の発現を、自己開裂するL c n 2 と共に、C I D G (配列番号49) の直後のR A R Y K R (配列番号48) と共に、そして外部開裂されたものをその位置のE N L Y F Q (配列番号50) と共に、利用することができる。前者は、タンパク質輸送の間に哺乳動物細胞により開裂することができ (例えば、フリンによる)、遊離L c n 2 及び結び目のあるペプチドを、周囲の培地に分泌させることができる。E N L Y F Q (配列番号50) は、タバコエッチプロテアーゼ部位であり、哺乳動物細胞で内在的に見出されることはない。この系の構造体は、融合物として分泌することができ、外部T E V プロテアーゼの付加により結び目のあるペプチドを後に切断することができる。これは、ノッチンを回収するのに有

用となり得る。幾つかの実施形態において、ポリヒスチジン又はポリアルギニンなどの精製「ハンドル」がLcn2に付加され得、続いてタンパク質分解により除去される。結び目のあるペプチドに加えて、これらの融合系を、ケモカイン、インターロイキン、及びペプチドホルモンなどの医療的関心のある発現困難なタンパク質にも用いることができる。

【手続補正21】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0210

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0210】

4つのスカフォールド：ヘフトキシン、CTI、クロロトキシン、及びエピレグリンを、定義されたライブラリーの作製のために選択した。ターゲットアミノ酸配列のリストを、インシリコで作製することで、それぞれのライブラリーの各要素が、特有の質量のトリプシン分解フラグメントを有するようにし、結合エピトープを作製するために、突然変異が構造的に隣接するように選択した。システインは、突然変異を受けず、リジンは、N末端コンジュゲーションを明確にするために特異的に回避させた。各スカフォールドの3000の変異体を作製して、各スカフォールドをPCRプライマー部位の特有の組み合わせにより隣接させ、それにより4つのサブライブラリーそれぞれを、独立に増幅させることができた。全ての構築物が、N末端BamHI部位及びC末端NotI部位を有し、12000のオリゴヌクレオチドのプールからの各サブライブラリーのPCR増幅に続いて、標準の技術を利用して、各サブライブラリーを制限消化して、切断された親ベクター（フリン切断物とTEV切断物の両方）にLcn2融合タンパク質としてクローニングした。HK293細胞をこのプラスミドライブラリーと、ダイダロス発現に必要な補助的プラスミドをトランスフェクトし、培地中のウイルスを3～4日後に回収した。ウイルスを遠心分離により濃縮して、標準手順を利用したタンパク質生成のためにHEK293細胞に感染させるために使用した。本発明者らは、TEV切断可能な構築物が、ニッケル樹脂上のIMACによる融合物の回収を容易にすることができるため、その構築物がライブラリー生成の際に技術的により容易に取り扱えることを見出した。IMACに続いて、融合タンパク質をPBSで透析して、6×HISタグ(配列番号51)TEVプロテアーゼで一晩切断させ、次に再度ニッケル樹脂を用いて材料を処理することにより、Lcn2及びプロテアーゼを除去した。切断されたペプチドライブラリーを含有するフロースルーを更に精製して、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)により10mMギ酸アンモニウムにバッファー交換して、ペプチドを含む画分をプールし、凍結乾燥させた。

【手続補正22】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0215

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0215】

ペプチド：ハヤトウリ由来トリプシン阻害剤の3000の変異体の質量を指標とするライブラリーを、インシリコで創出した。ペプチド内のリジン残基は全て、アルギニン残基に変化した。得られた配列は、CPRILMRCRLDTDCFPCTCTCRPSGFCG(配列番号52)であった。この配列のG1及びS2を、分子のN末端に付加した。スカフォールドの分子構造を手法で分析して、スカフォールド構造を破壊せずに変化させ得る配列部分を同定した。同定されたアミノ酸残基は、M8、R9、L12、D13、T14、F17、P18、T19、T21、R23、P24、S25、G26を含んだ。同定されたアミノ酸は、R23、P24、S25、及びG26であり、それぞれターンの1～4の位置に配置されていた。

【手続補正23】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 2 1 8

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 2 1 8 】

プール内に3つを超えるトリプトファン残基が保持された変異体はなかった。プールの各要素の逆翻訳を、DNA合成のために選択した。DNA合成の間、N末端GS部分のコード化を、GGATCCに変更した。さらに5'配列：

A A C T G C C A T G T G C A A C T C G T A A G (配列番号53)及び3'配列：T A A T G C G G C C G C G T T C T T A G T C A C C T T G C A T G G A C (配列番号54)を、プールの各要素に付加した。プールの特定の要素が選択されない限り、BamHI (GGATCC)又はNotI (GCGGCCGC)制限部位を含まないように逆翻訳を選択した。

【手続補正24】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 2 3 9

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 2 3 9 】

配列

以下の記述は、本明細書で同定された該当する遺伝子及び構築物のDNA及び/又はアミノ酸配列である。

シームレスクローニングのための親構築物の構築：

【化1】

*pUC57*からの*Xho*/*Bam*切断及び*pCVL*へのライゲーションのための配列番号1

- IgK-SF-H6-GGS-Icn2C-GGS-ENLYFQ-GG- 親配列(PARENTAL)

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACCATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAGGTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTAGGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAAGATGTATGCCACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCCTGTTTAGGAAAAAGAAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGAGTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGTGGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAACAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCGTCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATTTCAGGGAGGCGGCCGCTAAGGATCCCGGACCGCCTCTCC

NotIの切断は、AACCTGTATTTTCAGGGAGGC (配列番号55) -

GCTAAGGATCCCGGACCGCCTCTCC (配列番号56)である。

シームレスクローニングにより先のNotI切断による親配列にクローニングされた融合タンパク質配列（本来の10の組み合わせ）：

## 【化 2】

配列番号2 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG-バブルプロテイン

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
 TTCAGGGAGGCGATACCTGCGGCAGCGGCTATAATGTGGATCAGCGTCGTACCA  
ATAGCGGCTGCAAAGCGGGCAATGGCGATCGTCATTTTTCGCGCTGCGATCGT  
ACCGGCGTGTTGGAATGCAAAGGCGGCAATGGACCGAAGTGCAGGATTGCG  
GCAGCAGCAGCTGCAAAGGCACCAGCAATGGCGGCGCGACCTGCTAATGCTAA  
 GGATCCCGGA

## 【化 3】

配列番号3 および57 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggt  
 M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
 gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
 D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
 ctgatcccagccccacctctgagcaaggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
 L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
 ttccaggggaagtgggtatgtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
 F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
 gacccgcaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
 D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
 acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
 T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
 tgccagcccgaggagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
 C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
 ctgctccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatggtgttcttcaagaaagtt  
 L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
 tctcaaaacagggagtgacttcaagatcacccctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
 S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
 gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
 E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
 gtcttccctgtcccaatcgaccagtgtatcgacggcgaggttagcgaaaacctgtatttt  
 V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
 cagggaggcgatacctgcggcgagcggtataatgtggatcagcgctcgtagccaatagcggc  
 Q G G D T C G S G Y N V D Q R R T N S G  
 tgcaaagcgggcaatggcgatcgctcatTTTTTgcggctgcgatcgtagccggcggtggaa  
 C K A G N G D R H F C G C D R T G V V E  
 tgcaaagcgggcaatggaccgaagtgcaggattgcggcgagcagcagctgcaaaggcacc  
 C K G G K W T E V Q D C G S S S C K G T  
 agcaatggcggcgcgacctgc  
 S N G G A T C

## 【化 4】

配列番号4 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG-アトラクチン

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAAGATGTATGC  
CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTACACCTCCGTCCTGTTTAG  
GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCCGGCGA  
GTTACACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
TTCAGGGAGGCGATCAGAATTGCGATATTGGCAATATTACCAGCCAGTGCCAGA  
TGCAGCATAAAAATTGCGAAGATGCGAATGGCTGCGATACCATTATTGAAGAAT  
GCAAAACCAGCATGGTGGAACGTTGCCAGAATCAGGAATTTGAAAGCGCGGCG  
GGCAGCACCAACCCTGGGCCCGCAGTAATGCTAAGGATCCCGGA

## 【化 5】

配列番号5 および58 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggt  
M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
ctgatcccagccccacctctgagcaaggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
ttccaggggaagtggatgtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
gacccgcaaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
tgccagccccggcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
ctcgtccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatggtgttcttcaagaaagtt  
L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
tctcaaaacagggagtacttcaagatcacccctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
gtcttccctgtcccaatcgaccagtgtatcgacggcgaggtagcgaaaacctgtatattt  
V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
cagggaggcgatcagaattgcatattggcaatattaccagccagtgccagatgcagcat  
Q G G D Q N C D I G N I T S Q C Q M Q H  
aaaaattgcgaagatgcgaatggctgcatgataccattattgaagaatgcaaaaccagcatg  
K N C E D A N G C D T I I E E C K T S M  
gtggaacggttgccagaatcaggaatttgaaagcgcgggcgagcaccacctgggccccg  
V E R C Q N Q E F E S A A G S T T L G P  
cag  
Q

## 【化 6】

配列番号6 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG- ヘフトキシ

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCCTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
 TTCAGGGAGGCGGCCATGCGTGCTATCGTAATTGCTGGCGTGAAGGCAATGATG  
AAGAAACCTGCAAAGAACGTTGCTAATGCTAAGGATCCCGGACCGCC

## 【化 7】

配列番号7 および59 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggt  
 M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
 gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
 D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
 ctgatcccagccccacctctgagcaaggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
 L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
 ttccaggggaagtgggtatgtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
 F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
 gacccgcaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
 D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
 acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
 T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
 tgccagcccggcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
 C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
 ctgctccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatggtgttcttcaagaaagtt  
 L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
 tctcaaaacagggagtgacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
 S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
 gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
 E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
 gtcttccctgtcccaatcgaccagtgtatcgacggcgaggttagcgaaaacctgtatttt  
 V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
 cagggagggcgccatgctgctatcgtaattgctggcgtgaaggcaatgatgaagaaacc  
 Q G G G H A C Y R N C W R E G N D E E T  
 tgcaaagaacgttgc  
 C K E R C

## 【化 8】

配列番号8 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG- ハナトキシ

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTACCTCCGTCCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCACATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
 TTCAGGGAGGCGAATGCCGTTATCTGTTTGGCGGCTGCAAAACCACCAGCGATT  
GCTGCAAACATCTGGGCTGCAAATTCGTGATAAATATTGCGCGTGGGATTTTA  
CCTTAGCTAATGCTAAGGATCCCGGA

## 【化 9】

配列番号 9 および60 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggt  
 M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
 gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
 D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
 ctgatcccagccccacctctgagcaaggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
 L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
 ttccaggggaagtggatgtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
 F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
 gacccgcaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
 D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
 acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
 T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
 tgccagccccggcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
 C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
 ctcgtccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatgggtgttcttcaagaaagtt  
 L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
 tctcaaaacagggagtagtacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
 S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
 gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
 E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
 gtcttccctgtcccaatcgaccagtgatcgacggcgaggtagcgaaaacctgtatttt  
 V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
 cagggagggcaatgccggttatctgtttggcggctgcaaaaccaccagcgattgctgcaaa  
 Q G G E C R Y L F G G C K T T S D C C K  
 catctgggctgcaaatctcgtgataaatattgcgcgtgggattttaccttttagc  
 H L G C K F R D K Y C A W D F T F S

## 【化 1 0】

配列番号10 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG-キモトリプシン阻害剤

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCCTGTTTAG  
GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
GTTACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
TTCAGGGAGGCGAAATTAGCTGCGAAACCGGGCAAAACCTTTAAAGATAAATGCA  
ATACCTGCCGTTGCGGGCGGGATGGCAAAAGCGCGGCGTGCACCCTGAAAGCG  
TGCCCCGAATCAGTAATGCTAAGGATCCCGGA

## 【化 1 1】

配列番号11 および61 -

atggagacagacacactcctgctatgggtaactgctgctctgggttccaggttccactggt  
M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
ctgatcccagccccacctctgagcaaggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
ttccagggggaagtggtagtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
gacccgcaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
tgccagccccggcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
ctcgtccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatgggtgttcttcaagaaagtt  
L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
tctcaaaacagggagtagtacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttgc  
S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctggtggcctccctgaaaaccacatc  
E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
gtcttccctgtcccaatcgaccagtgatcgacggcggaggtagcgaaaacctgtatattt  
V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
cagggagggcgaaattagctgcgaaccggggcaaaacctttaagataaatgcaataacctgc  
Q G G E I S C E P G K T F K D K C N T C  
cgttgcggcgcggtggcaaaagcgcgggcggtgcacctgaaagcggtgcccgaatcag  
R C G A D G K S A A C T L K A C P N Q

## 【化 1 2】

配列番号 12 - IgK-SF-H6-GGS-Icn2C-GGS-ENLYFQ-GG-トキシンK

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
 TTCAGGGAGGCGTGTGCGCGTGATTGGTTTAAAGAAACCGCGTGCCGTCATGCGA  
AAAGCCTGGGCAATTGCCGTACCAGCCAGAAATATCGTGCGAATTGCGCGAAA  
ACCTGCGAACTGTGCTAATGCTAAGGATCCCGGA

## 【化 1 3】

配列番号 13 および62 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggt  
 M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
 gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
 D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
 ctgatcccagccccacctctgagcaagggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
 L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
 ttccaggggaagtggatgtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
 F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
 gacccgcaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
 D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
 acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
 T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
 tgccagcccggcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
 C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
 ctcgtccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatgggtgttcttcaagaaagtt  
 L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
 tctcaaaacaggagtagtacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
 S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
 gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
 E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
 gtcttccctgtcccaatcgaccagtgatcgacggcgaggttagcgaaaacctgtatttt  
 V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
 cagggaggcggtgtgccgtgattggttttaagaaaccgcgtgccgtcatgcgaaaagcctg  
 Q G G V C R D W F K E T A C R H A K S L  
 ggcaattgccgtaccagccagaaatatcggtgcgaattgcgcgaaaacctgcgaactgtgc  
 G N C R T S Q K Y R A N C A K T C E L C

## 【化 1 4】

配列番号 14 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG-EGFエピレグリン・コア

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCCAGGTTCCTACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
 TTCAGGGAGGCGCTGAGCATTACCAAATGCAGCAGCGATATGAATGGCTATTGCC  
TGCATGGCCAGTGCATTTATCTGGTGGATATGAGCCAGAATTATTGCCGTTGCC  
AAGTGGGCTATACCGGCGTGCGTTGCGAACATTTTTTCTGTAATGCTAAGGAT  
 CCCGGA

## 【化 1 5】

配列番号 15 および63 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggt  
 M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
 gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatggtggaagccaggactccacctcagac  
 D Y K D E H H H H H G G S Q D S T S D  
 ctgatcccgagccccacctctgagcaaggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
 L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
 ttccaggggaagtggtagtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
 F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
 gaccgcgaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
 D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
 acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
 T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
 tgccagccccggcgaggttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
 C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
 ctgctccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatggtgttcttcaagaaagtt  
 L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
 tctcaaaacagggagtagtacttcaagatcacccctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
 S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
 gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
 E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
 gtcttccctgtcccaatcgaccagtgtagtgcacggcgaggttagcgaaaacctgtatttt  
 V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
 cagggaggcgtgagcattaccaaagtgcagcagcgatatgaatggctattgcctgcatggc  
 Q G G V S I T K C S S D M N G Y C L H G  
 cagtgcattttatctggtggatatgagccagaattattgccggttgcaagtgggctatacc  
 Q C I Y L V D M S Q N Y C R C E V G Y T  
 ggcggtgcggttgcaaacatttttttctg  
 G V R C E H F F L

## 【化 1 6】

配列番号 16 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG- サーキュリン

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
 TTCAGGGAGGCGGCATTCCGTGCGGCGAAAGCTGCGTGTGGATTCCGTGCATTA  
GCGCGGCGCTGGGCTGCAGCTGCAAAAATAAAGTGTGCTATCGTAATTAATGC  
TAAGGATCCCGGA

## 【化 1 7】

配列番号 17 および64 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggt  
 M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
 gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
 D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
 ctgatcccagccccacctctgagcaaggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
 L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
 ttccaggggaagtggatgtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
 F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
 gaccgcgcaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
 D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
 acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
 T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
 tgccagccccggcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
 C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
 ctgctccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatgggtgttcttcaagaaagtt  
 L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
 tctcaaaacagggagtacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
 S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
 gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
 E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
 gtcttccctgtcccaatcgaccagtgatcgacggcgaggtagecgaaaacctgtatttt  
 V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
 cagggagggcggtattccgtgcgggcgaaagctgctgtgtggattccgtgcattagcgcgggcg  
 Q G G G I P C G E S C V W I P C I S A A  
 ctgggctgcagctgcaaaaataaagtgtgctatcgtaat  
 L G C S C K N K V C Y R N

## 【化 1 8】

配列番号 18 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG- ブラゼイン

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAAGATGTATGC  
CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCTGTTTAG  
GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
GTTACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
TTCAGGGAGGCCAGGATAAATGCAAAAAAGTGTATGAAAATTATCCGGTGAGCA  
AATGCCAGCTGGCGAATCAGTGCAATTATGATTGCAAACTGGATAAACATGCGC  
GTAGCGGCGAATGCTTTTATGATGAAAAACGTAATCTGCAGTGCATTGCGATT  
ATTGCGAATATTAATGCTAAGGATCCCGGA

## 【化 1 9】

配列番号 19 および65 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggt  
M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatggtggaagccaggactccacctcagac  
D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
ctgatcccagccccacctctgagcaaggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
ttccagggggaagtggtagtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
gacccgcaaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
tgccagcccggcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
ctcgtccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatggtgttcttcaagaaagtt  
L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
tctcaaaacagggagtagtacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
gtcttccctgtcccaatcgaccagtgatcgacggcggaggtagcgaaaacctgtatattt  
V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
cagggaggccaggataaatgcaaaaaagtgtatgaaaattatccggtgagcaaatgccag  
Q G G Q D K C K K V Y E N Y P V S K C Q  
ctggcgaatcagtgcaattatgattgcaaaactggataaacatgcgcgtagcggcgaatgc  
L A N Q C N Y D C K L D K H A R S G E C  
ttttatgatgaaaaacgtaatctgcagtgcatatttgcgattatttgcgaatat  
F Y D E K R N L Q C I C D Y C E Y

## 【化 2 0】

配列番号 20 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG- クロロトキシン

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTACCTCCGTCCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
 TTCAGGGAGGCATGTGCATGCCGTGCTTTACCACCGATCATCAGATGGCGCGTA  
AATGCGATGATTGCTGCGGCGGCAAAGGCCGTGGCAAATGCTATGGCCCCGAG  
TGCCTGTGCCGTTAATGCTAAGGATCCCGGA

## 【化 2 1】

配列番号 21 および66 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggtccaggttccactggt  
 M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
 gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
 D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
 ctgatcccagccccacctctgagcaagggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
 L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
 ttccaggggaagtggatgtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
 F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
 gacccgcaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
 D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
 acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
 T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
 tgccagcccgcgaggttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
 C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
 ctcgtccgagtggtagcaccaactacaaccagcatgctatgggtgttcttcaagaaagtt  
 L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
 tctcaaaacagggagtacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
 S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
 gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
 E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
 gtcttccctgtcccaatcgaccagtgtatcgacggcgaggttagcgaaaacctgtatttt  
 V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
 cagggaggcatgtgcatgccgtgctttaccaccgatcatcagatggcgcgtaaagtgcgat  
 Q G G M C M P C F T T D H Q M A R K C D  
 gattgctgcgggcggaagggccgtggcaaatgctatggcccgagtgccctgtgccgt  
 D C C G G K G R G K C Y G P Q C L C R

B a m H 1 / N o t I クローニングのための親構築物の構築：

## 【化 2 2】

配列番号 22 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GS- 親配列

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCCGGCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
 TTCAGGGATCCTAATGTTGGCCATGATGTTAGGCGGCCGCTAAGGATCCCGGA

BamHI部位: GGATCC

NotI部位: GCGGCCGC

B a m H I 部位が、ノッチンの前に「G S」を付加する。この構築物は、ライブラリーをクローニングするために用いることができる。

フリン開裂のための親構築物の構築。B a m H I / N o t I クローニングは理想的なフリン切断部位: RARYKRS (配列番号67) - RARYKRS (配列番号68) を含むことができ、それは B a m H I 部位に用いることができる。

## 【化 2 3】

配列番号 23 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-furin-GS- 親配列

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCCGGCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCcgcgcgctataaacgcG  
 GATCCTAATGTTGGCCATGATGTTAGGCGGCCGCTAAGGATCCCGGA

## 【化 2 4】

配列番号 24 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GS- ミドカイン

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCACATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
 TTCAGAGCGATTGCAAATATAAATTTGAAAACCTGGGGCGCGTGCGATGGCGGCACC  
 GGCACCAAAGTGCGCCAGGGCACCTGAAAAAAGCGCGCTATAACGCGCAGTGCCA  
 GGAAACCATTTCGCGTGACCAAACCGTGCTAATGCTGGATCCCGGACCGCCTCTCC

## 【化 2 5】

配列番号 25 および69 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccagggtccactggt  
 M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
 gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
 D Y K D E H H H H H G G S Q D S T S D  
 ctgatcccagccccacctctgagcaaggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
 L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
 ttccaggggaagtgggtatgtggtaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
 F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
 gaccgcgaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
 D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
 acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccagggt  
 T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
 tgccagccccggcgaggttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
 C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
 ctgctccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatgggtgttcttcaagaaagtt  
 L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
 tctcaaaacagggagtgacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
 S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
 gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
 E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
 gtcttccctgtcccaatcgaccagtgtatcgacggcgaggtagcgaaaacctgtatttt  
 V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
 cagagcgattgcaaataataaatttgaaaactggggcgcggtgcatggcggcacccggcacc  
 Q S D C K Y K F E N W G A C D G G T G T  
 aaagtgcgccagggcacctgaaaaaagcgcgctataacgcgcagtgccaggaaaccatt  
 K V R Q G T L K K A R Y N A Q C Q E T I  
 cgcgtagccaaaccgtgc  
 R V T K P C

## 【化 2 6】

配列番号 26 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG- バイオラシンA (Violacin A)

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
TGCTCTGGGTTCCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCCTGTTTAG  
GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
GTTACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
TTCAGGGAGGCAGCGCCATCAGCTGCGGCGAGACCTGCTTCAAGTTCAAGTGCTAC  
ACCCCCAGATGCAGCTGCAGCTACCCCGTGTGCAAGTAAGCTAAGGATCCCGGACC  
GCC

## 【化 2 7】

配列番号 27 および70 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccagggttccactggt  
M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
ctgatcccagccccacctctgagcaagggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
ttccaggggaagtggtagtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
gacccgcaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccagggt  
T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
tgccagccccggcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
ctcgtccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatggtgttcttcaagaaagtt  
L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
tctcaaaacagggagtgacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
gtcttccctgtcccaatcgaccagtgtatcgacggcgaggttagcgaaaacctgtatttt  
V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
cagggaggcagcgccatcagctgcggcgagacctgcttcaagttcaagtgctacaccccc  
Q G G S A I S C G E T C F K F K C Y T P  
agatgcagctgcagctacccccgtgtgcaag  
R C S C S Y P V C K

## 【化 2 8】

配列番号 28 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG-λトキシン

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAAGATGTATGC  
CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTACCTCCGTCCTGTTTAG  
GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
GTTACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCACATCG  
TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
TTCAGGGAGGCGTGTGCTGCGGCTACAAGCTGTGCCACCCCTGCTAAGCTAAGGATC  
CCGGACC

## 【化 2 9】

配列番号 29 および1 -

atggagacagacacactcctgctatgggtaactgctgctctgggttccaggttccactggt  
M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
ctgatcccagccccacctctgagcaagggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
ttccaggggaagtggatgtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
gacccgcaaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggactttttgttccaggt  
T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
tgccagcccgcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
ctcgtccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatgggtgttcttcaagaaagtt  
L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
tctcaaaacagggagtacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
gaactaaaggagaacttcatccgttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
gtcttccctgtcccaatcgaccagtgatcgacggcggaggtagcgaaaacctgtatttt  
V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
cagggagggcgtgtgctgctgctgctacaagctgtgccacccctgc  
Q G G V C C G Y K L C H P C

## 【化 3 0】

配列番号 30 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG- λトキシンNG

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
TGCTCTGGGTTCAGGTTCCACTGGTGACTACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAGACCCGCAAAAGATGTATGC  
CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCTCTGTTTAG  
GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
GTTACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
TTCAGGGAGGCAACGGCGTGTGCTGCGGCTACAAGCTGTGCCACCCCTGCTAAGCT  
AAGGATCCCGGACC

## 【化 3 1】

配列番号 31 および72-

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggt  
M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
ctgatcccgagccccacctctgagcaagggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
ttccaggggaagtggatgtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
gacccgcaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
tgccagccccggcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
ctcgtccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatgggtgttcttcaagaaagtt  
L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
tctcaaaacagggagtagtacttcaagatcacccctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
gtcttccctgtcccaatcgaccagtgtatcgacggcgaggttagcgaaaacctgtatctt  
V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
cagggaggcaacggcgtgtgctgctgctgctacaaagctgtgccacccctgc  
Q G G N G V C C G Y K L C H P C

## 【化 3 2】

配列番号 32 - IgK-SF-H6-GGS-lcn2C-GGS-ENLYFQ-GG-ジャガイモカルボキシペプチダーゼ阻害剤

GACTGAGTCGCCCCGCTCGAGACCATGGAGACAGACACTCCTGCTATGGGTACTGC  
 TGCTCTGGGTTCCAGGTTCCACTGGTGAACAAGGACGAGCATCACCATCATCACC  
 ATGGTGGAAGCCAGGACTCCACCTCAGACCTGATCCCAGCCCCACCTCTGAGCAAG  
 GTCCCTCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAACCAATTCCAGGGGAAGTGGTATGTGGTA  
 GGCCTGGCAGGGAATGCAATTCTCAGAGAAGACAAAAGACCCGCAAAAAGATGTATGC  
 CACCATCTATGAGCTGAAAGAAGACAAGAGCTACAATGTCACCTCCGTCCTGTTTAG  
 GAAAAAGAAGTGTGACTACTGGATCAGGACTTTTGTTCAGGTTGCCAGCCCGGCGA  
 GTTCACGCTGGGCAACATTAAGAGTTACCCTGGATTAACGAGTTACCTCGTCCGAGT  
 GGTGAGCACCAACTACAACCAGCATGCTATGGTGTCTTCAAGAAAGTTTCTCAAAA  
 CAGGGAGTACTTCAAGATCACCTCTACGGGAGAACCAAGGAGCTGACTTCGGAAC  
 TAAAGGAGAACTTCATCCGCTTCTCCAAATCTCTGGGCCTCCCTGAAAACCATCG  
 TCTTCCCTGTCCCAATCGACCAGTGTATCGACGGCGGAGGTAGCGAAAACCTGTATT  
 TTCAGGGAGGCcagcagcatgcggatccgatttgaacaaaccgtgcaaaaccatgatgattgcagcggcgctggtttgcc  
 aggcgtgctggaacagcgcgcgcacctgcggcccgtatgtgggcTAATGCTAAGGATCCCGGACCG

## 【化 3 3】

配列番号 33 および73 -

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggt  
 M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G  
 gactacaaggacgagcatcaccatcatcaccatgggtggaagccaggactccacctcagac  
 D Y K D E H H H H H H G G S Q D S T S D  
 ctgatcccagccccacctctgagcaaggtccctctgcagcagaacttccaggacaaccaa  
 L I P A P P L S K V P L Q Q N F Q D N Q  
 ttccaggggaagtggatgtggttaggcctggcaggggaatgcaattctcagagaagacaaa  
 F Q G K W Y V V G L A G N A I L R E D K  
 gacccgcaaaagatgtatgccaccatctatgagctgaaagaagacaagagctacaatgtc  
 D P Q K M Y A T I Y E L K E D K S Y N V  
 acctccgtcctgttttaggaaaaagaagtgtgactactggatcaggacttttgttccaggt  
 T S V L F R K K K C D Y W I R T F V P G  
 tgccagcccggcgagttcacgctgggcaacattaagagttaccctggattaacgagttac  
 C Q P G E F T L G N I K S Y P G L T S Y  
 ctgctccgagtggtgagcaccaactacaaccagcatgctatgggtgttcttcaagaaagtt  
 L V R V V S T N Y N Q H A M V F F K K V  
 tctcaaaacagggagtacttcaagatcacctctacgggagaaccaaggagctgacttcg  
 S Q N R E Y F K I T L Y G R T K E L T S  
 gaactaaaggagaacttcatccgcttctccaaatctctgggcctccctgaaaaccacatc  
 E L K E N F I R F S K S L G L P E N H I  
 gtcttccctgtcccaatcgaccagtgtatcgacggcgaggttagcgaaaacctgtatttt  
 V F P V P I D Q C I D G G G S E N L Y F  
 cagggaggccagcagcatgcggatccgatttgaacaaaccgtgcaaaaccatgatgat  
 Q G G Q Q H A D P I C N K P C K T H D D  
 tgcagcggcgctggttttggcaggcgtgctggaacagcgcgcgcacctgcggcccgtat  
 C S G A W F C Q A C W N S A R T C G P Y  
 gtgggctaa  
 V G