(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2015-522567
(P2015-522567A)
(43)公表日　平成27年8月6日(2015.8.6)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28	ZNA	4B024
G01N 33/574	(2006.01)	G01N	33/574	A	4B063
G01N 33/573	(2006.01)	G01N	33/573	A	4C084
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	C	4C085
A61P 35/00	(2006.01)	A61K	39/395	E	4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 98 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2015-517440 (P2015-517440)
(86)(22)出願日　平成25年6月13日 (2013.6.13)
(85)翻訳文提出日　平成27年1月30日 (2015.1.30)
(86)国際出願番号　PCT/US2013/045745
(87)国際公開番号　WO2013/188715
(87)国際公開日　平成25年12月19日 (2013.12.19)
(31)優先権主張番号　61/659,049
(32)優先日　平成24年6月13日 (2012.6.13)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　514318091
ユニバーシティ　オブ　バージニア　パテント　ファウンデーション　ディー／ビー／エイ　ユニバーシティ　オブ　バージニア　ライセンシング　アンド　ベンチャーズ　グループ
UNIVERSITY OF VIRGINIA PATENT FOUNDATION, D／B／A UNIVERSITY OF VIRGINIA LICENSING & VENTURES GROUP
アメリカ合衆国　２２９０２　バージニア州　シャーロッツビル　ウエスト　メイン　ストリート　２５０　スウィート　３０
最終頁に続く

(54)【発明の名称】がんを治療するための組成物及び方法

(57)【要約】
本発明は、免疫毒素の技術を使用してＳＡＳ１Ｂ陽性のがん細胞を標的化するための組成物を提供し、かつ腎臓及び膵臓のがん細胞はＳＡＳ１Ｂ陽性であるが正常な腎臓及び膵臓の細胞は陽性でないことを開示する。本発明は、正常組織の中では雌性の成長している卵母細胞においてのみ発現しているにもかかわらず、ＳＡＳ１Ｂが男性及び女性いずれのがん細胞においても発現していることを開示する。

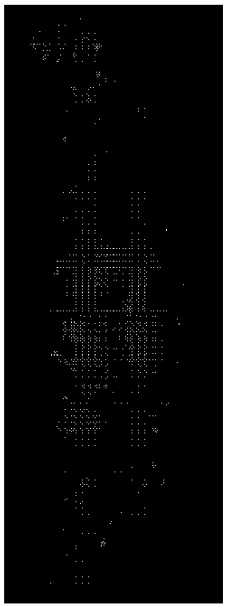


Fig.1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
細胞毒性薬にコンジュゲートせしめられたＳＡＳ１Ｒ抗原に特異的な抗体又は前記抗体の結合性フラグメントを含む、免疫毒素分子。
【請求項２】
細胞毒性薬はＩ型リボソーム不活性化タンパク質である、請求項１に記載の免疫毒素分子。
【請求項３】
Ｉ型リボソーム不活性化タンパク質はサポリンである、請求項２に記載の分子の免疫毒素。
【請求項４】
抗体はモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、又はヒト化抗体である、請求項１に記載の免疫毒素分子。
【請求項５】
抗体の結合性フラグメントはＦ（ａｂ’）$_2$、Ｆ（ａｂ）$_2$、Ｆａｂ’、又はＦａｂである、請求項１に記載の免疫毒素分子。
【請求項６】
請求項１に記載の免疫毒素と、生理学的に許容可能な担体とを含む組成物。
【請求項７】
がん細胞を殺滅し、阻害し、又は脱落させる方法であって、それを必要とする対象者に、請求項１に記載の少なくとも１つの免疫毒素分子を投与することを含む方法。
【請求項８】
がんは、癌腫（例えば頭頸部扁平上皮細胞癌）、肉腫、子宮がん、卵巣がん、肺がん、腺癌、肺の腺癌、扁平上皮癌、肺の扁平上皮癌、悪性混合ミュラー腫瘍、白血病、リンパ腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、前立腺がん、膵臓がん、腎臓がん、膀胱及び類内膜癌からなる群から選択される、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
がんを治療する方法であって、それを必要とする対象者に治療上有効な用量の免疫毒素コンジュゲートを投与することを含み、
前記免疫毒素コンジュゲートは、細胞毒性薬にコンジュゲートせしめられた抗体又は前記抗体の結合性フラグメントを含み、前記免疫毒素コンジュゲートの前記抗体はがん細胞上のＳＡＳ１Ｒに結合し、かつ細胞上のＳＡＳ１Ｒ分子への前記免疫毒素分子の結合により、ＳＡＳ１Ｒを発現している細胞の殺滅、脱落、又は増殖阻害がもたらされる、方法。
【請求項１０】
細胞毒性薬はＩ型リボソーム不活性化タンパク質である、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
Ｉ型リボソーム不活性化タンパク質はサポリンである、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
抗体はモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、又はヒト化抗体である、請求項９に記載の方法。
【請求項１３】
抗体の結合性フラグメントはＦ（ａｂ’）$_2$、Ｆ（ａｂ）$_2$、Ｆａｂ’、又はＦａｂである、請求項９に記載の方法。
【請求項１４】
がんは、癌腫（例えば頭頸部扁平上皮細胞癌）、肉腫、子宮がん、卵巣がん、肺がん、腺癌、肺の腺癌、扁平上皮癌、肺の扁平上皮癌、悪性混合ミュラー腫瘍、白血病、リンパ腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、前立腺がん、膵臓がん、腎臓がん、膀胱及び類内膜癌で構成されている群から選択される、請求項９に記載の方法。
【請求項１５】
がんを治療する方法であって、治療上有効な用量の、がん細胞上のＳＡＳ１Ｒに結合す

る第１の抗体又は前記抗体のフラグメント、及び第１の抗体に結合する第２の抗体であって細胞毒性薬にコンジュゲートせしめられた第２の抗体を、投与することを含む、方法。
【請求項１６】
抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、又はヒト化抗体である、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
抗体の結合性フラグメントはＦ（ａｂ’）$_2$、Ｆ（ａｂ）$_2$、Ｆａｂ’、又はＦａｂである、請求項１５に記載の方法。
【請求項１８】
細胞毒性薬はＩ型リボソーム不活性化タンパク質である、請求項１５に記載の方法。
【請求項１９】
Ｉ型リボソーム不活性化タンパク質はサポリンである、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
卵巣がん、子宮がん、膀胱がん、腎臓がん、膵臓がん又は頭頸部扁平上皮細胞癌（ＨＮＳＣＣ）を診断する方法であって、対象者の卵巣、子宮、膀胱、腎臓、膵臓又は頭頸部からの生体試料中のＳＡＳ１Ｂを測定すること、及び、前記対象者の卵巣、子宮、膀胱、腎臓、膵臓又は頭頸部からの生体試料中のＳＡＳ１Ｂの存在に基づいて前記対象者における卵巣がん、子宮がん、膀胱がん、腎臓がん、膵臓がん又は頭頸部扁平上皮細胞癌（ＨＮＳＣＣ）を診断することを含む方法。
【請求項２１】
対象者は哺乳動物である、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
ＳＡＳ１ＢはＳＡＳ１Ｂのタンパク質、ｍｉＲＮＡ又はｍＲＮＡである、請求項２０に記載の方法。
【請求項２３】
検出は分析デバイス及び分析プログラムを用いて結果を分析することを含む、請求項２０に記載の方法。
【請求項２４】
分析デバイスはコンピュータを含む、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
分析デバイスは配列分析装置を含む、請求項２４に記載の方法。
【請求項２６】
ＳＡＳ１Ｂのタンパク質、ｍｉＲＮＡ又はｍＲＮＡのレベルは分析デバイス及び分析プログラムで定量化される、請求項２３に記載の方法。
【請求項２７】
前記ＳＡＳ１Ｂのタンパク質、ｍｉＲＮＡ又はｍＲＮＡは、ＥＬＩＳＡ、イムノアッセイ、免疫蛍光検査法、免疫組織化学法、免疫沈降、ノーザンブロット法、ウエスタンブロット法、ＰＣＲ法、質量分析、及び表面プラズモン共鳴からなる群から選択された方法を使用して検出される、請求項２０に記載の方法。
【請求項２８】
試料は組織生検である、請求項２０に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、がんを治療するための組成物及び方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
背景
メタロエンドペプチダーゼのアスタシンファミリーは、１９９０年代にプロテアーゼの新しいファミリーとして認められた。アスタシンはメタロプロテイナーゼのメトジンシン

スーパーファミリーのサブファミリーである。最初に特性解析がなされたのはザリガニ酵素のアスタシンである。現在までに２００を超えるこのファミリーのメンバーが、細菌からヒトに至る生物種において同定されてきた。アスタシンは、発生上の形態形成、マトリクス集合、組織分化、および消化に関与する。ファミリーのメンバーには、プロコラーゲンＣ‐プロテイナーゼ（ＢＭＰ１、骨形態形成タンパク質１）、トロイド及び哺乳類トロイド様（ｍａｍｍａｌｉａｎ　ｔｏｌｌｏｉｄ－ｌｉｋｅ）、ＨＭＰ（ヒドラ・ブルガリス（Ｈｙｄｒａ　ｖｕｌｇａｒｉｓ）のメタロプロテイナーゼ）、ウニのＢＰ１０（胞胚タンパク質）及びＳＰＡＮ（アメリカムラサキウニ（Ｓｔｒｏｎｇｙｌｏｃｅｎｔｒｏｔｕｓ　ｐｕｒｐｕｒａｔｕｓ）のアスタシン）、アルベオリン（ａｌｖｅｏｌｉｎ）を含む「ハッチング（孵化）」サブファミリー、オバスタシン（ｏｖａｓｔａｃｉｎ）、ＬＣＥ、ＨＣＥ（「低（ｌｏｗ）」及び「高（ｈｉｇｈ）」卵膜破壊酵素（ｃｈｏｒｉｏｌｙｔｉｃ　ｅｎｚｙｍｅ））、ネフロシン（ｎｅｐｈｒｏｓｉｎ）（コイの頭腎に由来）、カエル由来のＵＶＳ．２、並びにメプリンが挙げられる。ヒト及びマウスのゲノムには、６個のアスタシンファミリー遺伝子（２個のメプリン、３個のＢＭＰ１／トロイド様、１個のオバスタシン）が存在するが、線虫（Ｃａｅｎｏｒｈａｂｄｉｔｉｓ　ｅｌｅｇａｎｓ）では４０個存在する。

【０００３】

アスタシンファミリーは、特有の１８アミノ酸のシグネチャ配列を特徴とし、該配列は、ほとんどのメタロエンドペプチダーゼに見出される５アミノ酸の亜鉛結合モチーフで始まる（ボンド（Ｂｏｎｄ）及びベニョン（Ｂｅｎｙｏｎ）、１９９５年の総説を参照されたい）。該シグネチャ配列は、完全な成熟型ザリガニアスタシンであり該ファミリーの全メンバーの触媒すなわちプロテアーゼドメインである、およそ２００アミノ酸の配列の一部である。シグナル配列およびプロ配列もファミリーのメンバーの共通した特徴であるが、ＱｕＣＡＭ‐１は例外の可能性があり；上記のＮＨ２末端ドメインはこのタンパク質についてはまだ見つかっていない。最近まで単にプロテアーゼドメインで始まる成熟タンパク質として研究されていたアスタシンは、今では４９残基のプレプロセグメントを含有することが知られている。この一過性シグナルペプチドは該タンパク質を生合成中の小胞体の中へと向かわせるが、このことはこれまでに研究された該ファミリーのタンパク質がすべて分泌されるか原形質膜結合型であるという知見と一致している。プロ配列の大きさは極めて多様であって、ショウジョウバエのトロイド関連１（Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ　ｔｏｌｌｏｉｄ－ｒｅｌａｔｅｄ－１、ＤｒＴ／ｒ‐１）については５１９個ものアミノ酸を含有しており、該プロテアーゼの調節活性及び恐らくは発現にとって重要である可能性が高い。例えば後者に関しては、ＤｒＴ／ｒ‐１の大きなプロ配列は、細胞周期が非常に短い胚発生の初期段階においてこの遺伝子産物の発現を抑えることが示唆されてきた。

【０００４】

メプリンは亜鉛依存性の膜結合型プロテアーゼであり、メタロプロテイナーゼの「アスタシンファミリー」のメンバーである（非特許文献１；非特許文献２）。この酵素はマルチドメインのオリゴマータンパク質である。その発現は転写及び翻訳のレベルで高度に調節されている。典型的には、該タンパク質は極性を有する上皮細胞の頂端側細胞膜に対して標的設定されている（非特許文献３）。様々な生長因子、サイトカイン、及び細胞外マトリックスタンパク質がメプリンの基質である。メプリンは白血球、がん細胞並びに腸及び腎臓において同定済みである。メプリンα及びβいずれの遺伝子も様々ながん細胞で発現される。結腸直腸の腫瘍組織では、メプリンαのｍＲＮＡ、免疫反応性タンパク質及び酵素活性が検出される。しかしながら、正常な結腸とは対照的に、メプリンαサブユニットは腫瘍の間質内に分泌され、該間質内において蓄積し、かつ免疫組織化学的方法によって検出可能である。この異常な分泌の機構は、メプリンαを内因的に発現する結腸腺癌細胞株（Ｃａｃｏ‐２）を使用して示された。ｔｒａｎｓｗｅｌｌ（登録商標）フィルタ支持体上で培養されると、メプリンは頂端側及び側底側の細胞膜ドメインから等しく分泌される。上皮細胞層の側底側において、メプリンαは、腸の繊維芽細胞由来のｕＰＡによって触媒された活性化プロセスによりプラスミノーゲンから生成されるプラスミンによって

、活性化される可能性がある（ロスマン（Ｒｏｅｓｍａｎｎ）ら、２００２年）。メプリンの発現は、腫瘍細胞の浸潤及び遊走において役割を担う可能性があり、かつそうすることで腫瘍の進行に関与する可能性がある（ステルキ（Ｓｔｅｒｃｈｉ）ら、２００８年；非特許文献４）。

【０００５】

ケサダ（Ｑｕｅｓａｄａ）ら（非特許文献５）は、マウス及びヒトから新規なタンパク質を単離し、その卵巣組織における顕著な発現及びアスタシンとの明白な類似から、該タンパク質を「オバスタシン（ｏｖａｓｔａｃｉｎ）」と命名した。ケサダは胚の孵化のプロセスに関与する候補メタロプロテイナーゼを探しており、新規なアスタシンメタロプロテイナーゼの探索にＢＬＡＳＴアルゴリズムを使用した。彼らはマウス及びヒトにおいて新規なタンパク質を発見して配列決定を行い、ヒトの遺伝子について場所をヒト染色体２ｑ１１．１に特定した。コンピュータ分析から、Ｎ末端シグナルペプチド、亜鉛依存性メタロプロテアーゼドメイン、及び恐らくプロテアーゼ潜伏時間の維持に関与するプロドメインが明らかとなった。しかしながら、オバスタシンは他のアスタシンでは見られない付加的な１５０アミノ酸のＣ末端ドメインを有することが見出された。ケサダらはさらに、該タンパク質がメタロプロテアーゼ活性を有すること、及び卵巣以外の正常組織では発現されないことも示した。彼らは、オバスタシンのその正常な機能がより下等な生物種のアスタシンファミリーである「孵化酵素」に似ていると考えられることを示唆した。加えて彼らは、オバスタシンがリンパ腫及び白血病の細胞株を含む一部のがん細胞において、ただし試験された５つの卵巣癌のうち２つのみにおいて発現されること、並びにそれはＲＴ‐ＰＣＲを使用してのみ検出可能であることを見出した。他のグループは最近ではオバスタシンを「アスタシン様タンパク質（Ａｓｔａｃｉｎ Ｌｉｋｅ ｐｒｏｔｅｉｎ）」（ＡＳＴＬ）と呼んでいる。

【０００６】

本明細書中ではＺＥＰ、ＳＡＳ１Ｒ、及びＳＡＳ１Ｂとも呼ばれるオバスタシンは近年では、配偶子融合の時に透明帯糖タンパク質ＺＰ２を開裂するためのエンドプロテアーゼとして作用することにより多精子受精の防止に関与するとされている（非特許文献６）。

【０００７】

ケサダが「オバスタシン」を発見したのとほぼ同時期に、別のグループがこれを単離して最初は亜鉛エンドペプチダーゼ（ＺＥＰ）と称し（マーンダル（Ｍａｎｄａｌ）らの２００６年８月３１日公開の国際特許出願である特許文献１）、その後、精子タンパク質ＳＬＬＰ１と相互作用することを上記グループが見出した卵母細胞タンパク質であることから精子先体ＳＬＬＰ１受容体（Ｓｐｅｒｍ Ａｃｒｏｓｏｍａｌ ＳＬＬＰ１ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ）（「ＳＡＳ１Ｒ」）と称した（非特許文献７；ヘル（Ｈｅｒｒ）らの２０１０年５月１４日公開の国際特許出願である特許文献２）。

【０００８】

マーンダル（Ｍａｎｄａｌ）ら（特許文献１）は、ＺＥＰが２つのバリアント、予測膜貫通ドメインを示す配列、切断部位、及び亜鉛結合シグネチャを有することを示した。マーンダルらは、ＺＥＰがニホンウナギであるアンギラ・ジャポニカ（Ａｎｇｕｉｌｌａ ｊａｐｏｎｉｃａ）の孵化酵素ＥＨＥ７に相同であることを指摘し、ＺＥＰがマウスの胚発生において類似の機能を果たしているかもしれないと仮定した。マーンダルの生物情報科学分析は、該タンパク質が２つのグリコシル化部位、リン酸化部位、及びミリスチル化部位を有することを示した。マーンダルらは、該部位が膜タンパク質を示唆すること、及び膜貫通トポロジーも該タンパク質のＮ末端に強い膜貫通ドメインを予測したことに注目した。それらのデータから、該タンパク質が卵子特異的であること、及び卵子表面において微絨毛領域に局在するが発生的に調節されることが示された。該データはさらに、ＺＥＰと精子表面タンパク質ＳＬＬＰ１との間の相互作用も示唆した。

【０００９】

マーンダル（Ｍａｎｄａｌ）らの文献（非特許文献７）では、同グループはＺＥＰをＳＡＳ１Ｒと呼び始めた。該著者らは、ＳＡＳ１Ｒが成熟した生きた卵母細胞の微絨毛ドメ

インに局在し、受精後には著しく失われて胚盤胞では事実上検出不可能であることを見出した。該著者らは、完全長のＳＡＳ１ＲのｃＤＮＡ構築物を用いたＣＨＯ‐Ｋ１細胞のトランスフェクションにより、該タンパク質を非透過性細胞の表面上で発現させることが可能になることを示したが、これは活性のある膜貫通ドメインの存在を示している。該著者らはさらに、プロテアーゼ特性及びＳＡＳ１Ｒが精子タンパク質ＳＬＬＰ１の受容体として作用する能力について記述している。

【００１０】

ヘル（Ｈｅｒｒ）ら（２０１０年５月１４日公開の国際特許出願である特許文献２）が見出したのは、天然型ＳＡＳ１Ｒが組換えＳＬＬＰ１への結合を示すこと、並びに結合型組換えＳＡＳ１Ｒは組換えＳＬＬＰ１を捕捉し；ＳＡＳ１Ｒ及びＳＬＬＰ１は酵母のツーハイブリッド分析により分子結合特性が明らかになり；組換えＳＡＳ１Ｒの免疫沈降により組換えＳＬＬＰ１が回収され、かつ免疫沈降せしめられた組換えＳＬＬＰ１はウサギ網状赤血球抽出液から組換えＳＡＳ１Ｒを回収し；組換えＳＬＬＰ１は卵母細胞の微絨毛ドメインに結合して天然型ＳＡＳ１Ｒとともに共局在化し；組換えＳＡＳ１Ｒは精子の先体に結合して天然型ＳＬＬＰ１とともに共局在化し；精子先体マトリックス由来の天然型ＳＬＬＰ１は天然型ＳＡＳ１Ｒとともに局在化し；かつ、天然型ＳＡＳ１Ｒ及び天然型ＳＬＬＰ１は卵母細胞及び精子の非イオン性界面活性剤抽出物の混合物から共沈すること、である。ヘル（Ｈｅｒｒ）らはさらに、体外受精のために取り出された生きたヒト卵子上にＳＡＳ１Ｒが局在すること、及び対象者への外来ＳＡＳ１Ｒの投与はＳＡＳ１Ｒに対する免疫応答を誘発することも示した。ヘルらはさらに、思春期の卵形成においても成人の卵形成においても、出生後の卵形成時の二層性二次卵胞においてＳＡＳ１Ｒタンパク質が最初に生じることを実証した。このパターンは動物の年齢に関係なく一定である。成体マウスの卵巣では、ＳＡＳ１Ｒの染色は二次卵胞及びその後のすべての段階において卵母細胞に限定される。原始卵母細胞及び一次卵母細胞はいずれの発生段階でもＳＡＳ１Ｒについて染色されない。ヘルらは、ＳＡＳ１Ｒについて染色される卵巣内の唯一の細胞種が卵母細胞であること、及びＳＡＳ１Ｒの存在が発生的に調節されていることを見出した。

【００１１】

ヘル（Ｈｅｒｒ）ら（２０１２年２月９日に公開された特許文献３）は、ＳＡＳ１Ｒが、卵巣、子宮、肺及び膀胱のがん細胞及び腫瘍、並びに卵巣がん幹細胞株を含む、様々ながんにおいて発現されるが、その分化した相当物においては発現されないことを示した。ヘルらはさらに、ＳＡＳ１Ｒが細胞表面タンパク質であることも示した。

【００１２】

リボソーム不活性化タンパク質（ＲＩＰ）は、不可逆的な方式でリボソームを、かつ恐らくは他の基質を損傷する、植物の酵素である。ＲＩＰは主として、一本鎖タンパク質で構成されている１型（例えばサポリン‐Ｓ６（ＳＡＰ；サポナリア・オフィチナーリス・Ｌ．（Ｓａｐｏｎａｒｉａ　ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ　Ｌ．）の種子由来））と、酵素のＡ鎖がレクチンの性質を有するＢ鎖に連結されたもので構成されている２型とに分類される。ＲＩＰに対する関心は主として、標的細胞に対して特異的に毒性であるコンジュゲートを得るための、モノクローナル抗体（ｍＡｂ）又は他の分子のような適切な担体に連結された後の潜在的適用に由来している。

【先行技術文献】

【特許文献】

【００１３】

【特許文献１】国際公開第２００６／０９１５３５号

【特許文献２】国際公開第２０１０／０５４１８７号

【特許文献３】国際公開第２０１２／０１９１８４号

【非特許文献】

【００１４】

【非特許文献１】ボンド（Ｂｏｎｄ）及びベイノン（Ｂｅｙｎｏｎ）、プロテイン・サイエンス（Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉ．）、１９９５年、第４巻、ｐ．１２４７‐１２６１

【非特許文献２】ステルキ（Ｓｔｅｒｃｈｉ）ら、モレキュラー・アスペクツ・オブ・メディシン（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ａｓｐｅｃｔｓ　ｏｆ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ）、２００８年、第２９巻、ｐ．３０９－３２８
【非特許文献３】エルデリング（Ｅｌｄｅｒｉｎｇ）ら、ヨーロピアン・ジャーナル・オブ・バイオケミストリー（Ｅｕｒ．　Ｊ．　Ｂｉｏｃｈｅｍ．）、１９９７年、第２４７巻、ｐ．９２０‐９３２
【非特許文献４】ロスマン（Ｒｏｓｍａｎｎ）ら、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー（Ｊ．　Ｂｉｏｌ．　Ｃｈｅｍ．）、２００２年、第２７７巻、第４３号、ｐ．４０６５０‐４０６５８
【非特許文献５】ケサダ（Ｑｕｅｓａｄａ）ら、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー（Ｊ．　Ｂｉｏｌ．　Ｃｈｅｍ．）、２００４年、第２７９巻、第２５号、ｐ．２６６２７‐２６６３４
【非特許文献６】バーカート（Ｂｕｒｋａｒｔ）ら、ザ・ジャーナル・オブ・セル・バイオロジー（Ｊ．　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．）、２０１２年、第１９７巻、ｐ．３７‐４４
【非特許文献７】マーンダル（Ｍａｎｄａｌ）ら、バイオロジー・オブ・リプロダクション（Ｂｉｏｌ．　ｏｆ　Ｒｅｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ）、２００８年、第７８巻、ｐ．６９：７２

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１５】
がんのための確定的な診断検査法の不足、及び転移性疾患の患者の予後不良を前提として、がんの診断検査法が当分野において長年にわたり必要とされている。
さらに、がんバイオマーカーを同定及び使用すること、並びにこれらのバイオマーカーを調節する方法を見出すこと、例えばがんの治療及び予防のためにバイオマーカーを標的化することも、当分野において長年にわたり必要とされている。
【課題を解決するための手段】
【００１６】
発明の概要
本発明は、がん細胞の表面上で異常発現される卵母細胞タンパク質であってオバスタシン、ＺＥＰ及びＳＡＳ１Ｒとも呼ばれるＳＡＳ１Ｂが、該細胞の殺滅又は該細胞の増殖阻害のために免疫毒素の標的となされうるという、本明細書中に開示された予想外の結果に基づいた、がんを治療するために有用な組成物及び方法を提供する。その全体が参照により本明細書中に組込まれるヘル（Ｈｅｒｒ）らの文献（２０１２年２月９日に公開された国際公開第２０１２／０１９１８４号）は、ＳＡＳ１Ｒが複数種類のがんにおいて発現され、かつ細胞表面で発現されており、よってＳＡＳ１Ｒは発見された最初のがん‐卵母細胞抗原／バイオマーカーとなることを示した。がん‐卵母細胞抗原／バイオマーカーは、正常組織の中では卵母細胞のみにおいて、かつ卵胞形成の特定の段階のみにおいて、発現されるタンパク質として定義される。様々な腫瘍における、通常は卵母細胞に限定される細胞表面タンパク質の発現は、該がん‐卵母細胞抗原標的を発現している対象物を同定するための併用診断を伴った時、腫瘍選択的な治療法のための特筆すべき機会を提供する。したがって、ＳＡＳ１Ｂは、がんの検出及び診断のための有用なバイオマーカーである。
【００１７】
１つの実施形態（Ｏｎ　ｅｍｂｏｄｉｍｅｎｔ）は、細胞毒性薬にコンジュゲートしたＳＡＳ１Ｂ抗原に特異的な抗体又は前記抗体の結合性フラグメントを含む免疫毒素分子を提供する。１つの実施形態では、細胞毒性薬はＩ型リボソーム不活性化タンパク質である。別の実施形態では、Ｉ型リボソーム不活性化タンパク質はサポリンである。別の実施形態は、細胞毒性薬としてトリコサンチン及びルフィンの使用を提供する。１つの実施形態では、前記（ｔｈｅ）はモノクローナル、ポリクローナル、キメラ、ヒト、又はヒト化である。別の実施形態では、抗体の結合性フラグメントはＦ（ａｂ’）$_2$、Ｆ（ａｂ）$_2$、Ｆａｂ’、又はＦａｂである。

【００１８】
１つの実施形態は、免疫毒素及び生理学的に許容可能な担体を含む組成物を提供する。
別の実施形態は、がん細胞を殺滅し、阻害し、又は脱落させる方法であって、前記方法を必要とする対象者に、本明細書中に記載された少なくとも１つの免疫毒素分子を投与することを含む方法を提供する。１つの実施形態では、がんは、癌腫（例えば頭頸部扁平上皮細胞癌）、肉腫、子宮がん、卵巣がん、肺がん、腺癌、肺の腺癌、扁平上皮癌、肺の扁平上皮癌、悪性混合ミュラー腫瘍、白血病、リンパ腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、前立腺がん、膵臓がん、腎臓がん、膀胱がん及び類内膜癌で構成されている群から選択される。
【００１９】
別の実施形態は、がんを治療する方法であって、前記方法を必要とする対象者に治療上有効な用量の免疫毒素コンジュゲートを投与することを含んでなり、前記免疫毒素コンジュゲートは、細胞毒性薬にコンジュゲートせしめられた抗体又は前記抗体の結合性フラグメントを含んでなり、前記免疫毒素コンジュゲートの前記抗体はがん細胞上のＳＡＳ１Ｂに結合し、かつ細胞上のＳＡＳ１Ｂ分子への前記免疫毒素分子の結合により、ＳＡＳ１Ｂを発現している細胞の殺滅、脱落、又は増殖阻害がもたらされる、方法を提供する。１つの実施形態では、細胞毒性薬はＩ型リボソーム不活性化タンパク質である。別の実施形態では、Ｉ型リボソーム不活性化タンパク質はサポリンである。１つの実施形態では、抗体はモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、又はヒト化抗体である。他の実施形態では、抗体の結合性フラグメントはＦ（ａｂ’）$_2$、Ｆ（ａｂ）$_2$、Ｆａｂ’、又はＦａｂである。１つの実施形態では、がんは、癌腫（例えば頭頸部扁平上皮細胞癌）、肉腫、子宮がん、卵巣がん、肺がん、腺癌、肺の腺癌、扁平上皮癌、肺の扁平上皮癌、悪性混合ミュラー腫瘍、白血病、リンパ腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、前立腺がん、膵臓がん、腎臓がん、膀胱及び類内膜癌で構成されている群から選択される。
【００２０】
１つの実施形態は、がんを治療する方法（ａ ｍｅｔｈｏｄ ｔｒｅａｔ ｃａｎｃｅｒ）であって、治療上有効な用量の、がん細胞上のＳＡＳ１Ｂに結合する第１の抗体又は前記抗体のフラグメント、及び第１の抗体に結合する第２の抗体であって細胞毒性薬にコンジュゲートせしめられた第２の抗体を、投与することを含む方法を提供する。１つの実施形態では、一方又は両方の抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、又はヒト化抗体である。別の実施形態では、抗体の結合性フラグメントはＦ（ａｂ’）$_2$、Ｆ（ａｂ）$_2$、Ｆａｂ’、又はＦａｂである。１つの実施形態では、細胞毒性薬はＩ型リボソーム不活性化タンパク質である。別の実施形態では、Ｉ型リボソーム不活性化タンパク質はサポリンである。
【００２１】
１つの実施形態は、卵巣の、子宮の、膀胱、腎臓がん、膵臓がん又は頭頸部扁平上皮細胞癌（ＨＮＳＣＣ）を診断する方法であって、対象者の腎臓、膵臓又は頭頸部からの生体試料中のＳＡＳ１Ｂを測定すること、及び、前記対象者の腎臓、膵臓又は頭頸部からの生体試料中のＳＡＳ１Ｂの存在に基づいて前記対象者における腎臓がん、膵臓がん又は頭頸部扁平上皮細胞癌（ＨＮＳＣＣ）を診断することを含む方法を提供する。１つの実施形態では、対象者は哺乳類である。別の実施形態では、ＳＡＳ１ＢはＳＡＳ１Ｂのタンパク質、ｍｉＲＮＡ又はｍＲＮＡである。１つの実施形態では、検出は分析デバイス及び分析プログラムを用いて結果を分析することを含む。１つの実施形態（ｅｍｂｏｄｉｍｅｎｅｔ）では、分析デバイスはコンピュータを含む。１つの実施形態では、分析デバイスは配列分析装置を含む。１つの実施形態では、ＳＡＳ１Ｂのタンパク質、ｍｉＲＮＡ又はｍＲＮＡのレベルは分析デバイス及び分析プログラムを用いて定量される。別の実施形態では、ＳＡＳ１Ｂのタンパク質、ｍｉＲＮＡ、又はｍＲＮＡは、ＥＬＩＳＡ、イムノアッセイ、免疫蛍光検査法、免疫組織化学法、免疫沈降、ノーザンブロット法、ウエスタンブロット法、ＰＣＲ法、質量分析及び表面プラズモン共鳴で構成されている群から選択された方法を使用して検出される。１つの実施形態では、試料は組織生検である。

【００２２】
１つの実施形態では、ＳＡＳ１Ｂ陽性のがん細胞をＳＡＳ１Ｂに対する抗体と接触させることにより、該細胞の形状の変化が引き起こされる。１つの実施形態では、ＳＡＳ１Ｂ陽性のがん細胞をＳＡＳ１Ｂに対する抗体と接触させることにより、該細胞の大きさの変化が引き起こされる。１つの態様では、処理が施された細胞は大きさが減少する。
【００２３】
１つの態様では、ＳＡＳ１Ｂに対する抗体は、表面のＳＡＳ１Ｂを有する細胞内において複合体のエンドサイトーシスを導くことができる。１つの態様では、ＳＡＳ１Ｂに対する抗体は薬物又は毒素にコンジュゲートせしめられる。１つの態様では、ＳＡＳ１Ｂに対する一次抗体に結合する二次抗体が使用され、薬物又は毒素は該二次抗体にコンジュゲートせしめられる。１以上の上記抗体／コンジュゲート又は抗体／二次抗体／コンジュゲート複合体が使用されうる。該複合体は、ＳＡＳ１Ｂに対する抗体に、又はＳＡＳ１Ｂに対する抗体に結合する二次抗体に、コンジュゲートせしめられた薬物又は毒素を含むことができる。１つの態様では、コンジュゲートせしめられる薬物又は毒素はサポリンである。１つの態様では、導かれたエンドサイトーシスにより細胞の殺滅がもたらされる。１つの態様では、サポリンがコンジュゲートせしめられた抗体はＳＡＳ１Ｂ陽性細胞の脱落を仲介する。１つの態様では、細胞はがん細胞である。当業者には十分理解されることであるが、異なる種類の抗体、例えばモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体が使用されることも可能である。１つの態様では、本発明の化合物及び組成物はＳＡＳ１Ｂ陽性細胞の成長停止を誘導するのに有用である。細胞内への抗体及び薬物／毒素のコンジュゲートの取り込みは、標的細胞の殺滅に有用である。ＳＡＳ１Ｂを発現していない細胞は標的とされない。
【００２４】
１つの態様では、ＳＡＳ１Ｂに対する抗体は補体結合能力を包含しており、腫瘍細胞表面のＳＡＳ１Ｂに結合するとすぐに補体カスケードの内在成分及び天然成分が腫瘍細胞の殺滅を引き起こす。
【００２５】
本発明はさらに、精密な、オーダーメイドの医療に有用な組成物及び方法を提供する。１つの実施形態では、本発明は、ＳＡＳ１Ｂのアンタゴニスト又は阻害剤を用いた治療に応答するであろうがんを有する対象者を選択するための組成物及び方法であって、該対象者由来の試料中のＳＡＳ１Ｂのタンパク質、ｍｉＲＮＡ又はｍＲＮＡの存在を検出することを含んでなり、試料中のＳＡＳ１Ｂのタンパク質、ｍｉＲＮＡ又はｍＲＮＡの存在は、該対象者がＳＡＳ１Ｂのアンタゴニスト又は阻害剤を用いた治療に応答するであろうことを示す、組成物及び方法を提供する。試料標本は、血液、血清、唾液、精液、尿又は腫瘍生検抽出物の、組織液中からのものであってよい。
【００２６】
本発明はまた、ＳＡＳ１Ｂ陽性のがんを予防及び治療するために有用な組成物及び方法を提供する。
１つの実施形態では、抗体は、一本鎖抗体、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、キメラ抗体、合成抗体、ポリクローナル抗体、若しくはヒト化抗体、又はこれらの活性フラグメント若しくは相同体で構成されている群から選択される。１つの態様では、抗体は、ＳＡＳ１Ｂヒトバリアント１（配列番号２３）のアミノ酸１－２５、２６－５０、５１－７５、７６－１００、１０１－１２５、１２６－１５０、１５１－１７５、１７６－２００、２０１－２２５、２２６－２５０、２５１－２７５、２７６－３００、３０１－３２５、３２６－３５０、３５１－３７５、３７６－４００、４０１－４２５、及び４２６－４３１で構成されている群から選択された１つ以上のＳＡＳ１Ｂタンパク質フラグメントに結合する。１つの態様では、抗体は、ＳＡＳ１Ｂヒトバリアント１（配列番号２３）のアミノ酸１－２０、２１－４０、４１－６０、６１－８０、８１－１００、１０１－１２０、１２１－１４０、１４１－１６０、１６１－１８０、１８１－２００、２０１－２２０、２２１－２４０、２４１－２６０、２６１－２８０、２８１－３００、３０１－３２

０、３２１－３４０、３４１－３６０、３６１－３８０、３８１－４００、４０１－４２０、４２１－４３１、及び４１１－４３１で構成されている群から選択された１つ以上のＳＡＳ１Ｂタンパク質フラグメントに結合する。

【００２７】

本発明はさらに、がん細胞の殺滅及びがん細胞の増殖阻害のための組成物及び方法を提供する。ＳＡＳ１Ｂ陽性のがん細胞の増殖阻害又は殺滅の方法は、前記がん細胞を有効な量のＳＡＳ１Ｂに対する抗体又はそのフラグメントと接触させることを含んでなり、ＳＡＳ１Ｂに対する該抗体又はそのフラグメントはＳＡＳ１Ｂと結合することにより増殖を阻害するか又はがん細胞を殺滅する。１つの実施形態では、殺滅は補体依存性細胞毒性である。１つの態様では、補体は補足される。１つの実施形態では、本発明は、ＳＡＳ１Ｂに対するポリクローナル若しくはモノクローナル抗体又はそれらのフラグメントを用いて、補体の存在下でがん細胞を溶解するための組成物及び方法を提供する。１つの実施形態では、殺滅又は増殖阻害されるがん細胞は、癌腫、肉腫、子宮がん、卵巣がん、肺がん、腺癌、肺の腺癌、扁平上皮癌、肺の扁平上皮癌、悪性混合ミュラー腫瘍、白血病、リンパ腫、腎臓がん、膀胱および類内膜癌で構成されている群から選択される。１つの態様では、抗体は別の分子又は構造物にコンジュゲートせしめられる。１つの態様では、別の分子又は構造物は、抗体、タンパク質、プロドラッグ、薬物、毒素、タンパク質毒素、リポソーム、放射性同位体、及び酵素で構成されている群から選択される。

【００２８】

１つの実施形態では、ＳＡＳ１Ｂに対する抗体は、毒素若しくは薬物に直接コンジュゲートせしめられるか、又は、該薬物若しくは毒素がＳＡＳ１Ｂに対する抗体に結合する二次抗体にコンジュゲートされる時は間接的にコンジュゲートされる。１つの態様では、薬物又は毒素とコンジュゲートされた二次抗体が使用され、前記二次抗体はＳＡＳ１Ｂに対する抗体を標的とする。１つの態様では、必要とする対象者は、任意選択で薬物又は毒素にコンジュゲートせしめられた、少なくとも１つのＳＡＳ１Ｂに対する抗体を含む医薬組成物を投与することにより治療される。１つの態様では、ＳＡＳ１Ｂに対する抗体に結合する二次抗体も使用され、かつ任意選択で該二次抗体は薬物又は毒素にコンジュゲートせしめられる。

【００２９】

本発明は、本発明の免疫毒素を使用してＳＡＳ１Ｂ陽性のがんを治療するのに有用な組成物及び方法を提供する。当業者には十分理解されることであるが、追加の治療薬が使用されうるように、本明細書中に記載されたものだけでなく他の薬物及び毒素も同様に使用されうる。それらの作用薬は、任意選択で毒素又は薬物にコンジュゲートせしめられた少なくとも１つのＳＡＳ１Ｂに対する抗体を含む本発明の医薬組成物に加えることが可能であり、かつ任意選択で、毒素又は薬物に同じく任意選択でコンジュゲートせしめられた二次抗体が使用される。該２つの抗体（第１の抗体及び第２の抗体）は、同時投与されてもよいし別々に投与されてもよい。

【００３０】

本願はさらに、ＳＡＳ１Ｂが腎臓及び膵臓のがん並びに頭頸部扁平上皮細胞癌において発現されているという予想外の結果を開示する。したがって本発明は、腎臓がん及び膵臓がん並びに頭頸部扁平上皮細胞癌を診断及び治療するための組成物及び方法を包含する。

【００３１】

本発明はさらに、腫瘍を有する対象者が治療を受ける前に、本発明の免疫毒素による治療に対する感受性についてｉｎ　ｖｉｔｒｏで腫瘍細胞を試験するための組成物及び方法を提供する。本明細書中に提供されるアッセイは、使用されかつ有効となりうる抗体及びコンジュゲートの範囲を実証する。本明細書中に開示されるのは有効な低用量という驚くべき結果である。

【００３２】

本発明の様々な態様及び実施形態は以下に一層詳細に記載される。

【図面の簡単な説明】

【００３３】
【図１】ＳＡＳ１Ｂに対する抗体とともに４℃でインキュベートされ、３７℃に１５分間暖められ、次いでＳＡＳ１Ｂ抗体の場所について染色されたＭＭＭＴ５３８細胞を示す図。小さなＳＡＳ１Ｂ抗体陽性の小胞が細胞膜のすぐ下の細胞周辺部に観察された。
【図２】同様の処理後、ただし３７℃で６０分間のインキュベーション後のＭＭＭＴ５３９細胞を示す図。ＳＡＳ１Ｂ抗体陽性の小胞は、より大きくなり、かつ細胞質内でより深く内部に取り込まれていることが見出された。これらの結果は、ＳＡＳ１Ｂがリガンド結合に続いてＭＭＭＴがん細胞の中に取り込まれることを示している。
【図３】エンドサイトーシス経路の初期及び後期アーム（ａｒｍ）の成分とともにＳＡＳ１Ｂ陽性の小胞が共局在化したことを実証する図。例えば、黄色の小胞（矢印）は、緑色のＳＡＳ１Ｂ陽性の小胞がエンドサイトーシス経路の初期アームのマーカーであるＥＥＡ１について染色された赤色の小胞とともに共局在化した場所を表している。同様の結果は、エンドサイトーシス経路の後期アームのマーカーであるＬＡＭＰ１を用いても示された。これらの結果はともに、細胞表面のＳＡＳ１Ｂが内部に取り込まれ、エンドサイトーシスシステムの初期及び後期アームのコンパートメントと融合することを示している。
【図４】３１０ｂｐのｃ末端ＳＡＳ１Ｂアンプリマーがあるがウイルスで形質転換された子宮間質細胞株ＭＡＤ１０にはないことを示し、ＭＭＭＴ５３９細胞はＳＡＳ１Ｂを発現するがＭＡＤ１０細胞は発現しないことを実証している図。
【図５】ＭＭＭＴ５３９及びＭＡＤ１０細胞を用いて実施された細胞密度及び成長停止を定量化するためにスルホローダミンＢスクリーニング方法を使用する間接的サポリンアッセイにより、ＳＡＳ１Ｂ経路が細胞毒性の積荷の細胞内送達に使用可能であることを実証する図。さらに、濃度０．０１ｕＭのＳＡＳ１Ｂに対する免疫血清［ＩＭ‐Ｚａｐ］は、サポリンにコンジュゲートした二次抗体（およそ５ｎｍで一定に保持）との複合体のときに最大の細胞殺滅効果を提供する。該サポリン免疫毒素は、Ｍ５３９子宮がん細胞株の脱落を仲介した。
【図６】ＳＡＳ１Ｂを発現しない細胞株を使用する細胞増殖に対していかなる濃度のＩＭ‐Ｚａｐも影響がないことを示すことにより、細胞表面ＳＡＳ１Ｂへの反応の特異性を実証する図。細胞の殺滅および成長停止は、抗ＳＡＳ１Ｂ及びサポリン免疫毒素を用いて処理された細胞において対照の子宮内膜間質ＭＡＤ１０細胞では実証されなかった。
【図７】濃度０．０１ｕＭのＳＡＳ１Ｂに対するＩＭ血清は、サポリン免疫毒素がナノモル濃度であるときに最大の細胞殺滅効果を示すことを実証する図。
【図８】濃度０．０１ｕＭのＳＡＳ１Ｂに対するＩＭ血清は、サポリン免疫毒素がナノモル濃度であるときに最大の細胞殺滅効果を示すことを実証する図。
【図９】Ｏｎｃｏｍｉｎｅ（登録商標）（ゲノム規模の発現解析からの発見の促進を目指したがんマイクロアレイデータベース及びウェブ上のデータマイニングプラットホーム）での問い合わせにより、ＳＡＳ１Ｂ（ＡＳＴＬ）が淡明細胞型腎細胞癌において上昇することが実証されることを示す図。
【図１０】腎臓がん標本においてＳＡＳ１Ｂを実証する図。患者由来の淡明細胞型腎腫瘍からのｃＤＮＡがｃ末端ＳＡＳ１Ｂプライマーを用いたＰＣＲアッセイに使用され（パネルＡ）、かつ、ＲＮＡの完全性を保証するために、ＧＡＰＤＨプライマーがパネルＢで使用された。ＳＡＳ１Ｂを発現することが知られているＭ５３９子宮がん細胞株は、レーン９に見られるような陽性対照として使用された。正常な腎臓のｃＤＮＡは１１において陰性組織対照としての役割を果たし、ＳＡＳ１Ｂを発現していない。
【図１１】ＳＡＳ１ＢのｍＲＮＡ及びＳＡＳ１Ｂタンパク質が、調査したＨＮＳＣＣ細胞株の１００％において観察されることを実証する図。
【図１２】調査したＨＮＳＣＣヒト腫瘍標本の１００％がＳＡＳ１Ｂについて陽性であったことを実証する図。
【図１３】ＳＡＳ１Ｂ転写物が膵臓がん細胞株において同定されたことを実証する図。
【図１４】ＳＡＳ１Ｂが膵臓腫瘍標本において同定されたことを実証する図。
【図１５】膵臓のＰＣＲ対照を提供する図。

【発明を実施するための形態】
【００３４】
詳細な説明
［配列番号及びその説明の概要］
配列番号１：マウス（「ｍ」）ＭＥＴの正常な核酸配列
配列番号２：マウスＭＥＴの正常なアミノ酸配列
配列番号３：マウスＭＥＴバリアントの核酸配列
配列番号４：マウスＭＥＴバリアントのアミノ酸配列
配列番号５：マウスＳＡＳ１Ｒバリアント２の正常な核酸配列（以前はＺＥＰ‐Ｎｏｒｍａｌと呼ばれたもの）
配列番号６：マウスＳＡＳ１Ｒバリアント２の正常なアミノ酸配列（以前はＺＥＰ‐Ｎｏｒｍａｌと呼ばれたもの）
配列番号７：マウスＳＡＳ１Ｒバリアント５の核酸配列（以前はＺＥＰバリアント１と呼ばれたもの）
配列番号８：マウスＳＡＳ１Ｒバリアント５のアミノ酸配列（以前はＺＥＰバリアント１と呼ばれたもの）
配列番号９：マウスＳＡＳ１Ｒバリアント３の核酸配列（以前はＺＥＰバリアント２と呼ばれたもの）
配列番号１０：マウスＳＡＳ１Ｒバリアント３のアミノ酸配列（以前はＺＥＰバリアント２と呼ばれたもの）
配列番号１１：マウスＳＬＬＰ１の核酸配列
配列番号１２：マウスＳＬＬＰ１のアミノ酸配列
配列番号１３：ヒト（「ｈ」）ＳＬＬＰ１の核酸配列
配列番号１４：ヒトＳＬＬＰ１のアミノ酸配列
配列番号１５：マウスＳＬＬＰ２の核酸配列
配列番号１６：マウスＳＬＬＰ２の成熟タンパク質のアミノ酸配列
配列番号１７：ヒトＳＬＬＰ２の核酸配列
配列番号１８：ヒトＳＬＬＰ２のアミノ酸配列
配列番号１９：マウスＳＡＳ１Ｒバリアント１のアミノ酸配列
配列番号２０：マウスＳＡＳ１Ｒバリアント４のアミノ酸配列
配列番号２１：マウスＳＡＳ１Ｒバリアント６のアミノ酸配列
配列番号２２：ヒトＳＡＳ１Ｒの核酸配列（ＧｅｎＢａｎｋ登録番号：ＮＭ＿００１００２０３６、１２９６ｂｐのｍＲＮＡ）
配列番号２３：ヒトＳＡＳ１Ｒのアミノ酸配列（ＧｅｎＢａｎｋ登録番号：ＮＰ＿００１００２０３６．３、４３１アミノ酸）
配列番号２４：ＨＥＬＭＨＶＬＧＦＷＨ（ＳＡＳ１Ｒ中のモチーフであってＺｎ配位のためのヒスチジン残基を備え、かつ保存された触媒残基Ｅ（グルタミン酸）が、モチーフＳＶＭＨＹ（配列番号２５）に埋め込まれたチロシン亜鉛リガンドと共に触媒ポケットの一部を形成する）
配列番号２５：ＳＶＭＨＹ（触媒ポケットに関連したＳＡＳ１Ｒ中のモチーフ）
配列番号２６：ＨＥＸＸＨＸＸＧＸＸＨ（配列番号２４のコンセンサスモチーフは、そのモチーフの機能を除くことのない「Ｘ」で示されるような任意のアミノ酸と置換可能な残基を有しうる）
配列番号２７：ＳＸＭＨＹ（配列番号２５のコンセンサスモチーフは、そのモチーフの機能を除くことのない「Ｘ」で示されるような任意のアミノ酸と置換可能な残基を有しうる）
配列番号２８（１Ｆプライマー）：ＧＣＧＣＣＣＣＴＧＧＣＣＴＣＣＡＧＣＴＧＣＧＣＡ
配列番号２９（２Ｒプライマー）：ＣＡＣＧＡＣＡＣＣＡＣＴＡＣＣＡＣＣＣＡＴＧＧＧ
配列番号３０（３Ｆプライマー）：ＧＧＣＴＧＣＡＧＣＣＣＡＡＧＴＧＧＣＣＣＣＡＧＧ
配列番号３１（４Ｒプライマー）：ＡＧＣＡＡＣＡＣＣＧＧＧＧＧＣＡＣＣＴＧＣＴＣＣ

配列番号３２（５Ｆプライマー）：ＧＡＧＧＴＣＣＣＣＴＴＣＣＴＧＣＴＣＴＣＣＡＧＣ
配列番号３３（６Ｒプライマー）：ＧＧＣＡＴＧＧＧＡＣＣＣＴＣＴＣＣＣＡＣＧＧＧＧ
配列番号１～１８は国際特許出願である国際公開第２００６／０９１５３５号（ＰＣＴ／ＵＳ２００６／００５９７０；マーンダル（Ｍａｎｄａｌ）ら；２００６年８月３１日公開）の配列番号１～１８と同一の配列であり、前記文献においてＳＡＳ１ＲはＺＥＰと称されている。国際公開第２００６／０９１５３５は全体が参照により本願に組込まれる。

【００３５】

配列番号１～２７は、２０１０年５月１４日に国際公開第２０１０／０５４１８７号として公開された、２００９年１１月６日出願の国際特許出願ＰＣＴ／ＵＳ／２００９／０６３５４０（ヘル（Ｈｅｒｒ）ら）において使用されているのと同一の２７個の配列である。該ＰＣＴ出願の優先権を主張する米国特許出願（第１２／６１３，９４７号）は、２０１０年７月２２日に公開第ＵＳ２０１０／０１８３６１７号として公開されている。

【００３６】

配列番号２８～３３はＳＡＳ１Ｒを検出するための新規なプライマーである。

配列番号１～３３はすべて、ヘル（Ｈｅｒｒ）らの文献（２０１２年２月９日に公開された国際公開第２０１２／０１９１８４号）において使用されている。

【００３７】

［略語及び頭文字］

ａ．ａ．：アミノ酸
ＡＤＥＰＴ：抗体指向酵素プロドラッグ療法（ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｉｒｅｃｔｅｄ ｅｎｚｙｍｅ ｐｒｏｄｒｕｇ ｔｈｅｒａｐｙ）
ＡＳＴＬ：アスタシン様タンパク質（ａｓｔａｃｉｎ－ｌｉｋｅ ｐｒｏｔｅｉｎ）；この名前は現在一般に使用され認められており、オバスタシン、ＺＥＰ、ＳＡＳ１Ｒ及びＳＡＳ１Ｂとも呼ばれる同一のタンパク質を指す。
ＢＳＡ：ウシ血清アルブミン
ＣＤＣ：補体依存性細胞毒性
Ｃｏ‐ＩＰ：共免疫沈降
ＦＩＴＣ：イソチオシアン酸フルオレセイン
ＦＲＥＴ：蛍光共鳴エネルギー転移
ＦＷ：ファーウエスタン法
ＧＶ：胚胞
ｈ：ヒト（時間でもある）
ＨＥＫ：ヒト胚腎臓
ＨＰＬＣ：逆相高速液体クロマトグラフィ
ＨＳ：高ストリンジェンシー
Ｉ：誘導型又は免疫
ＩＦ：間接免疫蛍光法
ＩＰ：免疫沈降
ＩＰＴＧ：イソプロピル‐β‐Ｄ‐チオガラクトピラノシド
ＬＢ：ルリアブロス
ＬＣ／ＭＳは液体クロマトグラフィ／質量分析を意味する
ＬＮＡ：ロックト核酸
ＬＳ：低ストリンジェンシー
ＩＭ：免疫
ｍ：マウス
ＭＥＴ：マウス卵子特異的ＴｏｌＡ（ｍｏｕｓｅ ｅｇｇ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ＴｏｌＡ）（仮特許出願においてはコルシン（Ｃｏｌｃｉｎ）様取込みタンパク質又はコリシン取込みタンパク質と呼ばれている）
ｍｉｎ：分

ｍｉＲＮＡ：マイクロＲＮＡ
ＭＭＭＴ：悪性混合ミュラー腫瘍
ＮＧＳ：正常なヤギ血清
ＯＬ：オーバーレイ
Ｐ：精製（された）
ＰＩ：免疫前
ＰＢＳ：リン酸緩衝生理食塩水
ＰＢＳＴ：０．０５％のトゥイーン２０を含むリン酸緩衝生理食塩水
ＰＶＡ：ポリビニルアルコール
ｒｅｃ：組換え体（ｒｅｃは「ｒ」と互換的に使用される）
ＳＡＳ１Ｂ：「ＳＡＳ１Ｒ」を参照
ＳＡＳ１Ｒ：精子先体ＳＬＬＰ１受容体（Ｓｐｅｒｍ Ａｃｒｏｓｏｍａｌ ＳＬＬＰ１ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ）；以前はＺＥＰと称され、初めはケサダ（Ｑｕｅｓａｄａ）らによって発見されて「オバスタシン」と呼ばれ；さらにはＳＡＳ１Ｂとも称され；ＳＡＳ１Ｒをコードする遺伝子はＡＳＴＬと呼ばれる。
ｒＳＡＳ１Ｒ：組換えＳＡＳ１Ｒ
ｓｅｃ：秒
ＳＬＬＰ：精子リゾチーム様タンパク質（ｓｐｅｒｍ ｌｙｓｏｚｙｍｅ－ｌｉｋｅ ｐｒｏｔｅｉｎ）
ＳＰＥＣＴ：単光子放射型コンピュータ断層撮影法
ＳＰＲ：表面プラズモン共鳴
Ｕ：非誘導（性）
ＺＥＰ：亜鉛エンドペプチダーゼ（ｚｉｎｃ ｅｎｄｏｐｅｐｔｉｄａｓｅ）（仮特許出願においては亜鉛ペプチダーゼ、又はＺＰと称され；ＳＡＳ１Ｒ、ＳＡＳ１Ｂ、オバスタシン及びＡＳＴＬと互換的に使用される）
ＺＦＥ：透明帯除去卵子
ＺＩＥ：透明帯完全型卵子

［定義］

本発明について説明及び権利主張する際、次の用語は以下に述べる定義に従って使用されることになる。

【００３８】

冠詞「１つの（ａ）」及び「１つの（ａｎ）」は、本明細書中において、１又は２以上（すなわち少なくとも１つ）の、その冠詞の文法上の対象を指すために使用される。例を挙げると、「１つの要素（ａｎ ｅｌｅｍｅｎｔ）」は１つの要素又は２以上の要素を意味する。

【００３９】

用語「約」は、本明細書中で使用されるように、およそ～、～辺りの、概算で～、又は～前後、を意味する。用語「約」が数値範囲と共に使用される場合、該用語はその数値範囲を、記された数値の上下に境界を拡げることにより修飾する。一般に、用語「約」は本明細書中において、数値を表記された値の上下に１０％の変動で修飾するために使用される。１つの態様では、用語「約」は、該用語が使用されている数字の数値のプラス又はマイナス２０％を意味する。したがって、約５０％は４５％～５５％の範囲内を意味する。端点により本明細書中に記述された数値範囲は、その範囲内に包含される全ての数値及び分数を含む（例えば、１～５は１、１．５、２、２．７５、３、３．９０、４、及び５を含む）。さらに当然のことながら、全ての数及びその分数は該用語「約」によって修飾されるとみなされる。

【００４０】

用語「追加の治療上活性な化合物」又は「追加の治療薬」は、本発明との関連で使用されるように、治療されている特定の外傷、疾患、又は障害のための追加の治療的用途のための化合物の使用又は投与を指す。そのような化合物には、例えば、無関係な疾患若しく

は障害、又は治療されている外傷、疾患若しくは障害のための一次治療に応答しない可能性のある疾患若しくは障害を治療するために使用されるものが考えられる。

【００４１】

本明細書中で使用されるように、用語「アジュバント」とは、特異的抗原と組み合わせて使用された時に免疫応答の増強を誘発する物質を指す。

本明細書中で使用されるように、化合物「の投与」又は化合物「を投与すること」という用語は、治療を必要とする対象者に本発明の化合物又は本発明の化合物のプロドラッグを提供することを意味するものと了解されるべきである。

【００４２】

本明細書中で使用されるように、用語「エアロゾル」は空気中懸濁物を指す。特に、エアロゾルは、本発明の調合物の粒子化又は噴霧化及びその空気中懸濁物を指す。

本明細書中で使用されるように、「アゴニスト」とは、ヒトのような哺乳動物に投与された時、該哺乳動物中の対象とする標的化合物又は分子のレベル又は存在に起因する生物学的活性を増強又は拡張する物質組成物である。

【００４３】

「アンタゴニスト」とは、ヒトのような哺乳動物に投与された時、該哺乳動物中の対象とする化合物又は分子のレベル又は存在に起因する生物学的活性を阻害する物質組成物である。

【００４４】

本明細書中で使用されるように、「疾患又は障害の症状を緩和する」とは、該症状の重症度若しくはそのような症状を患者が経験する頻度、又はこれら両方を、低減することを意味する。

【００４５】

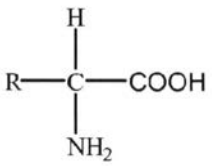
本明細書中で使用されるように、アミノ酸は、次の表に示されるように、その正式名によって、又はそれに対応する３文字記号によって、又はそれに対応する１文字記号によって、表わされる：

【００４６】

【表１】

正式名	3文字記号	1文字記号
アスパラギン酸	Asp	D
グルタミン酸	Glu	E
リジン	Lys	K
アルギニン	Arg	R
ヒスチジン	His	H
チロシン	Tyr	Y
システイン	Cys	C
アスパラギン	Asn	N
グルタミン	Gln	Q
セリン	Ser	S
トレオニン	Thr	T
グリシン	Gly	G
アラニン	Ala	A
バリン	Val	V
ロイシン	Leu	L
イソロイシン	Ile	I
メチオニン	Met	M
プロリン	Pro	P
フェニルアラニン	Phe	F
トリプトファン	Trp	W

【００４７】
用語「アミノ酸」は「アミノ酸残基」と互換的に使用され、かつ遊離アミノ酸及びペプチドのアミノ酸残基を指すことができる。該用語が遊離アミノ酸を指しているかペプチドの残基を指しているかは、該用語が使用される文脈から明白となろう。
【００４８】
アミノ酸は次の一般構造：
【００４９】
【化１】



【００５０】
を有している。
アミノ酸は側鎖Ｒに基づいて７つの群すなわち（１）脂肪族側鎖、（２）水酸（ＯＨ）基を含有する側鎖、（３）硫黄原子を含有する側鎖、（４）酸性基又はアミド基を含有する側鎖、（５）塩基性基を含有する側鎖、（６）芳香環を含有する側鎖、及び（７）側鎖

がアミノ基に融合したイミノ酸であるプロリン、に分類されうる。

【００５１】

本発明のペプチド化合物について記載するために使用される命名法は、アミノ基が各アミノ酸残基の左に、かつカルボキシ基が右に提示される従来の慣例に従う。本発明の選択された特定の実施形態を表わす式において、アミノ末端及びカルボキシ末端の基は、具体的には示されていないが、別段の定めがない限り、前記基が生理学的ｐＨ値においてとるであろう形態であるものと了解されることになろう。

【００５２】

「塩基性」又は「正に荷電した」アミノ酸という用語は、本明細書中で使用されるように、Ｒ基がｐＨ７．０において正味の陽電荷を有するアミノ酸を指し、限定するものではないが、標準的なアミノ酸であるリジン、アルギニン、およびヒスチジンが挙げられる。

【００５３】

本明細書中で使用されるように、化学化合物の「アナログ」とは、例を挙げると、構造がもう一方と似ているが必ずしも異性体ではない化合物である（例えば、５‐フルオロウラシルはチミンのアナログである）。

【００５４】

用語「抗体」は、本明細書中で使用されるように、抗原上の特異的エピトープに特異的に結合することができる免疫グロブリン分子を指す。抗体は天然の供給源又は組換えの供給源に由来する完全型の免疫グロブリンであってもよいし、完全型免疫グロブリンの免疫反応性の部分であってもよい。抗体は典型的には免疫グロブリン分子の四量体である。本発明における抗体は、様々な形態、例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、Ｆｖ、Ｆａｂ及び$F(ab)_2$、並びに一本鎖抗体及びヒト化抗体などの形態で存在することができる。

【００５５】

用語「抗体」は、ポリクローナル及びモノクローナル抗体並びにこれらの誘導体（例えばキメラ抗体、合成抗体、ヒト化抗体及びヒト抗体）、例えば、完全な免疫グロブリン若しくは抗体又は標的抗原と結合する免疫グロブリン分子の任意の機能性フラグメント、及びこれらの組み合わせなどを指す。そのような機能性の実体の例には、完全抗体分子、抗体フラグメント、例えばF_v、一本鎖F_v、相補性決定領域（ＣＤＲ）、V_L（軽鎖可変領域）、V_H（重鎖可変領域）、Ｆａｂ、$F(ab')_2$及びこれらの任意の組み合わせ又は標的抗原に結合することができる免疫グロブリンペプチドの任意の他の機能性部分が挙げられる。

【００５６】

抗体は、例えば、完全型の免疫グロブリンとして、又は様々なペプチダーゼを用いた消化によって生じるいくつかのよく特性解析されたフラグメントとして、存在する。したがって、例えば、ペプシンは抗体をヒンジ部のジスルフィド結合より下方で消化して、それ自体はジスルフィド結合によりV_H‐C_{H1}に接合された軽鎖であるＦａｂの二量体である$F(ab')_2$を生じる。$F(ab')_2$は、ヒンジ部のジスルフィド結合を壊す穏やかな条件下で還元されることにより、$F(ab')_2$二量体をFab_1単量体に変換することができる。Fab_1単量体は実質的にヒンジ部の一部を備えたＦａｂである（Ｗ．Ｅ．ポール（Ｐａｕｌ）編「基礎免疫学第３版（ＦＵＮＤＡＭＥＮＴＡＬ　ＩＭＭＵＮＯＬＯＧＹ，　３ＲＤ　ＥＤ．）」、米国ニューヨークのレイブン・プレス（Ｒａｖｅｎ　Ｐｒｅｓｓ）、１９９３年を参照のこと）。様々な抗体フラグメントが完全型の抗体の消化という観点から定義されているが、当業者であれば、そのようなフラグメントは化学的又は組換えＤＮＡ方法論の利用により新たに合成されうることを認識するであろう。よって、抗体という用語は、本明細書中で使用されるように、完全な抗体の改変によって生産された抗体フラグメント、又は組換えＤＮＡ方法論を用いて新たに合成された抗体フラグメントのいずれも含んでいる。

【００５７】

「抗体重鎖」とは、本明細書中で使用されるように、すべての抗体分子に存在する２種

類のポリペプチド鎖のうち大きなものを指す。
「抗体軽鎖」とは、本明細書中で使用されるように、すべての抗体分子に存在する２種類のポリペプチド鎖のうち小さなものを指す。
【００５８】
用語「一本鎖抗体」とは、抗体の機能性フラグメントをコードする遺伝子情報が一本の連続した長さのＤＮＡ中にある抗体を指す。一本鎖抗体の詳細な説明については、ビレ（Ｂｉｒｅ）ら、サイエンス（Ｓｃｉｅｎｃｅ）、１９８８年、第２４２巻、ｐ．４２３、及びヒューストン（Ｈｕｓｔｏｎ）ら、米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　ＵＳＡ）、１９８８年、第８５巻、ｐ．５８７９を参照されたい。
【００５９】
用語「ヒト化（された）」は、不変領域がヒト免疫グロブリンに対して少なくとも約８０％以上の相同性を有する抗体を指す。加えて、ヒト以外、例えばネズミ科動物の可変領域アミノ酸残基の一部が、ヒト起源のアミノ酸残基を含むように改変されてもよい。
【００６０】
ヒト化抗体は「作り変え（ｒｅｓｈａｐｅｄ）」抗体と称されてきた。相補性決定領域（ＣＤＲ）の操作はヒト化抗体を達成する一方法である。例えば、いずれも参照により本願に組込まれるジョーンズ（Ｊｏｎｅｓ）ら、ネイチャー（Ｎａｔｕｒｅ）、１９８８年、第３２１巻、ｐ．５２２、及びリーヒマン（Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ）ら、ネイチャー（Ｎａｔｕｒｅ）、１９８８年、第３３２巻、ｐ．３２３を参照されたい。ヒト化抗体に関する総説については、参照により本願に組込まれるウィンター（Ｗｉｎｔｅｒ）及びミルシテイン（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ）、ネイチャー（Ｎａｔｕｒｅ）、１９９１年、第３４９巻、ｐ．２９３を参照されたい。
【００６１】
本発明の免疫毒素に関しての用語「接合された」は、共有結合形、例えばジスルフィド結合；水素結合；静電気結合；組換え融合；並びに立体配座結合、例えば抗体‐抗原、及びビオチン‐アビジンの結合によって構成部分同士（典型的には抗体及び毒素）を連結することを包含する。
【００６２】
用語「合成抗体」とは、本明細書中で使用されるように、例えば本明細書中に記載されるようなバクテリオファージにより発現される抗体のような、組換えＤＮＡ技術を使用して生成される抗体を意味する。該用語はまた、抗体をコードするＤＮＡ分子であって抗体タンパク質を発現するＤＮＡ分子、又は抗体を規定するアミノ酸配列、の合成によって生成された抗体であって、該ＤＮＡ又はアミノ酸配列は当分野において利用可能かつ良く知られた合成ＤＮＡ又はアミノ酸配列の技術を使用して得られたものである、抗体を意味するようにも解釈されるべきである。
【００６３】
本明細書中で使用されるような用語「抗原」は、免疫応答を引き起こす分子として定義される。この免疫応答は、抗体産生、若しくは特異的な免疫担当細胞の活性化のいずれか、又は両方を伴いうる。抗原は、生物体、タンパク質／抗原のサブユニット、殺滅又は不活性化された全細胞又は溶解物に由来するものであってよい。
【００６４】
本明細書中で使用されるような用語「抗原決定基」とは、特定の抗体と接触する抗原の一部分（すなわちエピトープ）を指す。タンパク質若しくはタンパク質のフラグメント、又は化学的構成部分が宿主動物を免疫化するために使用される場合、抗原の多数の領域が、タンパク質上の所与の領域又は三次元構造に特異的に結合する抗体の産生を誘導する可能性があり；これらの領域又は構造は抗原決定基と呼ばれる。抗原決定基は、抗体との結合に関して完全型の抗原（すなわち免疫応答を誘発するために使用される「免疫原」）に匹敵しうる。
【００６５】

本明細書中で使用されるような用語「抗微生物作用薬」は、何らかの天然、合成、若しくは半合成の化合物若しくは組成物又はこれらの混合物であって、本発明の方法で実行されるようなヒト又は動物での使用について安全であり、かつ微生物の殺滅又は実質的な増殖阻害において有効であるものを指す。本明細書中で使用される「抗微生物薬」には、抗菌作用薬、抗真菌作用薬、及び抗ウイルス作用薬が挙げられる。

【００６６】

本明細書中で使用されるように、用語「アンチセンスオリゴヌクレオチド」又はアンチセンス核酸は、核酸ポリマーであって、少なくともその一部分が正常細胞又は病変細胞の中に存在する核酸に相補的である核酸ポリマーを意味する。「アンチセンス」とは、特に、タンパク質をコードする二本鎖ＤＮＡ分子の非コード鎖の核酸配列、又は非コード鎖にほぼ相同な配列を指す。本明細書中に定義されるように、アンチセンス配列は、タンパク質をコードする二本鎖ＤＮＡ分子の配列に相補的である。アンチセンス配列は、ＤＮＡ分子のコード鎖のコード部分だけに相補的である必要はない。アンチセンス配列は、タンパク質をコードするＤＮＡ分子のコード鎖上に指定された調節配列であってコード配列の発現を制御する調節配列に相補的であってもよい。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドには、限定するものではないが、ホスホロチオエートオリゴヌクレオチド及びその他のオリゴヌクレオチド修飾物が挙げられる。

【００６７】

「アプタマー」は、別の化合物（例えば、本明細書中で同定されたタンパク質）に優先的に結合するようにｉｎ　ｖｉｔｒｏで選択された化合物である。多くの場合、アプタマーは、ヌクレオチド又はアミノ酸（天然に存在するもの又は合成的に作製されたものの両方）から容易にランダム配列が大量に生成可能であることから核酸またはペプチドであるが、当然ながらこれらに限定される必要はない。

【００６８】

用語「結合すること、結合性」とは、分子相互の、例えば、限定するものではないが、酵素の基質への、リガンドの受容体への、抗体の抗原への、タンパク質のＤＮＡ結合性ドメインのＤＮＡへの、及びＤＮＡ鎖又はＲＮＡ鎖の相補鎖への、接着を指す。

【００６９】

「結合パートナー」とは、本明細書中で使用されるように、他方の分子に結合することができる分子を指す。

用語「生体適合性（の）」とは、本明細書中で使用されるように、宿主において大幅な有害反応を誘発しない材料を指す。

【００７０】

本明細書中で使用されるように、ポリペプチドの「生物学的に活性なフラグメント」又は「生物活性フラグメント」という用語は、完全長タンパク質の天然又は合成の一部分であって、該タンパク質の天然リガンドへの特異的結合又は該タンパク質の機能の実施をなすことができる部分を包含する。

【００７１】

用語「生体試料」は、本明細書中で使用されるように、対象者から得られた試料、例えば、限定されるものではないが、皮膚、毛髪、組織、血液、血漿、細胞、汗及び尿などを指す。

【００７２】

「Ｃ１９」及び「Ｃ２３」は、「ＳＬＬＰ１」及びＳＬＬＰ２」について同様に使用される名称である。

用語「がん」は、本明細書中で使用されるように、細胞の増殖であってその独自の特性　－　正常な制御の喪失　－　により無秩序な成長、分化の欠如、局部組織侵入、及び転移をもたらすものとして定義される。例としては、限定するものではないが、黒色腫、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、子宮がん、子宮頚がん、皮膚がん、膵臓がん、結腸直腸がん、腎臓がん及び肺がんが挙げられる。

【００７３】

本明細書中で使用されるように、用語「担体分子」は、対象の抗原に化学的にコンジュゲートせしめられた任意の分子であって、天然の該抗原に対する特異的な抗体をもたらす免疫応答を可能にするものを指す。

【００７４】

用語「細胞表面タンパク質」は、タンパク質であって該タンパク質の少なくとも一部が細胞膜の外面に露出していることが見出されるタンパク質を意味する。例としては成長因子受容体が挙げられる。

【００７５】

本明細書中で使用されるように、用語「化学的にコンジュゲートせしめられた」、「化学的にコンジュゲートする」は、抗原を担体分子に連結することを指す。この連結は、抗原及び担体分子の両方のアミノ酸配列又はそれらの一部分を含有するハイブリッドタンパク質が生産されうる組換え技術を使用した遺伝子レベルで行われることが可能である。このハイブリッドタンパク質は、抗原及び担体分子の両方又はそれらの一部分をコードするオリゴヌクレオチド配列によって生産される。この連結にはさらに、他の化学反応、例えば、限定するものではないがグルタルアルデヒド反応を使用して、抗原と担体タンパク質との間で作出された共有結合も含まれる。共有結合は、抗原を担体分子へと架橋する第３の分子を使用して作出されてもよい。これらの架橋剤は、抗原及び担体分子上の基、例えば、限定するものではないが、第一級アミン、スルフヒドリル、カルボニル、炭水化物、又はカルボン酸と、反応することができる。化学的コンジュゲーションにはさらに、抗原と担体分子との間の非共有結合も含まれる。

【００７６】

遺伝子の「コード領域」は、該遺伝子の転写によって生産されるｍＲＮＡ分子のコード領域にそれぞれ相同または相補的な、該遺伝子のコード鎖のヌクレオチド残基及び該遺伝子の非コード鎖のヌクレオチドで構成されている。

【００７７】

用語「競合配列」とは、ペプチド又は該ペプチドの修飾物、フラグメント、誘導体、若しくは相同体であって、その同種の結合部位について別のペプチドと競合するものを指す。

【００７８】

本明細書中で使用されるような「相補性」は、２つの核酸、例えば２つのＤＮＡ分子の間のサブユニット配列の相補性という広い概念を指す。該分子両方におけるヌクレオチドの部位を、互いに塩基対をなすことが通常は可能なヌクレオチドが占めている場合、該核酸はその部位において互いに相補的であると考えられる。よって、２つの核酸は、該分子のうちそれぞれにおいて相当数（少なくとも５０％）の対応する部位を、互いに正常に塩基対（例えばＡ：Ｔ及びＧ：Ｃヌクレオチド対）をなすヌクレオチドが占めているとき、互いに相補的である。このように、第１の核酸領域のアデニン残基は、その第１の領域に逆平行である第２の核酸領域の残基がチミンまたはウラシルである場合に、その第２の核酸領域の残基とともに特異的な水素結合（「塩基対合」）を形成できることが知られている。同様に、第１の核酸鎖のシトシン残基は、その第１の鎖に逆平行である第２の核酸鎖の残基がグアニンである場合に、その第２の核酸鎖の残基とともに塩基対合をなしうることが知られている。核酸の第１の領域が同一又は異なる核酸の第２の領域と相補的であるのは、該２つの領域が逆平行の様式で配置構成され、第１の領域の少なくとも１つのヌクレオチド残基が第２の領域の残基と塩基対合をなしうる場合である。好ましくは、第１の領域は第１の部分を含んでなりかつ第２の領域は第２の部分を含んでなり、それにより、その第１及び第２の部分が逆平行の様式で配置構成されているとき、第１の部分のヌクレオチド残基の少なくとも約５０％、及び好ましくは少なくとも約７５％、少なくとも約９０％、又は少なくとも約９５％は、第２の部分のヌクレオチド残基と塩基対合をなすことができる。より好ましくは、第１の部分のヌクレオチド残基はすべて第２の部分のヌクレオチド残基と塩基対合をなすことができる。

【００７９】

「化合物」は、本明細書中で使用されるように、一般には薬物、又は薬物として使用するための候補物と考えられる任意の種類の物質又は作用薬、並びに上記のものの組み合わせ及び混合物を指す。

【００８０】

本明細書中で使用されるように、用語「保存的アミノ酸置換」は、次の５群：

Ｉ．小さな脂肪族の非極性又はわずかに極性の残基：

Ａｌａ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｐｒｏ、Ｇｌｙ；

ＩＩ．極性の負に荷電した残基及びそれらのアミド：

Ａｓｐ、Ａｓｎ、Ｇｌｕ、Ｇｌｎ；

ＩＩＩ．極性の正に荷電した残基：

Ｈｉｓ、Ａｒｇ、Ｌｙｓ；

ＩＶ．大きな脂肪族の非極性残基：

Ｍｅｔ　Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｃｙｓ

Ｖ．大きな芳香族残基：

Ｐｈｅ、Ｔｙｒ、Ｔｒｐ

のうちの１つの中でのアミノ酸交換として本明細書中において定義される。

【００８１】

「対照」細胞は、試験細胞と同じ細胞型を有する細胞である。対照細胞は、例えば、試験細胞が検査されるのと正確に同時又はほとんど同時に検査されうる。対照細胞はさらに、例えば、試験細胞が検査される時とは離れた時点で検査されてもよく、かつ対照細胞の検査の結果が記録されて、記録された結果が試験細胞の検査によって得られた結果と比較されてもよい。

【００８２】

「試験」細胞は検査されている細胞である。

「サイトカイン」は、本明細書中で使用されるように、細胞間シグナル伝達分子を指し、そのうち最もよく知られているものは哺乳動物の体細胞の調節に関与する。その効果において増殖促進性及び増殖阻害性の両方の、いくつかのサイトカインファミリー、例えば、インターロイキン、インターフェロン、及び形質転換増殖因子について、特性解析がなされている。いくつかの他のサイトカインは当業者に周知である。これらのサイトカインの供給源、特性、標的及びエフェクタ活性については説明がなされている。

【００８３】

本明細書中で使用されるように、化合物の「誘導体」は、類似構造の別の化合物から、アルキル、アシル、又はアミノ基によるＨの置き換えなどで１以上のステップで生産されうる化学化合物を指す。

【００８４】

「検出する」という語及びその文法的変化形の使用は、定量化を伴わないその分子種の測定を指す一方、「決定する」又は「測定する」という語に加えてそれらの文法的変化形の使用は、定量化を伴うその分子種の測定を指すことを意味する。用語「検出する」及び「同定する」は本明細書中では互換的に使用される。

【００８５】

本明細書中で使用されるように、「検出可能なマーカー」又は「リポーター分子」は、マーカーを備えていない類似化合物の存在下で該マーカーを含む化合物の特異的検出を可能にする原子又は分子である。検出可能なマーカー又はレポーター分子には、例えば、放射性同位体、抗原決定基、酵素、ハイブリダイゼーションに利用可能な核酸、発色団、発蛍光団、化学発光分子、電気化学的に検出可能な分子、及び変更型蛍光偏光又は変更型光散乱を提供する分子が挙げられる。

【００８６】

本明細書中で使用されるように、用語「診断」はＳＡＳ１Ｒを発現しているがんに起因する異常なＳＡＳ１発現を検出することを指す。いかなる診断方法においても、偽陽性及び偽陰性が存在する。いかなる診断方法も１００％の正確さは提供しない。

【００８７】
「疾患」とは、動物の健康状態であって、該動物がホメオスタシスを維持することができず、かつその疾患が改善されない場合は該動物の健康は悪化し続ける、状態である。
これに対し、動物における「障害」とは、該動物がホメオスタシスを維持することができる健康状態であって、ただし該動物の健康状態は該障害が存在しない状態よりも良くない、状態である。治療を受けずに放置されても、障害は必ずしも該動物の健康状態のさらなる低下を引き起こさない。
【００８８】
本明細書中で使用されるように、用語「ドメイン」は、分子又は構造の一部であって、共通の物理化学的特徴、例えば、限定されるものではないが、疎水性、極性、球状及び螺旋状のドメインなど、又は性質、例えばリガンド結合、シグナル伝達、細胞透過など、を共有するものを指す。結合ドメインの具体例には、限定するものではないが、ＤＮＡ結合ドメイン及びＡＴＰ結合ドメインが挙げられる。
【００８９】
本明細書中で使用されるように、「有効な量」又は「治療上有効な量」とは、疾患又は障害の症状を緩和することのような選択された効果を生じるのに十分な量を意味する。複数化合物のような組み合わせの形態の化合物の投与という状況では、各化合物の量は、別の化合物との組み合わせで投与される場合、その化合物が単独で投与される場合とは異なる可能性がある。よって、化合物の組み合わせの有効な量はその組み合わせ全体をまとめて指しているが、各化合物の実際の量は様々となりうる。用語「より有効な」とは、その選択された効果が、ある治療によって、該治療が比較の対象とされている第２の治療に比べ、より大きく緩和されることを意味する。
【００９０】
本明細書中で使用されるように、用語「エフェクタドメイン」は、生化学経路を調節することができる、細胞質内のエフェクタ分子、化学物質、又は構造物と直接相互作用することができるドメインを指す。
【００９１】
本明細書中で使用されるように、「卵子タンパク質」又は「卵子特異的タンパク質」という語は、卵子又は卵巣中で独占的又は優勢的に発現されるタンパク質を指す。該タンパク質は卵子又は卵巣の発生のすべての段階で発現される必要はない。
【００９２】
用語「エリキシル剤」は、本明細書中で使用されるように、一般に、清澄な、甘味のついた、アルコールを含有する、通常は水アルコール性の、香味料物質及び時には活性薬剤を含有している液体を指す。
【００９３】
「コードしている」とは、遺伝子、ｃＤＮＡ、又はｍＲＮＡのようなポリヌクレオチド中の特定配列のヌクレオチドの固有の特質であって、生物学的プロセスにおける、規定の配列のヌクレオチド（すなわちｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ及びｍＲＮＡである）又は規定の配列のアミノ酸のいずれかを有しかつそこから生じる生物学的特質を有する他のポリマー及び巨大分子の合成のための鋳型としての役割を果たす特質を指す。したがって、遺伝子は、その遺伝子に対応するｍＲＮＡの転写及び翻訳により細胞内又は他の生物系の中でタンパク質が生じる場合、該タンパク質をコードしている。そのヌクレオチド配列がｍＲＮＡ配列と同一であり配列表において通常提示されるコード鎖、及び遺伝子又はｃＤＮＡの転写のための鋳型として使用される非コード鎖はいずれも、該タンパク質又はその遺伝子若しくはｃＤＮＡの他の生成物をコードしているとして言及されうる。
【００９４】
「エンハンサー」は、転写の開始部位に対する該エンハンサーの距離又は配置方向にかかわらず、転写の効率を増大させることができるＤＮＡ調節要素である。
本明細書中に使用されるような用語「エピトープ」は、抗体を誘発して該抗体と反応することができる抗原分子上の小さな化学基として定義される。抗原は１つ以上のエピトー

プを有しうる。ほとんどの抗原は多数のエピトープを有する；すなわちそれらは多価である。一般に、エピトープは大きさが概算で５アミノ酸又は５糖である。当業者には、一般に分子の特定の直線状配列ではなく全体的な三次元構造が抗原特異性の主な基準であることが理解されている。

【００９５】

本明細書中で使用されるように、特定のタンパク質又はペプチドの「実質的に純粋な」調製物とは、該調製物中のタンパク質又はペプチドのうち重量比で少なくとも約９５％、及び好ましくは少なくとも約９９％がその特定のタンパク質又はペプチドである調製物である。

【００９６】

「フラグメント」又は「セグメント」は、少なくとも１つのアミノ酸を含む、アミノ酸配列の一部分、又は少なくとも１つのヌクレオチドを含む、核酸配列の一部分である。用語「フラグメント」及び「セグメント」は本明細書中において互換的に使用される。

【００９７】

本明細書中で使用されるように、タンパク質又はペプチドに適用されるような、用語「フラグメント」は、通常は、長さが少なくとも約３～１５アミノ酸、少なくとも約１５～２５アミノ酸、長さが少なくとも約２５～５０アミノ酸、長さが少なくとも約５０～７５アミノ酸、長さが少なくとも約７５～１００アミノ酸であってよく、長さが１００アミノ酸を越えてもよい。

【００９８】

本明細書中で使用されるように、核酸に適用されるような用語「フラグメント」は、通常は、長さが少なくとも約２０のヌクレオチドであってよく、典型的には、少なくとも約５０ヌクレオチド、より典型的には、約５０～約１００ヌクレオチド、好ましくは、少なくとも約１００～約２００ヌクレオチド、さらにより好ましくは、少なくとも約２００～約３００ヌクレオチド、さらになおより好ましくは、少なくとも約３００～約３５０ヌクレオチド、さらにより好ましくは、少なくとも約３５０ヌクレオチド～約５００ヌクレオチド、さらになおより好ましくは、少なくとも約５００～約６００、さらにより好ましくは、少なくとも約６００ヌクレオチド～約６２０ヌクレオチド、さらになおより好ましくは、少なくとも約６２０～約６５０、最も好ましくは、核酸フラグメントは長さが約６５０ヌクレオチドより大きくなろう。

【００９９】

本明細書中で使用されるように、「機能的な」生体分子とは、該分子が特徴とする特質を該分子が示す形態をとっている生体分子である。例えば、機能的な酵素とは、該酵素が特徴とする特徴的な触媒活性を示すものである。

【０１００】

本明細書中で使用されるような「相同（な）」は、２つのポリマー分子の間の、例えば２つの核酸分子、例えば２つのＤＮＡ分子若しくは２つのＲＮＡ分子の間での、又は２つのポリペプチド分子の間の、サブユニット配列の類似性を指す。２つの分子両方におけるサブユニットの部位が同じ単量体サブユニットで占められている場合、例えば２つのＤＮＡ分子それぞれにおける部位がアデニンで占められている場合、該分子はその部位において相同である。２つの配列の間の相同性は、一致する部位すなわち相同な部位の数の一次関数であり、例えば、２つの化合物配列の部位の半分（例えば、長さ１０サブユニットのポリマー中の５つの部位）が相同である場合、その２つの配列は５０％相同であり、９０％の部位（例えば１０箇所のうち９箇所）が一致すなわち相同である場合、その２つの配列は９０％の相同性を共有する。例をあげると、ＤＮＡ塩基配列３’ＡＴＴＧＣＣ５’及び３’ＴＡＴＧＧＣは５０％の相同性を共有する。

【０１０１】

本明細書中で使用されるように、「相同性」は「同一性」と同義的に使用される。

２つのヌクレオチド配列又はアミノ酸配列の間の一致率（％）の決定は、数学アルゴリズムを使用して遂行することができる。例えば、２つの配列を比較するのに有用な数学ア

ルゴリズムは、カーリン（Ｋａｒｌｉｎ）及びアルトシュル（Ａｌｔｓｃｈｕｌ）（米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　ＵＳＡ）、１９９０年、第８７巻、ｐ．２２６４－２２６８）のアルゴリズムであって、カーリン（Ｋａｒｌｉｎ）及びアルトシュル（Ａｌｔｓｃｈｕｌ）（米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　ＵＳＡ）、１９９３年、第９０巻、ｐ．５８７３－５８７７）において修正されたものである。このアルゴリズムは、アルトシュル（Ａｌｔｓｃｈｕｌ）ら（ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー（Ｊ．　Ｍｏｌ．　Ｂｉｏｌ．）、１９９０年、第２１５巻、ｐ．４０３－４１０）のＮＢＬＡＳＴ及びＸＢＬＡＳＴのプログラムに組み込まれており、例えば、ユニバーサルリソースロケータを有する全米バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のワールドワイドウェブサイトにおいて、ＮＣＢＩウェブサイトでＢＬＡＳＴツールを使用してアクセスすることができる。ＢＬＡＳＴのヌクレオチド検索は、本明細書中に記載された核酸に相同なヌクレオチド配列を得るために、ＮＢＬＡＳＴプログラム（ＮＣＢＩウェブサイトでは「ｂｌａｓｔｎ」と表される）を用いて、次のパラメータ：ギャップペナルティ（ｇａｐ　ｐｅｎａｌｔｙ）＝５；ギャップ伸張ペナルティ（ｇａｐ　ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ　ｐｅｎａｌｔｙ）＝２；不一致ペナルティ（ｍｉｓｍａｔｃｈ　ｐｅｎａｌｔｙ）＝３；一致スコア付与（ｍａｔｃｈ　ｒｅｗａｒｄ）＝１；期待値（ｅｘｐｅｃｔａｔｉｏｎ　ｖａｌｕｅ）１０．０；及びワードサイズ（ｗｏｒｄ　ｓｉｚｅ）＝１１を使用して実施可能である。ＢＬＡＳＴのタンパク質検索は、本明細書中に記載されたタンパク質分子に相同なアミノ酸配列を得るために、ＸＢＬＡＳＴプログラム（ＮＣＢＩウェブサイトでは「ｂｌａｓｔｎ」と表される）又はＮＣＢＩ「ｂｌａｓｔｐ」プログラムを用いて、次のパラメータ：期待値１０．０、ＢＬＯＳＵＭ６２スコアリングマトリックスを使用して実施可能である。比較目的のギャップ有りアラインメントを得るために、アルトシュル（Ａｌｔｓｃｈｕｌ）らの文献（ヌクレイック・アシッズ・リサーチ（Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．）、１９９７年、第２５巻、ｐ．３３８９－３４０２）に記載されているようにしてギャップ有りＢＬＡＳＴを利用することができる。別例として、ＰＳＩ‐Ｂｌａｓｔ又はＰＨＩ‐Ｂｌａｓｔが、分子間の距離関係（Ｉｄ．）及び共通のパターンを有する分子間の関係を検出する反復検索を実施するために使用されることも可能である。ＢＬＡＳＴ、ギャップ有りＢＬＡＳＴ、ＰＳＩ‐Ｂｌａｓｔ、及びＰＨＩ‐Ｂｌａｓｔプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えばＸＢＬＡＳＴ及びＮＢＬＡＳＴ）のデフォルトパラメータが使用可能である。

【０１０２】

２つの配列の間の一致率（％）は、ギャップを許容するにせよしないにせよ、上述の技法に類似の技法を使用して決定可能である。一致率（％）を計算する際、典型的には完全な一致が計数される。

【０１０３】

本明細書中で使用されるように、用語「ハイブリダイゼーション」は相補的な核酸の対合に関して使用される。ハイブリダイゼーション及びハイブリダイゼーションの強さ（すなわち核酸間の会合の強さ）は、核酸の間の相補性の程度、関与する条件のストリンジェンシー、形成されるハイブリッドの長さ、及び核酸内のＧ：Ｃ比のような要因によって影響を受ける。

【０１０４】

「抗原に対して対象者を免疫化する」という用語によって、組成物、タンパク質複合体、タンパク質複合体をコードするＤＮＡ、抗体又は抗体をコードするＤＮＡであって、対象者において免疫応答を誘発し、かつ例えば、抗原によって引き起こされる疾患に対する防御を対象者に提供するか、又は抗原の機能を妨げるものを、該対象者に投与することが意味される。

【０１０５】

用語「その免疫学的に活性なフラグメント」は、一般に、少なくともエピトープを含むポリペプチド抗原のフラグメントを指すように当分野では理解されることになり、これは

、該フラグメントがポリペプチド抗原の配列由来の４個の連続したアミノ酸を少なくとも含むことを意味する。

【０１０６】

本明細書中で使用されるように、用語「アポトーシスの誘導」とは、細胞がプログラム細胞死のプロセスを開始するようなかたちで作用を受けるプロセスであって、細胞が膜結合型の粒子へと断片化されて次に該粒子が食作用のプロセスによって除去されることを特徴とするプロセスを意味する。

【０１０７】

本明細書中で使用されるように、用語「吸入器」は、例えば溶液状、散剤状などの薬物の経鼻投与及び経肺投与用のデバイスの両方を指す。例えば、用語「吸入器」は、推進剤駆動式の吸入器、例えば急性の喘息発作のための抗ヒスタミン薬の投与に使用されるような吸入器、及びプラスチック噴霧ボトル、例えばうっ血除去薬の投与に使用されるようなボトル、を包含するように意図されている。

【０１０８】

用語「阻害する」は、本明細書中で使用されるように、化合物、作用薬、又は方法が、記載された機能、レベル、活性、速度などを、該用語「阻害する」が使用される文脈に基づいて低減又は妨害する能力を指す。好ましくは、阻害は、少なくとも１０％、より好ましくは少なくとも２５％、さらにより好ましくは少なくとも５０％の阻害であり、最も好ましくは、機能は少なくとも７５％阻害される。用語「阻害する」は、「低減する」及び「阻止する」と互換的に使用される。

【０１０９】

用語「複合体を阻害する」とは、本明細書中で使用されるように、複合体の形成又は２以上のタンパク質の相互作用を阻害することに加えて、複合体の機能又は活性を阻害することを指す。該用語はさらに、形成された複合体を分裂させることも包含する。しかしながら該用語は、これらの機能のうち一つ一つが同時に阻害されねばならないことを暗示するものではない。

【０１１０】

用語「タンパク質を阻害する」は、本明細書中で使用されるように、タンパク質の合成、レベル、活性、又は機能を阻害する任意の方法又は技法に加えて、対象とするタンパク質の合成、レベル、活性、又は機能の誘導又は刺激を阻害する方法をも指す。該用語はさらに、対象とするタンパク質の合成、レベル、活性、又は機能を調節することができる任意の代謝経路又は調節経路も指す。該用語は、他の分子との結合及び複合体形成を含む。したがって、用語「タンパク質阻害剤」は、任意の作用薬又は化合物であって、その適用によりタンパク質機能又はタンパク質経路機能の阻害がもたらされるものを指す。しかしながら該用語は、これらの機能のうち一つ一つが同時に阻害されねばならないことを暗示するものではない。

【０１１１】

本明細書中で使用されるように、「注射すること又は適用すること」は、様々な経路による本発明の化合物の投与を含み、かつ、例えば、限定するものではないが、局所、経口、口腔内、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、骨腔内、脳室内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下、経膣、眼内、経肺、又は経直腸の手段を意味する。

【０１１２】

本明細書中で使用されるように、「使用説明資料」には、本明細書中に列挙された様々な疾患又は障害の緩和の達成のためキット内の本発明のペプチドの有用性を伝えるために使用することが可能な、出版物、録音、略図、又は任意の他の表現媒体が含まれる。任意選択で、又は別例として、該使用説明資料は、哺乳動物の細胞又は組織における疾患又は障害を緩和する１つ以上の方法について記載されていてもよい。本発明のキットの使用説明資料は、例えば、同定された化合物発明が入っているコンテナに添付されてもよいし、同定された化合物が入っているコンテナと一緒に出荷されてもよい。別例として、使用説明資料は、使用説明資料及び化合物が受取人によって協調的に使用されるという意図をも

って、コンテナとは別々に出荷されてもよい。

【０１１３】

精子タンパク質と卵子タンパク質との間の「相互作用」によって、有精卵結合、融合、又は受精などのイベント又はプロセスが生じるのに必要な結合のような相互作用が意味される。１つの態様では、「相互作用」は受容体‐リガンド型の結合又は相互作用に類似しうる。

【０１１４】

「単離（された）核酸」は、核酸のセグメント又はフラグメントであって、天然に存在する状態において該セグメント又はフラグメントに隣接する配列から分離されたもの、例えばＤＮＡフラグメントであって通常は該フラグメントに隣接している配列（例えば該フラグメントが天然に存在するゲノム中で該フラグメントに隣接している配列）から取り出されたＤＮＡフラグメント、を指す。該用語はさらに、核酸であって、天然において該核酸に伴う他の成分から、例えば天然において細胞内で核酸に伴うＲＮＡ若しくはＤＮＡ又はタンパク質から、ほぼ精製された核酸にも当てはまる。したがって該用語には、例えば、組換えＤＮＡであって、ベクター、自律複製型のプラスミド若しくはウイルス、若しくは原核生物若しくは真核生物のゲノムＤＮＡに組み込まれたもの、又は他の配列とは無関係に別個の分子として（例えばＰＣＲ若しくは制限酵素消化によって生じたｃＤＮＡ又はゲノムフラグメント若しくはｃＤＮＡフラグメントとして）存在するものが含まれる。該用語はさらに、追加のポリペプチド配列をコードするハイブリッド遺伝子の一部である組換えＤＮＡも含む。

【０１１５】

「リガンド」は標的受容体に特異的に結合する化合物である。

「受容体」はリガンドに特異的に結合する化合物である。

リガンド又は受容体（例えば抗体）は、種々雑多な化合物の試料中のある化合物の存在を決定する結合反応において該リガンド又は受容体が機能するとき、その化合物「に特異的に結合する」、又は「（その化合物）と特異的に免疫反応性である」。したがって、指定のアッセイ（例えばイムノアッセイ）条件下では、リガンド又は受容体は特定の化合物に優先的に結合し、かつ試料中に存在する他の化合物には多量には結合しない。例えば、ポリヌクレオチドは、相補的配列を含む化合物ポリヌクレオチドにハイブリダイゼーション条件下で特異的に結合し；抗体は、該抗体が作り出された対象のエピトープを有する抗原にイムノアッセイ条件下で特異的に結合する。特定のタンパク質と特異的に免疫反応性である抗体を選択するために、様々なイムノアッセイ形式が使用されうる。例えば、固相ＥＬＩＳＡイムノアッセイは、タンパク質と特異的に免疫反応性のモノクローナル抗体を選択するために日常作業的に使用される。特異的な免疫反応性を決定するために使用可能なイムノアッセイの形式及び条件の説明については、ハーロー（Ｈａｒｌｏｗ）及びレーン（Ｌａｎｅ）の文献（「抗体、実験の手引き（Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，　Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ）」、米国ニューヨークのコールド・スプリング・ハーバー・パブリケーションズ（Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ）、１９８８年）を参照されたい。

【０１１６】

本明細書中で使用されるように、用語「連結」は２つの基の間の接続を指す。その接続は共有結合であっても非共有結合であってもよく、例えば、限定するものではないが、イオン結合、水素結合、及び疎水性／親水性相互作用が挙げられる。

【０１１７】

本明細書中で使用されるように、用語「リンカー」は、２つの他の分子を共有結合又は非共有結合によって、例えばイオン結合若しくは水素結合又はファンデルワールス相互作用によって接合する分子であって、例えば５’端で１つの相補的配列に、かつ３’端で別の相補的配列にハイブリダイズし、その結果２つの非相補的配列を接合する核酸分子を指す。

【０１１８】

遺伝子の「発現不良（ｍａｌｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ）」は、疾患又は障害を患う患者の細胞における遺伝子の発現であって、発現のレベル（無発現を含む）、発現される遺伝子の部分、又は細胞周期に関する遺伝子の発現のタイミングが、該疾患又は障害を患っていない患者の細胞における同じ遺伝子の発現とは異なっているものを意味する。当然ながら、発現不良は、該疾患若しくは障害を引き起こすか又は該疾患若しくは障害に寄与する場合もあれば、該疾患若しくは障害の症状である場合もあれば、両方である場合もある。

【０１１９】

本明細書中で使用されるように、用語「発現のレベルを測定すること」又は「発現のレベルを決定すること」は、任意の測定又はアッセイであって、該アッセイの結果を対象とする遺伝子又はタンパク質の発現のレベルと関連付けるために使用可能なものを指す。そのようなアッセイは、ｍＲＮＡのレベル、タンパク質レベルなどを測定することを含み、かつ、ノーザン及びウエスタンブロット解析、結合アッセイ、イムノブロット法などのようなアッセイによって実施可能である。発現のレベルは、発現の速度を含むことが可能であり、かつ存在するｍＲＮＡ又はタンパク質の実際の量に関して測定されることも可能である。そのようなアッセイは、情報を格納及び処理するための、またレベル、信号などの定量化を支援するための、またレベルの比較において使用される情報をデジタル化するための、プロセス又はシステムと併用される。

【０１２０】

用語「経鼻投与」は、そのすべての文法形式において、本発明の少なくとも１つの化合物の全身送達のための、鼻粘膜を経由した血流への本発明の少なくとも１つの化合物の投与を指す。送達のための経鼻投与の利点は、シリンジ及び針を使用する注射を必要としないこと、薬物の筋肉内投与に伴う可能性のある壊死を回避すること、並びに、薬物の経粘膜投与は自己投与に高度に適していることである。

【０１２１】

用語「核酸」は典型的には大きなポリヌクレオチドを指す。「核酸」が意味するのは、デオキシリボヌクレオシドで構成されるものであれリボヌクレオシドで構成されるものであれ、かつ、ホスホジエステル結合で構成されるものであれ修飾型の連結、例えばホスホトリエステル、ホスホロアミダート、シロキサン、カルボナート、カルボキシメチルエステル、アセトアミダート、カルバマート、チオエーテル、架橋ホスホロアミダート、架橋メチレンホスホナート、架橋ホスホロアミダート、架橋ホスホロアミダート、架橋メチレンホスホナート、ホスホロチオエート、メチルホスホナート、ホスホロジチオアート、架橋ホスホロチオエート又はスルホンの連結、及びそのような連結の組み合わせなどで構成されるものであれ、任意の核酸である。核酸という用語はまた、５つの生体に存在する塩基（アデニン、グアニン、チミン、シトシン及びウラシル）以外の塩基で構成されている核酸も明確に含む。

【０１２２】

本明細書中で使用されるように、用語「核酸」はＲＮＡ並びに一本鎖及び二本鎖のＤＮＡ及びｃＤＮＡを包含する。更に、用語「核酸」、「ＤＮＡ」、「ＲＮＡ」及び類似用語は、核酸アナログ、すなわちホスホジエステル主鎖以外を有するアナログをも含む。例えば、当分野で周知でありかつ主鎖にホスホジエステル結合ではなくペプチド結合を有するいわゆる「ペプチド核酸」は、本発明の範囲内にあると見なされる。「核酸」が意味するのは、デオキシリボヌクレオシドで構成されるものであれリボヌクレオシドで構成されるものであれ、かつ、ホスホジエステル連結で構成されるものであれ修飾型の連結、例えばホスホトリエステル、ホスホロアミダート、シロキサン、カルボナート、カルボキシメチルエステル、アセトアミダート、カルバマート、チオエーテル、架橋ホスホロアミダート、架橋メチレンホスホナート、架橋ホスホロアミダート、架橋ホスホロアミダート、架橋メチレンホスホナート、ホスホロチオエート、メチルホスホナート、ホスホロジチオアート、架橋ホスホロチオエート又はスルホン連結、及びそのような連結の組み合わせなどで構成されるものであれ、任意の核酸である。核酸という用語はまた、５つの生体に存在する塩基（アデニン、グアニン、チミン、シトシン及びウラシル）以外の塩基で構成されて

いる核酸も明確に含む。ポリヌクレオチド配列について記載するために本明細書中では従来の表記法が使用されている、すなわち：一本鎖ポリヌクレオチド配列の左側端は５’端であり；二本鎖ポリヌクレオチド配列の左側方向は５’方向と呼ばれる。生じつつあるＲＮＡ転写物への５’→３’のヌクレオチドの付加の方向は転写方向と呼ばれる。ｍＲＮＡと同じ配列を有するＤＮＡ鎖は「コード鎖」と呼ばれ；ＤＮＡ上の基点に対して５’側に位置するＤＮＡ鎖上の配列は「上流配列」と呼ばれ；ＤＮＡ上の基点に対して３’側にあるＤＮＡ鎖上の配列は「下流配列」と呼ばれる。

【０１２３】

用語「核酸構築物」は、本明細書中で使用されるように、ゲノム法または合成法のいずれによって得られるものであれ、所望の特定の遺伝子又は遺伝子フラグメントをコードするＤＮＡ及びＲＮＡ配列を包含する。

【０１２４】

別段の定めがない限り、「アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列」は、互いの縮重型であり、かつ同じアミノ酸配列をコードする、全てのヌクレオチド配列を含む。タンパク質及びＲＮＡをコードするヌクレオチド配列はイントロンを含む場合がある。

【０１２５】

用語「オリゴヌクレオチド」は典型的には短いポリヌクレオチド、概して、約５０ヌクレオチド以下を指す。当然のことであるが、ヌクレオチド配列がＤＮＡ塩基配列（すなわちＡ、Ｔ、Ｇ、Ｃ）によって表わされる場合、これは「Ｕ」が「Ｔ」に取って代わるＲＮＡ配列（すなわちＡ、Ｕ、Ｇ、Ｃ）も含む。

【０１２６】

本明細書中で使用されるような「卵母細胞」は、いくつかの方法でより明確に分類可能である。「裸の卵母細胞」は、ナース顆粒膜（ｇｒａｎｕｌｏｓｅ）細胞の連続シートに囲まれていない雌生殖細胞として定義される。「原始卵母細胞」は、単層の鱗状ナース顆粒膜細胞に囲まれた雌生殖細胞として定義される。「一次卵母細胞」は、単層の立方形ナース顆粒膜（ｇｒａｎｕｌｏｓｅ）細胞に囲まれた雌生殖細胞として定義される。「二次卵母細胞」は、二層の立方形顆粒膜（ｇｒａｎｕｌｏｓｅ）細胞に囲まれた雌生殖細胞として定義される。「前胞状（ｐｒｅｅａｎｔｒａｌ）卵母細胞」は、３層以上の顆粒膜（ｇｒａｎｕｌｏｓｅ）細胞に囲まれているが洞を伴わない雌生殖細胞として定義される。「胞状卵母細胞」は、３層以上の顆粒膜細胞に囲まれ、かつ卵胞液空間の形跡を含んでいる雌生殖細胞として定義される。

【０１２７】

２つのポリヌクレオチドについて「作動可能なように連結された」として記載することが意味するのは、一本鎖又は二本鎖の核酸部分が該２つのポリヌクレオチドを含んでなり、該２つのポリヌクレオチドは、該２つのポリヌクレオチドのうち少なくとも一方が特徴とする生理学的な影響を他方に対して及ぼすことができるようなかたちで、該核酸部分の内部で配置構成されているということである。例を挙げると、遺伝子のコード領域に作動可能なように連結されたプロモーターは、該コード領域の転写を促進することができる。

【０１２８】

本明細書中で使用されるように、医薬組成物の「非経口（ｐａｒｅｎｔｅｒａｌ）投与」は、対象者の組織の物理的突破及び該組織内の突破口を通した医薬組成物の投与を特徴とする任意の投与経路を含む。よって非経口投与には、例えば、限定されるものではないが、医薬組成物の投与であって組成物の注射によるもの、外科的切開を通じた組成物の適用によるもの、組織を貫通する非外科的創傷を通じた組成物の適用によるものなどが挙げられる。特に、非経口投与には、例えば、限定されるものではないが、皮下、腹腔内、筋肉内、胸骨内への注射、及び腎臓透析輸液技法が含まれることが企図される。

【０１２９】

用語「ペプチド」は典型的には短いポリペプチドを指す。

用語「適用ごとの」は、本明細書中で使用されるように、対象者への薬物又は化合物の投与を指す。

【０１３０】
用語「医薬組成物」は、少なくとも１つの有効成分を含む組成物を意味するものとし、これにより該組成物は哺乳動物（例えば、限定するものではないがヒト）における一定の効果的な転帰についての調査に適するものとなる。該技法は有効成分が所望の効果的な転帰を有するかどうかを技術者の要求に基づいて判断するのに適切であると当業者は了解かつ認識するであろう。
【０１３１】
本明細書中で使用されるように、用語「薬学的に許容可能な担体」とは、化学組成物であって、該化学組成物とともに適切な化合物又は誘導体を組み合わせることが可能であり、かつ、組み合わせた後に、その適切な化合物を対象者に投与するために使用可能であるものを意味する。
【０１３２】
本明細書中で使用されるように、用語「生理学的に許容可能な」エステル又は塩とは、医薬組成物の任意の他の成分との適合性を有するエステル又は塩の形態の有効成分であって、該組成物が投与されることになっている対象者に対して有害ではないものを意味する。
【０１３３】
「薬学的に許容可能な」とは、ヒトへの適用又は獣医学的適用のいずれについても生理学的に忍容可能であることを意味する。
本明細書中で使用されるように、「医薬組成物」にはヒトでの使用及び獣医学的使用のための調合物が含まれる。
【０１３４】
「複数」とは少なくとも２つを意味する。
「ポリヌクレオチド」とは一本鎖又は平行鎖及び逆平行鎖の核酸を意味する。よってポリヌクレオチドは、一本鎖又は二本鎖のいずれの核酸であってもよい。
【０１３５】
「ポリペプチド」とは、アミノ酸残基、関連する天然に存在する構造バリアント、及び天然に存在しないこれらの合成アナログが、ペプチド結合、関連する天然に存在する構造バリアント、及び天然に存在しないこれらの合成アナログを介して連結したもので構成されているポリマーを指す。
【０１３６】
「合成ペプチド又は合成ポリペプチド」とは、天然に存在しないペプチド又はポリペプチドを意味する。合成ペプチド又は合成ポリペプチドは、例えば自動ポリペプチド合成機を使用して合成可能である。様々な固相ペプチド合成方法が当業者に知られている。
【０１３７】
「前感作」が意味しているのは、作用薬を用いる抗原投与に先立っての、少なくとも１つの自然免疫系刺激物の前投与である。これは忍容の誘導と呼ばれることもある。
用語「防止（予防）する」は、本明細書中で使用されるように、何かが起きるのを止めること、又は起こり得る何か若しくは起こりそうな何かに対して事前措置をとることを意味する。医学に関しては、「予防」とは一般に、ある疾患又は身体状態になる機会を減少させるために講じられる行為を指す。
【０１３８】
「防止的」又は「予防的」治療とは、疾患若しくは障害の徴候を示さないか、又は初期徴候だけを示している対象者に施される治療である。予防的又は防止的治療は、疾患又は障害の発症に関連した病変の発症のリスクを減少させる目的で施される。
【０１３９】
「プライマー」は、指定のポリヌクレオチド鋳型に特異的にハイブリダイズし、かつ相補的ポリヌクレオチドの合成のための開始点を提供することができるポリヌクレオチドを指す。そのような合成は、合成が誘導される条件下に（すなわちヌクレオチド、相補的ポリヌクレオチド鋳型、及びＤＮＡポリメラーゼのような重合のための作用薬の存在下に）

ポリヌクレオチドプライマーが置かれたときに生じる。プライマーは典型的には一本鎖であるが、二本鎖であってもよい。プライマーは典型的にはデオキシリボ核酸であるが、種々様々な合成プライマー及び天然に存在するプライマーが数多くの適用に有用である。プライマーは、該プライマーがハイブリダイズして合成の開始のための部位としての役割を果たすように設計された鋳型に相補的であるが、鋳型の正確な配列を反映する必要はない。そのような場合、鋳型へのプライマーの特異的ハイブリダイゼーションは、ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーに依存する。プライマーは、例えば、色原体の、放射性の、又は蛍光性の構成部分を用いて標識可能であり、かつ検出可能な構成部分として使用可能である。

【０１４０】

本明細書中で使用されるように、用語「プロモーター／調節配列」は、該プロモーター／調節配列に作動可能なように連結された遺伝子産物の発現に必要な核酸配列を意味する。いくつかの実例では、この配列はコアプロモーター配列であってもよく、また他の実例では、この配列はさらにエンハンサー配列及び遺伝子産物の発現に必要な他の調節要素も含みうる。プロモーター／調節配列は、例えば、組織特異的な方式で遺伝子産物を発現するものであってもよい。

【０１４１】

「構成的」プロモーターとは、該プロモーターが作動可能なように連結された遺伝子の発現を細胞内で常時駆動するプロモーターである。例を挙げると、細胞のハウスキーピング遺伝子の発現を駆動するプロモーターは構成的プロモーターであると考えられる。

【０１４２】

「誘導型」プロモーターとは、遺伝子産物をコード又は指定するポリヌクレオチドと作動可能なように連結された時、該プロモーターに対応する誘導物質が生細胞内に存在する場合にほぼ限ってその細胞の中で遺伝子産物が生産されるようにするヌクレオチド配列である。

【０１４３】

「組織特異的」プロモーターとは、遺伝子産物をコード又は指定するポリヌクレオチドと作動可能なように連結された時、生細胞が該プロモーターに対応する組織種の細胞である場合にほぼ限ってその細胞の中で遺伝子産物が生産されるようにするヌクレオチド配列である。

【０１４４】

「予防的」治療とは、疾患の徴候を示さないか又は該疾患の初期徴候のみを示す対象者に、該疾患に関連した病変の発症のリスクを減少させる目的で施される治療である。

本明細書中で使用されるように、末端アミノ基に関する「保護基」は、ペプチドの末端アミノ基であって、ペプチド合成において伝統的に使用される様々なアミノ末端基保護基のうち任意のものと結合された末端アミノ基を指す。そのような保護基には、例えば、ホルミル、アセチル、ベンゾイル、トリフルオロアセチル、スクシニル、及びメトキシスクシニルのようなアシル保護基；ベンジルオキシカルボニルのような芳香族ウレタン保護基；並びに脂肪族ウレタン保護基、例えばターシャリ‐ブトキシカルボニル又はアダマンチルオキシカルボニルが挙げられる。適当な保護基については、グロス（Ｇｒｏｓｓ）及びミーンホファー（Ｍｉｅｎｈｏｆｅｒ）編、「ザ・ペプチド（Ｔｈｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅｓ）」、米国ニューヨークのアカデミックプレス（Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ）、１９８１年、第３巻、ｐｐ．３－８８を参照されたい。

【０１４５】

本明細書中で使用されるように、末端カルボキシ基に関する「保護基」は、ペプチドの末端カルボキシル基であって、様々なカルボキシル末端保護基のうち任意のものと結合された末端カルボキシル基を指す。そのような保護基には、例えば、ターシャリ‐ブチル、ベンジル又はエステル結合若しくはエーテル結合によって末端カルボキシル基に連結される他の許容可能な基が挙げられる。

【０１４６】

用語「タンパク質」は典型的には大きなポリペプチドを指す。本明細書中ではポリペプチド配列を表現するために従来の表記法が使用される、すなわち：ポリペプチド配列の左側端はアミノ末端であり；ポリペプチド配列の右側端はカルボキシル末端である。

【０１４７】

用語「タンパク質調節経路」は、本明細書中で使用されるように、タンパク質を調節する上流の調節経路に加えて、そのタンパク質が調節する下流のイベントの両方を指す。そのような調節には、限定するものではないが、対象とするタンパク質の転写、翻訳、レベル、活性、翻訳後修飾、及び機能、並びに該タンパク質が調節する下流のイベントが挙げられる。

【０１４８】

用語「タンパク質経路」及び「タンパク質調節経路」は、本明細書中で互換的に使用される。

「前地帯」又は「前地帯効果」は、「フック効果」とも呼ばれ、凝集反応又は沈降反応において、前地帯又はプレゾーンが、反応の生じない比較的高い抗体濃度の地帯である場合である。例えば、凝集試験では、人の血清（抗体を含有している）が特定の抗原が入った試験管に添加される。人の血清中には多種類の異なる抗体が存在し、また試験管内に存在する抗原に結合することになる１つの特定の抗体があることも考えられる。抗原に結合しない他の種類の抗体も存在する。抗体抗原複合体は凝集体を形成する。場合によっては、特定の抗原に対して特異的な抗体の濃度が他の種類の抗体と比較して過度に低く、そうなった場合、ごく少量の生じた凝集反応は、より大きな結合していない抗体の集合体によって覆い隠されることになり、かつ該混合物は液体のままとなる。生じた凝集反応は非可視であり、これは前地帯と呼ばれる。これは偽陰性の結果をもたらす可能性がある。したがって、各凝集試験では、凝集反応が見られるまで、抗体抗原混合物の希釈があるレベルまで行われるか、そうでなければ該試験は陰性である。前地帯効果は、間接的免疫毒素実験においても見られ、該実験では過剰量の遊離の一次抗体が、１）二次免疫毒素に非結合のままの抗体による細胞表面の受容体の占拠及び飽和、並びに２）受容体（ＳＡＳ１Ｂ）と結合するために細胞表面に到達することのない一次抗体‐免疫毒素複合体の溶液中での形成をもたらす。前地帯効果に注目すると、標的指向型の抗体の生物学的効果（成長停止）は典型的には、一次抗体及び二次免疫毒素の等価な化学量論比に近づくにつれて観察される。

【０１４９】

本明細書中で使用されるように、用語「精製された」及び同様の用語は、分子又は化合物を、天然の環境においてその分子又は化合物に通常関連付けられている他の成分に対して富化することに関する。用語「精製された」は、そのプロセスの間に特定の分子の完全な純度が達成されたことを必ずしも示さない。本明細書中で使用されるような「高度に精製された」化合物は、９０％を超える純粋な化合物を指す。特に、精製された精細胞ＤＮＡは、その精製された精細胞ＤＮＡのＰＣＲ増幅及びその後の増幅ＤＮＡの分析において検出可能な有意なレベルの非精細胞ＤＮＡを生産しないＤＮＡを指す。「検出可能な有意なレベル」とは、提示されるデータにおいて可視的ということになり、かつ法医学的証拠の分析の際には対処／説明がなされる必要があるであろう混入物質（ｃｏｎｔａｍｉｎａｔｅ）の量である。

【０１５０】

「組換えポリヌクレオチド」は、天然においては相互に接合されていない配列を有するポリヌクレオチドを指す。増幅又はアセンブリされた組換えポリヌクレオチドは適当なベクターに含められてもよく、該ベクターは適当な宿主細胞を形質転換するために使用可能である。

【０１５１】

組換えポリヌクレオチドは非コード機能（例えばプロモーター、複製開始点、リボソーム結合部位など）も同様に果たすことができる。

組換えポリヌクレオチドを含む宿主細胞は「組換え宿主細胞」と呼ばれる。組換え宿主

細胞において発現される、組換えポリヌクレオチドを含む遺伝子は、「組換えポリペプチド」を生産する。

【０１５２】

「組換えポリペプチド」は、組換えポリヌクレオチドの発現で生産されるポリペプチドである。

「受容体」はリガンドに特異的に結合する化合物である。

【０１５３】

「リガンド」は標的受容体に特異的に結合する化合物である。

「組換え細胞」は、導入遺伝子を含む細胞である。そのような細胞は真核生物の細胞であってもよいし、原核生物の細胞であってもよい。さらに、トランスジェニック細胞は、限定するものではないが、導入遺伝子を含む胚性幹細胞、導入遺伝子を含むトランスジェニック胚性幹細胞由来のキメラの哺乳動物から得られた細胞、トランスジェニック哺乳動物又はその胎児組織若しくは胎盤組織から得られた細胞、及び導入遺伝子を含む原核細胞、を包含する。

【０１５４】

用語「調節する」は、対象とする機能又は活性を、刺激すること又は阻害することのいずれかを指す。

本明細書中で使用されるように、用語「レポーター遺伝子」は、既知の方法を使用してその発現を検出することができる遺伝子を意味する。例を挙げると、大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ）のｌａｃＺ遺伝子は、色素形成基質であるｏ‐ニトロフェニル‐β‐ガラクトシドを培地に加えることにより既知の方法を使用してｌａｃＺ遺伝子の発現を検出可能であることから、培地中のレポーター遺伝子として使用される場合がある（ゲルハルト（Ｇｅｒｈａｒｄｔ）ら編、「一般分子細菌学のための方法（Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｆｏｒ　Ｇｅｎｅｒａｌ　ａｎｄ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂａｃｔｅｒｉｏｌｏｇｙ）」、米国ワシントンＤＣの米国微生物学会、１９９４年、ｐ．５７４）。

【０１５５】

「試料」は、本明細書中で使用されるように、好ましくは、対象者由来の生体試料、例えば、限定するものではないが、正常組織試料、病変組織試料、生検、血液、唾液、糞便、精液、涙液、及び尿を指す。試料はさらに、対象とする細胞、組織、又は体液を含有する、対象者から得られた任意の他の材料供給源であってもよい。試料は細胞又は組織の培養物から得ることも可能である。

【０１５６】

本明細書中で使用されるような用語「ＳＡＳ１Ｂ陽性のがん」とは、がんの細胞がＳＡＳ１Ｂを発現するか又は含むがんを指す。「ＳＡＳ１Ｂ陽性のがん」及び「ＳＡＳ１Ｒ陽性のがん」という用語は本明細書中において互換的に使用される。該用語は提示されたような文脈で使用されるべきであり、かつ細胞表面上にＳＡＳ１Ｂを備えた細胞を含みうるとともに、場合よっては、ＳＡＳ１ＢのｍＲＮＡ若しくはタンパク質、又は選択的スプライシングに起因する様々な配列を備えたペプチドを発現する細胞を指す場合もある。

【０１５７】

「ＳＬＬＰ１」及びＳＬＬＰ２」は、それぞれ「Ｃ１９」及び「Ｃ２３」とも呼ばれる。

本明細書中で使用されるように、用語「二次抗体」は、別の抗体（一次抗体）の不変領域に結合する抗体を指す。

【０１５８】

用語「シグナル配列」が意味するのは、ポリペプチドが細胞内部で取る進路を指図するペプチドをコードするポリヌクレオチド配列であり、すなわち該ペプチドは、細胞内でのポリペプチドの細胞内プロセシング、例えば、限定するものではないが、細胞からのポリペプチドの最終的な分泌を指図する。シグナル配列は、小胞体へ向けたポリペプチドの合成を標的とする、典型的には（ただし例外がないわけではないが）ポリペプチドのアミノ末端に見出されるアミノ酸の配列である。いくつかの実例では、シグナルペプチドはタン

パク質分解によりポリペプチドから取り除かれ、よって成熟型タンパク質には存在しない。

【０１５９】

「低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）」が意味するのは、とりわけ、センス鎖及びアンチセンス鎖の両方で構成されている単離ｄｓＲＮＡ分子である。１つの態様では、低分子干渉ＲＮＡは長さが１０ヌクレオチドより大きい。ｓｉＲＮＡはさらに、標的遺伝子由来のセンス配列及び相補的アンチセンス配列の両方を有する単一の転写物（例えばヘアピン）を指す。ｓｉＲＮＡは、任意の形態のｄｓＲＮＡ（より大きなｄｓＲＮＡのタンパク質分解により開裂された生成物、部分精製されたＲＮＡ、ほぼ純粋なＲＮＡ、合成ＲＮＡ、組換え生成されたＲＮＡ）のほかに、１つ以上のヌクレオチドの追加、欠失、置換、及び変質のうち少なくともいずれかにより天然に存在するＲＮＡとは異なっている変形ＲＮＡをさらに含む。

【０１６０】

本明細書中で使用されるように、用語「固体支持体」は、様々な化合物と連結（好ましくは共有結合）を形成することができる、溶媒不溶性の基体に関する。該支持体は、生物学的な性質であるもの、例えば、限定するものではないが、細胞又はバクテリオファージ粒子であってもよいし、合成物、例えば、限定するものではないが、アクリルアミド誘導体、アガロース、セルロース、ナイロン、シリカ、又は磁化粒子であってもよい。

【０１６１】

用語「～に特異的に結合する」が意味するのは、本明細書中で使用されるように、化合物又はリガンドが、多種多様な化合物の試料中における該化合物の存在を決定するような結合反応又はアッセイ条件において機能する時である。

【０１６２】

用語「標準（物）」は、本明細書中で使用されるように、比較に使用されるものを指す。例えばそれは、試験化合物を投与する時に結果を比較するために投与及び使用される、既知の標準作用薬又は化合物であってもよいし、パラメータ又は機能に対する作用薬又は化合物の影響を測定する時に対照値を得るために測定される、標準パラメータ又は機能であってもよい。標準はさらに、「内部標準」、例えば、作用薬又は化合物であって試料に既知量で添加され、対象とするマーカーが測定される前に試料が処理されるか又は精製若しくは抽出の手順に供される場合に精製率又は回収率のような状況を決定するのに有用な、作用薬又は化合物を指すこともできる。内部標準は多くの場合、例えば放射性同位体を用いて標識済みであって内因性のマーカーとは区別されることが可能になっている、対象の精製されたマーカーである。

【０１６３】

分析、診断、又は治療の「対象者」は動物である。そのような動物には、哺乳動物、好ましくはヒトが挙げられる。

本明細書中で使用されるように、「それを必要とする対象者」とは、本発明の方法から利益を得るであろう患者、動物、哺乳動物、又はヒトである。

【０１６４】

本明細書中で使用されるように、「ほぼ相同なアミノ酸配列」には、参照抗体鎖のアミノ酸配列に対して少なくとも約９５％の相同性、好ましくは少なくとも約９６％の相同性、より好ましくは少なくとも約９７％の相同性、さらにより好ましくは少なくとも約９８％の相同性、及び最も好ましくは少なくとも約９９％以上の相同性を有するアミノ酸配列が含まれる。アミノ酸配列の類似性又は同一性は、ＢＬＡＳＴ（ｂａｓｉｃ　ｌｏｃａｌ　ａｌｉｇｎｍｅｎｔ　ｓｅａｒｃｈ　ｔｏｏｌ）２．０．１４アルゴリズムを使用するＢＬＡＳＴＰ及びＴＢＬＡＳＴＮプログラムの使用によりコンピュータ計算可能である。これらのプログラムに使用されるデフォルト設定は、本発明の目的でほぼ同様のアミノ酸配列を同定するのに適している。

【０１６５】

「ほぼ相同な核酸配列」とは、参照核酸配列に対応する核酸配列であって、参照核酸配

列によってコードされたペプチドとほぼ同じ構造及び機能を有する（例えば該ペプチドの機能にあまり影響しないアミノ酸の変化のみは生じる）ペプチドをコードする、対応配列を意味する。好ましくは、ほぼ同一の核酸配列は、参照核酸配列によってコードされたペプチドをコードする。ほぼ同様の核酸配列と参照核酸配列との間の同一性の比率（％）は、少なくとも約５０％、６５％、７５％、８５％、９５％、９９％又はそれ以上である。核酸配列の実質同一性は、２つの配列の配列同一性の比較により、例えば物理的／化学的方法（すなわちハイブリダイゼーション）により、又はコンピュータアルゴリズムによる配列アラインメントにより、決定可能である。ヌクレオチド配列が参照ヌクレオチド配列とほぼ同様であるかどうかを決定するための適当な核酸ハイブリダイゼーション条件は：５０℃の７％ドデシル硫酸ナトリウムＳＤＳ、０．５Ｍ $NaPO_4$、１ｍＭ ＥＤＴＡに、５０℃の２×標準クエン酸添加生理食塩水（ＳＳＣ）、０．１％ ＳＤＳ中での洗浄を伴う条件；好ましくは５０℃の７％（ＳＤＳ）、０．５Ｍ $NaPO_4$、１ｍＭ ＥＤＴＡに、５０℃の１×ＳＳＣ、０．１％ ＳＤＳ中での洗浄を伴う条件；好ましくは５０℃の７％ＳＤＳ、０．５Ｍ $NaPO_4$、１ｍＭ ＥＤＴＡに、５０℃の０．５×ＳＳＣ、０．１％のＳＤＳ中での洗浄を伴う条件；及びより好ましくは５０℃の７％ＳＤＳ、０．５Ｍ $NaPO_4$、１ｍＭ ＥＤＴＡに、６５℃の０．１×ＳＳＣ、０．１％のＳＤＳ中での洗浄を伴う条件、である。２つの核酸配列の間の実質類似性を決定するための適当なコンピュータアルゴリズムには、ＧＣＳプログラムパッケージ（デヴェルー（Ｄｅｖｅｒｅｕｘ）ら、ヌクレイック・アシッズ・リサーチ（Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．）、１９８４年、第１２巻、ｐ．３８７）及びＢＬＡＳＴＮ又はＦＡＳＴＡプログラム（アルトシュル（Ａｌｔｓｃｈｕｌ）ら、米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ）、１９９０年、第８７巻、第１４号、ｐ．５５０９－１３；アルトシュル（Ａｌｔｓｃｈｕｌ）ら、ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．）、１９９０年、第２１５巻、第３号、ｐ．４０３－４１０；アルトシュル（Ａｌｔｓｃｈｕｌ）ら、ヌクレイック・アシッズ・リサーチ（Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．）、１９９７年、第２５巻、ｐ．３３８９－３４０２）、が挙げられる。これらのプログラムと共に提供されるデフォルト設定は、本発明の目的で核酸配列の実質類似性を決定するのに適している。

【０１６６】

「ほぼ純粋な」という用語は、化合物、例えばタンパク質又はポリペプチドであって、天然において該化合物に伴う成分から分離されたものについて述べている。典型的には、化合物は、試料中の全材料のうち少なくとも１０％、より好ましくは少なくとも２０％、より好ましくは少なくとも５０％、より好ましくは少なくとも６０％、より好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも９０％、及び最も好ましくは少なくとも９９％（体積比、湿重量比若しくは乾燥重量比、又はモル百分率若しくはモル分率）が対象の化合物であるとき、ほぼ純粋である。純度は任意の適切な方法によって、例えばポリペプチドの場合にはカラムクロマトグラフィ、ゲル電気泳動、又はＨＰＬＣ解析によって、測定可能である。化合物、例えばタンパク質は、該化合物が天然において関連している成分を本質的に含まない場合、又は該化合物がその天然状態において該化合物に伴う天然の混在物質から分離されている場合も、ほぼ精製されている。

【０１６７】

用語「症状」は、本明細書中で使用されるように、患者によって経験され、かつ疾患を示している、任意の病的現象、又は構造、機能若しくは感覚における正常からの逸脱を指す。対照的に、「徴候」は疾患の客観的証拠である。例えば、鼻血は徴候である。これは患者、医師、看護士及びその他の観察者にとって明らかに認められる。

【０１６８】

「治療的」処置とは、病変の徴候を示す対象者に、それらの徴候を縮小又は除去する目的で施される処置である。

「治療上有効な量」の化合物とは、該化合物が投与される対象者に有益な効果を提供するのに十分な化合物の量である。

【０１６９】
本明細書中で使用されるように、用語「導入遺伝子」とは、アミノ酸配列をコードする核酸に作動可能なように連結されたプロモーター／調節配列をコードする核酸を含む外来の核酸配列であって、トランスジェニック哺乳動物によってコードされる外来の核酸を意味する。
【０１７０】
本明細書中で使用されるように、用語「トランスジェニック哺乳動物」とは、その生殖細胞が外来の核酸を含む哺乳動物を意味する。
本明細書中で使用されるように、「トランスジェニック細胞」とは、導入される核酸配列によってコードされた遺伝子の発現を可能にする方式で細胞内に導入された核酸配列を含む、任意の細胞である。
【０１７１】
用語「治療する（処置する）」とは、本明細書中で使用されるように、患者若しくは対象者によって経験される症状の頻度を低減すること、又は経験される症状の頻度を低減するために作用薬若しくは化合物を投与することを意味する。
【０１７２】
「予防的」治療とは、疾患の徴候を示さないか又は該疾患の初期徴候だけを示す対象者に、該疾患に関連した病変を発症するリスクを減少させる目的で施される治療である。
用語「ワクチン」が意味するのは、本明細書中で使用されるように、組成物であって、対象者に接種された時に該対象者の免疫応答を刺激する効果を有し、該免疫応答はある身体状態、疾患又はその症状から対象者を完全又は部分的に防御する役割を果たす、組成物である。１つの態様では、身体状態は受胎である。ワクチンという用語は予防ワクチンのほかに治療ワクチンも包含する。混合ワクチンとは、２以上のワクチン、又は２以上の化合物若しくは作用薬を組み合わせるものである。
【０１７３】
「ベクター」とは、単離された核酸を含んでなり、単離された核酸を細胞の内部に送達するために使用可能な、材料組成物である。多数のベクターが当分野において知られており、例えば、限定するものではないが、線状ポリヌクレオチド、イオン性又は両親媒性の化合物に関連付けられたポリヌクレオチド、プラスミド、及びウイルスが挙げられる。よって、用語「ベクター」には自律的に複製するプラスミド又はウイルスが含まれる。該用語は、細胞への核酸の移入又は送達を促進する非プラスミド及び非ウイルスの化合物、例えばポリリジン化合物、リポソームなどを含むとも解釈されるべきである。ウイルスベクターの例には、限定するものではないが、アデノウイルスベクター、アデノ関連ウイルスベクター、レトロウイルスベクター、組換えウイルスベクターなどが挙げられる。非ウイルスベクターの例には、限定するものではないが、リポソーム、ＤＮＡのポリアミン誘導体などが挙げられる。
【０１７４】
「発現ベクター」は、発現されるべきヌクレオチド配列に作動可能なように連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含むベクターを指す。発現ベクターは、発現のために十分なシス作用エレメントを含んでなり；発現のための他の要素は宿主細胞によって供給されてもよいし、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ発現系において供給されてもよい。発現ベクターには、例えばコスミド、プラスミド（例えば裸のプラスミド又はリポソームに含まれたプラスミド）及び組換えポリヌクレオチドを組込むウイルスのような、当分野で既知のものすべてが含まれる。
【０１７５】
［実施形態］
本発明は、所与のマーカーを有する悪性細胞を有効に殺滅する免疫毒素に関する。免疫毒素とは、細胞毒性薬にコンジュゲートした抗体又はそのフラグメントを含む試薬である。抗体は、選ばれた腫瘍細胞と結合する能力を有することにより、宿主内において免疫毒素の非特異的毒性をほとんどもたらさない。

【０１７６】
Ａ．　抗体
抗体とは、分析物（抗原）に特異的に結合しかつこれを認識する、１または複数の免疫グロブリン遺伝子によってほぼコードされたポリペプチド又はそのフラグメントを指す。広く認識されている免疫グロブリン遺伝子には、κ（カッパ）、λ（ラムダ）、α（アルファ）、γ（ガンマ）、δ（デルタ）、ε（イプシロン）及びμ（ミュー）の不変領域遺伝子のほかに、無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれている。軽鎖はκ又はλのいずれかとして分類される。重鎖はγ、μ、α、δ、又はεとして分類され、ひいては免疫グロブリンのクラスＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＤ及びＩｇＥをそれぞれ規定する。
【０１７７】
典型的な免疫グロブリン（抗体）の構造ユニットは四量体を含む。四量体はそれぞれ、同一の２対のポリペプチド鎖であって、各対が１本の「軽い」鎖（約２５ｋＤ）及び１本の「重い」鎖（約５０～７０ｋＤ）を有しているポリペプチド鎖で構成されている。各鎖のＮ末端は、主として抗原認識を担う約１００～１１０アミノ酸又はそれ以上の可変領域を規定する。軽鎖可変部（V_L）及び重鎖可変部（V_H）という用語は、それぞれ上記の軽鎖及び重鎖を指す。
【０１７８】
ポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体を生産するための様々な方法が当分野で知られている。例えば、ゴーディング（Ｇｏｄｉｎｇ）、「モノクローナル抗体；原理と実践（ＭＯＮＯＣＬＯＮＡＬ　ＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ；　ＰＲＩＮＣＩＰＬＥＳ　ＡＮＤ　ＰＲＡＣＴＩＣＥ）」、第２版、アカデミックプレス（Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ）、１９８６年；並びにハーロー（Ｈａｒｌｏｗ）及びレーン（Ｌａｎｅ）の文献を参照されたい。例えば所望の抗原を発現するヒト細胞に対する、又は同細胞との反応性を有する、モノクローナル抗体は、マウスを免疫化するために免疫原の組み合わせを使用すること及び所望の抗原を発現する細胞に対するハイブリドーマ上清をスクリーニングすることにより、又は、対象とする抗原に対するモノクローナル抗体に特異的であるように設計されたスクリーニングアッセイにより、得られる。本発明の抗体のスクリーニングに有用な細胞株は、容易に利用可能であるか又は容易に得られる。そのような細胞には、バーキットリンパ腫細胞株であるＤａｕｄｉ、及びＲａｊｉが挙げられる。
【０１７９】
本発明の抗体を合成するために組換えＤＮＡの方法論が使用されてもよい。例えば、ヒトでの使用のための免疫毒素の抗体部分は、ヒトの可変領域フレームワーク及びヒトの不変領域と組み合わされたネズミ科動物の相補性決定領域（ＣＤＲ）を含有する、細胞抗原に対する「ヒト化」抗体である。
【０１８０】
ヒト化（キメラ）抗体はヒト部分及び非ヒト部分を含む免疫グロブリン分子である。より具体的には、ヒト化キメラ抗体の抗原結合領域（又は可変領域）は、ヒト以外の供給源（例えばネズミ科動物）に由来し、該キメラ抗体の不変領域（免疫グロブリンに生物学的エフェクタ機能を与える）は、ヒト供給源に由来する。ヒト化されたキメラ抗体は、非ヒト抗体分子の抗原結合特異性と、ヒト抗体分子によってもたらされるエフェクタ機能とを有するはずである。キメラ抗体を生成する数多くの方法が当業者に良く知られている（例えば、米国特許第５，５０２，１６７号、同第５，５００，３６２号、同第５，４９１，０８８号、同第５，４８２，８５６号、同第５，４７２，６９３号、同第５，３５４，８４７号、同第５，２９２，８６７号、同第５，２３１，０２６号、同第５，２０４，２４４号、同第５，２０２，２３８号、同第５，１６９，９３９号、同第５，０８１，２３５号、同第５，０７５，４３１号、及び同第４，９７５，３６９号明細書を参照されたい）。キメラ（ヒト化）抗体の調製のための詳細な方法は、米国特許第５，４８２，８５６号明細書に見出すことができる。
【０１８１】
別の実施形態では、本発明は完全なヒト抗体を提供する。ヒト抗体は特徴としてヒトの

ポリペプチド配列で完全に構成されている。本発明のヒト抗体は種々様々の方法を使用して生産可能である（例えばラリック（Ｌａｒｒｉｃｋ）ら、米国特許第５，００１，０６５号明細書を参照されたい）。

【０１８２】

本発明の抗体部分は一本鎖抗体であってよい。

本発明のタンパク質、ポリペプチド、又はそれらのペプチドフラグメントに対する抗体は、当分野で良く知られた方法を使用して生成されうる。例えば、米国特許出願第０７／４８１，４９１号明細書（全体が参照により本願に組込まれる）は、ペプチドに対する抗体を産生させる方法を開示している。抗体の産生のためには、様々な宿主動物、例えば、限定するものではないが、ウサギ、マウス、及びラットが、ポリペプチド又はそのペプチドフラグメントの注射によって免疫化されうる。免疫学的応答を高めるために、宿主動物種に応じて様々なアジュバントが使用可能であり、例えば、限定するものではないがフロイント（完全、不完全）、水酸化アルミニウムのような鉱物ゲル、リソレシチンのような表面活性物質、ｐｌｕｒｏｎｉｃ（登録商標）ポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳剤、キーホールリンペットヘモシニアン、ジニトロフェノール、並びにＢＣＧ（カルメット・ゲラン桿菌（ｂａｃｉｌｌｅ　Ｃａｌｍｅｔｔｅ－Ｇｕｅｒｉｎ））及びコリネバクテリウム・パルヴム（ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｐａｒｖｕｍ）のような潜在的に有用なヒトアジュバントが挙げられる。

【０１８３】

１つの実施形態では、ＳＡＳ１Ｒ又はその相同体若しくはフラグメントに対する抗体、又は抗血清は、ＳＡＳ１Ｒが他の分子又は細胞と相互作用する能力を含むＳＡＳ１Ｒの活性を阻止するのに有用である。

【０１８４】

ＳＡＳ１Ｒのフラグメントが生成されて、該フラグメントに対して抗体が調製されてもよい。アッセイは、ＳＡＳ１Ｒに対する抗体、又はそのフラグメントが、ＳＡＳ１Ｒを検出し、ＳＡＳ１Ｒ活性を阻害し、又はＳＡＳ１Ｒ機能を調節する能力を有するかどうか判断するために、本明細書中に提供される。

【０１８５】

アッセイは、ＳＡＳ１ＲがＳＬＬＰタンパク質と結合又は相互作用する能力のほかに、抗体が受精におけるＳＡＳ１Ｒの役割を阻止する能力を測定することを含む。例えば、ＳＡＳ１Ｒに対する抗体を使用するｉｎ　ｖｉｔｒｏの受精アッセイが本明細書中に記載されており、この種のアッセイは、新たな抗体がＳＡＳ１Ｒの機能を阻止する能力を試験するために使用可能である。これらの同じアッセイは、任意の化合物又は作用薬がＳＡＳ１ＲのＳＬＬＰタンパク質との相互作用を妨害するか又は受精を阻害する能力を試験するために使用可能である。ＳＡＳ１Ｒプロテアーゼ活性を測定するためのプロテアーゼアッセイも、ＳＡＳ１Ｒのフラグメント又は相同体が元のＳＡＳ１Ｒ分子と同じ活性を維持していることを確認するために必要な場合に利用可能である。

【０１８６】

ＳＡＳ１Ｒのフラグメントを調製し、ＳＡＳ１Ｒに対する抗体を作製する様々な方法が利用可能であり、これらの方法は、抗体による阻害を受けやすいＳＡＳ１Ｒの様々な領域をマッピングするために使用可能である。

【０１８７】

例えば、ＳＡＳ１Ｒのフラグメントは抗原としての使用のために調製されてもよく、例えばその場合に抗体はＳＡＳ１Ｒバリアント２（配列番号６）のアミノ酸１～２５、２６～５０、５１～７５、７６～１００、１０１～１２５、１２６～１５０、１５１～１７５、１７６～２００、２０１～２２５、２２６～２５０、２５１～２７５、２７６～３００、３０１～３２５、３２６～３５０、３５１～３７５、３７６～４００、及び４０１～４１４を含む多くのフラグメントのうちの１つ（ｏｎｅ　ｏｆ　ｍｏｒｅ　ｆｒａｇｍｅｎｔｓ）に結合するか、又は抗体はＳＡＳ１Ｒバリアント１（配列番号１９）のアミノ酸１～２５、２６～５０、５１～７５、７６～１００、１０１～１２５、１２６～１５０、１

５１～１７５、１７６～２００、２０１～２２５、２２６～２５０、２５１～２７５、２７６～３００、３０１～３２５、３２６～３５０、３５１～３７５、３７６～４００、４０１～４２５、及び４２６～４３５を含む１つ以上のフラグメントに結合するか、又は抗体はＳＡＳ１Ｒバリアント１（配列番号２３）のアミノ酸１～２５、２６～５０、５１～７５、７６～１００、１０１～１２５、１２６～１５０、１５１～１７５、１７６～２００、２０１～２２５、２２６～２５０、２５１～２７５、２７６～３００、３０１～３２５、３２６～３５０、３５１～３７５、３７６～４００、４０１～４２５、及び４２６～４３１に結合する。本発明は、アミノ酸残基１～２０、２１～４０、４１～６０などのような２０アミノ酸を含むフラグメントをさらに包含する。そのような技法は完全長のタンパク質にも適用可能である。

【０１８８】

当然ながら、これらのフラグメントは、部分的に重なる配列を生じるように調製されることも可能であり、より長いフラグメント及びより短いフラグメントも調製可能である。例えば、本明細書中に記載されるように、ＳＬＬＰ１とＳＡＳ１Ｒとの間の相互作用実験は、これらが相互作用するときに該２つのタンパク質の間に、異なる機能を有する可能性のある少なくとも２つの結合領域があることを示している。そこで、ＳＡＳ１ＲのＮ末端領域またはＳＡＳ１ＲのＣ末端領域の区域を包含するフラグメントが調製されてもよく、例えばその場合に抗体はアミノ酸の約１～約１２１（Ｎ末端）に結合するか、又はＳＡＳ１Ｒ（配列番号６）の約２０４～約４１４（より長いＣ末端）に結合する抗体若しくは配列番号２３（ヒトＳＡＳ１Ｒ）の類似領域に結合する抗体である。

【０１８９】

本発明のタンパク質の抗原フラグメントは、長さが少なくとも約５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、１０５、１１０、１１５、１２０、１２５、１３０、１３５、１４０、１４５、１５０、又は最大約２００アミノ酸であるペプチド抗原を含みうる。さらに、完全長のプロセシングを受けていないタンパク質及び成熟したプロセシング済みタンパク質も含まれる。これらの様々な長さの抗原フラグメントは、ＳＡＳ１Ｒのような選択免疫原の線状アミノ酸配列の直列順に設計されてもよいし、該タンパク質の線状配列内でずれが設けられてもよい。加えて、三次元のエピトープ、すなわち非線状のエピトープに対する抗体も、例えばタンパク質の結晶学的データに基づいて、調製可能である。所望の標的配列を包含する様々な長さのペプチドが宿主に注射されてもよい。その注射から得られた抗体は、ＳＡＳ１Ｒの短い抗原について、また成熟型ＳＡＳ１Ｒについて、スクリーニングされうる。ＳＡＳ１Ｒペプチドに対して調製された抗体は、そのペプチドのほかに完全長ＳＡＳ１Ｒタンパク質に対する活性に関して試験されうる。抗体は、ＳＡＳ１Ｒペプチド及び完全長ＳＡＳ１Ｒタンパク質のうち少なくともいずれかに対して少なくとも約10^{-6}Ｍ、10^{-7}Ｍ、10^{-8}Ｍ、10^{-9}Ｍ、10^{-10}Ｍ、10^{-11}Ｍ、又は10^{-12}Ｍの親和性を有しうる。

【０１９０】

１つの実施形態では、本発明は、本発明の医薬組成物を含む治療用がんワクチンを提供し、前記組成物は、配列番号６、８、１０、１９、２０、及び２３で構成されている群から選択されたアミノ酸配列、並びに前記アミノ酸配列のフラグメント及び相同体を含む、１つ以上のタンパク質、又は前記タンパク質のバリアント、相同体、若しくはフラグメントと、任意選択で少なくとも１つの他の卵子タンパク質、又は前記卵子タンパク質のバリアント、フラグメント、若しくは相同体と、を含む。

【０１９１】

正常細胞ではＳＡＳ１Ｒの発現は一時的に調節されるので、殺滅される可能性のあるいかなる細胞も初期段階の生殖細胞を含まない。

モノクローナル抗体の調製については、培養物中の連続細胞系による抗体分子の産生を提供する任意の技術が利用されうる。例えば、ケーラー（Ｋｏｈｌｅｒ）及びミルシテイン（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ）によって初めに開発されたハイブリドーマ技法（ネイチャー（Ｎ

ａｔｕｒｅ）、１９７５年、第２５６巻、ｐ．４９５－４９７）、トリオーマ技法、ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技法（コズボール（Ｋｏｚｂｏｒ）ら、イムノロジー・トゥデイ（Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　Ｔｏｄａｙ）、１９８３年、免疫学、第４巻、ｐ．７２）、並びにＥＢＶハイブリドーマ技法（コール（Ｃｏｌｅ）ら、「モノクローナル抗体及びがん治療（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　ａｎｄ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ）」、アランＲ．リス社（Ａｌａｎ　Ｒ．　Ｌｉｓｓ，　Ｉｎｃ．）、１９８５年、ｐ．７７－９６）は、ヒトモノクローナル抗体を生産するために使用されうる。別の実施形態では、モノクローナル抗体は無菌動物で生産される。

【０１９２】

本発明に従って、ヒト抗体は、ヒトハイブリドーマの利用（コート（Ｃｏｔｅ）ら、米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　Ｕ．Ｓ．Ａ．）、１９８３年、第８０巻、ｐ．２０２６－２０３０）により、又はｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＥＢＶウイルスを用いたヒトＢ細胞の形質転換（コール（Ｃｏｌｅ）ら、「モノクローナル抗体及びがん治療（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　ａｎｄ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ）」、アランＲ．リス社（Ａｌａｎ　Ｒ．　Ｌｉｓｓ，　Ｉｎｃ．）、１９８５年、ｐ．７７－９６）により、使用及び入手されうる。更に、ＳＬＬＰポリペプチドのエピトープに特異的なマウス抗体分子からの遺伝子を適切な生物学的活性のヒト抗体分子からの遺伝子と一緒に組み継ぎすることによる、「キメラ抗体」の産生のために開発された技法（モリソン（Ｍｏｒｒｉｓｏｎ）ら、米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　Ｕ．Ｓ．Ａ．）、１９８４年、第８１巻、ｐ．６８５１－６８５５；ニューバーガー（Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ）ら、ネイチャー（Ｎａｔｕｒｅ）、１９８４年、第３１２巻、ｐ．６０４－６０８；タケダ（Ｔａｋｅｄａ）ら、ネイチャー（Ｎａｔｕｒｅ）、１９８５年、第３１４巻、ｐ．４５２－４５４）が使用可能であり；そのような抗体は本発明の範囲内にある。特異的モノクローナル抗体が開発されてしまえば、従来の技法による前記抗体の突然変異体及びバリアントの調製も利用可能である。

【０１９３】

１つの実施形態では、一本鎖抗体の生産について記載された技法（米国特許第４，９４６，７７８号明細書、参照により全体が本願に組み込まれる）は、タンパク質特異的な一本鎖抗体を生産するようになされている。別の実施形態では、Ｆａｂ発現ライブラリの構築について記載された技法（ヒュース（Ｈｕｓｅ）ら、サイエンス（Ｓｃｉｅｎｃｅ）、１９８９年、第２４６巻、ｐ．１２７５－１２８１）は、本発明の特異的な抗原、タンパク質、誘導体、又はアナログについて所望の特異性を有するモノクローナルＦａｂフラグメントの迅速かつ容易な同定を可能にするために利用される。

【０１９４】

抗体分子のイディオタイプを含有する抗体フラグメントは、既知の技法によって生成可能である。例えば、そのようなフラグメントには、限定するものではないが：抗体分子のペプシン消化によって生産可能なＦ（ａｂ’）$_2$フラグメント；Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメントのジスルフィド架橋の還元により生成可能なＦａｂ’フラグメント；抗体分子をパパイン及び還元剤で処理することにより生成可能なＦａｂフラグメント；並びにＦｖフラグメントが挙げられる。

【０１９５】

ポリクローナル抗体の生成は、所望の動物に抗原を接種すること、及び該動物から抗原に特異的に結合する抗体を単離することにより遂行される。

タンパク質又はペプチドの完全長又はペプチドフラグメントに対するモノクローナル抗体は、例えばハーロー（Ｈａｒｌｏｗ）らの文献（「抗体、実験の手引き（Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，　Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ）」、米国ニューヨークのコールド・スプリング・ハーバー（Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ）、１９８８年）、及びタスジンスキー（Ｔｕｓｚｙｎｓｋｉ）らの文献（ブラッド（Ｂｌｏｏｄ）、１９８８年、第７２巻、ｐ．１０９－１１５）に記載されたもののような、任意の良く知られた

モノクローナル抗体調製手順を使用して調製されうる。多量の所望ペプチドが化学合成技術を使用して合成されることも可能である。別例として、所望のペプチドをコードするＤＮＡがクローニングされて、ペプチドの大量生成に適した細胞内で適切なプロモータ配列から発現されてもよい。該ペプチドに対するモノクローナル抗体は、本明細書中で参照されるような標準的手順を使用して該ペプチドで免疫化されたマウスから生成される。

【０１９６】

本明細書中に記載された手順を使用して得られたモノクローナル抗体をコードする核酸は、当分野において利用可能であり例えばライト（Ｗｒｉｇｈｔ）らの文献（クリティカル・レビューズ・イン・イムノロジー（Ｃｒｉｔｉｃａｌ　Ｒｅｖ．　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．）、１９９２年、第１２巻、第３、４号、ｐ．１２５－１６８）及び本明細書中で引用される参照文献に記載された技術を使用して、クローニング及び塩基配列決定がなされうる。さらに、本発明の抗体は、ライト（Ｗｒｉｇｈｔ）らの文献（上述）及び本明細書中で引用される参照文献、並びにグ（Ｇｕ）らの文献（トロンボシス・アンド・ヘマトシスト（Ｔｈｒｏｍｂｏｓｉｓ　ａｎｄ　Ｈｅｍａｔｏｃｙｓｔ）、１９９７年、第７７巻、第４号、ｐ．７５５－７５９）に記載された技術を使用して、「ヒト化」されてもよい。

【０１９７】

ファージ抗体ライブラリを生成するために、最初に、ファージ表面で発現されるべき所望のタンパク質（例えば所望の抗体）を発現する細胞（例えばハイブリドーマ）から単離されたｍＲＮＡからｃＤＮＡライブラリが得られる。該ｍＲＮＡのｃＤＮＡ複写物は逆転写酵素を使用して生産される。免疫グロブリンフラグメントを指定するｃＤＮＡはＰＣＲによって得られ、生じたＤＮＡは適当なバクテリオファージベクターにクローニングされて、免疫グロブリン遺伝子を指定するＤＮＡを含むバクテリオファージＤＮＡライブラリが生成される。異種由来のＤＮＡを含むバクテリオファージライブラリを作製するための手順は当分野において良く知られており、例えば、サムブルック（Ｓａｍｂｒｏｏｋ）らの文献（「分子クローニング：実験の手引き（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ）」、米国ニューヨークのコールド・スプリング・ハーバー（Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ）、１９８９年）に記載されている。

【０１９８】

所望の抗体をコードするバクテリオファージは、タンパク質がその対応する結合タンパク質（例えば抗体が対象とする抗原）への結合に利用可能であるような状態で該タンパク質がバクテリオファージの表面に提示されるように、人為操作されうる。よって、特異的抗体を発現するバクテリオファージが対応する抗原を発現する細胞の存在下でインキュベートされると、該バクテリオファージは該細胞に結合することになる。抗体を発現しないバクテリオファージは細胞に結合しないことになる。そのようなパニング技法は当分野において良く知られている。

【０１９９】

上述されたもののようなプロセスは、Ｍ１３バクテリオファージディスプレイを使用したヒト抗体の生産用に開発されてきた（バートン（Ｂｕｒｔｏｎ）ら、アドバンシズ・イン・イムノロジー（Ａｄｖ．　Ｉｍｍｕｎｏｌ．）、１９９４年、第５７巻、ｐ．１９１－２８０）。本質的に、ｃＤＮＡライブラリは抗体産生細胞の集団から得られたｍＲＮＡから生成される。該ｍＲＮＡは再構成された免疫グロブリン遺伝子をコードし、よってｃＤＮＡも同じものをコードする。増幅されたｃＤＮＡはＭ１３発現ベクターにクローニングされて、表面にヒトＦａｂフラグメントを発現するファージのライブラリを作出する。対象とする抗体をディスプレイするファージは抗原結合によって選択され、可溶性のヒトＦａｂ免疫グロブリンを生産するために細菌で増殖せしめられる。このように、従来のモノクローナル抗体の合成とは対照的に、この手順はヒト免疫グロブリンを発現する細胞ではなくヒト免疫グロブリンをコードするＤＮＡを不死化する。

【０２００】

直前に提示した手順は、抗体分子のＦａｂ部分をコードするファージの生成について述べている。しかしながら、本発明は単にＦａｂ抗体をコードするファージの生成のみに限定されるように解釈されるべきではない。それどころか、一本鎖抗体をコードするファージ（ｓｃＦｖ／ファージ抗体ライブラリ）も本発明に含まれる。Ｆａｂ分子はＩｇ軽鎖全体を含む、すなわち、軽鎖の可変領域及び不変領域の両方を含むが、重鎖については可変領域及び第１の不変領域ドメイン（ＣＨ１）のみを備えている。一本鎖抗体分子は、ＩｇのＦｖフラグメントを含む一本鎖タンパク質を含む。ＩｇのＦｖフラグメントは抗体の重鎖及び軽鎖の可変領域のみを備え、該フラグメント内に不変領域を含有していない。ｓｃＦｖ　ＤＮＡを含むファージライブラリは、マークス（Ｍａｒｋｓ）ら、ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー（Ｊ．　Ｍｏｌ．　Ｂｉｏｌ．）、１９９１年、第２２２巻、ｐ．５８１－５９７に記載された手順に従って生成されうる。そのように生成されたファージの、所望の抗体を単離するためのパニングは、ＦａｂＤＮＡを含むファージライブラリについて記載された方式に類似の方式で行われる。

【０２０１】

本発明はまた、重鎖及び軽鎖の可変領域がほぼあらゆる特異性を備えるように合成されうる合成ファージディスプレイライブラリを含むとも解釈されるべきである（バーバス（Ｂａｒｂａｓ）、ネイチャー・メディスン（Ｎａｔｕｒｅ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ）、１９９５年、第１巻、ｐ．８３７－８３９；デ・クルイフ（ｄｅ　Ｋｒｕｉｆ）ら、ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー（Ｊ．　Ｍｏｌ．　Ｂｉｏｌ．）、１９９５年、第２４８巻、ｐ．９７－１０５）。

【０２０２】

抗体の生産において、所望の抗体のスクリーニングは、当分野において既知の技法、例えばＥＬＩＳＡ（酵素結合免疫吸着定量法）によって遂行可能である。本発明に従って生成される抗体には、例えば、限定するものではないが、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ（すなわち、「ヒト化」）抗体、及び一本鎖（組換え）抗体、Ｆａｂフラグメント、並びにＦａｂ発現ライブラリによって生産されるフラグメントが挙げられる。

【０２０３】

本発明のペプチドは、標準的な十分確立した技法、例えばスチュアート（Ｓｔｅｗａｒｔ）らによって「固相ペプチド合成（Ｓｏｌｉｄ　Ｐｈａｓｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）」、第二版、米国イリノイ州ロックフォードのピアス・ケミカル・カンパニー（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙ）、１９８４年に記載されているような、並びにボダンツキー（Ｂｏｄａｎｓｚｋｙ）及びボダンツキー（Ｂｏｄａｎｓｚｋｙ）によって「ペプチド合成の実践（Ｔｈｅ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）」、米国ニューヨークのシュプリンガー‐フェアラーク（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ）、１９８４年に記載されているような、固相ペプチド合成（ＳＰＰＳ）によって容易に調製されうる。最初に、適当に保護されたアミノ酸残基が、そのカルボキシル基を介して、誘導体化された不溶性ポリマー支持体、例えば架橋ポリスチレン又はポリアミド樹脂などに取り付けられる。「適当に保護された」とは、アミノ酸のαアミノ基上、及び任意の側鎖官能基上の両方に保護基が存在することを指す。側鎖の保護基は、合成の全体にわたって使用される溶媒、試薬及び反応条件について概ね安定であり、最終ペプチド生成物に影響しない条件下で除去可能である。オリゴペプチドの段階的合成は、最初のアミノ酸からのＮ保護基の除去、及びそこへの、所望のペプチドの配列において次のアミノ酸のカルボキシル末端の結合によって実行される。このアミノ酸も適当に保護される。入って来るアミノ酸のカルボキシルは、反応性基の形成、例えばカルボジイミド、対称酸無水物又は「活性エステル」基、例えばヒドロキシベンゾトリアゾール若しくはペンタフルオロフェンリー（ｐｅｎｔａｆｌｕｏｒｏｐｈｅｎｌｙ）エステルの形成などによって支持体に結合したアミノ酸のＮ末端と反応するように、活性化されることができる。

【０２０４】

固相ペプチド合成法の例には、αアミノ保護基としてターシャリ‐ブチルオクスカルボニル（ｂｕｔｙｌｏｘｃａｒｂｏｎｙｌ）を利用したＢＯＣ法、及びアミノ酸残基のαアミノを保護するために９‐フルオレニルメチルオクスカルボニル（ｆｌｕｏｒｅｎｙｌｍｅｔｈｙｌｏｘｃａｒｂｏｎｙｌ）を利用するＦＭＯＣ法が挙げられるが、いずれの方法も当業者に良く知られている。

【０２０５】

化学的又は生物学的いずれかの合成技法から得られたタンパク質又はペプチドが所望のペプチドであることを確実にするために、ペプチド組成の分析が行なわれるべきである。そのようなアミノ酸組成分析は、ペプチドの分子量を決定するための高分解能質量分析を使用して行なわれうる。別例として、又は追加として、ペプチドのアミノ酸含有量は、酸性水溶液中でペプチドを加水分解し、ＨＰＬＣ又はアミノ酸分析計を使用して混合物の成分を分離、同定及び定量することにより、確認可能である。連続的にペプチドを分解して順番にアミノ酸を同定するタンパク質配列決定装置が、ペプチドの配列を明確に決定するために使用されてもよい。

【０２０６】

ペプチドは、その使用に先立って混入物質を除去するために精製されることが可能である。この点では、当然ながらペプチドは適切な規制機関により設定された規格に合致するように精製されることになろう。いくつかの従来の精製手順のうち任意のもの、例えば、C_4‐、C_8‐又はC_{18}‐シリカのようなアルキル化されたシリカカラムを使用する逆相高速液体クロマトグラフィ（ＨＰＬＣ）が、必要とされる純度レベルに到達するために使用されうる。有機含有量を高めるグラジエント移動相、例えば、通常は少量のトリフルオロ酢酸を含有している水性緩衝液中のアセトニトリルが、精製を達成するために一般に使用される。イオン交換クロマトグラフィも、ペプチドをその電荷に基づいて分離するために使用可能である。

【０２０７】

本明細書中に記載されるようにして得られたほぼ純粋なペプチドは、次の既知のタンパク質精製手順によって精製であり、該手順において、手順の各段階で精製をモニタリングするために免疫学的アッセイ、酵素アッセイ、又は他のアッセイが使用される。タンパク質精製方法は当分野において良く知られており、例えばドイッチャー（Ｄｅｕｔｓｃｈｅｒ）ら（編、「タンパク質精製のガイド（Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ）」、米国サンディエゴのハーコート・ブレイス・ジョバノビッチ（Ｈａｒｃｏｕｒｔ Ｂｒａｃｅ Ｊｏｖａｎｏｖｉｃｈ）、１９９０年）に記載されている。

【０２０８】

その高い選択性にもかかわらず、ｍＡｂはすべての悪性細胞の殺滅を仲介することはできないことが多い。実際、示差的な表面マーカーの発現及び可変的な細胞表面の表現型が、同じ種類の血液新生物を有する患者において観察可能である。多様な細胞上の数種の抗原に結合するポリクローナル抗体には、免疫療法の際に新生物クローンのエスケープを防止するという大きな長所がある。したがって、本発明は、ｍＡｂのみならずポリクローナル抗体の使用をも包含する（ポライト（Ｐｏｌｉｔｏ）ら、トキシンズ（Ｔｏｘｉｎｓ）、２０１１年、第３巻、ｐ．６９７－７２０）。

【０２０９】

Ｂ．　細胞毒性薬

細胞毒性薬は、細胞に送達されることが可能であり、かつ細胞死又は細胞阻害を引き起こすことができる、任意の作用薬であってよい。そのような作用薬の一例はリボソーム不活性化タンパク質である。リボソーム不活性化タンパク質はリボソームで作用するタンパク合成阻害剤である。いくつかの細菌及び植物の毒素は、真核細胞におけるタンパク質合成を阻害することにより作用する。志賀（Ｓｈｉｇａ）及びリシンファミリーの毒素は、２８Ｓ　ｒＲＮＡの糖‐リン酸主鎖から特定のアデニン塩基を放出するＮ‐グリコシド切断によって、６０Ｓリボソームサブユニットを不活性化する。該ファミリーに属するもの

には、志賀及び志賀様（ｓｈｉｇａ０ｌｉｋｅ）毒素並びにＩ型（例えばトリコサンチン及びルフィン）及びＩＩ型（例えばリシン、アグルチニン及びアブリン）リボソーム不活性化タンパク質（ＲＩＰ）が挙げられる。これらの毒素はすべて構造的に関連づけられる。

【０２１０】

サポリン：サポリンは、サポナリア・オフィチナーリス（Ｓａｐｏｎａｒｉａ ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ）（一般名はサボンソウ（ｓｏａｐｗａｒｔ））の種子由来の、毒性の高い、Ｎ‐グリコシダーゼ活性を備えたリボソーム不活性化タンパク質（３０ｋＤａ）である。サポリンは、６０Ｓリボソームサブユニット内の２８ＳリボソームＲＮＡの４３２４位から単一のアデニン塩基を除去することにより作用する。この塩基の除去は、リボソームがタンパク質合成に参加する能力を阻害する。サポリンは、変性及びタンパク質分解に抵抗するその能力ゆえに並外れた安定性を示す。サポリンは、他のそのような分子よりはるかに毒性が低いためにこれを使って作業するには比較的安全であるが、これはサポリンが細胞内に自身を挿入するためのドメインを欠いているからである。しかしながら、仮に細胞内へ入り込む手段を与えられれば、サポリンは非常に毒性が高い。よって、本発明はサポリンにコンジュゲートした抗体を含む。サポリン（ＧｅｎＢａｎｋ：ＣＡＡ４１９４８．１；ｅｍｂｌ登録Ｘ５９２５５．１）は次の配列：

ＭＫＩＹＶＶＡＴＩＡＷＩＬＬＱＦＳＡＷＴＴＴＤＡＶＴＳＩＴＬＤＬＶＮＰＴＡＧＱＹ
ＳＳＦＶＤＫＩＲＮＮＶＫＤＰＮＬＫＹＧＧＴＤＩＡＶＩＧＰＰＳＫＤＫＦＬＲＩＮＦＱ
ＳＳＲＧＴＶＳＬＧＬＫＲＤＮＬＹＶＶＡＹＬＡＭＤＮＴＮＶＮＲＡＹＹＦＫＳＥＩＴＳ
ＡＥＬＴＡＬＦＰＥＡＴＴＡＮＱＫＡＬＥＹＴＥＤＹＱＳＩＥＫＮＡＱＩＴＱＧＤＫＳＲ
ＫＥＬＧＬＧＩＤＬＬＬＴＦＭＥＡＶＮＫＫＡＲＶＶＫＮＥＡＲＦＬＬＩＡＩＱＭＴＡＥ
ＶＡＲＦＲＹＩＱＮＬＶＴＫＮＦＰＮＫＦＤＳＤＮＫＶＩＱＦＥＶＳＷＲＫＩＳＴＡＩＹ
ＧＤＡＫＮＧＶＦＮＫＤＹＤＦＧＦＧＫＶＲＱＶＫＤＬＱＭＧＬＬＭＹＬＧＫＰＫＳＳＮ
ＥＡＮＳＴＡＹＡＴＴＶＬ

を有している。

【０２１１】

用語「リシン」は、リシナス・コムニス（Ｒｉｃｉｎｕｓ ｃｏｍｍｕｎｉｓ）（ヒマの実）由来のレクチンRCA_{60}を指している。該用語はさらにその毒性バリアントも指している。米国特許第５，０７９，１６３号及び同第４，６８９，４０１号明細書を参照されたい。リシナス・コムニス・アグルチニン（ＲＣＡ）は、それぞれその分子量がおよそ６５，０００及び１２０，０００のRCA_{60}及びRCA_{120}と呼ばれる２つの形態で生じる。ニコルソン（Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ）及びブラウシュタイン（Ｂｌａｕｓｔｅｉｎ）、バイオキミカ・エト・バイオフィジカ・アクタ（Ｊ． Ｂｉｏｃｈｉｍ． Ｂｉｏｐｈｙｓ． Ａｃｔａ）、１９７２年、第２６６巻、ｐ．５４３。$RCA_{I I '}$、リシンＤ又はＲＣＬ ＩＩＩとも呼ばれるRCA_{60}は極めて毒性が強く、タンパク質合成を阻害し、Ｎ‐アセチル‐Ｄ‐ガラクトサミンへの親和性を有する。該毒素は、ジスルフィド結合で接合されたＡ鎖（３０，０００Ｄａ）及びＢ鎖（３３，０００Ｄａ）の二量体である。Ａ鎖はタンパク質合成の不活性化及び細胞の殺滅を担っている。Ｂ鎖はリシンを細胞表面のガラクトース残基に結合させ、細胞質ゾル内へのＡ鎖の輸送を促進する（オルスネス（Ｏｌｓｎｅｓ）ら、ネイチャー（Ｎａｔｕｒｅ）、１９７４年、第２４９巻、ｐ．６２７－６３１）。米国特許第３，０６０，１６５号明細書を参照されたい。

【０２１２】

用語「アブリン」は、アブルス・プレカトリウス（Ａｂｒｕｓ ｐｒｅｃａｔｏｒｉｕｓ）由来の有毒レクチンを指している。毒性成分であるアブリンａ、ｂ、ｃ及びｄは、約６３，０００～６７，０００Ｄａの分子量を有し、２つのジスルフィドで連結されたポリペプチド鎖Ａ及びＢでできている。Ａ鎖はタンパク質合成を阻害し；Ｂ鎖（アブリン‐ｂ）はＤ‐ガラクトース残基に結合する。フナツ（Ｆｕｎａｔｓｕ）ら、「アブリン‐ａのＡ鎖のアミノ酸配列及びリシンＡｇｒ．との比較（Ｔｈｅ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｏｆ ｔｈｅ Ａ－ｃｈａｉｎ ｏｆ ａｂｒｉｎ－ａ ａｎｄ ｃｏｍ

ｐａｒｉｓｏｎ ｗｉｔｈ ｒｉｃｉｎ, Ａｇｒ.）」、バイオロジカル・ケミストリー（Ｂｉｏｌ. Ｃｈｅｍ.）、１９８８年、第５２巻、ｐ.１０９５を参照されたい。さらに、オルスネス（Ｏｌｓｎｅｓ）、メソッズ・イン・エンザイモロジー（Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ.）、１９７８年、第５０巻、ｐ.３３０－３３５も参照されたい。

【０２１３】

Ｃ. 免疫毒素

リシン、ジフテリア毒素及びシュードモナス毒素のような植物及び細菌由来の毒性酵素は、細胞タイプ特異的殺滅試薬を生成するために抗体又は受容体結合リガンドに結合されてきた（ユール（Ｙｏｕｌｅ）ら、米国アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. ＵＳＡ）、１９８０年、第７７巻、ｐ.５４８３；ギリーランド（Ｇｉｌｌｉｌａｎｄ）ら、米国アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. ＵＳＡ）、１９８０年、第７７巻、ｐ.４５３９；クロリック（Ｋｒｏｌｉｃｋ）ら、米国アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. ＵＳＡ）、１９８０年、第７７巻、ｐ.５４１９）。細胞認識部分が必ずしも抗体であるとは限らないという事実にかかわらず、これらの指向性毒素は一般に免疫毒素として知られている。これらのハイブリッドタンパク質は、該分子の抗体部分又はリガンド部分が認識する受容体又は細胞表面マーカーを発現する細胞を殺滅する。

【０２１４】

適切な条件の下では、特定の受容体又は細胞マーカーに依存して、毒素は細胞質ゾルに入り込み、タンパク質合成機構を不活性化し、標的細胞の死を引き起こす。細胞培養及び動物モデルにおいて成長しているがん細胞に対して細胞毒性が高いことが示された免疫毒素は、この試薬が、播種性ゆえに従来の外科技法では治療不可能な血液及びリンパ伝播性の悪性腫瘍、並びに腹腔のような限定されたコンパートメント内の固形腫瘍を治療する潜在能力を実証している（総説はグリフィン（Ｇｒｉｆｆｉｎ）ら、「免疫毒素（ＩＭＭＵＮＯＴＯＸＩＮＳ）」、ボストン／ドルドレヒト／ランカスターの、クルーワー・アカデミック・パブリッシャー（Ｋｌｕｗｅｒ Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ）、１９８８年、ｐ.４３３；ヴィテッタ（Ｖｉｔｅｔｔａ）ら、サイエンス（Ｓｃｉｅｎｃｅ）、１９８７年、第２３８巻、ｐ.１０９８；フィッツジェラルド（Ｆｉｔｚｇｅｒａｌｄ）ら、ジャーナル・オブ・ザ・ナショナル・キャンサー・インスティテュート（Ｊ. Ｎａｔｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ.）、１９８９年、第８１巻、ｐ.１４５５に記載されている）。従来の化学療法は、いくつかのがん性状態の治療に有効である一方、化学療法化合物の全身毒性に起因する望ましからぬ副作用を示す。

【０２１５】

毒性部分と抗体とは、化学的手段又は組換え手段によってコンジュゲートされうる（ルイバク（Ｒｙｂａｋ）ら、テューモア・ターゲティング（Ｔｕｍｏｒ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ）、１９９５年、第１巻、ｐ.１４１を参照されたい）。化学的修飾には、例えば、タンパク質化学の分野において良く知られた方法による、直接、又は連結化合物（例えば、二官能性リンカーなどのリンカーは細胞毒性薬をｍＡｂに連結する化学小分子であり；例えばジメチルヒドラジド、酸に不安定なヒドラジンリンカー、ジスルフィドリンカー、グルクロニド糖リンカーなど）を介して構成部分を互いに連結する目的の、誘導体化が挙げられる。例えば、毒性部分と認識部分とを連結する手段は、２つの部分の間の分子間ジスルフィド結合の形成に根本的に寄与するヘテロ二官能性カップリング試薬を含む。本発明に関してこの能力において有用な他の種類のカップリング試薬は、例えば、米国特許第４，５４５，９８５号明細書に記載されている。別例として、分子間ジスルフィドは、天然に存在するか又は遺伝子工学によって挿入された、各構成部分の中のシステインの間で好都合に形成される場合もある。構成部分を連結する手段はさらに、ヘテロ二官能性の架橋試薬の間のチオエーテル結合、又は特異的な低ｐＨで切断可能な架橋剤、又は特異的なプロテアーゼで切断可能なリンカー、又はその他の切断可能若しくは切断可能でない化学結合を使用する場合もある。免疫毒素の構成部分を連結する手段はさらに、標準的なペプチ

ド合成化学又は組換え手段によって別々に合成された構成部分の間で形成されるペプチジル結合を含むこともできる。

【０２１６】

毒素を含む各種化合物の取り付けのための数多くの手順及びリンカー分子が知られている。例えば、欧州特許出願第１８８，２５６号明細書；米国特許第４，６７１，９５８号、同第４，６５９，８３９号、同第４，４１４，１４８号、同第４，６９９，７８４号；同第４，６８０，３３８号；同第４，５６９，７８９号；同第４，５８９，０７１号明細書；及びボーリングハウス（Ｂｏｒｌｉｎｇｈａｕｓ）ら、キャンサー・リサーチ（Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．）、１９８７年、第４７巻、ｐ．４０７１－４０７５（これらの文献は参照により本願に組込まれる）を参照されたい。特に、様々な免疫毒素コンジュゲートの生産は当分野において良く知られており、例えば、「モノクローナル抗体‐毒素コンジュゲート：特効薬を目指して（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ｔｏｘｉｎ Ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ： Ａｉｍｉｎｇ ｔｈｅ Ｍａｇｉｃ Ｂｕｌｌｅｔ）」の、ソープ（Ｔｈｏｒｐｅ）ら、「臨床医学におけるモノクローナル抗体（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ）」、アカデミックプレス（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ）、１９８２年、ｐ．１６８－１９０、バルトマン（Ｗａｌｄｍａｎｎ）、サイエンス（Ｓｃｉｅｎｃｅ）、１９９１年、第２５２巻、ｐ．１６５７、米国特許第４，５４５，９８５号及び同第４，８９４，４４３号（参照により本願に組込まれる）に見出すことができる。さらに、例えばバーチ（Ｂｉｒｃｈ）及びレノックス（Ｌｅｎｎｏｘ）、「モノクローナル抗体：原理と応用（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ： Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ）」、第４章、米国ニューヨーク州ニューヨークのワイリー‐リス（Ｗｉｌｅｙ－Ｌｉｓｓ）、１９９５年；米国特許第５，２１８，１１２号及び同第５，０９０，９１４号明細書；ハーマンソン（Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ）、「バイオコンジュゲート技法（Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ）」、米国カリフォルニア州サンディエゴのアカデミックプレス（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ）、１９９６年も参照されたい。好ましい実施形態では、リンカー分子は、例えばユール（Ｙｏｕｌｅ）及びネヴェル（Ｎｅｖｅｌｌｅ）、米国アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ． Ｎａｔｌ． Ａｃａｄ． Ｓｃｉ．）、１９８０年、第７７巻、第９号、ｐ．５４８３－５４８６に記載されるような免疫毒素コンジュゲートを調製するために使用可能なｍ‐マルイミドベンゾイル（Ｍａｌｉｍｉｄｏｂｅｎｚｏｙｌ）‐Ｎ‐ヒドロキシスクシンイミドエステル（ＭＢＳ）である。

【０２１７】

ある状況では、免疫毒性コンジュゲートがその標的部位に到達したときに抗体から毒素を解放することが望ましい。したがって、標的部位の近辺又は内部で切断可能な連結を含む免疫毒性コンジュゲートが、毒素が標的部位で放出されることになっている場合に使用されうる。リガンドから作用薬を放出するための連結の切断は、酵素活性、又は標的細胞の内部若しくは標的部位の近辺のいずれかにおいて免疫コンジュゲートがさらされる条件によって、誘発されうる。多くの異なる切断可能なリンカーが当業者に知られている。米国特許第４，６１８，４９２号；同第４，５４２，２２５号、及び同第４，６２５，０１４号明細書を参照されたい。ＳＰＤＰは、アミンを含む分子をスルフヒドリルにコンジュゲートするために使用される、可逆的なＮＨＳエステル、ピリジルジスルフィド架橋剤である。別の化学的修飾試薬は、アミンと反応してスルフヒドリルをもたらす２‐イミノチオランである。水溶性のＳＰＤＰアナログ、例えばスルホ‐ＬＣ‐ＳＰＤＰ（米国イリノイ州ロックフォードのピアス（Ｐｉｅｒｃｅ）なども利用可能である。ＳＭＰＴは、抗原標的に到達する前のｉｎ ｖｉｖｏでの切断を回避するために開発された、可逆的なＮＨＳエステル、ピリジルジスルフィド架橋剤である。加えて、ＳＭＰＴのＮＨＳエステルは水溶液中で比較的安定である。

【０２１８】

本発明のタンパク質部分の可能な化学的修飾には、良く知られた方法による、循環系における滞在時間を延長し、かつ免疫原性を低減するためのポリエチレングリコール（ＰＥ

Ｇ）又は他のポリマー（デキストランなど）を用いた誘導体化も挙げられる（例えば、リージ（Ｌｉｓｉ）ら、アプライド・バイオケム（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｃｈｅｍ．）、１９８２年、第４巻、ｐ．１９；ボーシャン（Ｂｅａｕｃｈａｍｐ）ら、アナリティカル・バイオケミストリー（Ａｎａｌ　Ｂｉｏｃｈｅｍ．）、１９８２年、第１３１巻、ｐ．２５；及びグッドソン（Ｇｏｏｄｓｏｎ）ら、バイオ／テクノロジー（Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）、１９９０年、第８巻、ｐ．３４３を参照されたい）。

【０２１９】

免疫毒素のタンパク質の可能な遺伝子工学的修飾には、各々の関連する機能ドメインを組み合わせて、組換えＤＮＡ技術によって得られた単一遺伝子から発現される一本鎖の多機能の生合成タンパク質とすることが挙げられる。（例えば、ＰＣＴ出願国際公開第８８／０９３４４号を参照されたい）。更に、組換えＤＮＡ技術は該組換えタンパク質と抗体とを連結するために使用可能である。従って、免疫毒素は、一端において該タンパク質で始まり、かつ抗体で終わる融合タンパク質を含むことができる。

【０２２０】

組換え融合タンパク質を生産する方法は当業者に良く知られている。このように例えば、チャウダリー（Ｃｈａｕｄｈａｒｙ）ら、ネイチャー（Ｎａｔｕｒｅ）、１９８９年、第３３９巻、ｐ．３９４；バトラ（Ｂａｔｒａ）ら、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー（Ｊ．　Ｂｉｏｌ．　Ｃｈｅｍ．）、１９９０年、第２６５巻、ｐ．１５１９８；バトラ（Ｂａｔｒａ）ら、米国アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　ＵＳＡ）、１９８９年、第８６巻、ｐ．８５４５；チャウダリー（Ｃｈａｕｄｈａｒｙ）ら、米国アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　ＵＳＡ）、１９９０年、第８７巻、ｐ．１０６６（いずれも参照により援用される）は、様々な一本鎖の抗体－毒素融合タンパク質の調製について記載している。

【０２２１】

一般に、免疫毒素融合タンパク質の生産は、$Ｆ_{v}$の軽鎖及び重鎖、並びに使用される１つのタンパク質をコードするＤＮＡを別々に調製することを要する。２つの配列は、特定の所望の融合タンパク質をコードする構築物を形成するために、プラスミド又は他のベクターの中で組み合わされる。より単純な手法は、所望の１つのタンパク質を既にコードしている構築物に、特定の$Ｆ_{v}$領域をコードするＤＮＡを挿入することを伴う。

【０２２２】

本発明は、本明細書中に記載された新規なタンパク質をコードする核酸構築物を含む。核酸構築物とは、適切なベクターに組み込まれた時に宿主の中で複製することができるものである。該構築物は、プロモータ及びエンハンサーのような、該構築物の発現に影響を与えることができる他の配列に連結されてもよい。

【０２２３】

１つの実施形態では、Ｆａｂ－ＺＡＰマウス（アドバンスト・ターゲティング・システムズ（Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）カタログ＃ＩＴ－４８）が使用される。それは、ヤギ抗マウス一価抗体とリボソーム不活性化タンパク質サポリンとの化学的コンジュゲートである。第２の免疫毒素はサポリンへの二次抗体のコンジュゲートである。Ｆａｂ－ＺＡＰは、マウスモノクローナルＩｇＧ一次抗体を使用して、該一次抗体を認識する細胞を標的として除去する。Ｆａｂ－ＺＡＰが取り込まれてしまえば、サポリンは標的化作用薬から離脱してリボソームを不活性化し、そのことがタンパク質阻害、及び最終的には細胞死を引き起こす。Ｆａｂ－ＺＡＰは一価の二次抗体を用いて作製され、キャップ形成の可能性を排除すると同時に有効なｉｎ　ｖｉｔｒｏ診断ツールを作る品質をすべて維持している。さらに、細胞毒性アッセイにおいてＭａｂ－ＺＡＰと直接比較されると、改善された$ＥＤ_{50}$も有している。この試薬は、マウスＩｇＧ抗体について、取り込み及び強力な免疫毒素を作製するためのその適性のうち少なくともいずれかに関してスクリーニングするために、利用可能である。

【０２２４】

Ｄ．　ワクチン及び免疫原

１つの実施形態では、本発明は、ＳＡＳ１Ｒ並びにそのフラグメント及び相同体のような本発明の抗原化合物を用いて、そのような特異性抗原に対する特異的な細胞性及び体液性免疫応答を誘発するために、対象者を免疫化及び治療するための方法及び試薬に関する。本発明は、新鮮なリポソーム又は凍結乾燥リポソームの中で特異的に調製された免疫原、該免疫原の適正な投与経路、該免疫原の適正用量、及び１つの投与経路におけるＤＮＡプライミングとその後の異なる経路におけるリポソームを介在するタンパク質抗原ブーストとを含む特異的組み合わせの異種免疫化を使用する方法であって、細胞性免疫応答の増強、サイトカイン分泌、体液性免疫応答、特にＴヘルパー応答のＴｈ１への偏り又はバランスのとれたＴｈ１及びＴｈ２タイプという点に関して免疫応答を条件に合うように適合させるための方法を提供する。より詳しくは、クラインフェルター（Ｋｌｉｎｅｆｅｌｔｅｒ）の文献（国際特許出願ＰＣＴ／ＵＳ２００５／０２６１０２号の優先権を主張する米国特許出願第１１／５７２，４５３号明細書）を参照されたい。

【０２２５】

本明細書中の相同体は、上述の天然に存在するＳＡＳ１Ｒポリペプチドとの、少なくとも７０％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも９０％、さらにより好ましくは少なくとも９５％、さらにより好ましくは少なくとも９８％、最も好ましくは少なくとも９９％のアミノ酸配列同一性を有する免疫原性ポリペプチドを含むものと了解され、かつ少なくとも該ポリペプチドによって得られる免疫応答を誘発する能力をなおも有している。相同体又はアナログは、本明細書中において、安定性、溶解性、及び免疫原性を高めるために、置換、挿入、欠失、Ｎ末端又はＣ末端のアミノ酸付加、及び炭水化物のような追加の化学構成部分を含むことができる。

【０２２６】

本発明の１つの実施形態では、本明細書中で定義されるような本発明の免疫原性ポリペプチドは、グリコシル化されている。いかなる特定の理論にも束縛されるものではないが、本明細書中では、これらのポリペプチドのグリコシル化によってその免疫原性が高まり得るという仮説がたてられる。したがって、１つの実施形態では、本明細書中で先に定義されるような前述の免疫原性ポリペプチドは、グリコシル化されて、糖タンパク質又はグリコシル化ポリペプチドの総重量に基づいて１０～８０重量％にわたる様々な炭水化物含量を有している。より好ましくは、前記炭水化物含量は、１５～７０重量％、さらにより好ましくは２０～６０重量％の範囲である。別の実施形態では、前記グリコシル化免疫原性ポリペプチドは、治療を受けるヒトの対応する透明帯糖タンパク質（又はそのフラグメント）のグリコシル化パターンに類似したグリコシル化パターンを含む。これが前記ポリペプチドの免疫原性をさらに高めるという仮説が立てられている。よって、免疫原性ポリペプチドは対応するＳＡＳ１Ｒ糖タンパク質のグリコシル化パターンに類似したグリコシル化パターンを含むことが好ましい。

【０２２７】

１つの実施形態では、ポリペプチドの供給源は、ＳＡＳ１Ｒタンパク質、並びに免疫学的に活性なその相同体及びそのフラグメントから選択された有効な量の免疫原性ポリペプチド、又は前記免疫原性ポリペプチドをコードする核酸配列を含む。

【０２２８】

１つの実施形態では、本発明の免疫化方法は、免疫原として活性なポリペプチドフラグメントの供給源の投与を含んでなり、前記ポリペプチドフラグメントは、本明細書中で先に定義されたようなＳＡＳ１Ｒタンパク質フラグメント及びその相同体のうち少なくともいずれかから選択され、前記ポリペプチドフラグメントは優性なＣＴＬエピトープ及びＨＴＬエピトープのうち少なくともいずれかを含んでなり、かつそのフラグメントは長さ１８～４５アミノ酸である。１８～４５アミノ酸の長さを有するペプチドは、国際公開第０２／０７０００６号に記載されているように優れた免疫原性を提供することが観察されている。

【０２２９】

好都合にもペプチドは化学合成可能であり、かつ任意選択で（部分的に）重なり合って

もよく、かつ／又はさらに他の分子、ペプチド、若しくはタンパク質に繋ぎ合わされてもよい。ペプチドは、ウェルターズ（Ｗｅｌｔｅｒｓ）らの文献（ワクチン（Ｖａｃｃｉｎｅ）、２００４年１２月２日、第２３巻、第３号、ｐ．３０５－１１）のように、融合せしめられて合成タンパク質を形成してもよい。ペプチドの安定性の増大及び生分解性の減少のうち少なくともいずれかのために、ペプチドのアミノ末端又はカルボキシ末端に化学的構成部分又は追加の（修飾型若しくはＤ型の）アミノ酸を付加することも有利であるかもしれない。免疫原性を改善するために、免疫刺激性の構成部分が例えば脂質化又はグリコシル化によって取り付けられてもよい。ペプチドの溶解性を増強するために、荷電アミノ酸又は極性アミノ酸の付加が、溶解性を増強しかつｉｎ　ｖｉｖｏでの安定性を高めるために使用されてもよい。

【０２３０】

免疫化の目的のため、本発明の前述の免疫原性ポリペプチドは、タンパク質、例えば、限定されるものではないが、テタヌストキシン／トキソイド、ジフテリアトキシン／トキソイド又は他の担体分子と融合せしめられてもよい。本発明によるポリペプチドは、（参照文献：ラープ（Ｒａｐｐ）ＵＫおよびカウフマン（Ｋａｕｆｍａｎｎ）ＳＨ、インターナショナル・イムノロジー（Ｉｎｔ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．）、２００４年４月、第１６巻、第４号、ｐ．５９７－６０５；ツューゲル（Ｚｕｇｅｌ）Ｕ、インフェクション・アンド・イミュニティ（Ｉｎｆｅｃｔ　Ｉｍｍｕｎ．）、２００１年６月、第６９巻、第６号、ｐ．４１６４－７）に記載されるように、免疫優勢ペプチドの担体として組換えの内在性（ネズミ科動物）ｇｐ９６（ＧＲＰ９４）のような熱ショックタンパク質に好都合に融合せしめられてもよいし、Ｈｓｐ７０との融合タンパク質であってもよい（トリーベル（Ｔｒｉｅｂｅｌ）ら、国際公開第９９５４４６４号）。

【０２３１】

本発明のこの免疫原性（ポリ）ペプチドの個々のアミノ酸残基は、ペプチド結合又はペプチド結合ミメティックによってペプチドに組み込まれることができる。本発明のペプチド結合ミメティックには当業者に良く知られたペプチド主鎖の修飾が挙げられる。そのような修飾には、アミド窒素、α炭素、アミドカルボニルの修飾、アミド結合の完全置換、延長、欠失、又は主鎖架橋が含まれる。一般に、スパトーラ（Ｓｐａｔｏｌａ）、「アミノ酸、ペプチド及びタンパク質の化学及び生化学（Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　ａｎｄ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　ｏｆ　Ａｍｉｎｏ　Ａｃｉｄｓ，　Ｐｅｐｔｉｄｅｓ　ａｎｄ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ）」（ウェインステイン（Ｗｅｉｎｓｔｅｉｎ）編）、１９８３年、第ＶＩＩ巻を参照されたい。いくつかのペプチド主鎖修飾が知られており、本発明の実行において使用可能である。

【０２３２】

アミノ酸ミメティックもポリペプチドに組み込まれうる。「アミノ酸ミメティック」とは、本明細書中で使用されるように、本発明のポリペプチド中のアミノ酸の代替物として立体配座的かつ機能的役割を果たす、天然に存在するアミノ酸以外の構成部分である。そのような構成部分は、ペプチドが天然のＳＡＳ１Ｒ　Ｔ細胞エピトープに対する免疫応答を誘発する能力を妨害しない場合に、アミノ酸残基の代替物としての役割を果たす。アミノ酸ミメティックには非タンパク性アミノ酸が挙げられる。多くの適当なアミノ酸ミメティックが当業者に知られており、シクロヘキシルアラニン、３‐シクロヘキシルプロピオン酸、Ｌ‐アダマンチルアラニン、アダマンチル酢酸などが含まれる。本発明のペプチドに適したペプチドミメティックは、モーガン（Ｍｏｒｇａｎ）及びゲイノール（Ｇａｉｎｏｒ）、アニュアル・レポーツ・イン・メディシナル・ケミストリー（Ａｎｎ．　Ｒｅｐｔｓ．　Ｍｅｄ．　Ｃｈｅｍ．）、１９８９年、第２４巻、ｐ．２４３－２５２によって議論されている。

【０２３３】

１つの実施形態では、本方法は、本明細書において上記に定義されるような１つ以上の本発明の免疫原性ポリペプチドと、少なくとも１つの賦形剤とを含む組成物の投与を含む。賦形剤は薬学分野において良く知られており、例えば「レミングトンの薬剤学（Ｒｅｍ

ｉｎｇｔｏｎｓ ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ ｓｃｉｅｎｃｅｓ）」、マック・パブリシング（Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ）、１９９５年のような教科書に見出されうる。

【０２３４】

免疫化のための本方法は、少なくとも１つのアジュバントの投与、及び１つの態様では同時投与をさらに含むことができる。アジュバントは、ワクチン接種の分野で既知の任意のアジュバントを含むことが可能であり、「カレント・プロトコールズ・イン・イムノロジー（Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ）」、ワイリー・インターサイエンス（Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ）、２００４年のような教科書を使用して選択されてもよい。

【０２３５】

アジュバントは、本明細書中では、ヒト又は動物を免疫化するために抗原と組み合わせて使用された時に、免疫系を刺激し、その結果として、好ましくはアジュバント自体への特異的免疫反応を生じることなく、該抗原に対する免疫応答を起こさせ、増強し、又は促進する、任意の物質又は化合物を含むように意図される。１つの態様では、アジュバントは、所与の抗原に対する免疫応答を、同じ条件下であるがアジュバントのない状態で該抗原に対して生成された免疫応答と比較して、少なくとも１．５、２、２．５、５、１０、又は２０倍に増強することができる。一群の動物又はヒトにおいてアジュバントによって生じるような所与の抗原に対する免疫応答の、対応する対照群と比較した統計的な平均の増強を決定するための試験は、当分野において利用可能である。アジュバントは、好ましくは、少なくとも２つの異なる抗原に対する免疫応答を増強することができる。本発明のアジュバントは通常はヒトにとって異質の化合物となり、よってヒトに内在する免疫刺激性化合物、例えばインターロイキン、インターフェロン、及びその他のホルモンは除外される。

【０２３６】

多くのアジュバントが当業者に良く知られている。適当なアジュバントには、例えば、不完全フロイントアジュバント、アラム、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、Ｎ‐アセチル‐ムラミル‐Ｌ‐トレオニル‐Ｄ‐イソグルタミン（ｔｈｒ‐ＭＤＰ）、Ｎ‐アセチル‐ノル‐ムラミル‐Ｌ‐アラニル‐Ｄ‐イソグルタミン（ＣＧＰ１１６３７、ノル‐ＭＤＰとも呼ばれる）、Ｎ‐アセチルムラミル‐Ｌ‐アラニル‐Ｄ‐イソグルタミニル‐Ｌ‐アラニン‐２‐（１’‐２’‐ジプ‐アルミトイル（ｄｉｐ－ａｌｍｉｔｏｙｌ）‐ｓｎ‐グリセロ‐３‐ヒドロキシ‐ホスホリルオキシ）‐エチルアミン（ＣＧＰ１９３８５Ａ、ＭＴＰ‐ＰＥとも呼ばれる）、ＤＤＡ（２ジメチルジオクタデシルアンモニウムブロミド）、ポリＩＣ、ポリＡポリＵ、ＲＩＢＩ（商標）、ＧＥＲＢＵ（商標）、Ｐａｍ３（商標）、Ｃａｒｂｏｐｏｌ（商標）、Ｓｐｅｃｏｌ（商標）、Ｔｉｔｅｒｍａｘ（商標）、テタヌストキソイド、ジフテリアトキソイド、髄膜炎菌外膜タンパク質、ジフテリアタンパク質ＣＲＭ$_{197}$が挙げられる。好ましいアジュバントは、抗原提示細胞に存在するトール様受容体（ＴＬＲ）によって認識されるリガンドを含む。ＴＬＲによって認識される様々なリガンドが当分野で知られており、例えば、リポペプチド（例えば国際公開第０４／１１０４８６号を参照）、リポ多糖類、ペプチドグリカン、リオプテイコ酸（ｌｉｏｐｔｅｉｃｈｏｉｃ ａｃｉｄ）、リポアラビノマンナン、リポタンパク質（マイコプラズマ又はスピロヘータ由来）、二本鎖ＲＮＡ（ポリＩ：Ｃ）、非メチル化ＤＮＡ、フラジェリン、ＣｐＧ含有ＤＮＡ、及びイミダゾキノリン、並びにこれらリガンドの化学的修飾を有している誘導体が挙げられる。

【０２３７】

本願の免疫化の方法は、ＣＴＬ応答を増強し、かつその結果として本発明の方法及び組成物の治療効果を増強するために、ＣＤ４０結合分子の投与（同時投与を含む）をさらに包含する。ＣＤ４０結合分子の使用については、参照により本願に組込まれる国際公開第９９／６１０６５号に記載されている。ＣＤ４０結合分子は、好ましくは抗体若しくはそのフラグメント、又はＣＤ４０リガンド若しくはそのバリアントであり、別々に加えられ

てもよいし、本発明による組成物内に含められてもよい。そのような有効用量は、患者の身体状態及び全身状態を含む様々な要因に依存することになろう。よって、投与計画は、最適な治療効果又は予防効果を提供するために熟練した医療関係者によって決定及び調整可能である。

【０２３８】

本方法では、１つ以上の免疫原性ポリペプチドは、典型的には少なくとも一回に患者の体重１ｋｇあたり約１ｕｇ以上の用量で投与される。多くの場合、用量は１０ｕｇ／ｋｇより多い。本発明によれば、用量は好ましくは１ｕｇ／ｋｇ～１ｍｇ／ｋｇの範囲にある。

【０２３９】

１つの実施形態では、典型的な投与計画は、１～１０００ｕｇ／ｋｇ、より好ましくは１０～５００ｕｇ／ｋｇ、さらにより好ましくは１０～１５０ｕｇ／ｋｇの用量を、１週、２週、３週、４週又は５週間にわたって１週間に１回、２回、又は３回投与することを含む。１つの実施形態によれば、１週間又は２週間の期間に１０～１００ｕｇ／ｋｇが週に１回投与される。

【０２４０】

本方法は、１つの態様では、本発明の免疫原性ポリペプチド及び該ポリペプチドを含む組成物の、注射経路、経皮的経路、又は経口経路を介した投与を含む。本発明の別の実施形態では、本方法は、本発明の免疫原性ポリペプチド及び該ポリペプチドを含む組成物の膣内投与を含む。

【０２４１】

本発明の別の態様は、有効成分として本明細書中で先に定義されたような本発明のポリペプチド供給源を含む医薬品製剤に関する。より具体的には、医薬品製剤は、有効成分として、ＳＡＳ１タンパク質、その相同体並びに前記ＳＡＳ１Ｒタンパク質のフラグメント及びその相同体の群から選択された前述の免疫原性ポリペプチドのうち１つ以上、又は、別例として、本明細書中上記に定義されるような遺伝子治療ベクターを含む。

【０２４２】

本発明は、本発明の免疫原性ポリペプチドのうち１つ以上を含む医薬品製剤をさらに提供する。該医薬組成物中の前記ポリペプチドの濃度は広く様々であって良い、すなわち、重量比で約０．１％未満から、通常は重量比で少なくとも約１％であって、重量比で２０％と同程度又はそれ以上であってもよい。

【０２４３】

組成物は有効成分に加えて薬学的に許容可能な担体を含むことができる。製薬用の担体は、患者に免疫原性ポリペプチド又は遺伝子治療ベクターを送達するのに適した、任意の適合性のある無毒の物質であってよい。ポリペプチドについては、滅菌水、アルコール、脂肪、ワックス、及び不活性固体が担体として使用されうる。薬学的に許容可能なアジュバント、緩衝薬、分散剤なども、医薬組成物中に組み込まれうる。

【０２４４】

１つの実施形態では、本発明の医薬組成物は、本明細書中で先により詳細に定義されたように、アジュバントを含む。本組成物中に組み込むのに有用なアジュバントは、好ましくは、抗原提示細胞に存在するトール様受容体（ＴＬＲ）によって認識されるリガンド、例えばリポペプチド、リポ多糖類、ペプチドグリカン、リオプテイコ酸（ｌｉｏｐｔｅｉｃｈｏｉｃ　ａｃｉｄ）、リポアラビノマンナン、リポタンパク質（マイコプラズマ又はスピロヘータ由来）、二本鎖ＲＮＡ（ポリＩ：Ｃ）、非メチル化ＤＮＡ、フラジェリン、ＣｐＧ含有ＤＮＡ、及びイミダゾキノリン、並びにこれらリガンドの化学的修飾を有している誘導体、を含む群から選択される。日常的に作業している者であれば、本医薬品製剤を十分に免疫原性にするために本医薬品製剤に組み込まれるべき上記アジュバントのいずれについての正確な量も決定することができるであろう。別の好ましい実施形態によれば、本医薬品製剤は、本明細書中で先に説明されたようなＣＴＬ免疫を増強するために使用される１つ以上の追加の成分を含むこともできる。特に好ましい実施形態によれば、本医

薬品製剤はＣＤ４０結合分子を含む。

【０２４５】

ポリペプチドを含む医薬組成物を生産する方法は、米国特許第５，７８９，５４３号及び同第６，２０７，７１８号明細書に記載されている。好ましい形態は、意図される投与方式及び治療適用に応じて様々である。

【０２４６】

１つの実施形態では、本発明の免疫原性タンパク質又はポリペプチドは注射によって投与される。ポリペプチドの投与のための非経口経路は、周知の方法に従い、例えば静脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、皮下、又は病巣内の経路による注射又は注入である。該タンパク質又はポリペプチドは、注入又はボーラス注射によって連続的に投与されうる。静脈内注入用の典型的な組成物は、任意選択で２０％アルブミン溶液が補われた１０～５０ｍｌの無菌の０．９％ＮａＣｌ又は５％グルコースと、１０ｕｇ～５０ｍｇ、好ましくは５０ｕｇ～１０ｍｇのポリペプチドとを含有するように作製されることが考えられる。筋肉内注射用の典型的な医薬組成物は、例えば、１～１０ｍｌの無菌の緩衝水溶液と、１０ｕｇ～５０ｍｇ、好ましくは５０ｕｇ～１０ｍｇの本発明のポリペプチドとを含有するように作製されることになろう。非経口的に投与可能な組成物を調製する方法は当分野において良く知られており、例えば、「レミングトンの薬剤学（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅ）」（第１５版、米国ペンシルバニア州イーストンのマック・パブリシング（Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ）、１９８０年）（すべての目的についてその全体が援用される）を含む様々な情報源により詳細に記載されている。

【０２４７】

便宜上、免疫応答は多くの場合、本発明において「一次」又は「二次」の免疫応答であるとして記載される。「保護的」免疫応答とも記載される一次免疫応答は、特定の抗原への何らかの初期曝露（例えば初期の「免疫化」）の結果として個体の中で生じる免疫応答を指す。そのような免疫化は、例えば、抗原への何らかの自然曝露（例えば該抗原を示すか又は提示する何らかの病原体による初感染に由来するもの）の結果として生じる可能性がある。別例として、免疫化は、抗原を含有するワクチンを用いた個体のワクチン接種によって生じる可能性がある。例えば、ワクチンは、ＳＡＳ１Ｒの１つ以上の抗原性のエピトープ又はフラグメントを含むワクチンであってよい。

【０２４８】

ワクチンは、ＩＬ２のような他の免疫賦活物質、及びとりわけ共刺激分子を発現するように改変されることも可能である。

抗原に対する抗体と組み合わせることが可能な別のタイプのワクチンは、対象とする細胞溶解物から調製されたワクチンであって免疫アジュバントと併用するもの、又は対象とする細胞からの溶解物にＤＥＴＯＸ（商標）免疫アジュバントを加えた混合物から調製されたワクチンである。ワクチン治療は、追加の化学療法上の処置の有無に関わらず、抗原に対する抗体を用いてブースティングされることが可能である。

【０２４９】

治療のためにｉｎ　ｖｉｖｏで使用される時、本発明の抗体は、治療上有効な量（すなわち所望の治療効果を有する量）で対象者に投与される。該抗体は通常は非経口的に投与されることになろう。用量及び投与計画は、感染の程度、使用される特定の抗体又は免疫毒素の特性、例えばその治療指数、患者、及び患者の病歴に応じて様々となろう。有利には、抗体又は免疫毒素は、１～２週間にわたって連続的に投与される。任意選択で、投与は、抗微生物治療のような補助療法の間に、又は腫瘍壊死因子、インターフェロン若しくは他の細胞保護剤若しくは免疫調節剤の投与の間に行われる。

【０２５０】

非経口投与については、抗体は薬学的に許容可能な非経口用ビヒクルを伴って単位用量の注射剤型（溶液、懸濁物、エマルジョン）に製剤化されることになろう。そのようなビヒクルは本質的に無毒であり、治療用ではない。そのようなビヒクルの例は、水、生理食

塩水、リンゲル液、デキストロース溶液、及び５％ヒト血清アルブミンである。固定油及びオレイン酸エチルのような非水性のビヒクルも使用可能である。リポソームは担体として使用可能である。ビヒクルは、等張性及び化学的安定性を増強する物質、例えば緩衝剤及び保存剤のような、少量の添加剤を含有することが可能である。抗体は、典型的にはそのようなビヒクル中で約１．０ｍｇ／ｍｌ～約１０ｍｇ／ｍｌの濃度で製剤化されることになろう。

【０２５１】

ＩｇＭ抗体の使用はある種の適用に関して好ましい可能性があるが；より小さくなっているＩｇＧ分子は、ある種の感染細胞に局在化するためにＩｇＭ分子より有能となりうる。

【０２５２】

ｉｎ ｖｉｖｏでの補体活性化は、様々な生物学的作用、例えば炎症反応の誘導及びマクロファージの活性化をもたらすということが証明されている（ウナヌー（Ｕｎａｎｕｅ）及びベネセラフ（Ｂｅｎｅｃｅｒｒａｆ）、「免疫学教科書（Ｔｅｘｔｂｏｏｋ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ）」、第二版、ウィリアムズ・アンド・ウィルキンズ（Ｗｉｌｌｉａｍｓ ａｎｄ Ｗｉｌｋｉｎｓ）、１９８４年、ｐ．２１８）。炎症に伴う血管拡張の増大は、様々な作用薬が局在化する能力を高める可能性がある。したがって、本発明によって指定された種類の抗原‐抗体の組み合わせは、多くの方法において使用可能である。加えて、ヒト患者において活発な免疫応答を誘導するために、そのような抗原に関係する精製抗原（ハコモリ（Ｈａｋｏｍｏｒｉ）、アニュアル・レヴューズ・オブ・イムノロジー（Ａｎｎ． Ｒｅｖ． Ｉｍｍｕｎｏｌ．）、１９８４年、第２巻、ｐ．１０３）又は抗イディオタイプ抗体（ネポム（Ｎｅｐｏｍ）ら、米国アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ． Ｎａｔｌ． Ａｃａｄ． Ｓｃｉ． ＵＳＡ）、１９８５年、第８１巻、ｐ．２８６４；コプロウスキー（Ｋｏｐｒｏｗｓｋｉ）ら、米国アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ． Ｎａｔｌ． Ａｃａｄ． Ｓｃｉ． ＵＳＡ）、１９８４年、第８１巻、ｐ．２１６）を使用することも考えられる。

【０２５３】

使用される抗体組成物は製剤化され、かつ用量が、治療される身体状態又は障害、個々の患者の身体状態、組成物の送達部位、投与の方法、及び医師に知られたその他の要因を考慮に入れて、良好な医療にふさわしい方法で確立される。抗体組成物は、投与のためのポリペプチドの調製の説明に従って、投与のために調製される（以下）。

【０２５４】

当分野では十分理解されているように、生体特異的な捕捉試薬には、抗体、転移細胞上の活性化されたインテグリン受容体に結合する抗体の結合性フラグメントが含まれる（例えば、一本鎖抗体、Ｆａｂ’フラグメント、Ｆ（ａｂ）’２フラグメント、及びｓｃＦｖタンパク質並びにアフィボディ（Ａｆｆｉｂｏｄｙ（登録商標）、スウェーデン国ストックホルムＳＥ‐１００４４、テクニクリンゲン（Ｔｅｋｎｉｋｒｉｎｇｅｎ）３０、６階、ボックス７００ ０４；参照により全体がすべての目的について本願に組み込まれる米国特許第５，８３１，０１２号明細書を参照されたい）。用途によっては、別の生体分子に特異的に結合する受容体及び他のタンパク質も含まれうる。

【０２５５】

ハイブリッド抗体及びハイブリッド抗体フラグメントには、完全長の重鎖及び軽鎖を有する完全抗体分子、又はその任意のフラグメント、例えばＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｄ、ｓｃＦｖ、抗体軽鎖及び抗体重鎖などが含まれる。さらに、本明細書中に記載されるような可変領域と様々な生物種由来の不変領域とを有するキメラ抗体も適している。例えば、米国特許出願第２００３００２２２４４号明細書を参照されたい。

【０２５６】

最初に、抗体が作り出されうる所定の標的対象物が選ばれる。標的対象物に対するモノクローナル抗体を生成するための技法は当業者に良く知られている。そのような技法の例には、限定するものではないが、ディスプレイライブラリ、ゼノマウス又はヒューマブマ

ウス、ハイブリドーマなどを伴うものが挙げられる。標的対象物には、抗原性を示すことができる任意の物質が含まれ、通常はタンパク質またはタンパク多糖体である。例としては、受容体、酵素、ホルモン、生長因子、ペプチドなどが挙げられる。当然のことであるが、本開示による使用に適しているのは天然に存在する抗体だけでなく、所定の対象物に対する人為改変抗体及び抗体フラグメントも適している。

【０２５７】

本願は、本明細書中に記載されたタンパク質を阻害するための組成物及び方法を開示し、かつ開示されていないが当分野において既知のものも本発明に包含される。例えば、様々なモジュレータ／エフェクタ、例えば抗体、生物学的活性を有する核酸、例えばアンチセンス分子、ＲＮＡｉ分子、若しくはリボザイム、アプタマー、前記ポリヌクレオチド又はポリペプチドを認識するペプチド又は低分子量有機化合物、並びにタンパク質自体及びそのフラグメント、が知られている。

【０２５８】

本発明は、治療用抗体の抗原として使用するためのＳＡＳ１Ｒの使用についての機能性フラグメントの同定に加えて、免疫原及び抗がんワクチンとしてのその使用をさらに包含する。

【０２５９】

１つの実施形態では、完全長ＳＡＳ１Ｒのミモトープ分析は、配列を例えば各ペプチドが３アミノ酸だけ重なり合っている一続きの１５アミノ酸ペプチドに細分することにより、実施可能である。ペプチドはすべてビオチン化され、９６ウェルプレートのストレプトアビジンコーティングされたウェルに結合できるようになされうる。様々な抗血清の反応性が酵素結合免疫吸着定量法（ＥＬＩＳＡ）によって検出可能である。非特異的結合のブロッキングの後、ＳＡＳ１Ｒ抗体が順次添加され（すなわち、アフィニティ精製された抗ＳＡＳ１Ｒ又はアフィニティ精製された抗完全長組換えＳＡＳ１Ｒのいずれか）、その後ペルオキシダーゼがコンジュゲートした二次抗体、及びペルオキシダーゼ基質が順次添加されるとよい。

【０２６０】

各ウェルの光学密度が４５０ｎｍで読み取られ、２連のウェルが平均されるとよい。対照の血清（すなわち免疫前血清）を使用した同様のＥＬＩＳＡから得られた平均値が、試験Ｉｇの値から差し引かれ、得られた値がプロットされていずれの直線状エピトープがＩｇによって認識されるかを判定することが可能である。

【０２６１】

ＳＡＳ１Ｒの機能性フラグメントを同定する戦略における第２及び第３の要素は、ミモトープ分析によって予測されたエピトープ（ペプチド）に対応する非ビオチン化ペプチドの合成に依存する。ミモトープ分析によって認識されたエピトープのうちいずれが卵子上に露出しているかを決定するために、各ペプチドを伴わない場合及び伴う場合における、Ｉｇを用いる免疫細胞科学的染色が実施可能である。

【０２６２】

Ｅ．　医薬組成物

本発明はさらに、薬学的に許容可能な担体中に本発明の免疫毒素を含む医薬組成物にも関する。治療適用では、組成物は、疾患に罹患している患者に、該疾患及びその合併症を治癒させるか又は少なくとも部分的に進行を止めるのに十分な量で投与される。これを遂行するのに適した量は治療上有効な量として定義される。この使用法に有効な量は、該疾患の重症度および患者の健康の全体的状態に依存することになろう。

【０２６３】

有利には、医薬組成物は非経口適用に適している。本発明の免疫毒素は、他の免疫毒素に関して当分野で既知の方法に従って、例えば様々な身体各部の腫瘍を治療するために、種々の目的について適切な様々な手段によって投与されうる。（例えば、Ｗ．Ｂ．サーンダーズ（Ｓａｕｎｄｅｒｓ）、「米国の免疫学及びアレルギークリニック（ＩＭＭＵＮＯＬＯＧＹ　ＡＮＤ　ＡＬＬＥＲＧＹ　ＣＬＩＮＩＣＳ　ＯＦ　ＡＭＥＲＩＣＡ）」、１９

９０年の中のルイバク（Ｒｙｂａｋ）ら、「ヒトのがん免疫学（Ｈｕｍａｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ）」、並びに同文献中で引用された参照文献を参照されたい）。従って、本発明はさらに、本発明の免疫毒素と薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物であって、特に上記の投与手段に適している組成物に関する。

【０２６４】

組成物の単回投与又は複数回投与は、必要かつ患者に忍容される量及び頻度に応じて投与されうる。いかなる場合も、組成物は、患者を有効に治療するために十分な量の本発明のタンパク質を提供するべきである。

【０２６５】

投与のための組成物は、薬学的に許容可能な担体、好ましくは水性担体に溶解された一本鎖抗体及び毒素を含む融合タンパク質の溶液を一般に含むことになろう。様々な水性担体、例えば、緩衝生理食塩水などが使用可能である。これらの溶液は無菌であり、概して望ましからぬ物質を含まない。これらの組成物は従来の良く知られた滅菌技法によって滅菌されうる。組成物は、生理学的条件に近い条件に必要とされるような薬学的に許容可能な補助物質、例えばｐＨ調整剤及び緩衝剤、毒性調整剤などであって、例を挙げると酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウムなど、を含有しうる。これらの処方物における融合タンパク質の濃度は広く様々であって良く、かつ、選択された特定の投与方式及び患者のニーズに従って主として流体の体積、粘性、体重などに基づいて選択されることになろう。

【０２６６】

本発明の免疫毒素は、注射によって静脈内などに全身投与されうるが、同時に筋肉内、皮下、骨腔内、腹腔内、血管腔内、又は関節の中（例えば関節内注射）にも投与されうる。用量は、十分に医師の技能の範囲内にあるように、使用される免疫毒素の性質、例えば、その活性及び生物学的半減期、処方物中の該免疫毒素の濃度、投与部位及び投与速度、その患者の臨床的忍容性、患者が罹患しているがんの進行度などに依存することになろう。

【０２６７】

投与はさらに鼻腔内投与であってもよいし、その他の非経口でない（ｎｏｎｐａｒｅｎｔｅｒａｌ）経路によってもよい。免疫毒素は、血液を含むある種の組織に配されたミクロスフェア、リポソーム又は他の微粒子送達システムを介して投与されてもよい。

【０２６８】

本発明の免疫毒素は溶液状態で投与されうる。該溶液のｐＨは、ｐＨ５～９．５、例えばｐＨ６．５～７．５の範囲にあってよい。免疫毒素又はその誘導体は、適当な薬学的に許容可能な緩衝剤、例えばリン酸塩、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン‐ＨＣｌ又はクエン酸塩などを有する溶液中にあってよい。緩衝剤濃度は１～１００ｍＭの範囲にあるべきである。免疫グロブリンの溶液はさらに、５０～１５０ｍＭの濃度で塩化ナトリウム又は塩化カリウムのような塩を含有することもできる。アルブミン、グロブリン、界面活性剤、ゼラチン、プロタミン又はプロタミンの塩のような有効な量の安定化剤が含まれることも可能であり、免疫毒素を含有する溶液又は該溶液が調製される元の組成物に添加されうる。免疫毒素は、該免疫毒素の生物学的半減期を延長し、その結果として活性の期間をより長くするために使用可能な、ポリマー（ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）又はデキストランなど）を用いて処方されてもよい。免疫毒素の全身投与は、ヒト化型又はヒト型の抗体が使用される場合は２～３日ごと又は週に一度行われることが可能である。別例として、毎日の投与が有用である。

【０２６９】

よって、静脈内投与用の典型的な医薬組成物は、１日当たり患者１人につき約０．０１～１００ｍｇとなるであろう。１日当たり患者１人につき０．１～約１０００ｍｇまでの投与量は、特に薬物が血流ではなく隔離部位へ、例えば腫瘍又は腫瘍が存在する臓器の中などに投与されるときに使用されうる。非経口的に投与可能な組成物を調製するための実際の方法は既知すなわち当業者には明白であり、より詳細には「レミングトンの薬剤学（

ＲＥＭＩＮＧＴＯＮＳ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ　ＳＣＩＥＮＣＥ）」、第１５版、米国ペンシルバニア州イーストンのマック・パブリシング・コーポレイション（Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏ．）、１９８０年のような出版物に記載されている。

【０２７０】

さらに、本発明は、選択的に細胞を殺滅する方法であって、殺滅されるべき細胞の表面上の標的又は細胞内標的に特異的な抗体を有する本発明の選択的免疫毒素を、抗体の結合を可能にする条件下で使用する方法に関する。細胞上又は細胞内の表面又は細胞内のマーカーへの抗体の結合は、試薬の毒素部分による細胞の選択的殺滅を引き起こす。

【０２７１】

本発明はさらに、本発明の化合物を含む医薬組成物にも関する。より具体的には、そのような化合物は、当業者に既知の標準的な薬学的に許容可能な担体、増量剤、可溶化剤及び安定化剤を使用して医薬組成物として処方されることが可能である。

【０２７２】

本発明はさらに、本発明の化合物を対象者に投与する方法にも関する。１つの実施形態では、本発明は、本発明の記載の方法を使用して同定された化合物の投与により対象者を治療する方法を提供する。本化合物を含む医薬組成物は、該医薬組成物を必要とする対象者に、様々な経路、例えば、限定するものではないが、局所、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、骨腔内、脳室内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下、又は経直腸の手段により投与される。

【０２７３】

１つの実施形態によれば、そのような治療を必要とする対象者を治療する方法が提供される。該方法は、本発明の少なくとも１つの化合物を含む医薬組成物を、該医薬組成物を必要とする対象者に投与することを含む。本発明の方法によって同定された化合物は、同様に既知の化合物又は他の薬剤とともに投与可能である。

【０２７４】

本発明はさらに、本発明の方法を実行するための、適切な化合物、及びその相同体、フラグメント、アナログ、又は誘導体の医薬組成物の使用を包含し、該組成物は、少なくとも１つの適切な化合物、及びその相同体、フラグメント、アナログ、又は誘導体と、薬学的に許容可能な担体とを含む。

【０２７５】

本発明を実行するのに有用な医薬組成物は、１ｎｇ／ｋｇ／日～１００ｍｇ／ｋｇ／日の用量を送達するように投与されうる。

本発明は、有効成分として本明細書中に開示された疾患の治療に有用な化合物を含む医薬組成物の調製及び使用を包含する。そのような医薬組成物は、対象者への投与に適した形態で、有効成分単独で構成されてもよいし、該医薬組成物は有効成分と、１つ以上の薬学的に許容可能な担体、１つ以上の追加の成分、又はこれらの何らかの組み合わせとを含む場合もある。有効成分は、当分野において良く知られているように、生理学的に許容可能なエステル又は塩の形態で、例えば生理学的に許容可能な陽イオン又は陰イオンと組み合わせて、医薬組成物中に存在しうる。

【０２７６】

本明細書中で使用されるように、用語「生理学的に許容可能な」エステル又は塩とは、医薬組成物の任意の他の成分との適合性を有する有効成分のエステル形態又は塩形態であって、該組成物が投与されることになっている対象者に対して有害でないものを意味する。

【０２７７】

本明細書中に記載された医薬組成物の処方物は、薬理学の分野において既知であるか又は今後開発される任意の方法によって調製されうる。概して、そのような調製方法は、有効成分を担体又は１つ以上の他の副成分と関連付けるステップ、次いで必要であるか又は望ましい場合には、該生成物を成形又は包装して所望の単回又は複数回投与量単位とするステップを含む。

【０２７８】
そのような医薬組成物があらゆる種類の動物への投与に概ね適していることは当業者には理解されるであろう。本発明の医薬組成物の投与が企図される対象者には、限定するものではないが、ヒト及びその他の霊長類、商業関連の哺乳動物などの哺乳動物、例えば畜牛、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ及びイヌなど、商業関連の鳥を含む鳥、例えば鶏、アヒル、ガチョウ及びシチメンチョウなどが挙げられる。本発明は、げっ歯動物のような害獣の避妊における使用についても企図される。
【０２７９】
本発明の医薬組成物は、単回単位用量として、又は複数の単回単位用量として、調製、包装、又はバルク販売がなされうる。本明細書中で使用されるように、「単位用量」とは、所定量の有効成分を含む個別量の医薬組成物である。有効成分の量は、対象者に投与される有効成分の投与量、又はそのような投与量の好都合な一部分、例えばそのような投与量の二分の１又は三分の一などに概ね等しい。
【０２８０】
本発明の医薬組成物中の有効成分、薬学的に許容可能な担体、及び任意の追加成分の相対量は、治療を受ける対象者が誰であるか、該対象者の体格、及び身体状態に応じて、かつさらには組成物が投与されることになっている経路に応じて、変化することになる。例を挙げると、組成物は、０．１％～１００％（ｗ／ｗ）の有効成分を含むことができる。
【０２８１】
有効成分に加えて、本発明の医薬組成物は、１つ以上の追加の薬学的活性作用薬をさらに含むことができる。特に企図される追加の作用薬には、鎮吐薬、並びにシアン化物及びシアン酸のスカベンジャのようなスカベンジャが挙げられる。
【０２８２】
本発明の医薬組成物の制御放出性又は徐放性の処方物は従来技術を使用して作製されうる。
本明細書中で使用されるように、「追加成分」には、限定するものではないが、下記すなわち：賦形剤；表面活性剤；分散剤；不活性希釈剤；造粒剤及び崩壊剤；結合剤；平滑剤；甘味料；香味料；着色料；保存剤；ゼラチンのような生理学的に分解性の組成物；水性のビヒクル及び溶媒；油性のビヒクル及び溶媒；懸濁化剤；分散剤又は湿潤剤；乳化剤、粘滑剤；緩衝剤；塩類；粘稠化剤；増量剤；乳化剤；酸化防止剤；抗生物質；抗真菌剤；安定化剤；並びに薬学的に許容可能なポリマー材料又は疎水性材料、のうち１つ以上が挙げられる。本発明の医薬組成物中に含まれうるその他の「追加成分」は当分野において知られており、かつ例えば、ゲネロ（Ｇｅｎａｒｏ）編、「レミングトンの薬剤学（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）」、米国ペンシルバニア州イーストンのマック・パブリシング・コーポレイション（Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏ．）、１９８５年に記載されており、同文献は参照により本願に組込まれる。
【０２８３】
典型的には、動物、好ましくはヒトに投与されうる本発明の化合物の用量は、その動物の体重１キログラム当たり１μｇ～約１００ｇの量で変動する。同時に、投与される正確な用量は、様々な要因、例えば、限定するものではないが、治療される動物の種類及び病状の種類、動物の年齢並びに投与経路に応じて変化することになろう。好ましくは、化合物の用量は、動物の体重１キログラム当たり約１ｍｇ～約１０ｇで変動することになろう。より好ましくは、用量は、動物の体重１キログラム当たり約１０ｍｇ～約１ｇで変動することになろう。
【０２８４】
化合物は、動物に１日数回の頻度で投与されてもよいし、より低頻度で、例えば１日に１回、週に１回、２週ごとに１回、月に１回、又はさらにより低頻度で、例えば数か月に１回若しくは１年に１回若しくはより低頻度で投与されてもよい。投与の頻度は、当業者には容易に明白となろうし、かつ、様々な要因、例えば、限定するものではないが、治療

される身体状態又は疾患の種類及び重症度、動物の種類及び年齢などに応じて変わることになろう。

【０２８５】

ワクチン剤の適当な調製物には、溶液又は懸濁物のいずれかとしての注射剤が含まれるが、しかしながら、注射の前に液体中に溶解、液体中に懸濁するのに適した固体形態も調製されうる。該調製物は乳化されてもよいし、ポリペプチドがリポソーム中にカプセル封入されてもよい。活性な免疫原成分は多くの場合、薬学的に許容可能でありかつ有効成分との適合性を有する賦形剤と混合せしめられる。適当な賦形剤は、例えば、水生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなど、及びこれらの組み合わせである。加えて、望ましい場合には、ワクチン調製物はさらに、少量の補助物質、例えば湿潤剤又は乳化剤、ｐＨ緩衝薬、及びワクチンの有効性を増強するアジュバントのうち少なくともいずれかも含みうる。

【０２８６】

本発明は、対象者に本発明の化合物を投与する方法にも関する。１つの実施形態では、本発明は、本発明の方法を使用して同定された化合物の投与により対象者を治療する方法を提供する。本化合物を含む医薬組成物は、該化合物を必要とする個体に、様々な経路、例えば、限定するものではないが、局所、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、骨腔内、脳室内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下、又は経直腸の手段によって投与される。

【０２８７】

１つの実施形態によれば、そのような治療を必要とする対象者に治療及びワクチン接種を行う方法が提供される。該方法は、本発明の少なくとも１つの化合物を含む医薬組成物を、該組成物を必要とする対象者に投与することを含む。本発明の方法によって同定された化合物は、既知の化合物又は他の薬剤とともに同様に投与可能である。

【０２８８】

経口投与については、有効成分は、カプセル剤、錠剤、及び散剤のような固体投与形態、又はエリキシル剤、シロップ剤、及び懸濁剤のような液体投与形態で投与可能である。活性構成成分は、非活性成分及び粉末担体、例えばグルコース、ラクトース、スクロース、マンニトール、デンプン、セルロース又はセルロース誘導体、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、サッカリンナトリウム、滑石、炭酸マグネシウムなどと共にゼラチンカプセル中にカプセル封入されることが可能である。望ましい色、味、安定性、緩衝能、分散度又はその他の既知の望ましい特徴を提供するために添加されうる追加の非活性成分の例は、赤色酸化鉄、シリカゲル、ラウリル硫酸ナトリウム、二酸化チタン、食用白色インキなどである。同様の希釈剤は圧縮錠剤を作製するために使用可能である。錠剤及びカプセル剤のいずれも、数時間にわたる薬剤の連続的放出を提供する徐放性製剤として製造可能である。圧縮錠剤は、何らかの不快な味を覆い隠し、かつ大気から錠剤を保護するために、糖コーティング又はフィルムコーティングされることも可能であるし、胃腸管内での選択的崩壊のために腸溶コーティングされることも可能である。経口投与用の液体投与形態は、患者の受容を高めるために着色料及び香味料を含有することが可能である。

【０２８９】

様々な経膣薬物送達系が当分野において知られている。適当な系には、クリーム剤、泡沫剤、錠剤、ゲル剤、液体投与形態、坐剤、及びペッサリーが挙げられる。水に接して膨潤して粘膜の表面上に広がることが可能な弱い架橋ポリマーを含む、粘膜付着性のゲル剤及びヒドロゲルは、かつて、膣内経路を通したペプチド及びタンパク質を用いるワクチン接種に使用されていた。本発明は、ペプチド薬及びタンパク薬物の経膣送達のためのミクロスフェアの使用をさらに提供する。賦形剤を含んでいる経膣投与される投与形態、及び前記投与形態を調製する実際の方法の、より詳細な仕様は、当業者に既知であるか、又は当業者には明白となろう。例えば、「レミングトンの薬剤学（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）」（第１５版、米国ペンシルバニア州イーストンのマック・パブリシング（Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ）、１９８０年）

が参照される。

【０２９０】

本発明はさらに、本発明の組成物と、哺乳動物の細胞又は組織への該組成物の経外膜的（ａｄｖｅｎｔｉｔｉａｌｌｙ）投与について説明する使用説明資料とを含むキットも含む。別の実施形態では、このキットは化合物を哺乳動物に投与する前に本発明の組成物を溶解又は懸濁するのに適した（好ましくは無菌の）溶媒を含む。

【０２９１】

本明細書中で使用されるように、「使用説明資料」には、本明細書中に列挙された各種疾患又は障害の緩和の達成のためのキット中の本発明のペプチドの有用性を伝えるために使用可能な、出版物、録音物、図表、又は任意の他の表現媒体が含まれる。任意選択で、又は別例として、使用説明資料は、哺乳動物の細胞又は組織における疾患又は障害を緩和する１つ以上の方法について説明してもよい。本発明のキットの使用説明資料は、例えば、本発明のペプチドを収容するコンテナに添付されてもよいし、該ペプチドを収容するコンテナとともに出荷されてもよい。別例として、使用説明資料は、使用説明資料及び化合物が受取人によって協働的に使用されるという意図をもって、コンテナとは別々に出荷されてもよい。

【０２９２】

当分野で既知の他の技法が本発明の実行において使用されてもよく、例えば、参照によりその全体が本願に組込まれる国際特許出願の国際公開第２００６／０９１５３５号（ＰＣＴ／ＵＳ２００６／００５９７０）に記載されたものが挙げられる。

【０２９３】

ペプチドの修飾及び調製

当然ながら、本発明のタンパク質又はペプチドは活性に影響を及ぼすことなく修飾されたアミノ酸残基を組込む場合もあるということは認識されるであろう。例えば、末端は、ブロック基、すなわち「望ましからぬ分解」からのＮ末端及びＣ末端の保護及び安定化のうち少なくともいずれかをなすのに適した化学置換基を含むように誘導体化されてもよく、「望ましからぬ分解」とは、化合物の機能に影響しやすい、該化合物の末端における任意の種類の酵素的、化学的又は生化学的破壊、すなわち該化合物の末端部における連続的分解を包含することを意味する用語である。

【０２９４】

ブロック基には、ペプチドのｉｎ　ｖｉｖｏでの活性に悪影響を及ぼさないであろう、ペプチド化学の分野で従来使用されている保護基が含まれる。例えば、適当なＮ末端ブロック基は、Ｎ末端のアルキル化又はアシル化により導入可能である。適当なＮ末端ブロック基の例には、$Ｃ_{1}$－$Ｃ_{5}$の分岐又は非分岐のアルキル基、ホルミル基及びアセチル基のようなアシル基、並びにこれらの置換型、例えばアセトアミドメチル（Ａｃｍ）基が挙げられる。アミノ酸のデスアミノアナログも有用なＮ末端ブロック基であり、ペプチドのＮ末端に結合されることも、又はＮ末端の残基（ｒｅｓｉｄｅ）の代わりに使用されることも可能である。適当なＣ末端ブロック基には、Ｃ末端のカルボキシル基が該ブロック基に組込まれる場合も組込まれない場合もあるが、エステル、ケトン又はアミドが挙げられる。エステル又はケトンを形成するアルキル基、特にメチル、エチル及びプロピルのような低級アルキル基、並びにアミドを形成するアミノ基、例えば第一級アミン（－$ＮＨ_{2}$）、並びにモノ－、及びジ－アルキルアミノ基、例えばメチルアミノ、エチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、メチルエチルアミノなどは、Ｃ末端ブロック基の例である。アグマチンのようなデスカルボキシルアミノ酸アナログも有用なＣ末端ブロック基であり、ペプチドのＣ末端残基に結合せしめられることも、又は該残基の代わりに使用されることも可能である。さらに、ペプチドから末端の遊離のアミノ基及びカルボキシル基が全部取り除かれて、該ペプチドのデスアミノ及びデスカルボキシル形態をペプチド活性に影響することなく生じることができることは、認識されるであろう。

【０２９５】

本発明の酸付加塩も機能的等価物として企図される。よって、本発明によるペプチドが

、該ペプチドの水溶性の塩を提供するために、無機酸、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸など、又は有機酸、例えば酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、リンゴ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、タタリック（ｔａｔａｒｉｃ）、クエン酸、安息香酸、シナミー（ｃｉｎｎａｍｉｅ）、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ｐ‐トルエンスルホン酸、サリサイクリック（ｓａｌｉｃｙｃｌｉｃ）などで処理されたものは、本発明で使用するのに適している。

【０２９６】

修飾（通常は一次配列を変更しない）には、ｉｎ ｖｉｖｏ、又はｉｎ ｖｉｔｒｏにおけるポリペプチドの化学誘導体化、例えばアセチル化、又はカルボキシル化が挙げられる。さらに挙げられるのは、グリコシル化の修飾、例えばポリペプチドの合成及びプロセシングの間、又はその後のプロセシングステップにおいて該ポリペプチドのグリコシル化パターンを修飾することにより；例えばグリコシル化に影響を及ぼす酵素、例えば哺乳類のグリコシル化酵素又は脱グリコシル化酵素にポリペプチドを曝露することにより、なされる修飾である。さらに包含されるのは、リン酸化したアミノ酸残基、例えばホスホチロシン、ホスホセリン、又はホスホトレオニンを有する配列である。

【０２９７】

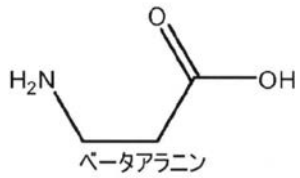
さらに挙げられるのは、タンパク質分解に対するポリペプチドの抵抗性を改善するか、又は溶解特性を最適化するか、又はポリペプチドを治療薬としてより適当なものとするための、通常の分子生物学的技法を使用して修飾されたポリペプチドである。そのようなポリペプチドのアナログには、天然に存在するＬ‐アミノ酸以外の残基、例えばＤ‐アミノ酸又は天然に存在しないすなわち非標準型の合成アミノ酸を含有するアナログが含まれる。本発明のペプチドは、本明細書中に列挙された特定の例示のプロセスのうちいずれの生成物にも限定されない。

【０２９８】

本発明は、構造：

【０２９９】

【化２】



【０３００】

を有するベータ‐アラニン（β‐アラニン、β‐Ａｌａ、ｂＡ、及びβＡとも呼ばれる）の使用を含む。

記号「βＡ」を使用する配列が本明細書中に提供されているが、本願に添えて提出される配列表においては「βＡ」は「Ｘａａ」として提示され、配列表のテキスト中の参照説明はＸａａがベータアラニンであることを示している。

【０３０１】

本発明において有用なペプチド、例えば標準物、又は分析用の修飾物などは、標準的な確立した技法、例えばスチュアート（Ｓｔｅｗａｒｔ）ら、「固相ペプチド合成（Ｓｏｌｉｄ Ｐｈａｓｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）」、第二版、米国イリノイ州ロックフォードのピアス・ケミカル・カンパニー（Ｐｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏｍｐａｎｙ）、１９８４年に記載されているような；並びにボダンツキー（Ｂｏｄａｎｓｚｋｙ）及びボダンツキー（Ｂｏｄａｎｓｚｋｙ）、「ペプチド合成の実践（Ｔｈｅ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）」、米国ニューヨークのスプリンガー‐フェアラーク（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ）、１９８４年に記載されているような、固相ペプチド合成（ＳＰＰＳ）などによって容易に調製されうる。最初に、適当に保護されたアミノ酸残基がそのカルボキシル基によって、架橋ポリスチレン

又はポリアミド樹脂のような誘導体化された不溶性ポリマー支持体に取り付けられる。「適当に保護された」とは、アミノ酸のα‐アミノ基上、及び任意の側鎖官能基上の両方に保護基が存在することを指す。側鎖保護基は、合成期間全体にわたって使用される溶媒、試薬及び反応条件に対して一般に安定であり、かつ最終的なペプチド生成物に影響を及ぼさない条件下で除去可能である。オリゴペプチドの段階的合成は、最初のアミノ酸からのＮ‐保護基の除去、及び該アミノ酸に、所望のペプチドの配列において次のアミノ酸のカルボキシル末端を結合すること（ｃｏｕｐｌｅ）によって行なわれる。このアミノ酸も適当に保護される。入って来るアミノ酸のカルボキシルは、反応性基の形成、例えばカルボジイミド、対称な酸無水物又は「活性エステル」基、例えばヒドロキシベンゾトリアゾール若しくはペンタフルオロフェンリー（ｐｅｎｔａｆｌｕｏｒｏｐｈｅｎｌｙ）エステルの形成によって、支持体に結合したアミノ酸のＮ末端と反応するように活性化されることが可能である。

【０３０２】

固相ペプチド合成法の例には、αアミノ保護基としてターシャリ‐ブチルオクスカルボニル（ｂｕｔｙｌｏｘｃａｒｂｏｎｙｌ）を利用したＢＯＣ法、及びアミノ酸残基のαアミノを保護するために９‐フルオレニルメチルオクスカルボニル（ｆｌｕｏｒｅｎｙｌｍｅｔｈｙｌｏｘｃａｒｂｏｎｙｌ）を利用するＦＭＯＣ法が挙げられるが、いずれの方法も当業者に良く知られている。

【０３０３】

Ｎ‐ブロック基及びＣ‐ブロック基のうち少なくともいずれかの組込みも、固相ペプチド合成法に対して従来のプロトコールを使用して達成可能である。Ｃ末端ブロック基の組込みについては、例えば、所望のペプチドの合成は典型的には、固相として、支持体樹脂であって該樹脂からの切断により所望のＣ末端ブロック基を有するペプチドが生じるように化学修飾済みのものを使用して実施される。Ｃ末端が第一級アミノブロック基を有するペプチドを提供するためには、例えば、ｐ‐メチルベンズヒドリルアミン（ＭＢＨＡ）樹脂を使用し、その結果、ペプチド合成が完了したときにフッ化水素酸を用いた処理で所望のＣ末端アミド化ペプチドが放出されるように、合成が実施される。同様に、Ｃ末端におけるＮ‐メチルアミンブロック基の組込みは、ＨＦ処理でＮ‐メチルアミド化されたＣ末端を有するペプチドを放出する、Ｎ‐メチルアミノエチル誘導体化ＤＶＢ（樹脂）を使用して達成される。エステル化によるＣ末端のブロックも従来の手順を使用して達成可能である。これは、樹脂からの側鎖ペプチドの放出を可能として、その後の所望のアルコールとの反応を可能にし、エステル基を形成するような、樹脂／ブロック基の組み合わせの使用を要する。ＦＭＯＣ保護基は、メトキシアルコキシベンジルアルコール又は等価なリンカーを用いて誘導体化されたＤＶＢ樹脂との組み合わせで、この目的に使用することが可能であり、ジコロロメタン（ｄｉｃｈｏｌｏｒｏｍｅｔｈａｎｅ）中のＴＦＡによって果たされる該支持体からの切断を伴う。例えばＤＣＣを用いる、適当に活性化されたカルボキシル基のエステル化は、その後、所望のアルコールの添加によって進行した後、エステル化されたペプチド生成物の脱保護及び単離がなされてもよい。

【０３０４】

Ｎ末端ブロック基の組込みは、合成されたペプチドがまだ樹脂に取り付けられている間に、例えば適当な無水物及びニトリルを用いた処理によって達成可能である。Ｎ末端にアセチルブロック基を組込むためには、例えば、樹脂に結合したペプチドがアセトニトリル中の２０％無水酢酸で処理されるとよい。Ｎ‐ブロックがなされたペプチド生成物はその後樹脂から切断され、脱保護され、続いて単離されることが可能である。

【０３０５】

化学的又は生物学的な合成技法から得られたペプチドが所望のペプチドであることを確認するために、ペプチド組成の分析が行なわれるべきである。そのようなアミノ酸組成分析は、ペプチドの分子量を決定するための高分解能質量分析を使用して行なわれうる。別例として、又は追加として、ペプチドのアミノ酸含有量は、酸性水溶液中でペプチドを加水分解し、かつＨＰＬＣ、又はアミノ酸分析計を使用して該混合物の構成成分を分離、同

定及び定量することにより、確認することが可能である。ペプチドを連続的に分解して順番にアミノ酸を同定するタンパク質配列決定装置も、ペプチドの配列を明確に決定するために使用されうる。

【０３０６】

ペプチドは、その使用に先立ち、混入物質を除去するために精製されてもよい。この点では、当然ながらペプチドは適切な規制機関により設定された規格に合致するように精製されることになろう。いくつかの従来の精製手順のうち任意のもの、例えば、C_4‐、C_8‐又はC_{18}‐シリカのようなアルキル化されたシリカカラムを使用する逆相高速液体クロマトグラフィ（ＨＰＬＣ）が、必要とされる純度レベルに到達するために使用されうる。有機含有量を高めるグラジエント移動相、例えば、通常は少量のトリフルオロ酢酸を含有している水性緩衝液中のアセトニトリルが、精製を達成するために一般に使用される。イオン交換クロマトグラフィも、ペプチドをその電荷に基づいて分離するために使用可能である。

【０３０７】

本明細書中に記載されるようにして得られたほぼ純粋なタンパク質は、次の既知のタンパク質精製手順であって、該手順の各段階で精製をモニタリングするために免疫学的アッセイ、酵素アッセイ、又は他のアッセイが使用される手順によって精製されうる。タンパク質精製方法は当分野において良く知られており、例えばドイッチャー（Ｄｅｕｔｓｃｈｅｒ）ら（編、「タンパク質精製のガイド（Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ）」、米国サンディエゴのハーコート・ブレイス・ジョバノビッチ（Ｈａｒｃｏｕｒｔ Ｂｒａｃｅ Ｊｏｖａｎｏｖｉｃｈ）、１９９０年）に記載されている。

【０３０８】

議論されるように、本発明のペプチドリガンドの修飾又は最適化は本願の範囲内にある。修飾又は最適化されたペプチドは、ペプチド結合性リガンドの定義に含まれる。具体的には、同定されたペプチド配列はその効力、薬物動態学的挙動、安定性、並びにその他の生物学的、物理的及び化学的性質のうち少なくともいずれかを最適化するために修飾可能である。

【０３０９】

アミノ酸置換

ある実施形態では、開示された方法及び組成物は１つ以上の置換されたアミノ酸残基を備えたペプチドを調製することを伴う場合がある。

【０３１０】

様々な実施形態において、ペプチド配列の構造的、物理的、及び治療的のうち少なくともいずれかの特性は、１つ以上のアミノ酸残基を置き換えることにより最適化されうる。

その他の修飾も活性に悪影響を及ぼすことなく組込むことが可能であり、これらには、限定するものではないが、１つ以上の天然のＬ‐異性体のアミノ酸を、Ｄ‐異性体のアミノ酸で置換することが挙げられる。よって、ペプチドは１つ以上のＤ‐アミノ酸残基（ｒｅｓｉｄｅｓ）を含んでもよいし、すべてＤ型であるアミノ酸を含むこともできる。本発明によるペプチドのレトロインバルソ型、例えば、全てのアミノ酸がＤ型アミノ酸に置換されている逆向きペプチドも企図される。

【０３１１】

当業者であれば、一般に、ペプチド中のアミノ酸置換は典型的には比較的類似した特性の別のアミノ酸によるアミノ酸の置き換え（すなわち保存的なアミノ酸置換）を要することを承知しているであろう。様々なアミノ酸の特性並びにタンパク質の構造及び機能に対するアミノ酸置換の効果は、当分野における広範囲な研究及び知見の対象であった。

【０３１２】

例えば、生じるポリペプチドは上述の特性の類似又は改善されたプロファイルを有することになろうという見込みで、元のポリペプチド配列中に、以下のイソステリック及び保存的のうち少なくともいずれかのアミノ酸変更がなされることが可能である。

【０３１３】
アルキル置換型疎水性アミノ酸の置換：例えば、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、ノルロイシン、Ｓ－２－アミノ酪酸、Ｓ－シクロヘキシルアラニン、又は他の単純なαアミノ酸が分岐鎖、環状鎖及び直鎖のアルキル、アルケニル又はアルキニル置換を含む炭素数Ｃ１－１０の脂肪族側鎖によって置換されたもの。
【０３１４】
芳香族置換型疎水性アミノ酸の置換：例えば、フェニルアラニン、トリプトファン、チロシン、ビフェニルアラニン、１－ナフチルアラニン、２－ナフチルアラニン、２－ベンゾチエニルアラニン、３－ベンゾチエニルアラニン、ヒスチジン、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アザ、ハロゲン化（フルオロ、クロロ、ブロモ、若しくはヨード）又はアルコキシで置換されたかたちの先述の芳香族アミノ酸であって、実例となる例は：２－、３－又は４－アミノフェニルアラニン、２－、３－又は４－クロロフェニルアラニン、２－、３－又は４－メチルフェニルアラニン、２－、３－又は４－メトキシフェニルアラニン、５－アミノ－、５－クロロ－、５－メチル－又は５－メトキシトリプトファン、２’－、３’－、又は４’－アミノ－、２’－、３’－、又は４’－クロロ－、２、３、又は４－ビフェニルアラニン、２’、－３’、－又は４’－メチル－２，３又は４－ビフェニルアラニン、及び２－又は３－ピリジルアラニンである。
【０３１５】
塩基性官能基を含有するアミノ酸の置換：例えば、アルギニン、リジン、ヒスチジン、オルニチン、２，３－ジアミノプロピオン酸、ホモアルギニン、アルキル、アルケニル又はアリールで置換された先述のアミノ酸の（C_1－C_{10}の分岐鎖、直鎖、又は環状の）誘導体であって、置換基はヘテロ原子上（例えばα窒素、又は末端の１若しくは複数の窒素）にあるか、又はα炭素上に、例えばプロ－Ｒの位置にあるかにかかわらない。実例となる例としての役割を果たす化合物には：Ｎ－ε－イソプロピルリジン、３－（４－テトラヒドロピリジル）グリシン、３－（４－テトラヒドロピリジル）アラニン、Ｎ，Ｎ－γ，γ’－ジエチルホモアルギニンが挙げられる。さらに含まれるのは、αメチルアルギニン、αメチル２，３－ジアミノプロピオン酸、αメチルヒスチジン、αメチルオルニチンのような、アルキル基がα炭素のプロ－Ｒの位置を占める化合物である。同じく含まれるのは、アルキル、芳香族、ヘテロ芳香族（ここでヘテロ芳香族基は１つ以上の窒素、酸素、又は硫黄原子を単独又は組み合わせとして有する）カルボン酸、又は数多くの良く知られた活性化誘導体のいずれか、例えば酸塩化物、活性エステル、活性アゾリド及び関連誘導体）及びリジン、オルニチン又は２，３－ジアミノプロピオン酸から形成されたアミドである。
【０３１６】
酸性アミノ酸の置換：例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸、ホモグルタミン酸、チロシン、２，４－ジアミノプリオピオン酸（２，４－ｄｉａｍｉｎｏｐｒｉｏｐｉｏｎｉｃ　ａｃｉｄ）、オルニチン又はリジンのアルキル、アリール、アリールアルキル及びヘテロアリールスルホンアミド、並びにテトラゾール置換されたアルキルアミノ酸。
【０３１７】
側鎖アミド残基の置換：例えば、アスパラギン、グルタミン、及びアスパラギン又はグルタミンのアルキル又は芳香族置換誘導体。
ヒドロキシル含有アミノ酸の置換：例えば、セリン、トレオニン、ホモセリン、２，３－ジアミノプロピオン酸、及びセリン又はトレオニンのアルキル又は芳香族置換誘導体。同じく当然ながら、上記に列挙された分類群それぞれの中のアミノ酸が同じ群の別のものの代わりになりうる。
【０３１８】
例えば、アミノ酸のハイドロパシーインデックスが考慮される場合がある（カイト（Ｋｙｔｅ）及びドゥーリトル（Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ）、ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー（Ｊ．　Ｍｏｌ．　Ｂｉｏｌ．）、１９８２年、第１５７巻、ｐ．１０５－１３２）。アミノ酸の相対的なハイドロパシー特性は、得られるタンパク質の二次構造に

寄与し、ひいては該タンパク質の他の分子との相互作用を規定する。各アミノ酸には、その疎水性及び電荷特性に基づいてハイドロパシーインデックスが割り当てられており（カイト（Ｋｙｔｅ）及びドゥーリトル（Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ）、１９８２年）、これらは：イソロイシン（＋４．５）；バリン（＋４．２）；ロイシン（＋３．８）；フェニルアラニン（＋２．８）；システイン／シスチン（＋２．５）；メチオニン（＋１．９）；アラニン（＋１．８）；グリシン（－０．４）；トレオニン（－０．７）；セリン（－０．８）；トリプトファン（－０．９）；チロシン（－１．３）；プロリン（－１．６）；ヒスチジン（－３．２）；グルタメート（－３．５）；グルタミン（－３．５）；アスパルテート（－３．５）；アスパラギン（－３．５）；リジン（－３．９）；及びアルギニン（－４．５）である。保存的置換を行う際には、ハイドロパシーインデックスが±２以内であるアミノ酸の使用が好ましく、±１以内がより好ましく、±０．５以内はさらにより好ましい。

【０３１９】

アミノ酸置換はさらに、アミノ酸残基の親水性を考慮に入れる場合もある（例えば米国特許第４，５５４，１０１号明細書）。親水性の値はアミノ酸残基に割り当てられており：アルギニン（＋３．０）；リジン（＋３．０）；アスパルテート（＋３．０）；グルタメート（＋３．０）；セリン（＋０．３）；アスパラギン（＋０．２）；グルタミン（＋０．２）；グリシン（０）；トレオニン（－０．４）；プロリン（０．５．＋－０．１）；アラニン（－０．５）；ヒスチジン（－０．５）；システイン（－１．０）；メチオニン（－１．３）；バリン（－１．５）；ロイシン（－１．８）；イソロイシン（－１．８）；チロシン（－２．３）；フェニルアラニン（－２．５）；トリプトファン（－３．４）、である。アミノ酸を、同様の親水性の他のものを用いて置き替えることが好ましい。

【０３２０】

他に考慮されるものには、アミノ酸側鎖の大きさが挙げられる。例えば、小型の側鎖を備えたアミノ酸、例えばグリシン又はセリンを、嵩高い側鎖を備えたアミノ酸、例えばトリプトファン又はチロシンに置き替えることは一般に好ましくないであろう。タンパク質二次構造に対する様々なアミノ酸残基の効果も、考慮の対象である。実証研究によって、タンパク質ドメインがαヘリックス、βシート又はリバースターン二次構造をとりやすい傾向に対する様々なアミノ酸残基の効果が決定されており、当分野において知られている（例えば、シュウ（Ｃｈｏｕ）及びファスマン（Ｆａｓｍａｎ）、バイオケミストリー（Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ）、１９７４年、第１３巻、ｐ．２２２－２４５；アニュアル・レヴュー・オブ・バイオケミストリー（Ａｎｎ．　Ｒｅｖ．　Ｂｉｏｃｈｅｍ．）、１９７８年、第４７巻、ｐ．２５１－２７６；バイオフィジカル・ジャーナル（Ｂｉｏｐｈｙｓ．　Ｊ．）、１９７９年、第２６巻、ｐ．３６７－３８４を参照されたい）。

【０３２１】

そのような考慮及び広範囲な実証研究に基づいて、保存的アミノ酸置換の表が構築されており、当分野で知られている。例えば：アルギニンとリジン；グルタメートとアスパルテート；セリンとトレオニン；グルタミンとアスパラギン；並びにバリン、ロイシン及びイソロイシンである。別例としては：Ａｌａ（Ａ）ｌｅｕ、ｉｌｅ、ｖａｌ；Ａｒｇ（Ｒ）ｇｌｎ、ａｓｎ、ｌｙｓ；Ａｓｎ（Ｎ）ｈｉｓ、ａｓｐ、ｌｙｓ、ａｒｇ、ｇｌｎ；Ａｓｐ（Ｄ）ａｓｎ、ｇｌｕ；Ｃｙｓ（Ｃ）ａｌａ、ｓｅｒ；Ｇｌｎ（Ｑ）ｇｌｕ、ａｓｎ；Ｇｌｕ（Ｅ）ｇｌｎ、ａｓｐ；Ｇｌｙ（Ｇ）ａｌａ；Ｈｉｓ（Ｈ）ａｓｎ、ｇｌｎ、ｌｙｓ、ａｒｇ；Ｉｌｅ（Ｉ）ｖａｌ、ｍｅｔ、ａｌａ、ｐｈｅ、ｌｅｕ；Ｌｅｕ（Ｌ）ｖａｌ、ｍｅｔ、ａｌａ、ｐｈｅ、ｉｌｅ；Ｌｙｓ（Ｋ）ｇｌｎ、ａｓｎ、ａｒｇ；Ｍｅｔ（Ｍ）ｐｈｅ、ｉｌｅ、ｌｅｕ；Ｐｈｅ（Ｆ）ｌｅｕ、ｖａｌ、ｉｌｅ、ａｌａ、ｔｙｒ；Ｐｒｏ（Ｐ）ａｌａ；Ｓｅｒ（Ｓ）、ｔｈｒ；Ｔｈｒ（Ｔ）ｓｅｒ；Ｔｒｐ（Ｗ）ｐｈｅ、ｔｙｒ；Ｔｙｒ（Ｙ）ｔｒｐ、ｐｈｅ、ｔｈｒ、ｓｅｒ；Ｖａｌ（Ｖ）ｉｌｅ、ｌｅｕ、ｍｅｔ、ｐｈｅ、ａｌａである。

【０３２２】

アミノ酸置換についてのその他の考慮には、残基がタンパク質の内部に位置するか否か

、又は溶媒に曝露されているか否かが挙げられる。内部の残基については、保存的置換には以下が含まれることになろう：ＡｓｐとＡｓｎ；ＳｅｒとＴｈｒ；ＳｅｒとＡｌａ；ＴｈｒとＡｌａ；ＡｌａとＧｌｙ；ＩｌｅとＶａｌ；ＶａｌとＬｅｕ；ＬｅｕとＩｌｅ；ＬｅｕとＭｅｔ；ＰｈｅとＴｙｒ；ＴｙｒとＴｒｐ。（例えばロックフェラー大学のウェブサイトＰＲＯＷＬを参照されたい）。溶媒に曝露された残基については、保存的置換には以下が含まれることになろう：ＡｓｐとＡｓｎ；ＡｓｐとＧｌｕ；ＧｌｕとＧｌｎ；ＧｌｕとＡｌａ；ＧｌｙとＡｓｎ；ＡｌａとＰｒｏ；ＡｌａとＧｌｙ；ＡｌａとＳｅｒ；ＡｌａとＬｙｓ；ＳｅｒとＴｈｒ；ＬｙｓとＡｒｇ；ＶａｌとＬｅｕ；ＬｅｕとＩｌｅ；ＩｌｅとＶａｌ；ＰｈｅとＴｙｒ。（同上）。アミノ酸置換の選択を支援するために、様々なマトリックス、例えばＰＡＭ２５０スコアリングマトリックス、デイホフ（Ｄａｙｈｏｆｆ）マトリックス、グランサム（Ｇｒａｎｔｈａｍ）マトリックス、マクラクラン（ＭｃＬａｃｈｌａｎ）マトリックス、ドゥーリトル（Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ）マトリックス、ヘニコフ（Ｈｅｎｉｋｏｆｆ）マトリックス、ミヤタ（Ｍｉｙａｔａ）マトリックス、フィッチ（Ｆｉｔｃｈ）マトリックス、ジョーンズ（Ｊｏｎｅｓ）マトリックス、ラオ（Ｒａｏ）マトリックス、レビン（Ｌｅｖｉｎ）マトリックス及びリスレ（Ｒｉｓｌｅｒ）マトリックスが構築されている（同上）。

【０３２３】

アミノ酸置換を決定する際には、分子間又は分子内の結合の存在、例えば正に荷電した残基（例えばＨｉｓ、Ａｒｇ、Ｌｙｓ）と負に荷電した残基（例えばＡｓｐ、Ｇｌｕ）との間のイオン結合（塩橋）、又は近隣のシステイン残基間のジスルフィド結合の形成についても考慮する場合がある。

【０３２４】

コードされたペプチド配列中で任意のアミノ酸を他のアミノ酸の代わりに用いる方法は良く知られており、当業者には日常的な実験作業の事柄であるが、これは例えば部位特異的変異誘発の技法によるもの、又はアミノ酸置換をコードするオリゴヌクレオチドの合成及びアセンブリ並びに発現ベクター構築物内へのスプライシングによるものである。

【０３２５】

リンカー

加えて、本発明によって包含される修飾には、結合性の構成部分又は結合性ポリペプチドの標的化配列と、検出可能な標識又は治療薬との間のリンカー又はスペーサーの導入が含まれる。例えば、そのようなリンカー／スペーサーの使用は、該結合性ペプチドの重要な特性を改善する（例えば、血清安定性を高めるなど）可能性がある。これらのリンカーには、限定するものではないが、当分野で一般的な、置換若しくは非置換のアルキル鎖、ポリエチレングリコール誘導体、アミノ酸スペーサー、糖類、又は脂肪族若しくは芳香族スペーサーが挙げられる。

【０３２６】

例えば、適当なリンカーにはホモ二官能性及びヘテロ二官能性の架橋分子が含まれる。ホモ二官能性の分子は少なくとも２つの反応性官能基を有し、該官能基は同一である。ホモ二官能性の分子の反応性官能基には、例えば、アルデヒド基及び活性エステル基が挙げられる。アルデヒド基を有するホモ二官能性の分子には、例えば、グルタルアルデヒド及びスバルアルデヒド（ｓｕｂａｒａｌｄｅｈｙｄｅ）が含まれる。

【０３２７】

少なくとも２つの活性エステルユニットを有するホモ二官能性リンカー分子は、ジカルボン酸及びＮ－ヒドロキシスクシンイミドのエステルを備えている。そのようなＮ‐スクシンイミジルエステルのいくつかの例には、スベリン酸ジスクシンイミジル及びジチオ‐ビス‐（プロピオン酸スクシンイミジル）、並びにこれらの可溶性のビススルホン酸及びビススルナート塩、例えばそれらのナトリウム塩及びカリウム塩が挙げられる。

【０３２８】

ヘテロ二官能性のリンカー分子は少なくとも２つの異なる反応性基を有する。反応性のジスルフィド結合を含有するヘテロ二官能性試薬のいくつかの例には、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（カールソン（Ｃａｒｌｓｓｏｎ）ら、バイオケミカル・ジャーナル（Ｂｉｏｃｈｅｍ．　Ｊ．）、１９７８年、第１７３巻、ｐ．７２３－７３７）、ナトリウムＳ‐４‐スクシンイミジルオキシカルボニル‐α‐メチルベンジルチオスルファート、及び４‐スクシンイミジルオキシカルボニル‐α‐メチル‐（２‐ピリジルジチオ）トルエンが挙げられる。Ｎ‐スクシンイミジル３‐（２‐ピリジルジチオ）プロピオナートが好ましい。チオール基と反応する二重結合を有する反応性基を含むヘテロ二官能性試薬のいくつかの例には、スクシンイミジル４‐（Ｎ‐マレイミドメチル）シクロヘキサヘ（ｃｙｃｌｏｈｅｘａｈｅ）‐１‐カルボキシラート及びスクシンイミジルｍ‐マレイミドベンゾアートが挙げられる。他のヘテロ二官能性分子には、スクシンイミジル３‐（マレイミド）プロピオナート、スルホスクシンイミジル４‐（ｐ‐マレイミド‐フェニル）ブチラート、スルホスクシンイミジル４‐（Ｎ‐マレイミドメチル‐シクロヘキサン）‐１‐カルボキシラート、マレイミドベンゾイル‐５Ｎ‐ヒドロキシ‐スクシンイミドエステルが挙げられる。

【０３２９】

更に、上述の分子及び構成部分のうち少なくともいずれかの組み合わせであるリンカーも、ペプチドの特性に格別な利点を与えるために使用可能である。リンカーを備えた脂質分子が、超音波気泡、リポソーム又はその他の集合系の構築物の処方を可能にするために取り付けられてもよい。そのような構築物は、診断用リポーター、治療薬（例えば治療用の化学「弾頭」）、又はこれらの組み合わせの標的化及び送達のための作用薬として使用されることも考えられる。

【０３３０】

本発明の１つ以上のペプチドリガンドの二量体、多量体、又はポリマーを使用する構築物も企図される。実際、効力の低いペプチド又は小分子の結合は二量体及び多量体の形成によって大幅に高めることが可能であるという多くの文献証拠がある。よって、二量体構築物及び多重体構築物（同種及び異種混合のいずれも）は本発明の範囲内にある。二量体構築物におけるポリペプチド配列は、そのＮ末端若しくはＣ末端、又は適当に配されたリジン部分（又は、ペンダントオキシアミノ基若しくは他の求核基のような選択的に誘導体化可能な基を担持する別の官能基）のＮ‐ε窒素において取り付けられてもよいし、適切な連結化学構造を使用する１つ以上のリンカー（例えば本明細書中で議論されたもの）を介してともに接合されてもよい。このカップリング化学構造には、アミド、尿素、チオ尿素、オキシム、又はアミノアセチルアミド（クロロ‐又はブロモアセトアミド誘導体由来、ただしそのように限定はされない）が挙げられる。リンカーは、キレート剤への取り付けにも使用可能である。

【０３３１】

治療薬

他の実施形態では、治療薬、例えば、限定するものではないが、細胞毒性薬、抗血管形成剤、アポトーシス促進性作用薬、抗生物質、ホルモン、ホルモンアンタゴニスト、ケモカイン、薬物、プロドラッグ、毒素、酵素又は他の作用薬は、本明細書中に記載された抗体／ペプチドリガンド複合体を使用する場合、補助療法として使用されうる。本発明において有用な薬物は、例えば、抗有糸分裂薬、抗キナーゼ薬、アルキル化剤、代謝拮抗物質、抗生物質、アルカロイド、抗血管形成剤、アポトーシス促進性作用薬及びこれらの組み合わせで構成されている群から選択された薬剤学的性質を有しうる。

【０３３２】

別の態様では、本発明は、ＳＡＳ１Ｒに対して選択的親和性を有するがん細胞結合パートナーを同定する方法を提供する。該方法は、多様な結合性分子集団を固体支持体に選択的に固定化すること、固体支持体上に固定化された多様な集団を１つ以上のＳＡＳ１Ｒペプチド又はＳＡＳ１Ｒを発現している細胞と接触させる（例えば、同時に接触させる）こと、及び、バクテリオファージによって発現されたものを含むＳＡＳ１Ｒペプチドリガンドのうち１つ以上に選択的に結合する少なくとも１つの結合性分子を決定することを含む。さらに本明細書中に記載されるのは、対象とする１つ以上のＳＡＳ１Ｒ結合性分子に対

する選択的親和性を示す結合性分子の同定のための迅速かつ効率的な方法である。該方法は、多数の結合性分子の同時スクリーニングを可能にするという点で有利である。さらに、本発明において使用される結合性分子又はリガンドのいずれの同一性又は機能に関しても情報はほとんど必要ない。例えば、結合性分子の多様な集団は、所望の結合特異性を示す多数の分子を迅速に同定するためにペプチドリガンドの多様な集団に対して同時にスクリーニング可能である。したがって、本明細書中に記載された方法は、ヒトの疾患の診断及び治療のための、ペプチドリガンド及びバイオマーカーのような特異試薬の発見のために有利に適用可能である。

【０３３３】

本発明において有用な核酸には、例として、ただし限定ではなく、オリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチド、例えばアンチセンスＤＮＡ及びＲＮＡのうち少なくともいずれかなど；リボザイム；遺伝子治療用のＤＮＡ；ウイルスのＤＮＡ及びＲＮＡのうち少なくともいずれかを含むウイルスフラグメント；ＤＮＡ及びＲＮＡのうち少なくともいずれかのキメラ；ｍＲＮＡ；プラスミド；コスミド；ゲノムＤＮＡ；ｃＤＮＡ；遺伝子断片；様々な構造的形態のＤＮＡ、例えば一本鎖ＤＮＡ、二本鎖ＤＮＡ、超コイルＤＮＡ及び３重らせんＤＮＡのうち少なくともいずれか；Ｚ‐ＤＮＡ；などが挙げられる。核酸は、大量の核酸を調製するために典型的に使用される任意の従来の手段によって調製されうる。例えば、ＤＮＡ及びＲＮＡは、市販の試薬及び合成装置を使用して、当分野でよく知られた方法によって化学合成されうる（例えば、ゲイト（Ｇａｉｔ）、「オリゴヌクレオチド合成：実践的アプローチ（ＯＬＩＧＯＮＵＣＬＥＯＴＩＤＥ　ＳＹＮＴＨＥＳＩＳ：　Ａ　ＰＲＡＣＴＩＣＡＬ　ＡＰＰＲＯＡＣＨ）」、英国オクスフォードのＩＲＬプレス（ＩＲＬ　Ｐｒｅｓｓ）、１９８５年を参照されたい）。ＲＮＡは、ＳＰ６５（米国ウィスコンシン州マディソンのプロメガ・コーポレイション（Ｐｒｏｍｅｇａ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ））のようなプラスミドを使用したｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写によって高収率で生産されうる。

【０３３４】

本発明についてここでは以降の実施例及び実施形態に関連して説明する。それ以上の説明はなされなくとも、当業者であれば、先の説明及び以降の実例となる例を使用して、本発明を作製かつ利用し、特許請求の範囲に記載された方法を実行することが可能であると考えられる。したがって以降の実施例は、例示のみを目的として提供されかつ本発明の好ましい実施形態を具体的に指摘するものであり、本開示の残りの部分をどのようにも限定するように解釈されるものではない。したがって、該実施例は、本明細書中に提供される教示の結果として明白になるあらゆる変形形態を包含するように解釈されるべきである。

【０３３５】

Ｆ．　がんの診断

ＳＡＳ１Ｒ陽性のがんの検出及び診断は、対象者から試料を得て該試料がＳＡＳ１Ｒについて陽性かどうかを決定することにより実施可能であり、組成物及び方法はＳＡＳ１Ｒ陽性細胞のｉｎ　ｖｉｖｏ画像診断用にも提供される。

【０３３６】

１つの実施形態では、ＳＡＳ１Ｒを発現する腫瘍は診断のために直接標的とされることが可能である。これは、例えば、ｉｎ　ｖｉｖｏ画像診断に有用な造影剤にコンジュゲート済みの、ＳＡＳ１Ｒに対する抗体又はそのフラグメントを使用して行うことが可能である。

【０３３７】

１つの実施形態では、対象者から得られた組織試料及び他の試料がＳＡＳ１Ｒを検出するために使用されてもよい。組織試料には、腫瘍生検標本及び他の組織であって死んだがん細胞から流出したＳＡＳ１Ｒを含むがん細胞由来のＳＡＳ１Ｒが存在するものが挙げられる。腫瘍生検標本以外の試料には、限定するものではないが、組織試料、血液、血漿、腹膜水、腹水、卵胞液、尿、糞便、唾液、粘液、痰、喀痰、涙液、脳脊髄液、肺滲出液のような滲出液、洗浄液、及びＰａｐスミア標本が挙げられる。

【０３３８】
抗体及び他のペプチドは、ｉｎ　ｖｉｖｏで画像化可能でありかつｅｘ　ｖｉｖｏの試験及びアッセイ例えば免疫蛍光検査法、ＥＬＩＳＡなどにおける画像化／検出に使用可能ないくつかの作用薬に、コンジュゲートされることが可能である。１つの実施形態では、抗体は、酵素免疫測定法、ウエスタンブロット法、ラテラルフロー式メンブレン試験、ラテックス凝集法、及び他の形式の少なくとも１つの抗体を利用する免疫クロマトグラフィ又はイムノアッセイ、のうち少なくとも１つを使用して検出される。１つの実施形態では、ＳＡＳ１Ｒタンパク質はＥＬＩＳＡを使用して検出される。
【０３３９】
タンパク質及びペプチドを測定するための多数の技法が当分野において知られ、又は本明細書中に記載されており、本発明の実行において使用可能である。これらには、限定するものではないが、例えば：
電気化学発光イムノアッセイ；
生物発光イムノアッセイ（例えばアポエクオリン及びオエレンテラジン（ｏｅｌｅｎｔｅｒａｚｉｎｅ）を使用するもの）；
発光酸素チャネリングイムノアッセイ（Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ　ｏｘｙｇｅｎ　ｃｈａｎｎｅｌｉｎｇ　ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ　；ＬＯＣＩ）；
Ｅｒｅｎｎａ（登録商標）イムノアッセイシステム（単一分子の計数を伴う微粒子を利用した改変型サンドイッチイムノアッセイ）；
ナノ粒子イムノアッセイ：固相としてナノ粒子、球体、又はチューブ
　－　反ストークスシフトを用いてリン光体ナノ粒子をアップコンバートする
　－　量子ドットイムノアッセイ（ナノメートルサイズ（１０ｎｍ未満）の半導体量子ドットが標識として使用される不均一系イムノアッセイ。量子ドットは、ＣｄＳｅ、ＣｄＳ、ＺｎＳｅ、ＩｎＰ、若しくはＩｎＡｓ、又は例えばＣｄＳｅコア上のＺｎＳ若しくはＣｄＳの層でできた、強い蛍光を発するナノ結晶である）；
蛍光励起転移イムノアッセイ；
イムノＰＣＲイムノアッセイ；
固相の光散乱イムノアッセイ：抗原への抗体結合を測定するためにインジウム球体がガラス上にコーティングされる。抗原への抗体の結合により誘電体層が厚さを増し、これにより抗原のみが結合しているエリアよりも大きな散乱度が生じる。定量は密度計測によって達成される；並びに
表面効果（Ｓｕｒｆａｃｅ　Ｅｆｆｅｃｔ）イムノアッセイ：導波路（石英、ガラス、若しくはプラスチックのスライド、又は金若しくは銀でコーティングされたプリズム）の表面上に固定化された抗体を用い、抗原の結合は全内部反射蛍光、表面プラズモン共鳴、又は減衰全反射によって直接測定される；が挙げられる。
【０３４０】
１つの態様では、本発明の抗体又はそのフラグメント若しくは相同体は、造影剤にコンジュゲートされることも可能である。１つの実施形態では、抗体複合体は、放射性核種、放射性造影剤、常磁性イオン、金属、生物学的タグ、蛍光標識、化学発光標識、超音波造影剤及び光活性作用薬で構成されている群から選択された造影剤を含む。１つの態様では、造影剤は放射性核種である。１つの態様では、放射性核種は、^{110}Ｉｎ、^{111}Ｉｎ、^{177}Ｌｕ、^{18}Ｆ、^{52}Ｆｅ、^{62}Ｃｕ、^{64}Ｃｕ、^{67}Ｃｕ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{86}Ｙ、^{90}Ｙ、^{89}Ｚｒ、^{94m}Ｔｃ、^{94}Ｔｃ、^{99m}Ｔｃ、^{120}Ｉ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、$^{154-158}$Ｇｄ、^{32}Ｐ、^{11}Ｃ、^{13}Ｎ、^{15}Ｏ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{51}Ｍｎ、^{52m}Ｍｎ、^{55}Ｃｏ、^{72}Ａｓ、^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{82m}Ｒｂ、^{83}Ｓｒ、及びその他のγ－、β－、若しくは陽電子放出核で構成されている群から選択される。１つの態様では、放射性核種は^{111}Ｉｎである。
【０３４１】
本発明は、薬物送達及び診断のための本明細書中に記載されたモノクローナル抗体の使用をさらに提供する。例えば、本明細書中に記載されるような様々な作用薬は抗体にコン

ジュゲートされることが可能である。カリケアミシンのような薬物、Ｄ（ＫＬＡＫＬＡＫ）^{2}のようなペプチド、並びにβ^{90}Ｙ、γ^{131}Ｉ及び陽電子^{124}Ｉ放出核のような放射性核種は、ヒトＳＡＳ１Ｒに対するモノクローナル抗体にコンジュゲートされて、肺腫瘍を画像化するため、治療用の放射線治療薬及び化学療法薬として、用いられることが可能である。

【０３４２】

本発明は、がん細胞がＳＡＳ１Ｒ又はその相同体若しくはフラグメントを発現又は提示する、がんの検出、がんの診断、がんの進行のモニタリング、又はがんの治療モニタリングのための方法をさらに提供する。該方法は、試験対象者に、造影剤を含むペプチドリガンド複合体を含む医薬組成物を投与することと、その後、該造影剤を検出すること並びに試験対象者における該造影剤のレベル及び場所を決定することとを含む。該レベルは、ＭＲＩ、ＰＥＴ、ＳＰＥＣＴ／ＣＴ、ＣＡＴスキャン、Ｘ線、超音波などいずれであれ、特定の種類の画像診断のためのシステム、コンピュータ、及びプログラムを使用して決定される。その後、該レベルの最終処理から得られた値が比較に使用される。試験対象者におけるレベルおよび場所の比較は、非罹患者からの他の点では同一の場所由来の造影剤のレベル及び場所との間、又は試験対象者の非罹患エリアとの間で行われる。非罹患者由来又は試験対象者の非罹患エリア由来の前記試料中の造影剤のレベル又は場所と比較して、試験対象者における造影剤が高レベルであるか又は場所が異なることにより、該試験対象者がＳＡＳ１Ｒ又はその相同体若しくはフラグメントを発現又は提示しているがんを有することが示される。検出された造影剤のレベル又は場所は、バイオマーカーＳＡＳ１Ｒの場所及び量の指標である。

【０３４３】

１つの実施形態では、がんは、肺がん、ＭＭＭＴ、膀胱がん、卵巣がん、子宮がん、子宮内膜がん、乳がん、頭頸部がん、肝臓がん、膵臓がん、食道がん、胃がん、子宮頚がん、前立腺がん、副腎がん、リンパ腫、白血病、唾液腺がん、骨がん、脳腫瘍、小脳腫瘍、結腸がん、直腸がん、結腸直腸がん、口腔鼻咽頭がん、ＮＰＣ、腎臓がん、皮膚がん、黒色腫、基底細胞癌、硬口蓋癌、舌扁平上皮細胞癌、髄膜腫、多形腺腫、星細胞腫、軟骨肉腫、皮質腺腫、肝細胞癌、膵臓がん、扁平上皮細胞癌、及び腺癌で構成されている群から選択される。

【０３４４】

１つの態様では、がんは転移がんである。

本発明はさらに、がんが良性か悪性かを判断する助けとなるように、画像化されているＳＡＳ１Ｒのレベルを、検出された造影剤のレベル（ＳＡＳ１Ｒ量の測定値）に基づいて比較するのにも有用である。

【０３４５】

本発明はさらに、がんの発がん段階を判定し、かつ初期段階から後期段階のがんへのがんの進行をモニタリングするのにも有用である。この方法は使用する治療法の種類及び量を決定するのに有用である。

【０３４６】

任意選択で、治療薬は画像化複合体を含む医薬組成物に取り付けられてもよいし、該組成物中に含められてもよい。

本明細書中で使用されるような臨床関連のＰＥＴ／ＳＰＥＣＴトレーサーは、小さな腫瘍および転移の検出を可能にする。

【０３４７】

１つの態様では、造影剤又は検出可能な構成部分には、限定するものではないが、放射性核種、放射性造影剤、常磁性イオン、金属、生物学的タグ、蛍光標識、化学発光標識、超音波造影剤及び光活性作用薬が挙げられる。

【０３４８】

本発明の、抗体又はその相同体若しくはフラグメントの画像化複合体は、がんがＳＡＳ１Ｒ陽性のがんである限り、本明細書中に開示されたもの以外のがんの検出、診断、及び

場所特定を包含する。本発明は、ＳＡＳ１Ｒのレベルを定量することをさらに提供し、よって正常、良性、及び悪性の組織を識別する能力を包含する。

【０３４９】

本発明は、血液試料中のＳＡＳ１ＲマイクロＲＮＡの、バイオマーカーとしての検出を含む。ｍｉＲＮＡは長さ２２ヌクレオチド以下のＲＮＡ分子である。これらの分子は、いくつかの種類のがんの病理に強く関与することが見出されている。ｍｉＲＮＡ分子はＥＤＴＡ処理後に血清及びその構成成分とともにある時は安定であることが概ね見出されているが、ＰＣＲによるｍｉＲＮＡへのロックト核酸（ＬＮＡ）の導入は、ｍｉＲＮＡの安定性をさらに増大させる。ＬＮＡは、リボース環の２’‐Ｏ原子及び４’‐Ｃ原子を接続するメチレン架橋によってリボース環が「ロックされている」部類の核酸アナログであり、該分子の他の分子への親和性を高める。

【０３５０】

本発明は、本発明の少なくとも１つの抗体リガンド複合体、使用説明資料を含むキットをさらに提供し、かつ任意選択で少なくとも１つの造影剤及び任意選択で少なくとも１つの治療薬を備えている。

【０３５１】

本発明は、ＳＡＳ１ＲのｍＲＮＡ及びタンパク質の発現及びレベルを測定するための多数の技法、例えば、限定するものではないが、ＰＣＲ、ノーザンブロット法、ウエスタンブロット法、免疫組織化学法、及び免疫蛍光検査法などを提供する。

【０３５２】

がんの治療

本発明はＳＡＳ１Ｒを発現するがんを治療するための組成物及び方法を提供する。１つの態様では、発現されるＳＡＳ１Ｒはタンパク質である。１つの態様では、本発明は、がん細胞の表面上のＳＡＳ１Ｒに特異的に結合することができる抗体の使用を包含する。１つの態様では、抗体は本明細書中に記載されたエピトープのうちの１つに結合することができる。１つの態様では、抗体は本明細書中に開示された配列及びフラグメントのうちの１つに結合することができる。前記抗体は、例えば、一本鎖抗体、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、キメラ抗体、合成抗体、ポリクローナル抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、又はこれらの活性なフラグメント若しくは相同体であってよい。１つの態様では、治療薬が抗体に結合される。

【０３５３】

１つの実施形態では、本発明は、がんを診断及び治療するのに有用な抗体であって、ＳＡＳ１Ｒに結合する抗体を提供する。１つの実施形態では、本発明は、がんを診断及び治療するのに有用な抗体であって、ＳＡＳ１Ｒのエピトープに結合する抗体を提供する。１つの態様では、本発明は、本発明の抗体を含む医薬組成物を提供する。

【０３５４】

ＳＡＳ１Ｒに対する抗体にコンジュゲートせしめられ、かつ該抗体と組み合わせて使用されることが可能な、数多くの治療薬が利用可能である。例えば、ＳＡＳ１Ｒに取り付けることが可能な分子には、限定するものではないが、プロドラッグ、薬物、毒素、タンパク質毒素、リポソーム、封入リポソーム、放射性同位体、及び酵素が挙げられる。「抗体指向性酵素プロドラッグ療法（ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｉｒｅｃｔｅｄ ｅｎｚｙｍｅ ｐｒｏｄｒｕｇ ｔｈｅｒａｐｙ）」（ＡＤＥＰＴ）と名付けられた、プロドラッグを部位特異的に活性化して強力な細胞毒性化学種とするための腫瘍関連抗原を対象とした抗体‐酵素コンジュゲートの使用である。１つの態様では、ＳＡＳ１Ｒを対象とする抗体は、抗体を介した補体依存性の細胞死によってがんを治療するのに有用である。

【０３５５】

ＳＡＳ１Ｒの段階特異的発現ゆえに、仮にがん患者における治療法を目標とすれば、卵巣の原始卵胞及び一次卵胞の中に含まれる卵母細胞の予備は保存されることになろう。それは、ＳＡＳ１Ｒが卵母細胞に特異的であるだけでなく、卵母細胞内で時間的かつ空間的に正確に発現されるからである。例えば、ＳＡＳ１Ｒの発現は、卵胞の成熟の間の卵母細

胞の発生の特定の段階に特異的である（データは示されない）。ＳＡＳ１Ｒタンパク質は、卵巣内で、卵胞の成熟の二次卵胞段階に達した卵母細胞においてのみ出現する。ＳＡＳ１Ｒはその後、続く前胞状及び胞状の卵胞の段階における卵母細胞にのみ残存する。ＳＡＳ１Ｒが出現する最初の段階である二次卵胞は、顆粒膜細胞の２以上の層で包まれた卵母細胞として定義される。この知見は、薬物標的、ワクチン、又は遺伝子若しくは薬物の送達用の表面標的としてＳＡＳ１Ｒを使用することにより、成熟している卵母細胞の集合のみを対象とし、かつ原始及び一次卵胞の中に含まれる卵母細胞は対象としない選択的な攻撃が可能となるであろうということを示している。換言すれば、これは、ＳＡＳ１Ｒを標的とすることにより、卵巣の未熟な卵母細胞の予備は救われるであろうという決定的な実証である。

【０３５６】

成体組織の中ではＳＡＳ１Ｒは卵母細胞及び本明細書中で開示されるように腫瘍においてのみ発現されるので、ＳＡＳ１Ｒを標的とすることになる本発明の方法は、薬物標的又はワクチンとしてのその使用によりＳＡＳ１Ｒを発現する細胞及び組織の選択的標的化を可能にするということを意味している。

【０３５７】

加えて、ＳＡＳ１Ｒは活性酵素であることが知られており、よってがん治療のための新薬開発につながりうる（ｄｒｕｇａｂｌｅ）標的である。

本明細書中に開示されたもののような制がん剤標的は、がん標的療法のためだけでなく、該標的を発現しない正常な細胞に害を及ぼさないための本質的な基準を満たしている。

【０３５８】

本発明はＳＡＳ１Ｒの他のタンパク質との相互作用を阻害するのに有用な組成物及び方法を提供する。本願はさらに、がんを検出及び治療するためのＳＡＳ１Ｒを対象とする抗体の使用も提供する。１つの態様では、抗体の種類には、限定するものではないが、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、及び合成抗体が挙げられる。１つの態様では、抗体はモノクローナル抗体である。本発明は、本発明のモノクローナル抗体を含むハイブリドーマをさらに提供する。本発明は、本発明の抗体の配列及びフラグメントをさらに提供する。

【０３５９】

ＳＡＳ１Ｒの阻害剤には、ＳＬＬＰ１のような精子タンパク質若しくは任意の他のタンパク質とのＳＡＳ１Ｒの相互作用若しくは結合、プロテアーゼとしてのＳＡＳ１Ｒの活性を阻害するか、又はがん細胞におけるその役割などのＳＡＳ１Ｒシグナル伝達経路に含まれる下流の活性のＳＡＳ１Ｒによる調節を阻害するものが挙げられる。１つの態様では、阻害剤は、ＳＡＳ１Ｒ、又はＳＬＬＰ１に結合するＳＡＳ１Ｒのフラグメント若しくは相同体である。１つの態様では、ＳＡＳ１Ｒフラグメントは該タンパク質のＮ末端部分である。１つの態様では、Ｎ末端は、成熟ＳＡＳ１Ｒのアミノ末端の約１２１アミノ酸残基を含む。別の態様では、ＳＬＬＰ１と結合しかつＳＬＬＰ１の卵子との相互作用を阻害するＳＡＳ１Ｒフラグメントは、ＳＡＳ１ＲのＣ末端部分である。１つの態様では、ＳＡＳ１ＲのＣ末端はＳＡＳ１Ｒのカルボキシ末端の約２１０アミノ酸残基を含む。当業者には当然のことであるが、本明細書中に記載されるようなＳＡＳ１Ｒのレベル、機能、若しくは活性を阻害する任意の種類の化合物、又は未知の化合物が、本発明に包含される。

【０３６０】

ＳＡＳ１Ｒの阻害剤は、例えばＳＡＳ１Ｒの機能、活性、発現、及びタンパク質レベルを阻害する任意の種類の分子であってよい。１つの態様では、ＳＡＳ１Ｒは該タンパク質のＮ末端部分において阻害される。１つの態様では、該Ｎ末端は、成熟型ＳＡＳ１Ｒのアミノ末端の約１２１アミノ酸残基を含む。別の態様では、ＳＡＳ１Ｒは該タンパク質のＣ末端部分において阻害される。１つの態様では、該タンパク質のＣ末端はＳＡＳ１Ｒのカルボキシ末端の約２１０アミノ酸残基を含む。１つの態様では、阻害剤はＳＡＳ１Ｒを対象とする抗体である。別の態様では、阻害剤は薬物又は他の化合物である。１つの態様では、阻害剤はＳＡＳ１Ｒのプロテアーゼ活性を阻害する。別の態様では、阻害剤は、ＳＬ

ＬＰ１又は任意の他のタンパク質とのＳＡＳ１Ｒの相互作用を阻害する。１つの態様では、該相互作用は結合である。

【０３６１】

本発明者らは、驚くべきことに、免疫療法的な戦略に適した抗原にはタンパク質ＳＡＳ１Ｒが含まれることを見出した。本願は、正常な細胞の卵子に由来する免疫原であって本明細書中で開示されるように例えば肺、子宮及び卵巣のがんにおいても発現される免疫原を含む免疫原性組成物を開示する。その抗原はＳＡＳ１Ｒタンパク質、並びに該タンパク質の抗原性のフラグメント及び相同体である。本願は、そのような戦略を使用して、ＳＡＳ１Ｒを発現する細胞を殺滅可能であることを実証する。

【０３６２】

本発明は、がん、例えば腎臓がんを検出及び診断するために、かつ腎臓がんのようながんを治療するために、有用な組成物及び方法を提供する。

１つの態様では、ＳＡＳ１Ｒ、又は完全長ＳＡＳ１Ｒの免疫原活性を維持しているそのフラグメント若しくは相同体は、ＳＡＳ１Ｒに対する免疫応答を誘発するために対象者に投与されることが可能である。１つの態様では、免疫応答を誘発するＳＡＳ１Ｒ並びにそのフラグメント及び相同体の投与は、ワクチンとして有用である。１つの態様では、それはがんに対するワクチンである。１つの態様では、がんは肺、子宮がん又は卵巣がんである。１つの態様では、がんは悪性混合ミュラー腫瘍である。１つの態様では、卵巣がんは漿液性卵巣がんである。

【０３６３】

ＳＡＳ１Ｒアイソフォームは、卵母細胞及び形質導入細胞においては細胞表面上に、加えて本明細書中に記載されるようにがん細胞においても見出される。したがって、表面上にＳＡＳ１Ｒを発現しているがん細胞では、ＳＡＳ１Ｒは腫瘍選択的な表面標的である。１つの態様では、がん細胞はＳＡＳ１Ｒを対象とする抗体を用いて標的化されることが可能である。１つの態様では、抗体はヒト化抗体である。１つの態様では、抗体にはがん細胞に送達するための毒素又は薬物が連結されている。

【０３６４】

１つの実施形態では、本発明の組成物及び方法は哺乳動物において有用である。１つの態様では、哺乳動物はヒトである。

ＳＡＳ１Ｒ酵素は、二次及びその後の卵胞の卵母細胞、例えば前胞状及び胞状の卵胞において発生段階特異的な発現を示し（データは示されない）、よって裸の卵母細胞、原始卵母細胞及び一次卵母細胞には害を及ぼさず、かつ卵巣の生殖細胞の予備を保存するであろうがん治療のための、又はワクチンとしての、適当な標的となる。したがって、本発明は、ＳＡＳ１Ｒを阻害する化合物を同定するための組成物及び方法をさらに包含する。

【０３６５】

本発明は、がんを治療する方法をさらに提供する。１つの態様では、本発明はＳＡＳ１Ｒを発現しているがん細胞を治療するための組成物及び方法を提供する。１つの態様では、ＳＡＳ１Ｒは細胞表面タンパク質である。ＳＡＳ１Ｒを発現しているがん細胞を治療する方法には、本明細書中に記載された方法、並びにＳＡＳ１Ｒ及びその活性を標的とすることができる他の既知の方法が含まれる。

【０３６６】

診断バイオマーカーを特異療法へと結びつけることにより、特異治療に応答するであろう疾患を有する対象者の同定によるがんの「知的」治療がもたらされることになろう。これは「個別化（ｉｎｄｉｖｉｄｕａｌｉｚｅｄ）療法」又は「テーラーメイド（ｐｅｒｓｏｎａｌｉｚｅｄ）医療」と呼ばれることも多い。例えば、卵巣がん又は子宮がんのバイオマーカーは、より小規模の、よりコスト効率の良い治験のためのより均質な患者集団の選択を可能にすることにより、薬物開発に関連するコストを大幅に縮小するであろう。有用なバイオマーカーはさらに、臨床開発の初期段階でどの作用薬を追求するべきかに関する決定を促進することにより、薬物開発を加速することも可能である。良好な診断試験又はスクリーニング試験、及び治療薬又はワクチンの標的いずれにもなりうる標的を重視す

ることによって、特別な進歩が可能であるかもしれない。
【０３６７】
本発明は、ＳＡＳ１Ｒの識別特性を同定するために対象者の腫瘍を表現型で表す手段を提供する。この対象者は恐らく、ＳＡＳ１Ｒ標的療法から利益を得ることになろう。そのような治療法は、非選択的な作用機序が原因で衰弱、毛髪脱落、下痢及び貧血を引き起こす、より伝統的な化学療法剤の前に使用される、第１又は「最先端の」治療法となりうる。
【０３６８】
本発明は、がん細胞におけるアクチン分布の変更及び細胞の外観の変更であって、前記細胞をＳＡＳ１Ｒに対する抗体と接触させることを含んでなり、前記抗体はＳＡＳ１Ｒと結合し、細胞のアクチン分布が変更され、かつ細胞の外観が変更される、変更をさらに提供する。
【０３６９】
本発明は、ＳＡＳ１Ｒに対する免疫応答を誘発するために、ＳＡＳ１Ｒ、並びにそのフラグメント及び相同体を利用する組成物及び方法をさらに提供する。１つの態様では、ＳＡＳ１Ｒ又はその抗原性のフラグメント若しくは相同体の投与はＳＡＳ１Ｒの阻害をもたらす。１つの態様では、そのような免疫原性の応答及び生じるＳＡＳ１Ｒ機能の阻害。
【０３７０】
多数の研究から、診断時に、がん患者が自身の血流内に流血中がん細胞を既に有していることが実証されている。血液１ミリリットル中に５個又は１０個のがん細胞が見つかることも珍しくない。これは、診断時において数千個のがん細胞が潜在的な転移として事実上すべての臓器に存在することが珍しくないことを意味している。これらの細胞のごく一部分でも生残ると転移の発生がもたらされ、患者の生存を縮小することになる。
【０３７１】
本発明は、ＳＡＳ１Ｒを検出するための本明細書中で実証された技法を包含し、当業者であれば他の技法も同様に使用可能であることを認識するであろう。タンパク質の検出及び測定は数多くの方法で行われることが可能である。例えば、有用な方法には、例えば、ＬＣ‐ＭＳ／ＭＳ分析の実施であり、これは、サーモフィニガン（ＴｈｅｒｍｏＦｉｎｎｉｇａｎ）のＳｕｒｖｅｙｏｒ　ＨＰＬＣポンプ及びマイクロエレクトロスプレー供給源を装備し、かつサーモフィニガンのＸｃａｌｉｂｕｒバージョン１．２システムコントロール及びデータ解析ソフトウェアを用いて操作される、サーモフィニガンＬＣＱ　ＤｅｃａイオントラップＭＳ機器で実施可能である。試料の分析は、アセトニトリルグラジエント、並びにＭｏｎｉｔｅｒＣ１８（カラム・エンジニアリング（Ｃｏｌｕｍｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ））がパックされた１００μｍのＩＤ、３６０μｍのＯＤ及び５－１５μｍのチップ開口部を備えたチップを用いて、実施可能である。ＨＰＬＣポンプからの流送物は分割されて、パックされたチップからは５００ｎＬ～１μｌの流量とすることができる。分析されている試料の複雑さに応じて、２つのグラジエント「高速」及び「正常」が使用可能である。
【０３７２】
タンパク質はタンデム質量分光分析に供されて、ペプチド配列を得ることが可能である。
１つの実施形態では、本発明は、薬学的に許容可能な担体及びＳＡＳ１Ｒ又はその相同体、フラグメント若しくは誘導体を含む医薬組成物であって、前記タンパク質は対象者において免疫応答を引き起こすことができる医薬組成物を提供する。１つの態様では、該方法はワクチンとして、又は治療として有用である。１つの態様では、本発明は、医薬組成物であって、前記卵子タンパク質又はペプチドは配列番号６、８、１０、１９、２０、２１、及び２３、並びにこれらのフラグメント及び相同体で構成されている群から選択されたアミノ酸配列を含む、医薬組成物を提供する。
【０３７３】
１つの実施形態では、卵子タンパク質をコードする核酸配列を含む少なくとも１つの単

離核酸が投与される。１つの態様では、卵子タンパク質は、配列番号６、８、１０、１９、２０、２１、及び２３、並びにこれらのフラグメント及び相同体で構成されている群から選択された配列を含む。

【０３７４】

投与されたタンパク質、又はタンパク質をコードする配列を含む投与された単離核酸によって発現されたタンパク質は、ＳＬＬＰ１及びＳＡＳ１Ｒの相互作用又は結合を阻害するように作用することができる。

【０３７５】

本発明はさらに、ＳＡＳ１Ｒを検出するためにＳＡＳ１Ｒと結合又は相互作用することができる少なくとも１つのＳＬＬＰ１タンパク質又はその生物学的に活性な相同体及びフラグメントを投与することも提供する。１つの態様では、ＳＬＬＰ１タンパク質は標識される。

【０３７６】

当然ながら、本発明のタンパク質又はペプチドが活性に影響を及ぼすことなく修飾されたアミノ酸残基を組込みうることは認識されるであろう。例えば、末端は、ブロック基、すなわち「望ましからぬ分解」からのＮ末端及びＣ末端の保護及び安定化のうち少なくともいずれかをなすのに適した化学置換基を含むように誘導体化されてもよく、「望ましからぬ分解」とは、化合物の機能に影響しやすい、該化合物の末端における任意の種類の酵素的、化学的又は生化学的破壊、すなわち該化合物の末端部における連続的分解を包含することを意味する用語である。

【０３７７】

ブロック基には、ペプチドのｉｎ　ｖｉｖｏでの活性に悪影響を及ぼさないであろう、ペプチド化学の分野で従来使用される保護基が含まれる。例えば、適当なＮ末端ブロック基は、Ｎ末端のアルキル化又はアシル化により導入可能である。適当なＮ末端ブロック基の例には、C_1－C_5の分岐又は非分岐のアルキル基、ホルミル基及びアセチル基のようなアシル基、並びにそれらの置換型、例えばアセトアミドメチル（Ａｃｍ）基が挙げられる。アミノ酸のデスアミノアナログも有用なＮ末端ブロック基であり、ペプチドのＮ末端に結合されるか、又はＮ末端の残基（ｒｅｓｉｄｅ）の代わりに使用されることが可能である。適当なＣ末端ブロック基には、Ｃ末端のカルボキシル基が該ブロック基に組込まれる場合も組込まれない場合もあるが、エステル、ケトン又はアミドが挙げられる。エステル又はケトンを形成するアルキル基、特にメチル、エチル及びプロピルのような低級アルキル基、並びにアミドを形成するアミノ基、例えば第一級アミン（－NH_2）、並びにモノ－及びジ－アルキルアミノ基、例えばメチルアミノ、エチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、メチルエチルアミノなどは、Ｃ末端ブロック基の例である。アグマチンのようなデスカルボキシルアミノ酸アナログも有用なＣ末端ブロック基であり、ペプチドのＣ末端残基に結合せしめられるか、又は該残基の代わりに使用されることが可能である。さらに、ペプチドから末端の遊離のアミノ基及びカルボキシル基が全部取り除かれて、該ペプチドのデスアミノ及びデスカルボキシル形態をペプチド活性に影響することなく生じることができることは、認識されるであろう。

【０３７８】

その他の修飾も活性に悪影響を及ぼすことなく組込むことが可能であり、これらには、限定するものではないが、１つ以上の天然のＬ－異性体のアミノ酸を、Ｄ－異性体のアミノ酸で置換することが挙げられる。よって、ペプチドは１つ以上のＤ－アミノ酸残基（ｒｅｓｉｄｅｓ）を含んでもよいし、すべてＤ型であるアミノ酸を含むこともできる。本発明によるペプチドのレトロインバルソ型、例えば、全てのアミノ酸がＤ型アミノ酸に置換されている逆向きペプチドも企図される。

【０３７９】

本発明の酸付加塩も機能的等価物として企図される。よって、本発明によるペプチドが、該ペプチドの水溶性の塩を提供するために、無機酸、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸など、又は有機酸、例えば酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸

、シュウ酸、リンゴ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、タタリック（ｔａｔａｒｉｃ）、クエン酸、安息香酸、シナミー（ｃｉｎｎａｍｉｅ）、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ｐ‐トルエンスルホン酸、サリサイクリック（ｓａｌｉｃｙｃｌｉｃ）などで処理されたものは、本発明で使用するのに適している。

【０３８０】

修飾（通常は一次配列を変更しない）には、ｉｎ　ｖｉｖｏ、又はｉｎ　ｖｉｔｒｏにおけるポリペプチドの化学的誘導体化、例えばアセチル化、又はカルボキシル化が挙げられる。さらに挙げられるのは、グリコシル化の修飾、例えばポリペプチドの合成及びプロセシングの間、又はその後のプロセシングステップにおいて該ポリペプチドのグリコシル化パターンを修飾することにより；例えばグリコシル化に影響を及ぼす酵素、例えば哺乳類のグリコシル化酵素又は脱グリコシル化酵素にポリペプチドを曝露することにより、なされる修飾である。さらに包含されるのは、リン酸化されたアミノ酸残基、例えばホスホチロシン、ホスホセリン、又はホスホトレオニンを有する配列である。

【０３８１】

さらに挙げられるのは、タンパク質分解に対するポリペプチドの抵抗性を改善するか、又は溶解特性を最適化するか、又はポリペプチドを治療薬としてより適当なものとするために、通常の分子生物学的技法を使用して修飾されたポリペプチドである。そのようなポリペプチドのアナログには、天然に存在するＬ‐アミノ酸以外の残基、例えばＤ‐アミノ酸又は天然に存在しない合成アミノ酸を含有するアナログが含まれる。本発明のペプチドは、本明細書中に列挙された特定の例示のプロセスのうちいずれの生成物にも限定されない。

【０３８２】

本発明において有用な核酸には、例として、ただし限定ではなく、オリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチド、例えばアンチセンスＤＮＡ及びＲＮＡのうち少なくともいずれかなど；リボザイム；遺伝子治療用のＤＮＡ；ウイルスのＤＮＡ及びＲＮＡのうち少なくともいずれかを含むウイルスフラグメント；ＤＮＡ及びＲＮＡのうち少なくともいずれかのキメラ；ｍＲＮＡ；プラスミド；コスミド；ゲノムＤＮＡ；ｃＤＮＡ；遺伝子フラグメント；様々な構造的形態のＤＮＡ、例えば一本鎖ＤＮＡ、二本鎖ＤＮＡ、超コイルＤＮＡ及び３重らせんＤＮＡのうち少なくともいずれか；Ｚ‐ＤＮＡ；などが挙げられる。核酸は、大量の核酸を調製するために典型的に使用される任意の従来の手段によって調製されうる。例えば、ＤＮＡ及びＲＮＡは、市販の試薬及び合成装置を使用して、当分野でよく知られた方法によって化学合成されうる（例えば、ゲイト（Ｇａｉｔ）、「オリゴヌクレオチド合成：実践的アプローチ（ＯＬＩＧＯＮＵＣＬＥＯＴＩＤＥ　ＳＹＮＴＨＥＳＩＳ：Ａ　ＰＲＡＣＴＩＣＡＬ　ＡＰＰＲＯＡＣＨ）」、英国オクスフォードのＩＲＬプレス（ＩＲＬ　Ｐｒｅｓｓ）、１９８５年を参照されたい）。ＲＮＡは、ＳＰ６５（米国ウィスコンシン州マディソンのプロメガ・コーポレイション（Ｐｒｏｍｅｇａ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ））のようなプラスミドを使用したｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写によって高収率で生産されうる。

【０３８３】

実施例

〔ＳＡＳ１Ｂはｉｎ　ｖｉｔｒｏで子宮がん細胞内に取り込まれ、エンドサイトーシス経路のタンパク質とともに共局在化する。〕　図１は、ＳＡＳ１Ｂに対する抗体とともに４℃でインキュベートされ、３７℃に１５分間暖められ、次いでＳＡＳ１Ｂ抗体の場所について染色されたＭＭＭＴ５３８細胞を示す。小さなＳＡＳ１Ｂ抗体陽性の小胞は細胞膜直下の細胞周辺部に観察された。図２は、同様の処理、ただし３７℃で６０分間のインキュベーション後のＭＭＭＴ５３９細胞を示す。ＳＡＳ１Ｂ抗体陽性の小胞は、より大きくなり、かつ細胞質内でより深く内部に取り込まれていることが見出された。これらの結果は、ＳＡＳ１ＢがＭＭＭＴ細胞の中に取り込まれることを示している。ＳＡＳ１Ｂ陽性の小胞は、エンドサイトーシス経路の初期及び後期アームの構成成分とともに共局在化した。図３は、例えば、緑色のＳＡＳ１Ｂ陽性の小胞がエンドサイトーシス経路の初期アーム

のマーカーであるＥＥＡ１について染色している赤色の小胞とともに共局在化した場所である黄色の小胞（矢印）を示している。同様の結果は、エンドサイトーシス経路の後期アームのマーカーであるＬＡＭＰ１を用いても示された。

【０３８４】

〔ＳＡＳ１Ｂを備えた細胞株及びＳＡＳ１Ｂのない細胞株。〕　図４は、３１０ｂｐのｃ末端ＳＡＳ１ＢアンプリマーがＭＭＭＴ５３９細胞中にはあるがウイルスで形質転換された子宮間質細胞株ＭＡＤ１０には無いことを示し、ＭＭＭＴ５３９細胞はＳＡＳ１Ｂを発現するがＭＡＤ１０細胞は発現しないことを実証している。

【０３８５】

〔免疫毒素は、ＳＡＳ１Ｂを有する細胞の成長を停止するがＳＡＳ１Ｂを欠く細胞の成長は停止しない。〕　ＳＡＳ１Ｂは正常組織の中では卵母細胞にのみ見出されるので、ＳＡＳ１Ｂが腫瘍において発現されている場合、その存在は腫瘍選択的な化学療法薬の作用機構を達成する機会を供している。シスプラチン又はカルボタキソールのような数多くの現在のがん治療薬は、種々様々の臓器系に存在する主要な全般的経路に関わるタンパク質を標的とする。これらには、細胞複製；シグナル伝達、有糸分裂及び細胞移動に関与するタンパク質が挙げられる。その結果、数多くの現代の化学療法薬は、悪心、毛髪脱落、下痢、皮膚病変を引き起こし、かつ生殖細胞を激減させて、多くの患者にとってこれらの薬物の持続を困難とし、また不妊症を克服するための配偶子の低温保存を必要としている。本明細書中で議論された手法は、腫瘍及び費消可能な成熟卵母細胞集団のみを標的とする選択的な薬物作用機構を提供する。ＳＡＳ１Ｂを標的とするための戦略は、卵巣の、原始卵胞内の予備を構成する卵母細胞には害を及ぼさず、現代の化学療法薬において一般的な不妊症という副作用を防ぐことを目指している。卵母細胞の予備にはＳＡＳ１Ｂが存在せず、ＳＡＳ１Ｂは正常組織の中では成長している卵母細胞に限られること、及び腫瘍におけるＳＡＳ１Ｂの細胞表面での発現は、独自の腫瘍選択的な生物学的薬物を作出する新規な機会を提供している。これは、化学療法薬の標的としてのＳＡＳ１Ｂの使用を伴う新規な手法である。

【０３８６】

これは抗体‐薬物コンジュゲートを使用して実行可能である。例えば、ポリクローン系及びモノクローン系のいずれの免疫試薬と組み合わされた免疫毒素薬物も使用可能である。ネズミ科動物のモノクローナル抗体は、ヒト免疫グロブリンの骨組み上に移植して非免疫原性の組換えヒト化抗体を作出することにより、ヒト化されてもよい。この抗体はその後、「裸の」ヒト抗体治療薬として使用されてもよいし、毒素、ペプチド、小分子薬物又は放射性核種とコンジュゲートせしめられてもよい。

【０３８７】

Ｆａｂサポリンサイトキシティ（Ｃｙｔｏｘｉｃｉｔｙ）アッセイのプロトコール

第１日

材料：ＭＭＭＴ５３９子宮細胞株；トリプシン処理のためのＴｒｙｐＬＥ（商標）Ｓｅｌｅｃｔ；９６ウェル組織培養プレート；一次抗体：ｈＳＡＳ１Ｂに対するウサギ（Ｒｂ）血清（免疫及び免疫前）；アドバンスト・ターゲティング・システムズ（Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）のウサギＦａｂ‐ＺＡＰ；Ｍ５３９細胞用の熱処理済みＦＢＳを含むＲＰＭＩ培地。

【０３８８】

ＳＲＢ（スルホローダミンＢ）処理試薬：ＤＰＢＳ（カルシウム又はマグネシウムを含まない）；５０％トリクロロ酢酸（ＴＣＡ）（４℃保存）；１％酢酸中で作製された０．０５％スルホローダミンＢ（ＳＲＢ）（シグマ（Ｓｉｇｍａ）カタログ＃Ｓ‐１４０２）；及び１０ｍＭトリス（緩衝化せず）。

【０３８９】

全てのステップ（終点の処理まで）が滅菌／無菌条件下で行なわれた。

細胞の調製：抗原の完全性の維持を助けるためにＴｒｙｐＬＥを用いて細胞をトリプシン処理する；２ｍｌのＴｒｙｐｓｉｎＬＥを加えて内容物を旋回混合し、細胞が浮遊する

まで吸引及び新鮮な２～３ｍｌのトリプシンへの交換を行う；全ての細胞をばらばらにするために側面を穏やかにタッピングする；５ｍｌの新鮮な暖かい培地を加えてトリプシンの作用を停止させ、かつ細胞に同じ培地を数回吹き掛ける（ｓｑｕｉｒｔ）；１５～５０ｍｌのコニカルチューブに集める；３０００ｒｐｍで５分間遠心分離処理する；上清を捨て、細胞ペレットに１ｍｌの新鮮培地を加える；全細胞の計数を行う。

【０３９０】

細胞の計数及び再プレーティング：血球計又は任意の細胞計数盤で細胞を計数する；最終細胞数として培地２００ｕｌあたり細胞４０００個となるように細胞数を調整する（利用される予定のウェルの数についてこの数とする；三連）；９６ウェルプレート中で培地２００ｕｌ／ウェルとして細胞をプレーティングする；３７℃、５％ＣＯ２で一晩インキュベートする。　注：密度は細胞の大きさ及び倍加時間に応じて変化する。５日後、対照のウェルはコンフルエントであるべきではなく、ＳＲＢ処理は５４０でのＯＤが直線範囲で２．０未満であるべきである。

【０３９１】

Ｆａｂサポリンサイトキシティ（Ｃｙｔｏｘｉｃｉｔｙ）アッセイのプロトコール

第２日

一次抗体の希釈物（ＰＡＤ）：１．ウサギＩｇＧ、免疫［ＩＭ］（２１‐１０‐１１）４ｍｇ／ｍｌ、ＰＡＤ‐ＩＭ；２．ウサギＩｇＧ、免疫前［ＰＩＭ］（２１‐１０‐１１）１．２ｍｇ／ｍｌ、ＰＡＤ‐ＰＩＭ。

【０３９２】

Ｒｂ　ＩｇＧ　ＺＡＰ：これはサポリンで直接タグ付けされた市販のＲｂ　ＩｇＧであり、対照として使用される。これを１ｕｌ＋ＲＰＭＩを９ｕｌ。ここから、３ｕｌが６０ｕｌの培地と混合され、１ウェルあたり２０ｕｌが加えられた（１０ｎＭ）。

【０３９３】

Ｔ×１００陽性対照：１ｕｌのＴ×１００（シグマ（ＳＩＧＭＡ））＋９９ｕｌの培地。よく混合する。１ウェル当たり２０ｕｌを加える。

二次コンジュゲート溶液（ＳＣＳ）：４５ｎｇ／１０ｕｌ又は９０ｎｇ／２０ｕｌがアッセイ用に１ウェルあたりに使用される。二次コンジュゲートについては、製造業者により提供されるこのコンジュゲートの濃度は２．３ｍｇ／ｍｌである。このコンジュゲート１ｕｌが培地４９９ｕｌ中に必要である。５秒間渦流混合する。

【０３９４】

コンジュゲーション：ＰＩＭ及びＩＭについて、各チューブはそれぞれ先の濃度の一次抗体の１：１０希釈物を有する。

ＰＩＭ１：１０ｕｌのＰＡＤ‐ＰＩＭ＋６３ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。（１ｕＭ）

ＰＩＭ２：７．５ｕｌのＰＩＭ１溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。（０．１ｕＭ）

ＰＩＭ３：７．５ｕｌのＰＩＭ２溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。（０．０１ｕＭ）

ＰＩＭ４：７．５ｕｌのＰＩＭ３溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。（１ｎＭ）

ＰＩＭ５：７．５ｕｌのＰＩＭ４溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。（０．１ｎＭ）

ＰＩＭ６：７．５ｕｌのＰＩＭ５溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。（０．０１ｎＭ）

ＰＩＭ７：７．５ｕｌのＰＩＭ６溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。（１ｐＭ）

ＰＩＭ８：７．５ｕｌのＰＩＭ７溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。（０．１ｐＭ）

ＩＭ１：３ｕｌのＰＡＤ‐ＩＭ＋７２ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。

【０３９５】
ＩＭ２：７．５ｕｌのＩＭ１溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。
ＩＭ３：７．５ｕｌのＩＭ２溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。
ＩＭ４：７．５ｕｌのＩＭ３溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。
【０３９６】
ＩＭ５：７．５ｕｌのＩＭ４溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。
ＩＭ６：７．５ｕｌのＩＭ５溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。
ＩＭ７：７．５ｕｌのＩＭ６溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。
【０３９７】
ＩＭ８：７．５ｕｌのＩＭ７溶液＋６７．５ｕｌのＳＣＳ。５秒間よく混合する。
これらの希釈物はすべて、フード内で室温にて４５分間インキュベートしておいてよい。
【０３９８】
Ｆａｂサポリンサイトキシティ（Ｃｙｔｏｘｉｃｉｔｙ）アッセイのプロトコール
第３日
スルホローダミンＢ染色：
１．　所望の時点に達したら、培地は取り出されて保存された；２．　１ウェル当たり２００ｕｌの冷却ＤＰＢＳが添加された；３．　これに５０ｕｌの冷えた５０％ＴＣＡが１ウェル当たりに加えられた；４．　その後、４Ｃで１時間インキュベートされた；５．　１ウェル当たり３００ｕｌのＴＡＰ水で約４～５回洗浄し、軽くたたいて水気をとる；６．　１時間又は乾燥するまで風乾する（プレートはこのステップで無期限に保管可能である）；７．　１％酢酸中で作製された１００ｕｌの１×作業用スルホローダミン試薬を加え、ＲＴで３０分間インキュベートする；８．　１ウェルにつき１％酢酸３００ｕｌで５～６回、又は洗浄液からピンク色が消えるまで、洗浄する；９．　軽くたたいて水気をとり、完全に風乾する（これは次のステップまでこの段階で保管可能である）；１０．　１ウェル当たり２００ｕｌの緩衝化されていないトリスベース試薬で可溶化し、振とう機で、又はピペットチップを用いて、完全に混合する。５～１０分間振とうする；１１．　４９０ｎｍで読み取りを行いグラフ上にプロットする。
【０３９９】
ＳＡＳ１Ｂ経路は毒性の積荷の細胞内送達に使用することが可能であるという仮説を試験するために、細胞の密度及び成長停止を定量化するためのスルホローダミンＢスクリーニング方法を使用する間接的サポリンアッセイが、ＭＭＭＴ５３９及びＭＡＤ１０細胞を用いて実施された（図５）。該アッセイは、一次抗体として組換えヒトＳＡＳ１Ｂに対するウサギのポリクローナル抗血清から精製されたＩｇＧ、及びアドバンスト・ターゲティング・システムズのサポリンを含有する抗ウサギＦａｂ‐Ｚａｐ二次試薬を使用した。細胞殺滅は、抗ＳＡＳ１Ｂ一次ＩｇＧ抗体でのみ観察され（ＩＭＺＡＰとラベルされた赤色のバー）、陰性対照、例えば免疫ＩｇＧとして同一の濃度で使用された免疫前のＩｇＧ（ＰＩＺＡＰとラベルされた黄色のバー）、サポリンで標識された非特異的な精製ウサギＩｇＧ（ＲｂＩｇＧ）、又はＦａｂ‐ＺＡＰサポリン二次試薬のみ（ＳＣＳ　ＦＡＢＺＡＰ　ｃｔｌ）では観察されなかった。細胞殺滅のレベルは濃度依存的であり該アッセイはプロゾーン（フック）効果を示した。高濃度の一次抗体では、Ｆａｂ‐ＺＡＰ毒素は、細胞表面に結合した一次抗体ではなく溶液中の一次抗体と複合体を形成した。しかしながら、一次抗体及び二次ＺＡＰ試薬の化学量論比が、Ｆａｂ‐ＺＡＰ免疫複合体が細胞表面に到達するのを可能にするように最適化された時、完全な成長停止が観察された。この停止は、非イオン性界面活性剤を用いる処理期の初めにおいて溶解された腫瘍細胞で見られたレベル（緑色のバー、Ｔｒｉｔｏｎ（登録商標）Ｘ陽性対照）と同じレベルであった。
【０４００】
完全な細胞の成長停止は、１０ｎＭの抗ＳＡＳ１Ｂ　ＩｇＧ及び５．１４ｎＭのＦａｂ‐ＺＡＰサポリンで観察された。細胞の成長停止という効果は、ＳＡＳ１Ｂを発現しないＭＡＤ１０細胞ではいずれの試薬でも観察されなかった。これらの研究は、同一の結果を

伴って９回繰り返された。この結果は、抗ＳＡＳ１Ｂで処理された細胞のみが丸くなり病的状態になったことを実証した細胞の形態学的観察によって確認された。これらの研究は、ＳＡＳ１Ｂがエンドサイトーシス経路に取り込まれ、この経路が毒性の積荷の細胞内送達に使用されうることを実証している。

【０４０１】

よって、二次抗体（Ｇｔ抗ウサギ）上に便乗したサポリンは、エンドサイトーシスによってＭ５３９子宮キャンス（ｃａｎｃｅ）細胞の細胞質内へとサポリンを標的化するのに有効であった。濃度０．０１ｕＭのＩＭ　ＩｇＧが有効であることが見出された。対照の子宮細胞（ＭＡＤ１０）では効果は見られなかった（図６～８を参照）。処理されたＭ５３９細胞は、他の細胞との接触の損失、構造の損失及び細胞形状の変化、並びに細胞の細胞質内における泡／細孔／液胞の存在を示す。Ｍ５３９細胞の培養上清はＬＤＨ活性について検査され、０．０１ｕＭのＩＭ濃度ではＬＤＨレベルの著しい増大が示された。

【０４０２】

ＳＡＳ１Ｂは腎腫瘍において発現されている

Ｏｎｃｏｍｉｎｅ（登録商標）（ゲノム規模での発現解析からの発見の促進を目指したがんのマイクロアレイデータベース及びウェブ基盤のデータマイニングプラットホーム）からのデータ取得により、ＳＡＳ１Ｂ（ＡＳＴＬ）が淡明細胞型腎細胞癌において上昇していることが実証されている（図９）。よって、ＳＡＳ１Ｂは腎腫瘍を有する患者の大集団についてスクリーニングするための診断マーカーとして使用可能である。毎年およそ６５，０００人の新たな腎腫瘍症例があり、毎年約１４，０００人が死亡する。該症例の９０％は腎臓癌であり、そのうち症例の約７０％は淡明細胞癌であり、症例の約１０％は乳頭状癌である。ＳＡＳ１Ｂは腎腫瘍において膜に結合している（ｍｅｍｂｒａｎｅ　ａｓｓｏｃｉａｔｅ）。患者からの淡明細胞型腎腫瘍由来のｃＤＮＡは、ｃ末端ＳＡＳ１Ｂプライマーを用いるＰＣＲアッセイに使用され（パネルＡ）、またＲＮＡの完全性を保証するために、パネルＢに見られるようにＧＡＰＤＨプライマーが使用された。Ｍ５３９子宮がん細胞株はレーン９で見られるように陽性対照として使用された。正常な腎臓ｃＤＮＡは１１において組織対照としての役割を果たし、ＳＡＳ１Ｂを発現していない（図１０）。Ｂｌａｓｔｎプログラムで遺伝子配列を使用することにより、ＡＳＴＬアスタシン様メタロエンドペプチダーゼ（Ｍ１２ファミリー）（遺伝子ＩＤ：４３１７０５）への９９％の同一性が得られた。

【０４０３】

ＳＡＳ１Ｂは頭頸部扁平上皮細胞癌において発現されている

頭頸部扁平上皮細胞癌（ＨＮＳＣＣ）は、世界で５番目の主要ながん診断であり、かつ８番目の主要ながん死亡原因である。頭頸部がんの９０％超が扁平上皮細胞癌である。この種のがんは、上気道消化管の湿った表面を裏打ちしている扁平上皮細胞において発症する。

【０４０４】

ＳＡＳ１ＢのｍＲＮＡ及びタンパク質はＨＮＳＣＣ細胞株の１００％において観察される（図１１）。簡潔に述べると、全ＲＮＡが８つのＨＮＳＣＣ細胞株から抽出されて（キアゲン（Ｑｉａｇｅｎ）キット）、ｃＤＮＡに変換された。ＰＣＲアンプリケーション（ａｍｐｌｉｃａｔｉｏｎ）はＣ末端ｈＳＡＳ１Ｂプライマーを使用して実施された。８／８のＨＮＳＣＣ株がＳＡＳ１Ｂ転写物について陽性であった。腫瘍は１～８の番号が付された；Ｎ＝陰性のテンプレート対照（水）。ｈＧＡＰＤＨは装荷量対照として使用された。

【０４０５】

調査されたＨＮＳＣＣヒト腫瘍の１００％がＳＡＳ１Ｂについて陽性であった（図１２）。図１２はＨＮＳＣＣヒト腫瘍標本からのＳＡＳ１Ｂ　ｍＲＮＡの増幅に関するＰＣＲ結果を代表している。全ＲＮＡが腫瘍組織から抽出され（キアゲン）、ｃＤＮＡへと逆転写された。ＰＣＲ増幅はＣ末端ｈＳＡＳ１Ｂプライマーを使用して実施された。レーンは左から右に順に：マーカー、ＨＮＳＣＣ腫瘍標本、Ｎ＝陰性テンプレート、Ｈ２Ｏ対照で

ある。合計２４例の腫瘍標本が試験され；２４／２４がＳＡＳ１Ｂ　ｍＲＮＡについて陽性であり、そのうち１６がここに示されている。ｈＧＡＰＤＨは装荷量対照として使用された。

【０４０６】

ＳＡＳ１Ｂは膵臓がんにおいて発現されている

膵臓がんは米国におけるがん死の４番目の主要原因である。膵臓がんの場所である腹膜後腔（胃の後方）は、診断及び治療を複雑にする。膵臓がんの６５％は膵頭に位置する一方、１５％は膵体に、１０％は尾膵に位置し、１０％は多巣性である。膵臓がんの９０％超は膵臓起源の腺癌である。一般に、これらのがんは無秩序な導管の分布を有し、核の大小不同（＞４：１、核の大きさの変動）及びグランデュラ（ｇｒａｎｄｕｌａｒ）有糸核分裂像が存在する。

【０４０７】

ＳＡＳ１Ｂ転写物は膵臓がん細胞株において同定された（図１３）。簡潔に述べると、全ＲＮＡが５つの膵臓がん細胞株から抽出され（キアゲンのキット）、ｃＤＮＡに変換された。ＰＣＲ増幅はＣ末端ｈＳＡＳ１Ｂプライマーを使用して実施された。４／５の膵臓がん株がＳＡＳ１Ｂ転写物について陽性であった。示されている対照反応物は：陽性対照としてＭ５３９細胞（悪性混合ミュラー腫瘍）におけるＳＡＳ１Ｂの発現及びＭ５３９についてのＧＡＰＤＨ装荷量対照；テンプレートなし（水）の対照、である。ｈＧＡＰＤＨは装荷量対照として使用された。

【０４０８】

ＳＡＳ１Ｂは男性及び女性のいずれの膵臓腫瘍においても同定された（図１４）。マウスに同所性異種移植されてその後継代された１５例のヒト膵臓組織から全ＲＮＡが抽出された（キアゲンのキット）。検査された標本はほぼ５世代の異種移植片であった。ＲＮＡはｃＤＮＡへと逆転写された。ＰＣＲ増幅はＣ末端ｈＳＡＳ１Ｂプライマーを使用して実施された。９／１５の膵臓がん株がＳＡＳ１Ｂ転写物について陽性であった。ｈＧＡＰＤＨは装荷量対照として使用された。

【０４０９】

図１５は膵臓のＰＣＲ対照を提示している。全ＲＮＡは３例のヒト正常膵臓組織から抽出された（キアゲンのキット）。ＲＮＡはｃＤＮＡへと逆転写された。上図：ＰＣＲ増幅は正常な膵臓においてＣ末端ｈＳＡＳ１Ｂプライマーを使用して実施された。３例の正常な膵臓はすべてＳＡＳ１Ｂ転写物について陰性であった。ｈＧＡＰＤＨは装荷量対照として使用された。下図：ＰＣＲ増幅はｈＳＡＳ１ＢのＣ末端プライマーを使用して実施された。膵臓腫瘍についての単一プライマーの対照反応。Ｍ５３９（ＭＭＭＴ株）は陽性対照として使用された。

【０４１０】

参考文献

【０４１１】

【表２】

Mandal A, et al. (2003) Biol Reprod 68, 1525-1537.
Herrero MB, et al. (2005) Dev Biol 284, 126-142.
Evans JP, Schultz RM, Kopf GS (1995) J Cell Sci 108, 3267-3278.
Almeida EA, et al. (1995) Cell 81, 1095-1104.
Yuan R, Primakoff P, Myles, DG (1997) J Cell Biol 137, 105-112.
Evans JP, Schultz RM, Kopf GS (1997) Dev Biol 187, 94-106.
Cho C, et al. (1998) Science 281, 1857-1859.
Shamsadin R, et al. (1999) Biol Reprod 61, 1445-1451.
Nishimura H, Cho C, Branciforte DR, Myles DG, Primakoff P (2001) Dev Biol 233, 204-213.
Coonrod SA, et al. (1999) Dev Biol 207, 334-349.
Miyado K, et al. (2000) Science 287, 321-324.
Alfieri JA, et al. (2003) J Cell Sci 116, 2149-2155.
Kaji K, et al. (2000) Nat Genet 24, 279-282.
Le Naour F, Rubinstein E, Jasmin C, Prenant M, Boucheix C (2000) Science 287, 319-321.
Rubinstein E, et al. (2006) Dev Biol 290, 351-358.
Cohen DJ, Ellerman DA, Cuasnicu PS (2000) Biol Reprod 63, 462-468.
Da Ros VG, et al. (2008) Dev Biol 320, 12-18.
Inoue N, et al. (2005) Nature 434, 234-238.
Luban J, Goff SP (1995) Curr Opin Biotechnol 6, 59-64.
Li X, McDermott B, Yuan B, Goff SP (1996) J Virol 70, 1266-1270.
Miyado K, et al. (2008) Proc Natl Acad Sci U S A 105, 12921-12926.
Weigmann A, Corbeil D, Hellwig A, Huttner WB (1997) Proc Natl Acad Sci U S A 94, 12425-12430.
Evans JP, et al. (2000) Biol Reprod 62, 76-84.
Goldman S, Shalev E (2003) Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 111, 109-121.

【０４１２】

Robinson LL, Sznajder NA, Riley SC, Anderson RA (2001) Mol Hum Reprod 7, 641-648.

Elia L, Marsh L (1998) J Cell Biol 142, 1473-1485.

Roe JL, Farach HA, Strittmatter WJ, Lennarz WJ (1988) J Cell Biol 107, 539-544.

Correa LM, Cho C, Myles DG, Primakoff P (2000) Dev Biol 225, 124-134.

Hiroi J, et al. (2004) Dev Genes Evol 214, 176-184.

Quesada V, Sanchez LM, Alvarez J, Lopez-Otin, C (2004) J Biol Chem 279, 26627-26634.

Bond, J., et al., Protein Science (1995), 4: 1247-1261.

Möhrlen, F., et al., 2008, 8:2, 223-231.

Mandal, A., et al., Biology of Reproduction 78 : 69.72 (2008).

Rosmann, S., et al., The Journal of Biological Chemistry, Vol. 277, No. 43, Issue of October 25, 2002, pp. 40650-40658.

Sterchi, E., et al., Molecular Aspects of Medicine, 29 (2008) 309-328.

Huguenin, M., et al., PLos One, May 2008, Vol. 3, Issue 5, e2153, p. 1-11.

Barbara A. Weir, et al 2007 Nature 450, 893-898.

Martin L. Sos, et al 2009 J. Clin. Investigation 119, 6 1727-1740.

Rhodes DR. Yu J. Shanker K. Deshpande N. Varambally R. Ghosh D. Barrette T. Pandey A. Chinnaiyan AM. 2004 (June 22, 2004).

Rhodes DR, Yu J, Shanker K, Deshpande N, Varambally R, Ghosh D, Barrette T, Pandey A, Chinnaiyan AM. Neoplasia. 2004 Jan-Feb;6(1):1-6.

Vanicha Vichai & Kanyawim Kirtikara. Nature Protocols 1, -1112 - 1116 (2006).

【０４１３】

本明細書中で引用された全ての特許、特許出願、及び出版物の開示内容は、参照によりその全体が本願に組込まれる。

見出しは、参考のため、及びある特定のセクションを捜し出す助けとするために、本明細書中に含まれている。これらの見出しは、該見出しのもとに記載された概念の範囲を限定するようには意図されず、これらの概念は明細書全体にわたって他のセクションにおいても適用可能性を有しうる。

【０４１４】

本発明について特定の実施形態を参照して開示してきたが、本発明の他の実施形態及び変形形態が、他の当業者によって本発明の真の思想及び範囲から逸脱することなく考案されうることは明白である。

【図１】

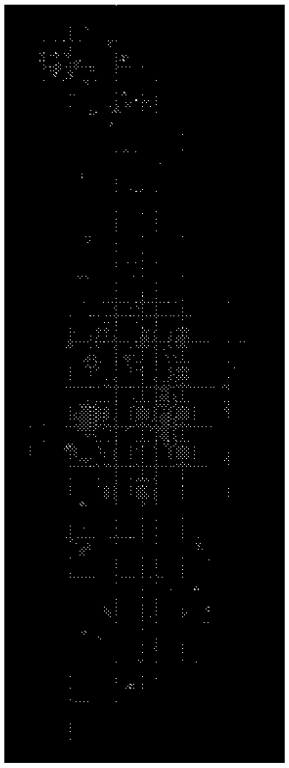


Fig.1

【図２】

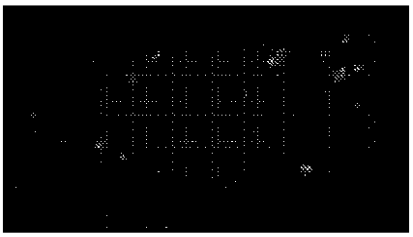


Fig.2

【図３】

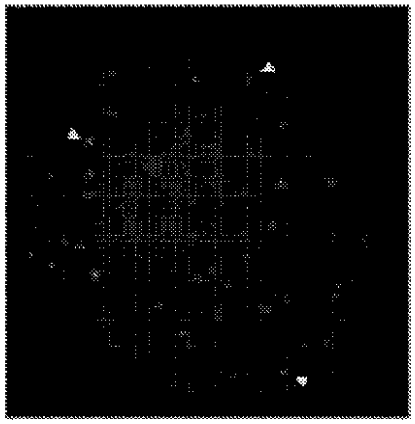


Fig.3

【図４】

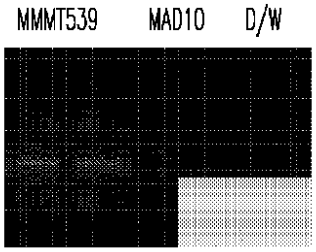


Fig.4

【図１１】

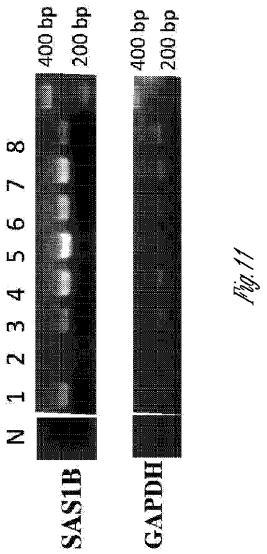
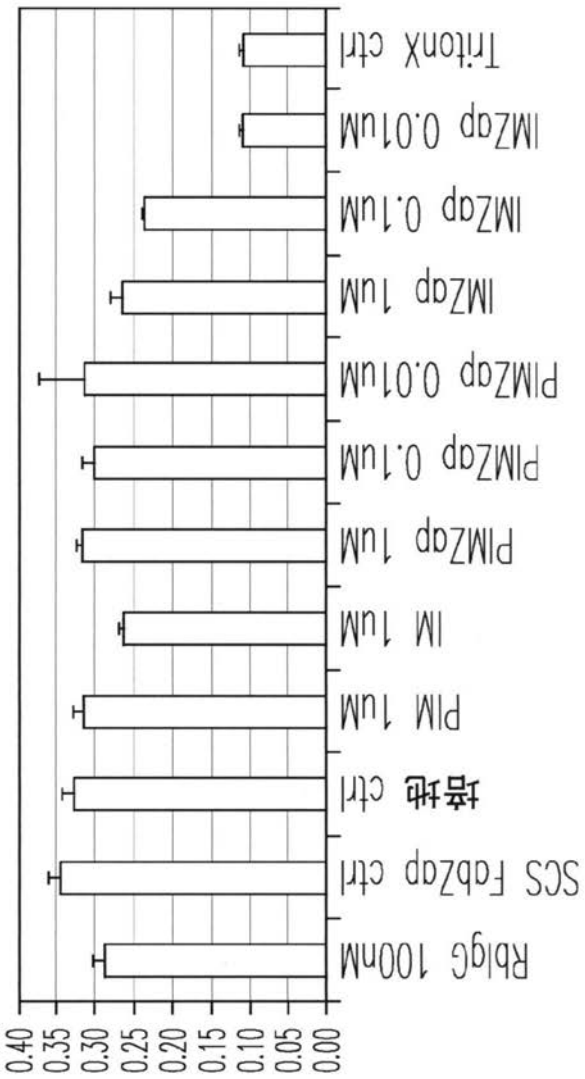
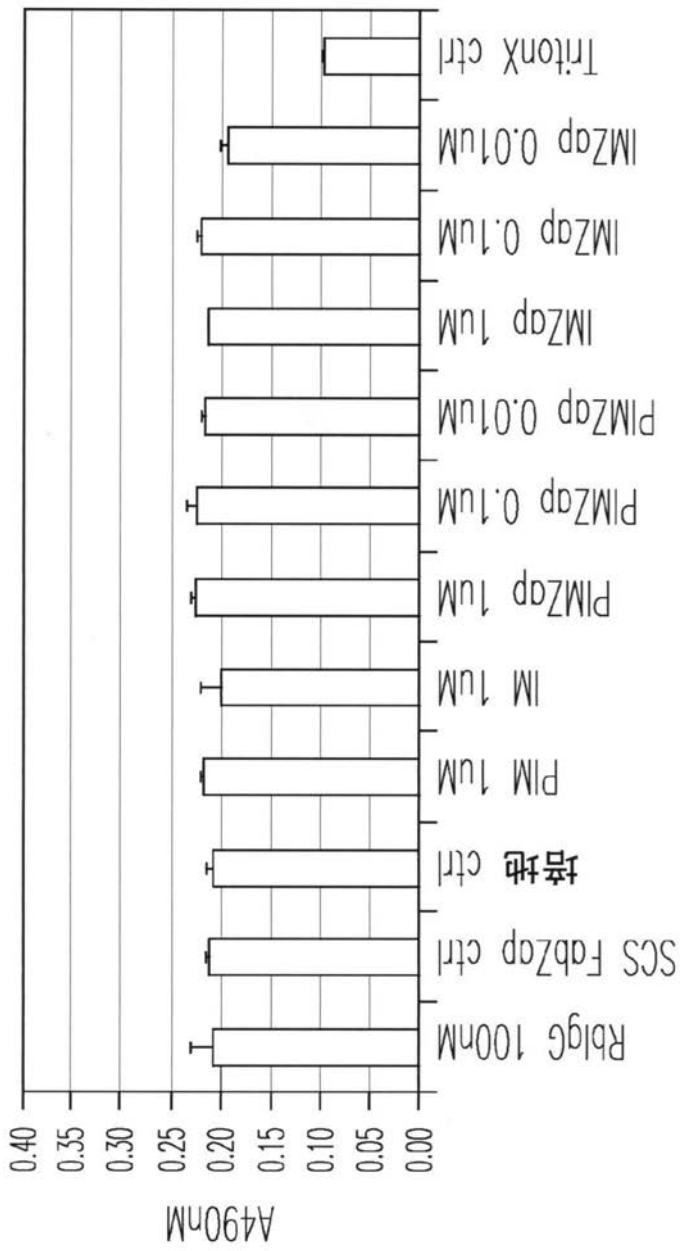


Fig.11

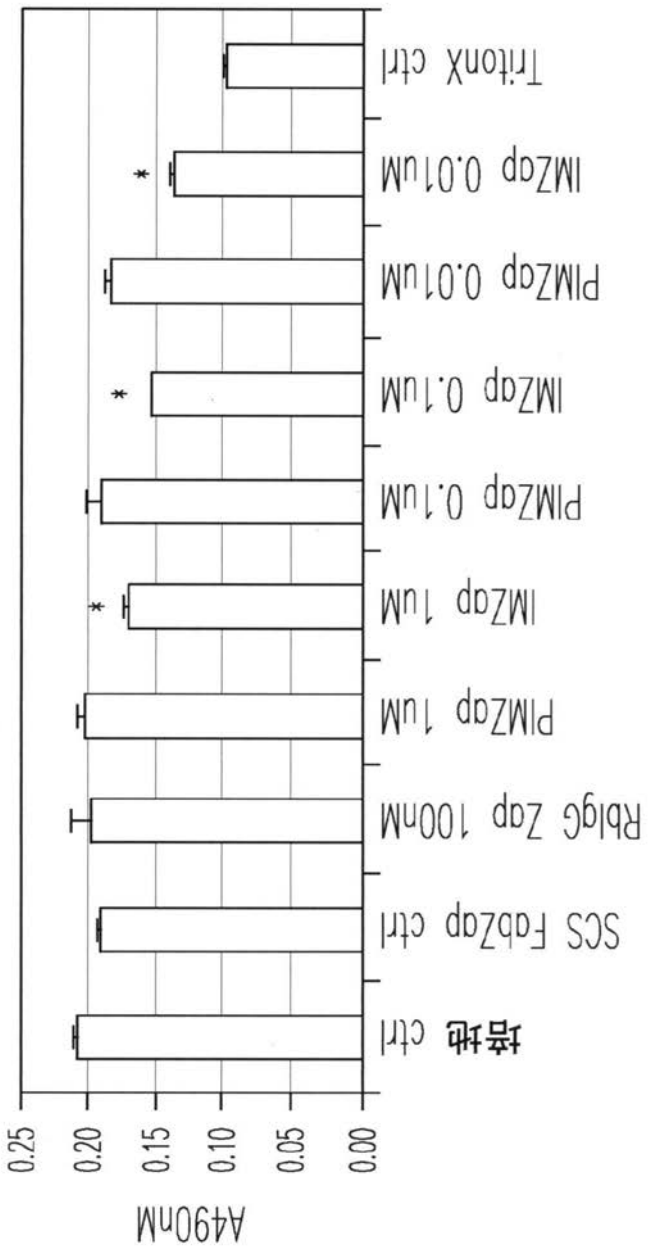
【図５】


Rblg 100nM
SCS FabZap ctrl
培地 ctrl
PIM 1uM
IM 1uM
PIMZap 1uM
PIMZap 0.1uM
PIMZap 0.01uM
IMZap 1uM
IMZap 0.1uM
IMZap 0.01uM
TritonX ctrl
0.40
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00

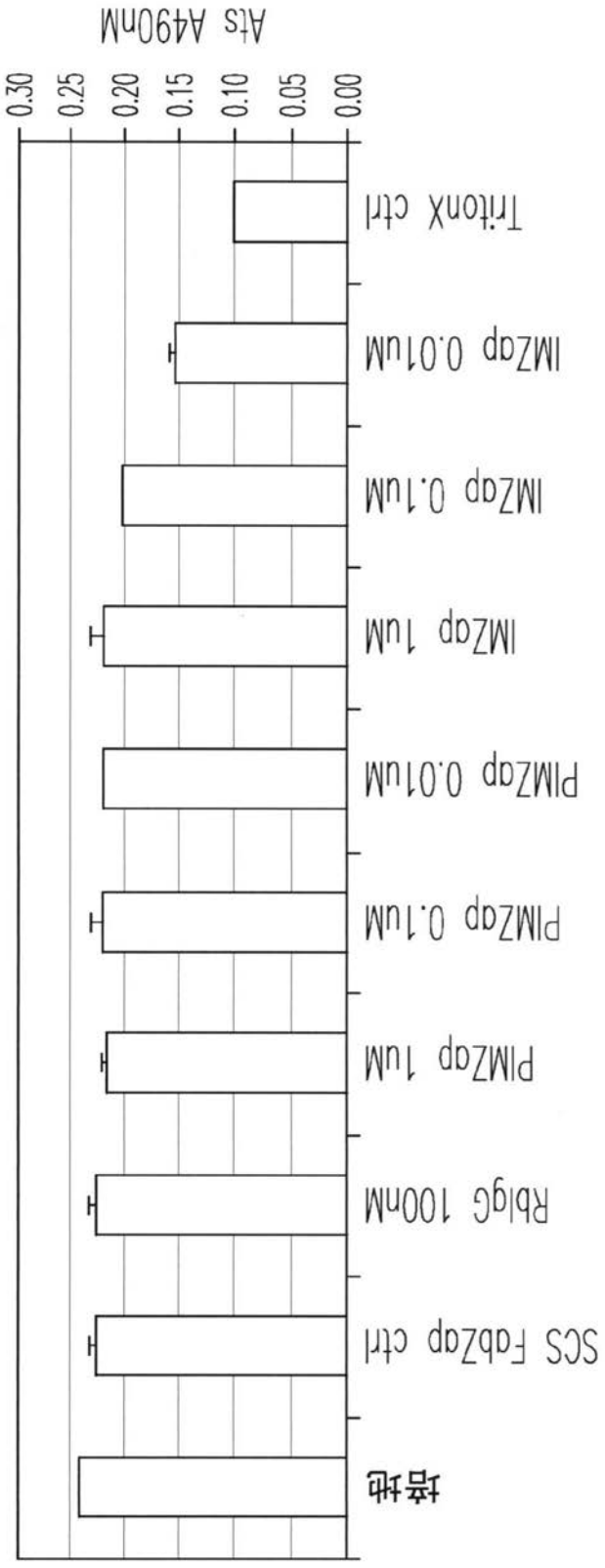
【図６】


A490nM
0.40
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
Rblg 100nM
SCS FabZap ctrl
培地 ctrl
PIM 1uM
IM 1uM
PIMZap 1uM
PIMZap 0.1uM
PIMZap 0.01uM
IMZap 1uM
IMZap 0.1uM
IMZap 0.01uM
TritonX ctrl

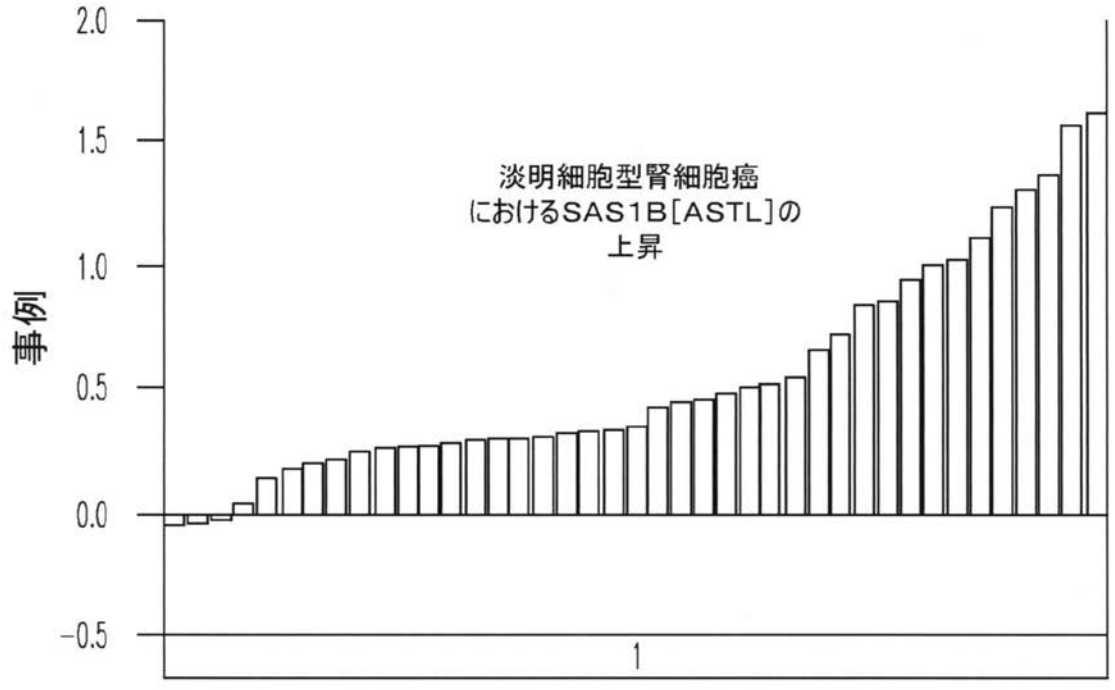
【図７】


A490nM
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
培地 ctrl
SCS FabZap ctrl
Rblg Zap 100nM
PIMZap 1uM
IMZap 1uM
PIMZap 0.1uM
IMZap 0.1uM
PIMZap 0.01uM
IMZap 0.01uM
TritonX ctrl

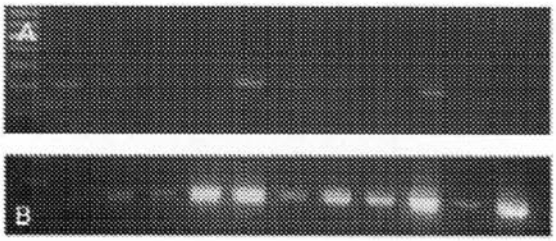
【図８】


Ats A490nM
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
培地
SCS FabZap ctrl
Rblg 100nM
PIMZap 1uM
PIMZap 0.1uM
PIMZap 0.01uM
IMZap 1uM
IMZap 0.1uM
IMZap 0.01uM
TritonX ctrl

【図９】



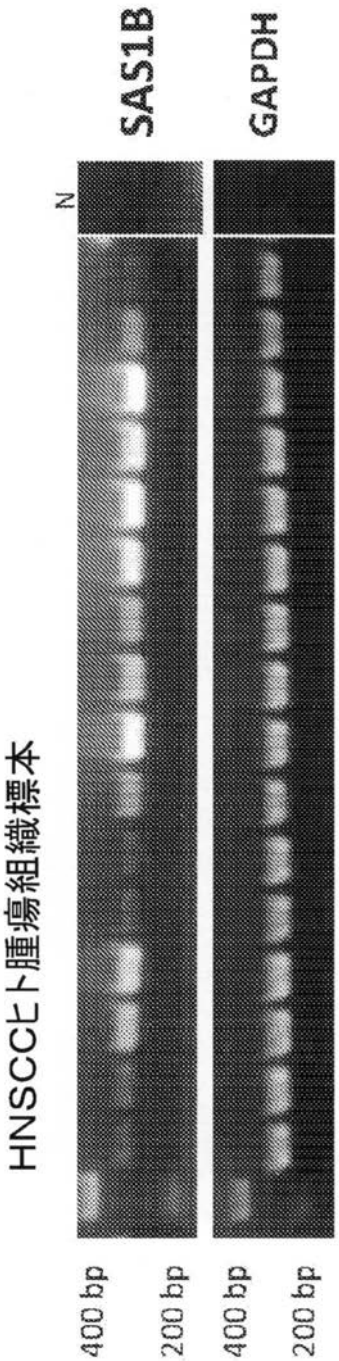
【図１０】



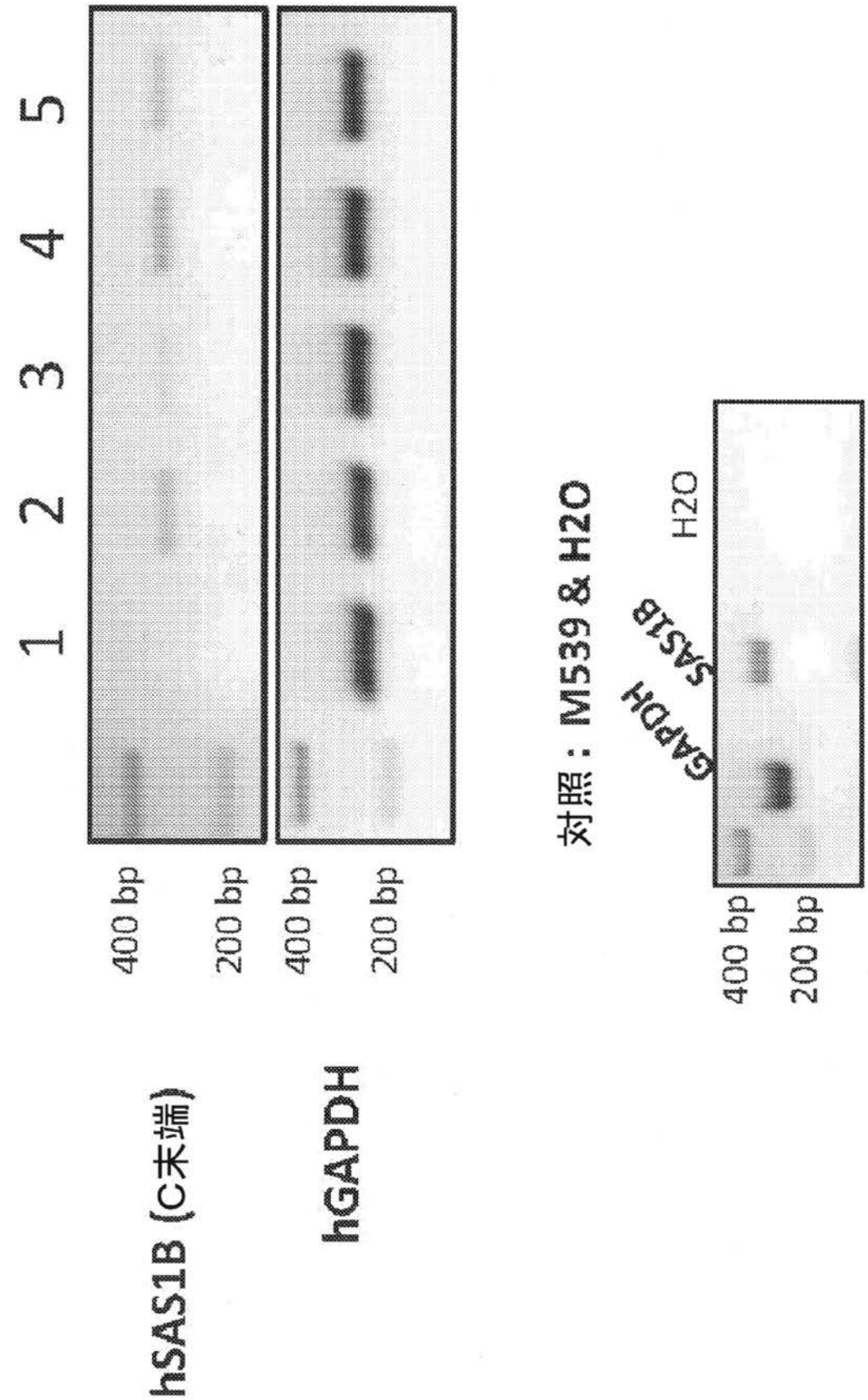
A: SAS_1B C末端プライマー
B: GAPDH プライマー

M: ラダー	SAS1Bの結果
1: M55	1: +
2: M48	2: + (塩基配列決定用に送付)
3: M80	3: −
4: MAD12−00052	4: −
5: MAD12−00038	5: +
6: MAD12−00013	6: +
7: MAD12−00079	7: +
8: MAD12−00045	8: +
9: M539	9: + (+VE 対照)
10: dH_2O	10: −
11: 正常な腎臓	11: −

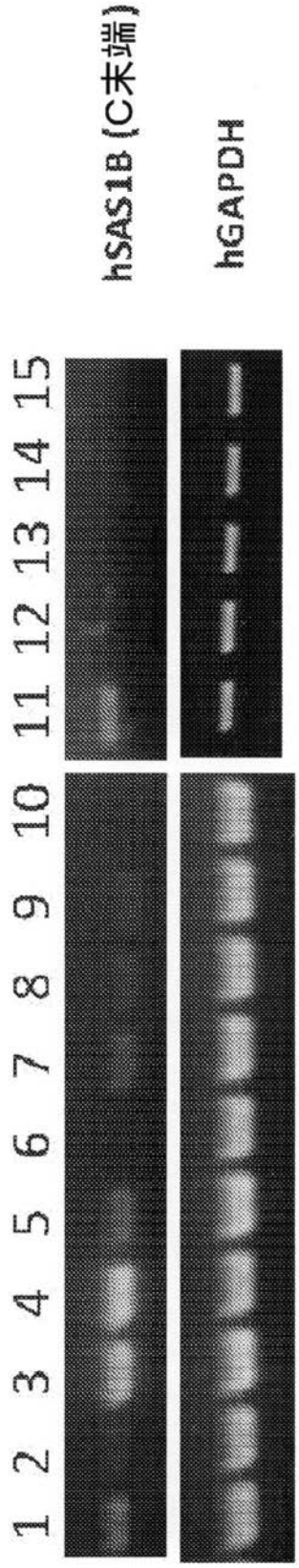
【図１２】



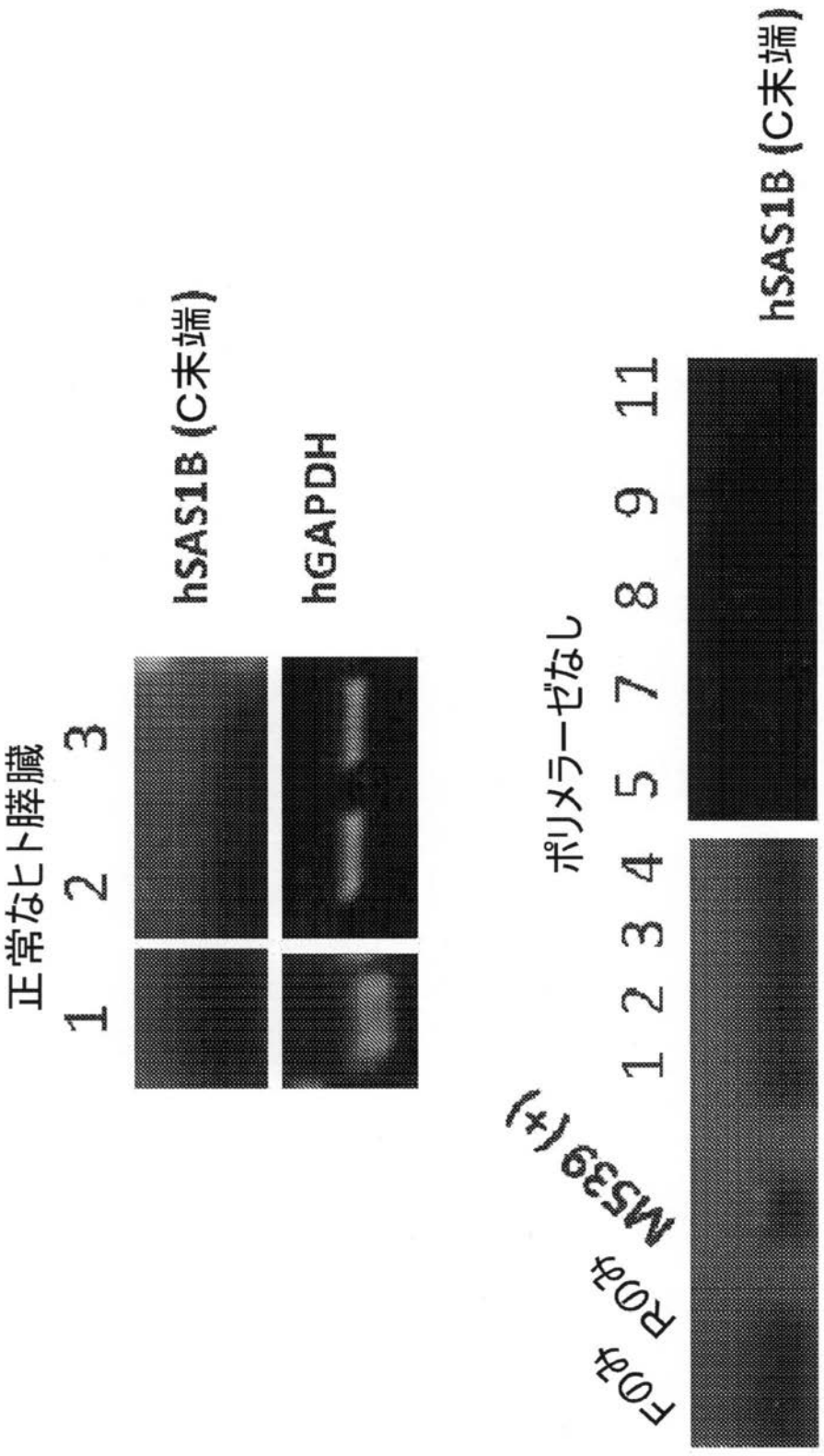
【図１３】


1 2 3 4 5
400 bp
200 bp
400 bp
200 bp
hSAS1B (C末端)
hGAPDH
対照：M539 & H2O
GAPDH
SAS1B
H2O
400 bp
200 bp

【図１４】



【図１５】



【配列表】
2015522567000001.app

【国際調査報告】

61500270006

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 13/45745

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 39/395, A61P 35/00, C12Q 1/68, G01N 33/574 (2013.01)
USPC - 424/155.1, 424/174.1, 514/19.3
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 - A61K 39/395, A61P 35/00, C12Q 1/68, G01N 33/574 (2013.01)
USPC - 424/155.1, 424/174.1, 514/19.3

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC - 424/133.1, 424/135.1, 424/136.1, 424/141.1, 435/6.12, 435/7.21
(keyword limited - see terms below)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PatBase, Google Scholar, Search terms: cancer or tumor or neoplas* or malignan*; SAS1R or SAS1B; immunotoxin; conjugate or fusion or chimer*; antibod* or monoclonal or polyclonal or chimeric or human or humanized; F(ab')2 or F(ab)2 or Fab' or Fab; Type I ribosome inactivating protein; saporin

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	WO 2012/019184 A2 (HERR et al.) 09 February 2012 (09.02.2012) entire document, especially pg 8, ln 3-4; p 11, ln 26-31; pg 12, ln 2-10; pg 45, ln 17-18; pg 84, ln 1-7; pg 12, ln 1; pg 24, ln 29-31; pg 87, ln 29-32; pg 114, ln 28; pg 90, ln 17-19; pg 108, ln 33	1, 4-9, 12-17, 20-28 2-3, 10-11, 18-19
Y	WO 94/21813 A1 (LAPPI et al.) 29 September 1994 (29.09.1994) p 7, ln 7-15; p 7, ln 27-29	2-3, 10-11, 18-19
A	US 2010/0183617 A1 (HERR et al.) 22 July 2010 (22.07.2010) entire document	1-28
A	US 2008/0138336 A1 (DAMSCHRODER et al.) 12 June 2008 (12.06.2008) para [0226]	2-3, 10-11, 18-19

☐ 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
17 December 2013 (17.12.2013)	10 JAN 2014
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. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774 24. 4. 2015

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 13/45745

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.:
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:
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 1-19, drawn to compositions and methods to treat cancer

Group II: Claims 20-28, drawn to a method to diagnose cancer

—please see continuation on extra sheet—

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.:

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.

3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 13/45745

Continuation of:
Box No. III Observations where unity of invention is lacking

The inventions listed as Groups I and 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 an immunotoxin conjugate comprising an antibody and a cytotoxic agent, wherein the immunotoxin conjugate binds to SAS1R, as required by Group I.

Group I does not require measuring SAS1B in a biological sample, as required by Group II.

Common Technical Features

The feature shared by Groups I and II is SAS1R and cancer (Note: SAS1R is also referred to as SAS1B by Applicants, see specifications, p 5, ln 33). However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is taught by WO 2012/019184 A2 to Herr et al. (published 9 February 2012; hereinafter 'Herr'). Herr discloses that SAS1R is a cancer-oocyte antigen/biomarker (p 5, ln 25-29). Herr further discloses methods for diagnosing cancer in a subject comprising detecting the presence of SAS1R in a biological sample (p 6, ln 23-27). Herr also discloses compositions and methods for treating SAS1R positive cancer (p 10, ln 22-23) including antagonists such as antibodies that bind to SAS1R (p 11, ln 1-9). As the shared technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Groups I and II therefore lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
A61P	***35/02***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｌ	
A61K	***38/00***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｔ	
Ｃ１２Ｎ	*15/113*	*(2010.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ｃ１２Ｎ	*15/09*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/02		
Ｃ０７Ｋ	*16/40*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	37/02		
Ｃ１２Ｑ	*1/68*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/00	Ｇ	
			Ｃ１２Ｎ	15/00	Ａ	
			Ｃ０７Ｋ	16/40		
			Ｃ１２Ｑ	1/68	Ａ	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,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,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,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,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC

(71)出願人 514318091
ユニバーシティ オブ バージニア パテント ファウンデーション ディー／ビー／エイ ユニバーシティ オブ バージニア ライセンシング アンド ベンチャーズ グループ
UNIVERSITY OF VIRGINIA PATENT FOUNDATION, D／B／A UNIVERSITY OF VIRGINIA LICENSING & VENTURES GROUP
アメリカ合衆国 ２２９０２ バージニア州 シャーロッツビル ウエスト メイン ストリート ２５０ スウィート ３００
(74)代理人 100105957
弁理士 恩田 誠
(74)代理人 100068755
弁理士 恩田 博宣
(74)代理人 100142907
弁理士 本田 淳
(72)発明者 ヘア、ジョン シー.
アメリカ合衆国 ２２９０１ バージニア州 シャーロッツビル オールド バラード ロード ８９５
(72)発明者 ピレス、エウゼビオ エス.
アメリカ合衆国 ２２９０３ バージニア州 シャーロッツビル ユニバーシティ ガーデンズ １０６ アパートメント ４
(72)発明者 ヘア、オースティン
アメリカ合衆国 ２２９０１ バージニア州 シャーロッツビル オールド バラード ロード ８９５

Ｆターム(参考) 4B024 AA12 CA01 CA11 CA12 HA14
4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ08 QQ42 QQ52 QQ53 QR32 QR35 QR40 QR55 QR62 QS24 QS25 QS34
4C084 AA02 AA03 BA44 CA13 DA39 MA16 MA52 MA59 MA66 NA05 NA06 NA14 ZB261 ZB271
4C085 AA13 AA14 AA16 AA19 AA27 BB31 BB41 BB43 CC21 CC22

CC23 EE01 GG01 GG02 GG03 GG04 GG06 GG10
4H045 AA11 AA20 AA30 BA72 CA40 DA75 DA76 DA83 EA20 EA51
FA74