(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6744227号
(P6744227)
(45)発行日　令和2年8月19日(2020.8.19)　(24)登録日　令和2年8月3日(2020.8.3)

(51)Int.Cl.　F I
A61K 39/00 (2006.01)　A61K 39/00 ZNAH
A61K 47/54 (2017.01)　A61K 47/54
A61P 37/06 (2006.01)　A61P 37/06
A61P 37/08 (2006.01)　A61P 37/08

請求項の数 38　(全 115 頁)

(21)出願番号　特願2016-570196(P2016-570196)
(86)(22)出願日　平成27年2月20日(2015.2.20)
(65)公表番号　特表2017-507180(P2017-507180A)
(43)公表日　平成29年3月16日(2017.3.16)
(86)国際出願番号　PCT/IB2015/001145
(87)国際公開番号　WO2015/140648
(87)国際公開日　平成27年9月24日(2015.9.24)
審査請求日　平成30年2月20日(2018.2.20)
(31)優先権主張番号　61/942,942
(32)優先日　平成26年2月21日(2014.2.21)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

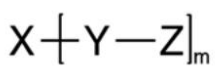
前置審査

(73)特許権者　506067039
エコール・ポリテクニーク・フェデラル・ドゥ・ローザンヌ（ウペエフエル）
Ｅｃｏｌｅ　Ｐｏｌｙｔｅｃｈｎｉｑｕｅ　Ｆｅｄｅｒａｌｅ　ｄｅ　Ｌａｕｓａｎｎｅ　（ＥＰＦＬ）
スイス、ツェーハー－１０１５ローザンヌ、ウペエフエル・イノヴァシオン・パルク・ジ、ウペエフエル－テテオ

最終頁に続く

(54)【発明の名称】糖標的化治療剤

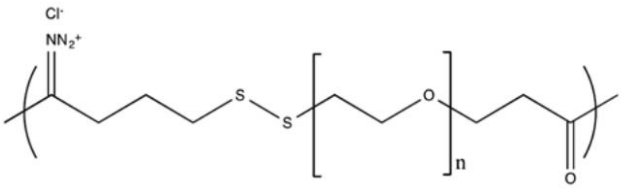
(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
式１の化合物を含む組成物であって：
【化１】



式１

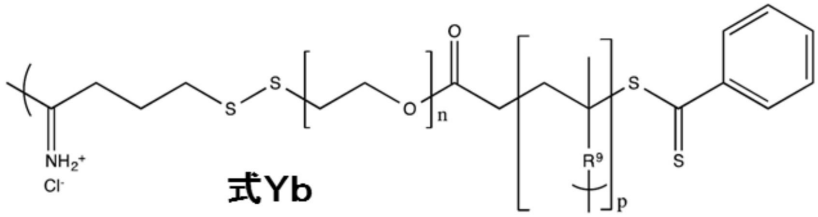
ここで：
ｍが約１から１００の整数であり；
Ｘが、望ましくない免疫応答を誘導する抗原、その免疫寛容誘導部分もしくはそれらの模倣体を含み；
Ｘが、
食物、動物、植物もしくは環境の抗原；
自己抗原；
治療薬；または
移植抗原を含み；
Ｙが、ジスルファニルエチルエステルを含むリンカー部分を含むか、またはいったん細胞の内側に入るとその最初の形態において抗原、その免疫寛容誘導部分もしくはそれらの模

倣体を切断し、かつ解放するように構成されたジスルフィド結合のスルフィドを含むリンカー部分を含み；かつ
Ｚが、ガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンを含む、組成物。
【請求項２】
Ｚが、Ｎ－アセチルガラクトサミンを含む、請求項１に記載の組成物。
【請求項３】
ＹにそのＣ１、Ｃ２またはＣ６でコンジュゲートされたＺを含む、請求項１または２に記載の組成物。
【請求項４】
Ｙが、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミジルリンカー、マレイミドリンカー、ビニルスルホンリンカー、ピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）リンカー、ピリジルジチオールリンカー、ｎ－ニトロフェニルカーボネートリンカー、ＮＨＳ－エステルリンカー、またはニトロフェノキシポリ（エチレングリコール）エステルリンカーを使用して製造される、請求項１－３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項５】
Ｙが、式ＹａからＹｐの１つにより表される構造を含み：
【化２】

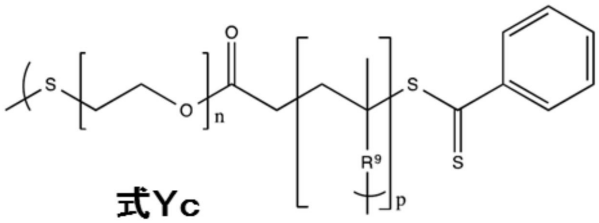


式Ya

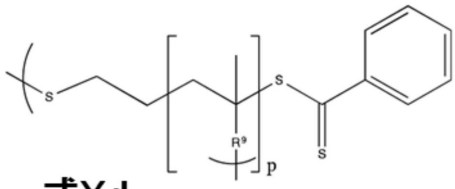
【化３】



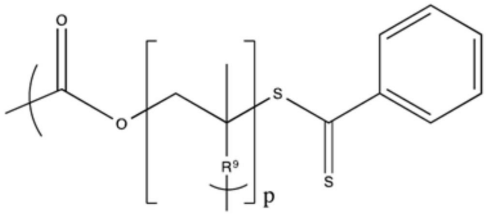
式Yb



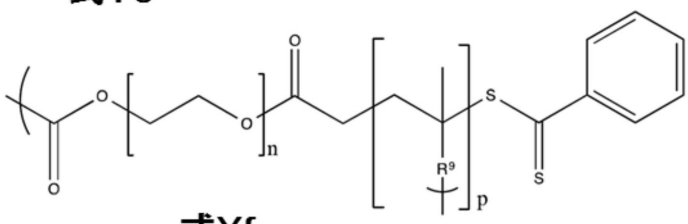
式Yc



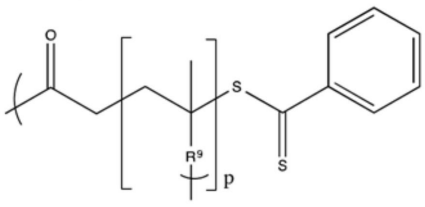
式Yd



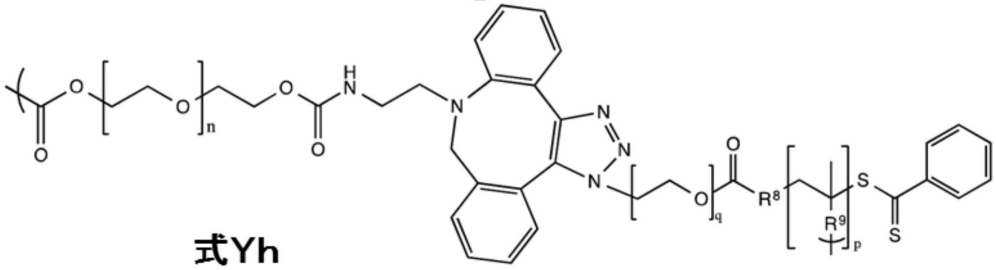
式Ye



式Yf

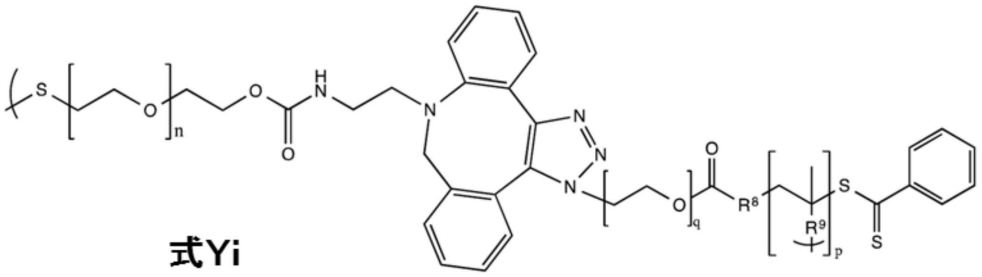


式Yg

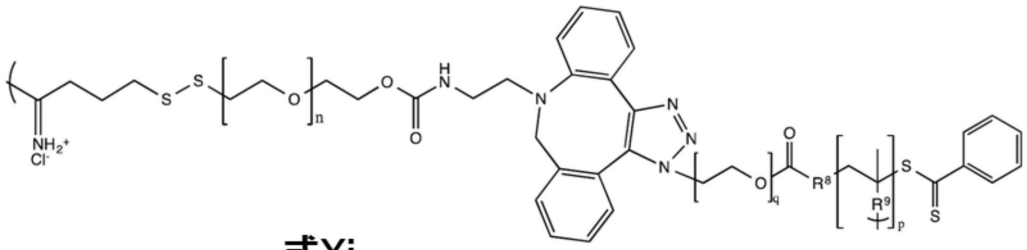


式Yh

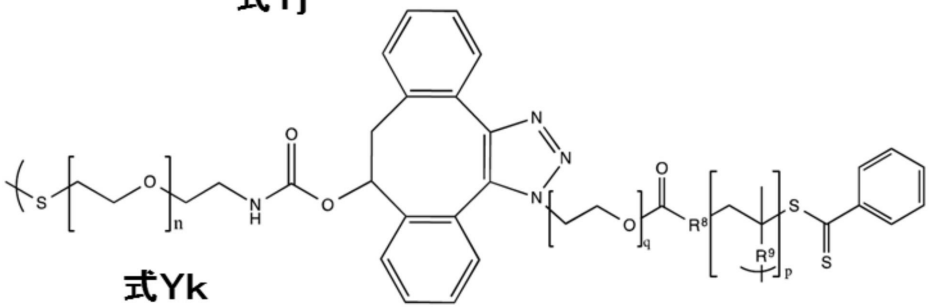
【化４】



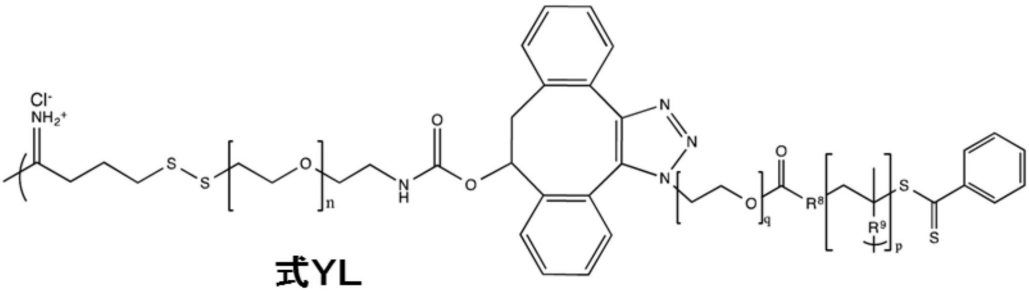
式Yi



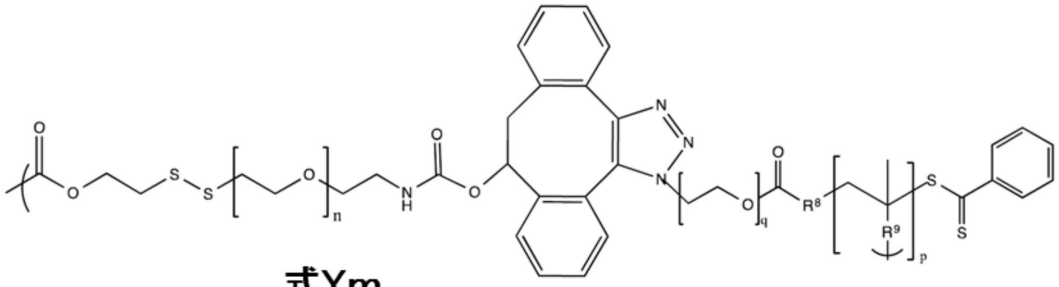
式Yj



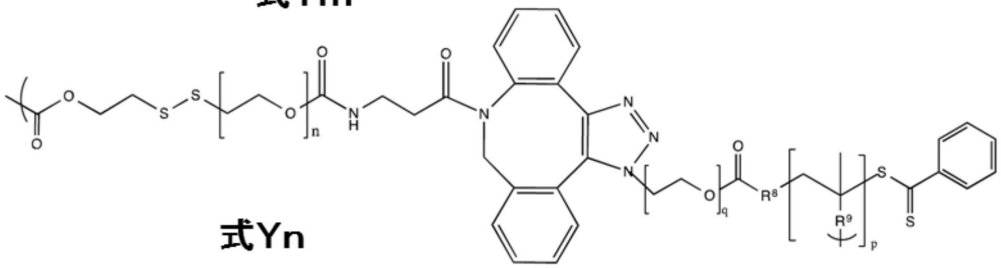
式Yk



式YL

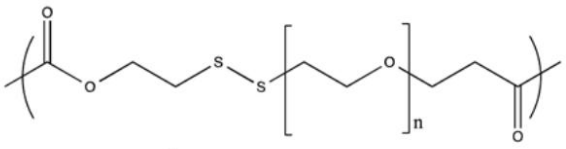


式Ym



式Yn

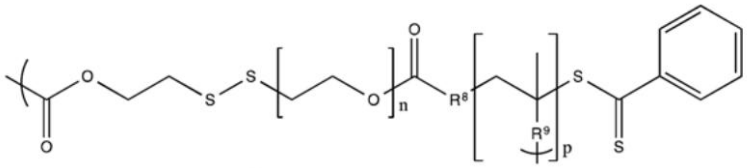
【化５】



式Yo

および

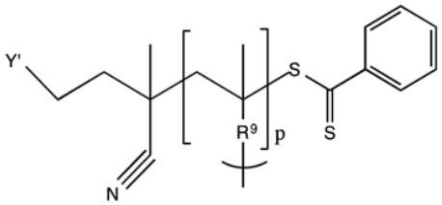
【化６】



式Yp

または式Ｙ’－ＣＭＰにより表される部分を有し：

【化７】



式Y’－CMP

ここで：

左の括弧“（”は、ＸおよびＹ間の結合を示し；

右または下の括弧および“）”は、ＹおよびＺ間の結合を示し；

ｎは約１から１００の整数であり；

ｐは約２から１５０の整数であり；

ｑは約１から４４の整数であり；

R^8は、－CH_2－または－CH_2－CH_2－Ｃ（CH_3）（ＣＮ）－であり；

R^9は、直接結合または－Ｃ（Ｏ）－ＮＨ－CH_2－CH_2－であり；かつ

Ｙ’はＹの残存部分を表す、

請求項１－４のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項６】

ｎが約４０から８０であり；

ｐが約１０から１００であり；

ｑが約３から２０であり；

R^8が－CH_2－CH_2－Ｃ（CH_3）（ＣＮ）－であり；かつ

R^9が－Ｃ（Ｏ）－ＮＨ－CH_2－CH_2－である場合に、Ｚが、そのＣ１でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである、

請求項５に記載の組成物。

【請求項７】

Ｙが、式Ｙａ、式Ｙｂ、式Ｙｃ、式Ｙｈ、式Ｙｉ、式Ｙｋ、式Ｙｍまたは式Ｙｎを含む、請求項５または６に記載の組成物。

【請求項８】

Ｙが、式Ｙｃまたは式Ｙｍを含む、請求項５または６に記載の組成物。

【請求項９】

Ｘが食物抗原を含み、ここで食物抗原が、コンアラキン（Ａｒａ　ｈ　１）、アレルゲンＩＩ（Ａｒａ　ｈ　２）、ピーナッツアグルチニン、コングルチン（Ａｒａ　ｈ　６）、３１ｋｄａの主要アレルゲン／疾病寛容タンパク質相同体（Ｍａｌ　ｄ　２）、脂質転移タンパク質前駆物質（Ｍａｌ　ｄ　３）、主要アレルゲンＭａｌ　ｄ　１．０３Ｄ（Ｍａｌ　ｄ　１）、α－ラクトアルブミン（ＡＬＡ）、ラクトトランスフェリン、アクチニジン（Ａｃｔ　ｃ　１、　Ａｃｔ　ｄ　１）、フィトシスタチン、タウマチン－様タンパク質（Ａｃｔ　ｄ　２）、キウェリン（Ａｃｔ　ｄ　５）、オボムコイド、オボアルブミン、オボトランスフェリン、およびリゾチーム、リベチン、アポビチリン（ａｐｏｖｉｔｉｌｌｉｎ）、ボスベチン（ｖｏｓｖｅｔｉｎ）、２Ｓ　アルブミン（Ｓｉｎ　ａ　１）、１１Ｓ　グロブリン（Ｓｉｎ　ａ　２）、脂質転移タンパク質（Ｓｉｎ　ａ　３）、プロフィリン（Ｓｉｎ　ａ　４）、プロフィリン（Ａｐｉ　ｇ　４）、高分子量糖タンパク質（Ａｐｉ　ｇ　５）、Ｐｅｎ　ａ　１アレルゲン（Ｐｅｎ　ａ　１）、アレルゲン　Ｐｅｎ　ｍ　２（Ｐｅｎ　ｍ　２）、トロポミオシン速筋型アイソフォーム、高分子量グルテニン、低分子量グルテニン、アルファー、ガンマーおよびオメガーグリアジン、ホルデイン、セカリン、アベニン、主要イチゴアレルギーＦｒａ　ａ　１－Ｅ　（Ｆｒａ　ａ　１）、プロフィリン（Ｍｕｓ　ｘｐ　１）、前記抗原のいずれかの部分、および前記抗原のいずれかの模倣体からなる群から選択される、請求項１－８のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項１０】

食物抗原が、高分子量グルテニン、低分子量グルテニン、アルファー、ガンマーおよびオメガーグリアジン、ホルデイン、セカリン、アベニン、前記抗原のいずれかの部分、および前記抗原のいずれかの模倣体からなる群から選択される、請求項９に記載の組成物。

【請求項１１】

Ｘが自己抗原を含み、ここで、自己抗原が、インスリン、プロインスリン、プレプロインスリン、グルタミン酸デカルボキシラーゼ－６５（ＧＡＤ－６５）、ＧＡＤ－６７、インスリノーマ－関連タンパク質２（ＩＡ－２）、およびインスリノーマ－関連タンパク質２β（ＩＡ－２β）、ＩＣＡ６９、ＩＣＡ１２（ＳＯＸ－１３）、カルボキシペプチダーゼＨ、Ｉｍｏｇｅｎ　３８、ＧＬＩＭＡ　３８、クロモグラニンＡ、ＨＳＰ－６０、カルボキシペプチダーゼＥ、ペリフェリン、２型グルコース輸送体、肝細胞癌－腸－膵臓／膵臓の関連タンパク質、Ｓ１００β、グリア線維性酸性タンパク質、再生遺伝子ＩＩ、膵臓十二指腸ホメオボックス１、筋強直性ジストロフィーキナーゼ、膵島特異的グルコース－６－ホスファターゼ触媒サブユニット－関連タンパク質、ＳＳＴ　Ｇ－タンパク質共役型受容体１－５、および前記抗原のいずれかの部分、ならびに前記抗原のいずれかの模倣体から選択される、請求項１－８のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項１２】

Ｘが自己抗原を含み、ここで、自己抗原がミエリン塩基性タンパク質、ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質、プロテオリピドタンパク質、前記抗原のいずれかの部分、および前記抗原のいずれかの模倣体から選択される、請求項１－８のいずれか一項に記載の組成物。

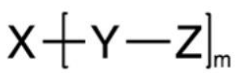
【請求項１３】

Ｘが治療薬を含み、ここで、治療薬がアブシキシマブ、アダリムマブ、アガルシダーゼアルファ、アガルシダーゼベータ、アルデスロイキン、アルグルコシダーゼアルファ、第ＶＩＩＩ因子、第ＩＸ因子、インフリキシマブ、Ｌ－アスパラギナーゼ、ラロニダーゼ、ナタリズマブ、オクトレオチド、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（ＰＡＬ）、もしくはラスブリカーゼ（ウリカーゼ）、前記抗原のいずれかの部分、ならびに前記抗原のいずれかの模倣体から選択される、請求項１－８のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項１４】

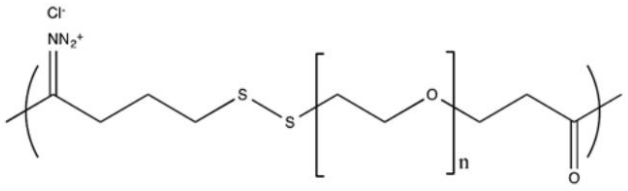
Ｘが移植抗原を含み、ここで、移植抗原が、ＭＨＣクラスＩおよびＭＨＣクラスＩＩハプロタイプタンパク質のサブユニット、ならびに少数の血液型抗原ＲｈＣＥ、Ｋｅｌｌ、Ｋｉｄｄ、ＤｕｆｆｙおよびＳｓからなる群から選択される、請求項１－８のいずれか一

項に記載の組成物。
【請求項１５】
式１の化合物を含む、哺乳類における望ましくない免疫応答の治療における使用のための医薬：
【化８】



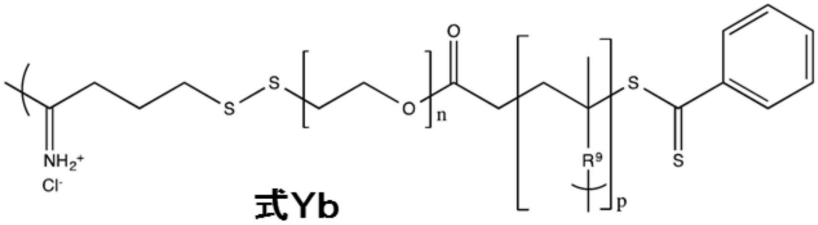
式1

ここで：
ｍは約１から１００の整数であり；
Ｘは、望ましくない免疫応答を誘導する抗原、もしくはその免疫寛容誘導部分を含み；
Ｘが、
患者が望ましくない免疫応答を発症する食物、植物または環境の抗原；
患者が望ましくない免疫応答を発症する内在性型に対する自己抗原；
患者が望ましくない免疫応答を発症する治療薬；または
移植患者が望ましくない免疫応答を発症する移植抗原；を含み、
Ｙはジスルファニルエチルエステルを含むリンカー部分を含むか、またはいったん細胞の内側に入るとその最初の形態において抗原、その免疫寛容誘導部分もしくはそれらの模倣体を切断し、かつ解放するように構成されたジスルフィド結合のスルフィドを含むリンカー部分を含み；かつ
Ｚはガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンを含む、医薬。
【請求項１６】
セリアック病もしくは他の食物アレルギー、１型糖尿病、多発性硬化症、血友病、治療薬へのアレルギー反応、または移植組織拒絶反応の治療のための、請求項１５に記載の医薬。
【請求項１７】
Ｙが、式ＹａからＹｐの１つにより表される構造を含み：
【化９】

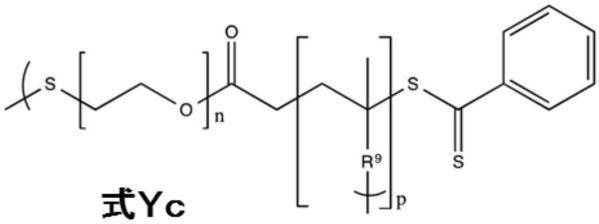


式Ya

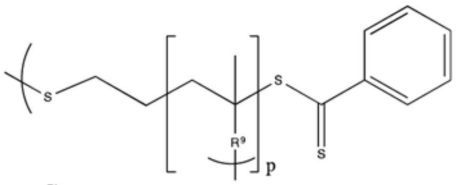
【化１０】



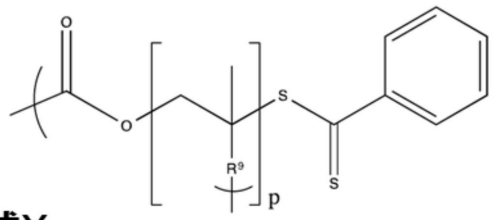
式Yb



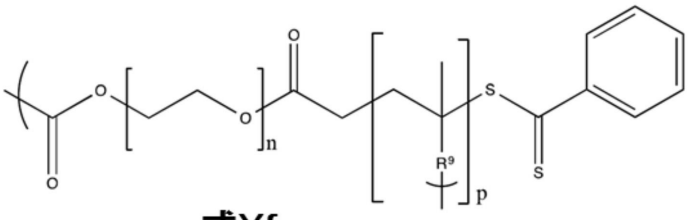
式Yc



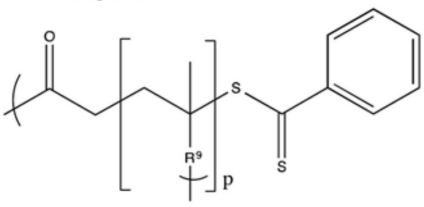
式Yd



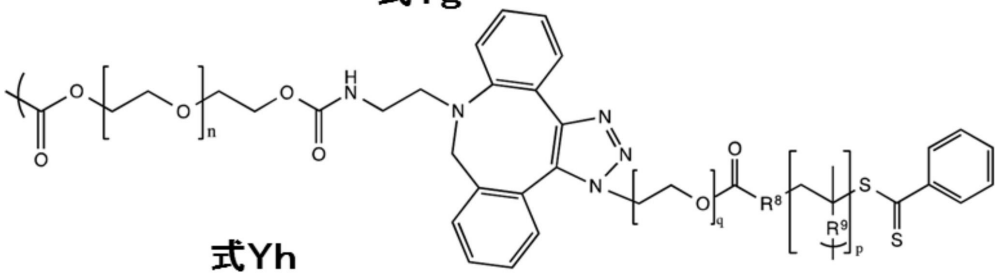
式Ye



式Yf

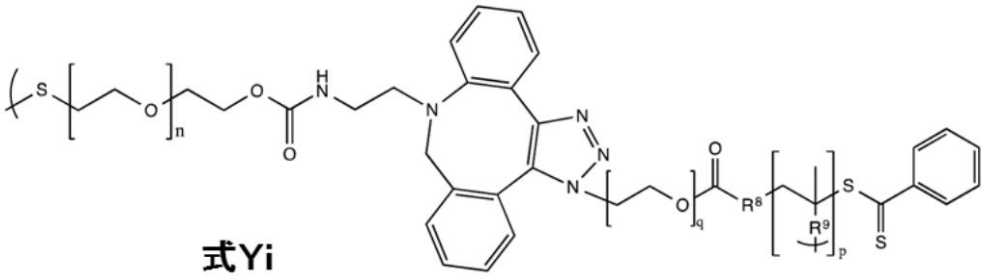


式Yg

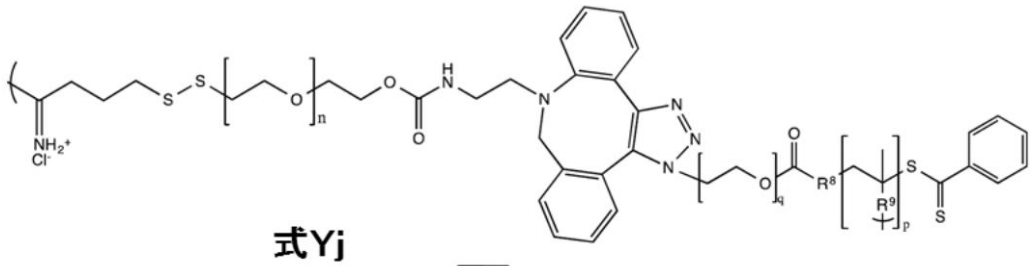


式Yh

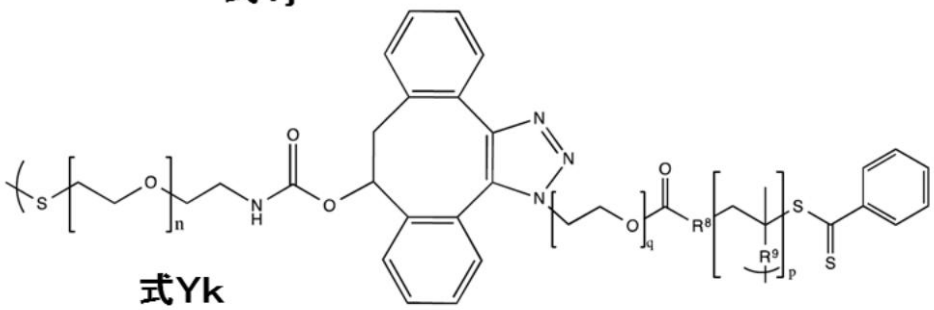
【化１１】



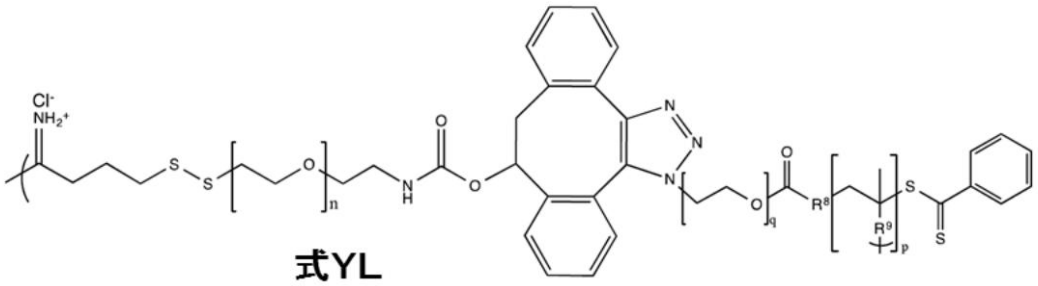
式Yi



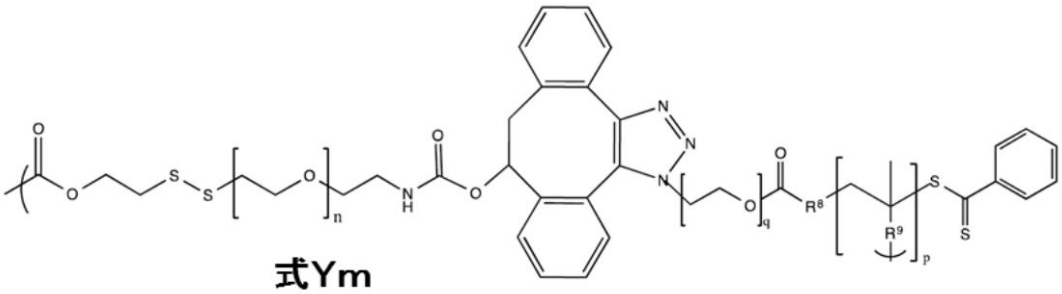
式Yj



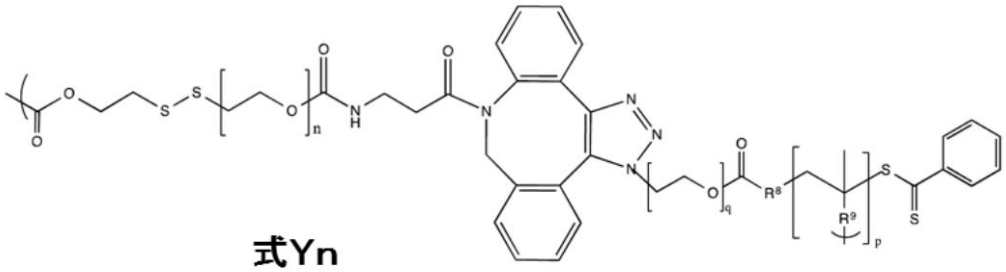
式Yk



式YL

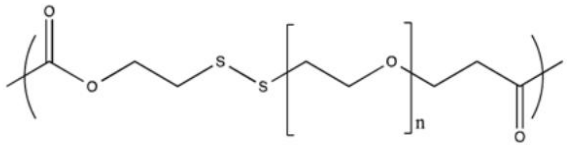


式Ym



式Yn

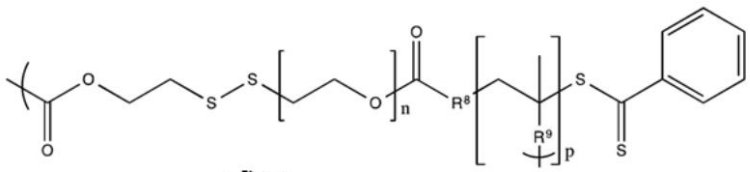
【化１２】



式Yo

および

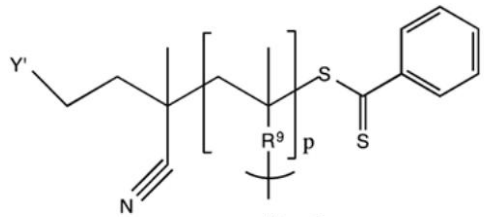
【化１３】



式Yp

または式Ｙ’－ＣＭＰにより表される部分を有し：

【化１４】



式Y’－CMP

ここで：

左の括弧“（”は、ＸおよびＹ間の結合を示し；

右または下の括弧および“）”は、ＹおよびＺ間の結合を示し；

ｎは約１から１００の整数であり；

ｐは約２から１５０の整数であり；

ｑは約１から４４の整数であり；

R^8は、－CH_2－または－CH_2－CH_2－Ｃ（CH_3）（ＣＮ）－であり；

R^9は、直接結合または－Ｃ（Ｏ）－ＮＨ－CH_2－CH_2－であり；ならびに

Ｙ’はＹの残存部分を表す、

請求項１５または１６に記載の医薬。

【請求項１８】

前記組成物が、抗原部分Ｘに関する寛容化のための投与に適している、請求項１５－１７のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項１９】

Ｘが：

移植患者が望ましくない免疫応答を発症する移植抗原；

患者が望ましくない免疫応答を発症する食物、動物、植物もしくは環境の抗原；

患者が望ましくない免疫応答を発症する治療薬；もしくは

患者が望ましくない免疫応答を発症する内在性型に対する合成自己抗原、または

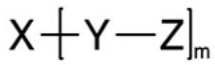
それらの免疫寛容誘導部分

を含む、請求項１５－１８のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項２０】

式１の化合物を含む組成物であって：

【化１５】



式1

ここで：
ｍが約１から１００の整数であり；
Ｘが、望ましくない免疫応答を誘導する抗原、もしくはその免疫寛容誘導部分を含み；
Ｙが、ジスルファニルエチルエステルを含むリンカー部分を含むか、またはいったん細胞の内側に入るとその最初の形態において抗原、その免疫寛容誘導部分もしくはそれらの模倣体を切断し、かつ解放するように構成されたジスルフィド結合のスルフィドを含むリンカー部分を含み；かつ
Ｚが、ガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンを含む、組成物。

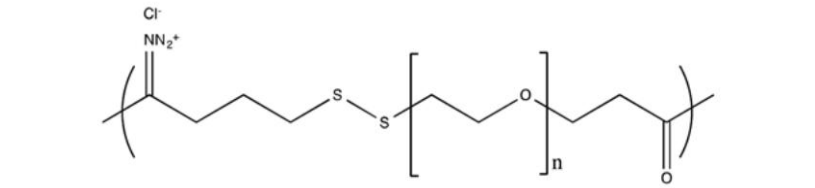
【請求項２１】
Ｚが、Ｎ－アセチルガラクトサミンを含む、請求項２０に記載の組成物。

【請求項２２】
ＹにそのＣ１、Ｃ２またはＣ６でコンジュゲートされたＺを含む、請求項２０または２１に記載の組成物。

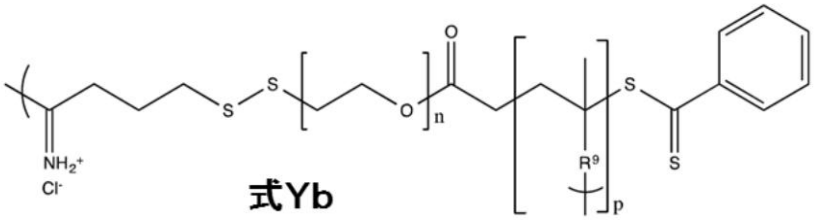
【請求項２３】
Ｙが、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミジルリンカー、マレイミドリンカー、ビニルスルホンリンカー、ピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）リンカー、ピリジルジチオールリンカー、ｎ－ニトロフェニルカーボネートリンカー、ＮＨＳ－エステルリンカー、またはニトロフェノキシポリ（エチレングリコール）エステルリンカーを使用して製造される、請求項２０－２２のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２４】
Ｙが、式ＹａからＹｐの１つにより表される構造を含み：

【化１６】

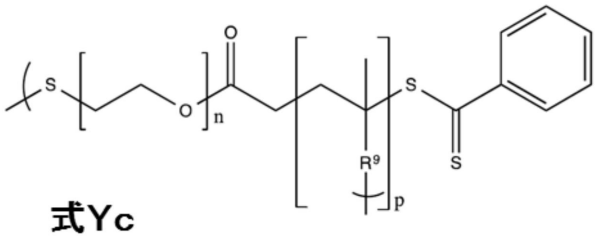


式Ya

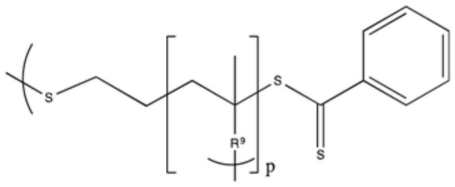


式Yb

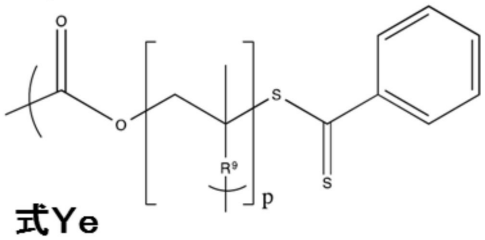
【化１７】



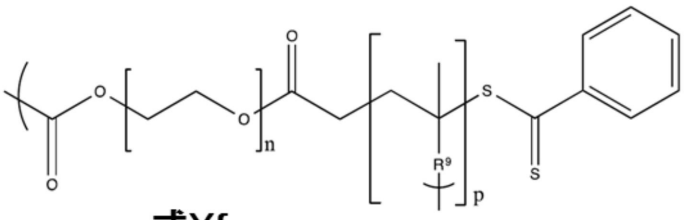
式Yc



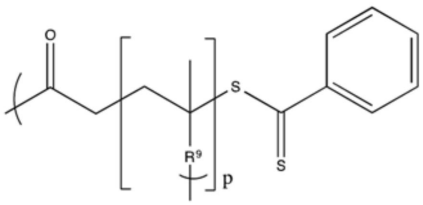
式Yd



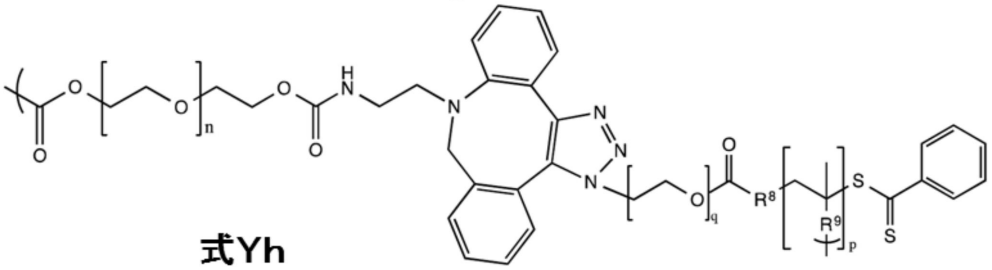
式Ye



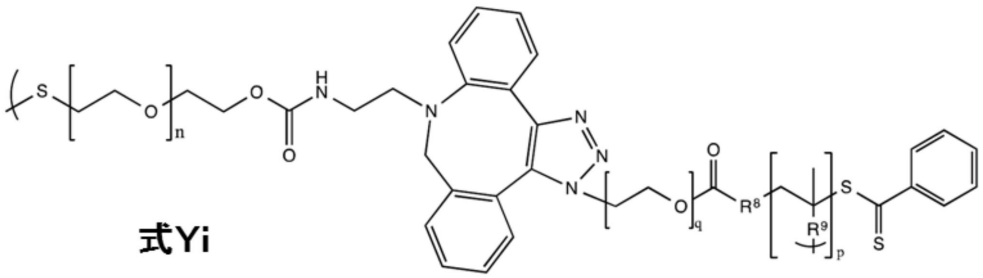
式Yf



式Yg

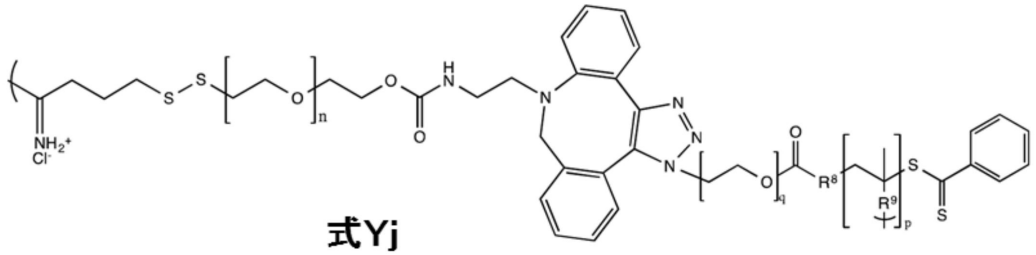


式Yh

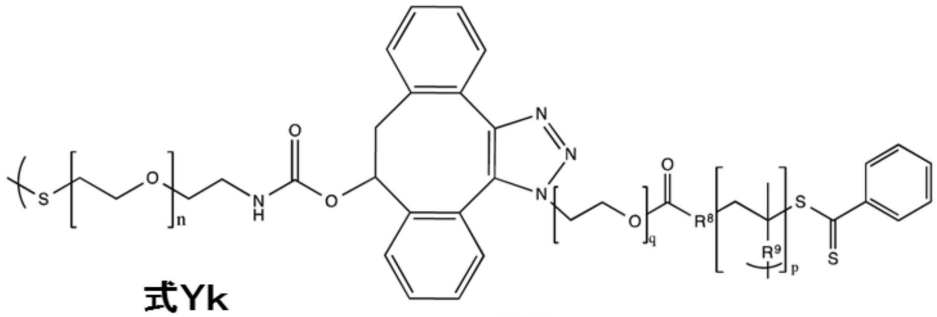


式Yi

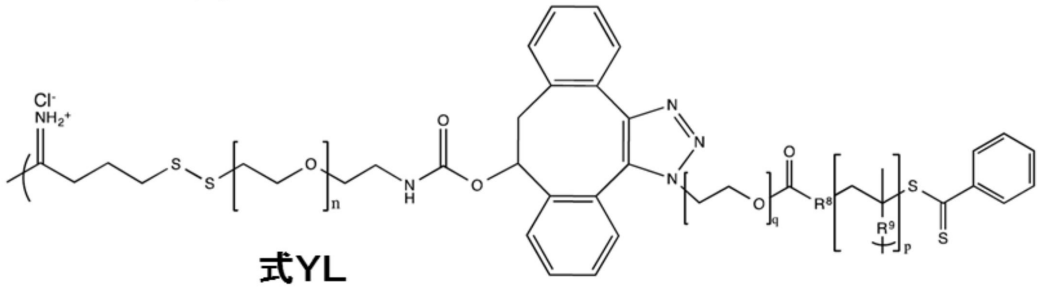
【化１８】



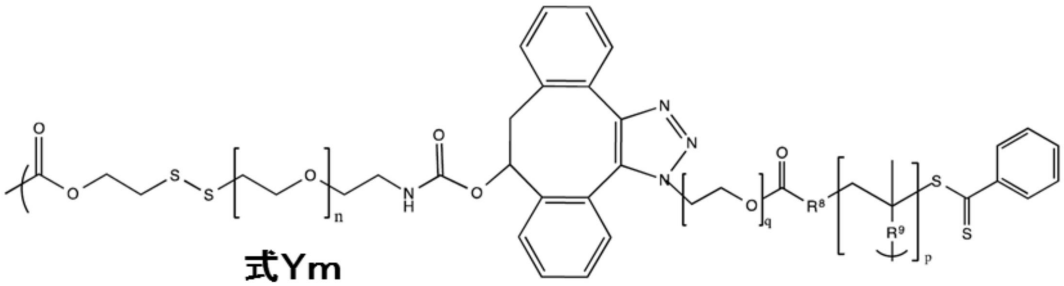
式Yj



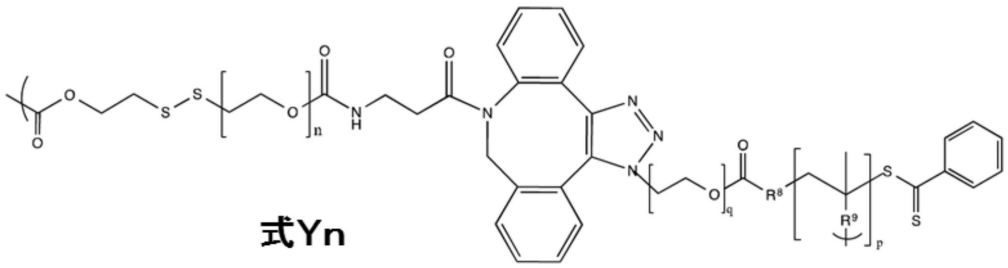
式Yk



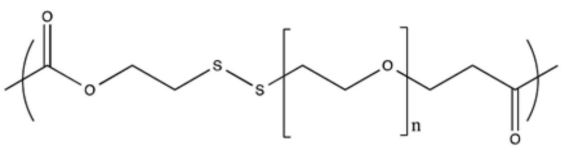
式YL



式Ym



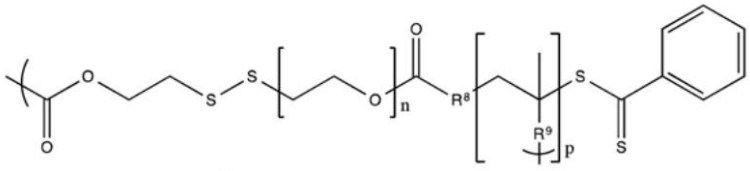
式Yn



式Yo

および

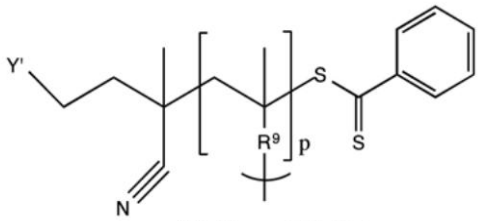
【化１９】



式Yp

または式Ｙ’－ＣＭＰにより表される部分を有し：

【化２０】



式Y’－CMP

ここで：

左の括弧“（”は、ＸおよびＹ間の結合を示し；

右または下の括弧および“）”は、ＹおよびＺ間の結合を示し；

ｎは約１から１００の整数であり；

ｐは約２から１５０の整数であり；

ｑは約１から４４の整数であり；

R^8は、－CH_2－または－CH_2－CH_2－Ｃ（CH_3）（ＣＮ）－であり；

R^9は、直接結合または－Ｃ（Ｏ）－ＮＨ－CH_2－CH_2－；および

Ｙ’はＹの残存部分を表す、請求項２０－２３のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２５】

ｎが約４０から８０であり；

ｐが約１０から１００であり；

ｑが約３から２０であり；

R^8が－CH_2－CH_2－Ｃ（CH_3）（ＣＮ）－であり；かつ

R^9が－Ｃ（Ｏ）－ＮＨ－CH_2－CH_2－である場合に、Ｚが、そのＣ１でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである、請求項２４に記載の組成物。

【請求項２６】

Ｘがセリアック病に関連する抗原である、請求項１－８または２０－２５のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２７】

Ｘが１型糖尿病に関連する抗原である、請求項１－８または２０－２５のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２８】

Ｘが多発性硬化症に関連する抗原である、請求項１－８または２０－２５のいずれか一項に記載の組成物。

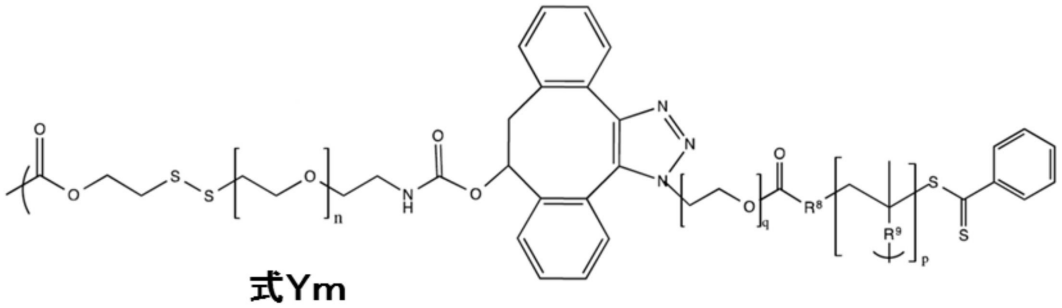
【請求項２９】

Ｘが治療薬への有害反応に関連する抗原である、請求項１－８または２０－２５のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項３０】

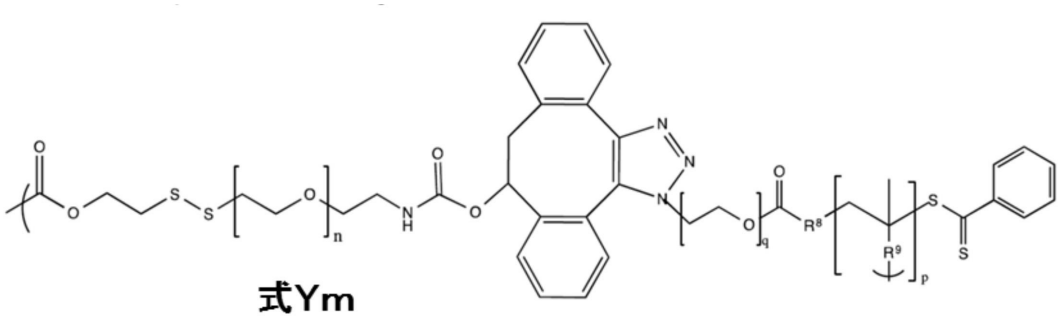
Ｘが組織移植への有害反応に関連する抗原である、請求項１－８または２０－２５のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項３１】
Ｘがグリアジン、その部分、またはそれらの模倣体であり、かつＺが、ガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンを含む、請求項１に記載の組成物。
【請求項３２】
Ｙが、
【化２１】



式Ym

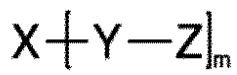
である、請求項３１に記載の組成物。
【請求項３３】
Ｘがプロインスリン、その部分、またはそれらの模倣体であり、かつＺが、ガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンを含む、請求項１に記載の組成物。
【請求項３４】
Ｙが、
【化２２】



式Ym

である、請求項３３に記載の組成物。
【請求項３５】
Ｙが、Ｙｃを含む、請求項５または６に記載の組成物。
【請求項３６】
Ｘが、ミエリン塩基性タンパク質の免疫原性部分である、請求項１－８または２０－２５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３７】
Ｘが、プロインスリンの免疫原性部分である、請求項１－８または２０－２５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３８】
Ｘが、グリアジンの免疫原性部分である、請求項１－８または２０－２５のいずれか一項に記載の組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、出典明示により本明細書に組み込まれる“糖標的化治療剤（ＧＬＹＣＯＴＡＲＧＥＴＩＮＧ　ＴＨＲＡＰＥＵＴＩＣＳ）”と題される同時係属中の２０１４年２月２

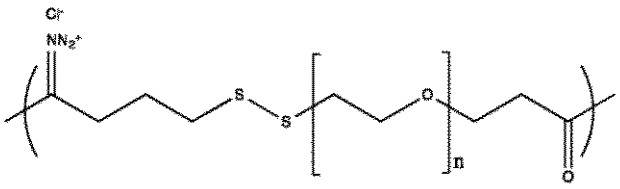
１日に出願された米国仮出願番号第６１／９４２，９４２号の優先権を主張する。
【０００２】
本開示の分野
本開示の分野は、移植拒絶、自己免疫疾患、食物アレルギー、および治療薬に対する免疫応答の治療において有用である薬学的に許容可能な組成物に関する。
【背景技術】
【０００３】
本開示の背景
米国出願第２０１２／００３９９８９号、米国出願第２０１２／０１７８１３９号およびＷＯ２０１３／１２１２９６号は、寛容化のための抗原提示における赤血球の役割を活用する、赤血球への抗原の標的化を記載する。このアプローチでこれまで生じた肯定的な結果にもかかわらず、代替アプローチの可能性への関心が依然としてある。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００４】
本開示の概要
本開示の態様は、式１の化合物を含む組成物を提供する：
【化１】



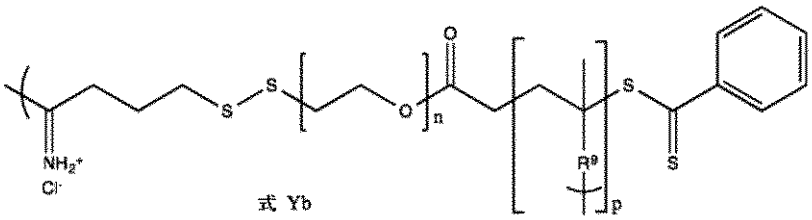
式1

ここで：
ｍは約１から１００の整数であり；
Ｘは、患者が望ましくない免疫応答を発症する抗原、もしくはその免疫寛容誘導部分を含み；または
Ｘは、循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体に特異的に結合する、抗体、抗体フラグメントもしくはリガンドを含み、当該循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体は、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、過敏症および／もしくはアレルギーに原因的に関与し；
Ｙは、リンカー部分を含み；かつ
Ｚは、肝臓標的化部分を含む。
【０００５】
Ｚはまた、例えば、ＹにそのＣ１、Ｃ２またはＣ６でコンジュゲートされたガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンを含みうる。
【０００６】
Ｙは、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミジルリンカー、マレイミドリンカー、ビニルスルホンリンカー、ピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）リンカー、ピリジルジチオールリンカー、ｎ－ニトロフェニルカーボネートリンカー、ＮＨＳ－エステルリンカー、およびニトロフェノキシポリ（エチレングリコール）エステルリンカーから選択されうる。
【０００７】
Ｙはさらに、Ｘに特異的に結合する、抗体、抗体フラグメント、ペプチドもしくは他のリガンド；ジスルファニルエチルエステル；式ＹａからＹｐの１つにより表される構造を含むことができ：

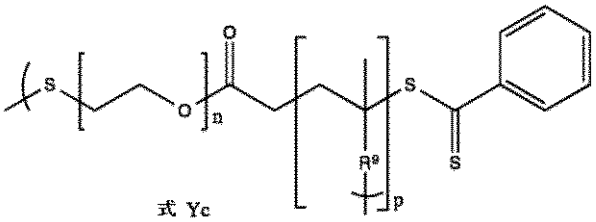
【化２】



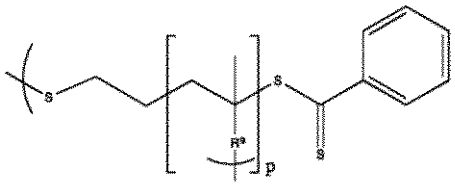
式 Ya



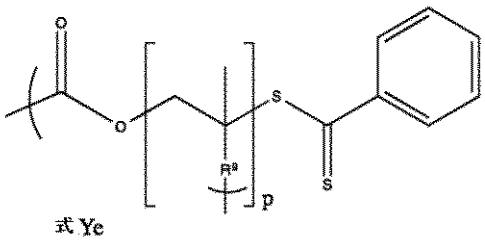
式 Yb



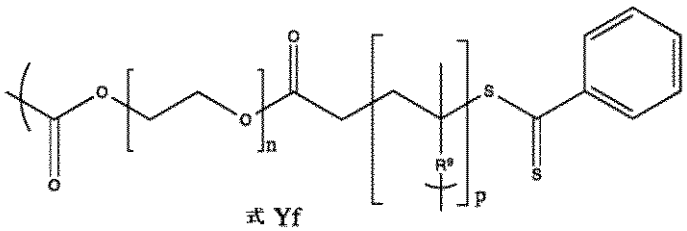
式 Yc



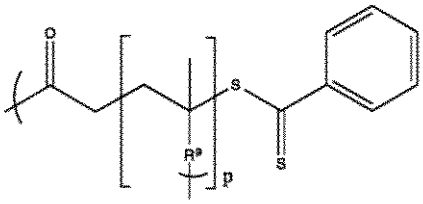
式 Yd



式 Ye

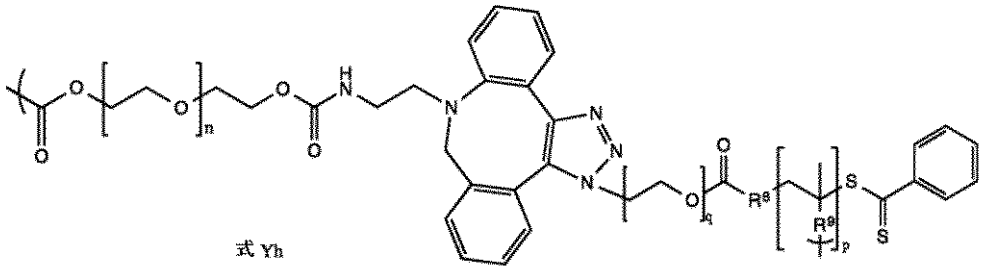


式 Yf

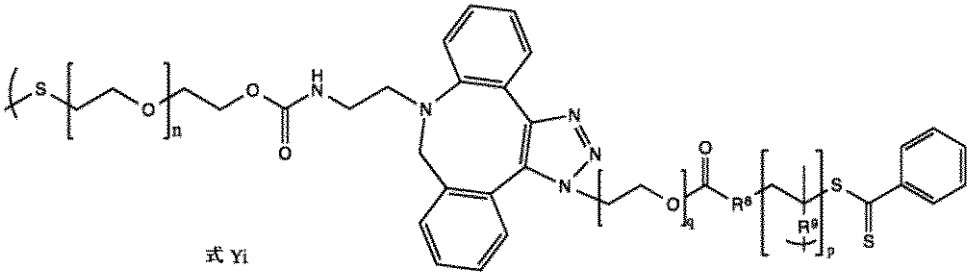


式 Yg

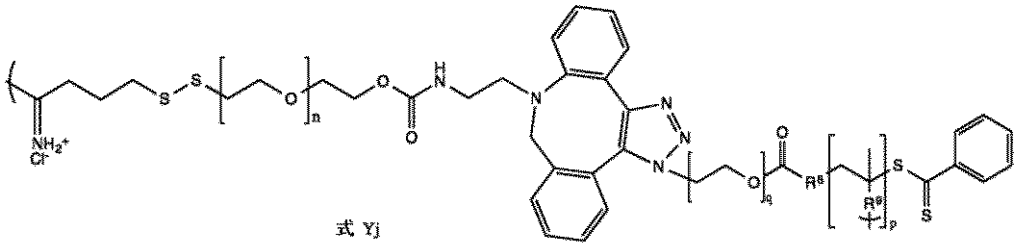
【化３】



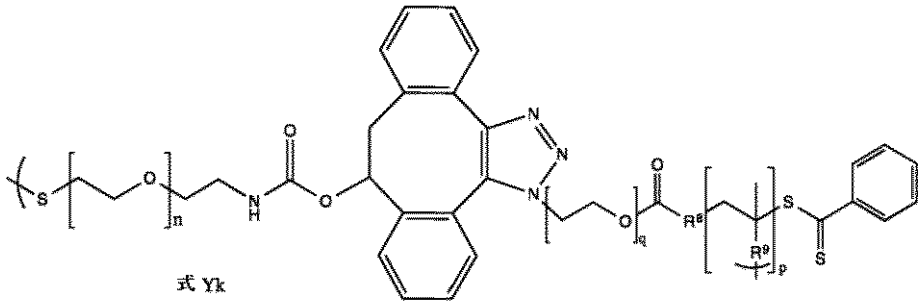
式 Yh



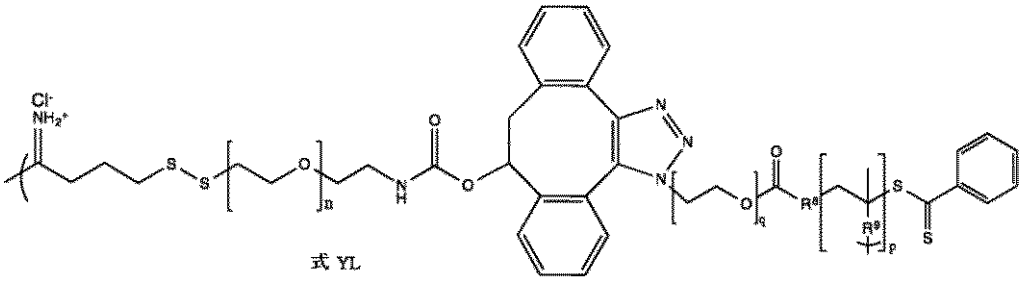
式 Yi



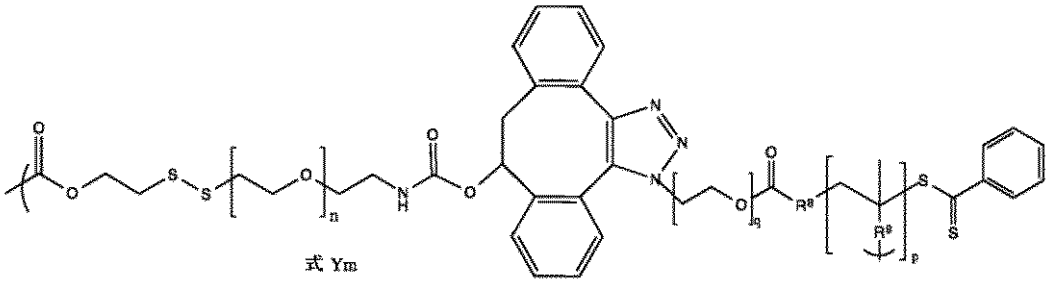
式 Yj



式 Yk

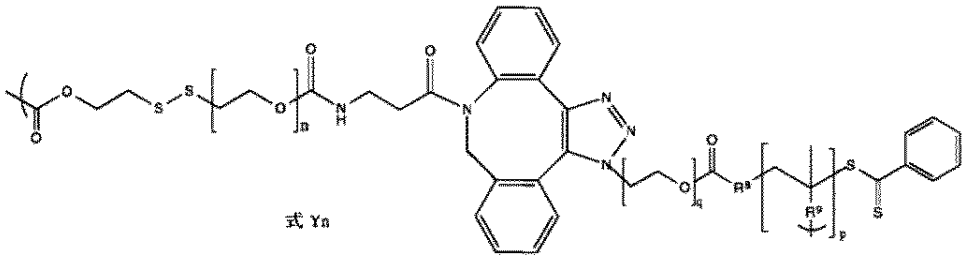


式 YL

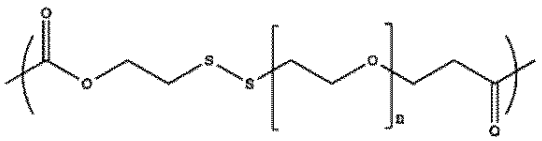


式 Ym

【化４】



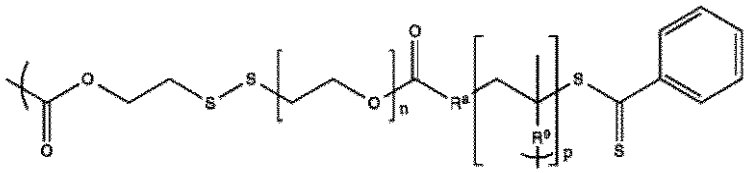
式 Yn



式 Yo

および

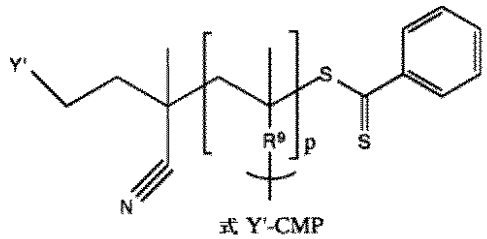
【化５】



式 Yp

または式Ｙ’－ＣＭＰにより表される部分を有する：

【化６】



式 Y'-CMP

ここで：左の括弧“（”は、ＸおよびＹ間の結合を示し；右または下の括弧および“）”は、ＹおよびＺ間の結合を示し；ｎは約１から１００の整数であり；ｐは約２から１５０の整数であり；ｑは約１から４４の整数であり；Ｒ^{8}は、－ＣＨ$_{2}$－または－ＣＨ$_{2}$－ＣＨ$_{2}$－Ｃ（ＣＨ$_{3}$）（ＣＮ）－であり；Ｒ^{9}は、直接結合または－ＣＨ$_{2}$－ＣＨ$_{2}$－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）－であり；かつＹ’は、Ｙの残存部分を表す。

【０００８】

上記の別の態様では、ｎは約４０から８０であり、ｐは約１０から１００であり、ｑは約３から２０であり、Ｒ^{8}は、－ＣＨ$_{2}$－ＣＨ$_{2}$－Ｃ（ＣＨ$_{3}$）（ＣＮ）－であり；かつＲ^{9}が－ＣＨ$_{2}$－ＣＨ$_{2}$－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）－である場合に、Ｚは、そのＣ１でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。

【０００９】

上記のさらに別の態様では、Ｙは、式Ｙａ、式Ｙｂ、式Ｙｈ、式Ｙｉ、式Ｙｋ、式Ｙｍまたは式Ｙｎ、特に式Ｙａ、式Ｙｂ、式Ｙｍまたは式Ｙｎを含む。

【００１０】

Ｘは：移植患者が望ましくない免疫応答を発症する外来性の移植抗原；患者が望ましくない免疫応答を発症する外来性の食物、動物、植物もしくは環境の抗原；患者が望ましくない免疫応答を発症する外来性の治療薬；もしくは患者が望ましくない免疫応答を発症する内在性型に対する合成自己抗原、またはそれらの免疫寛容誘導部分をさらに含みうる。

【００１１】

本開示はまた、かかる治療を必要とする哺乳類に、有効量の、上述の式１の化合物を含む組成物を投与することによる、抗原に対する望ましくない免疫応答のための治療方法に関連する。かかる方法において、抗原部分Ｘに特異的に結合する、循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体のクリアランスのために当該組成物は投与でき、当該循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体は、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、過敏症および／もしくはアレルギーに原因的に関与する。当該組成物は、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、過敏症および／またはアレルギーに原因的に関与する抗体の濃度を患者の血中で少なくとも５０％ｗ／ｗまで減少させるように有効量で投与でき、投与後約１２から約４８時間の間の時間で測定される。当該組成物は抗原部分Ｘに関する患者の寛容化のために投与されうる。

【００１２】

本開示のさらに別の態様は、式２の化合物を含む組成物を提供する：

【化７】



式2

ここで：ｍ’＋ｍ”が１に等しく、かつＺがＤＯＭ　２６ｈ－１９６－６１である場合、Ｘはインターフェロン、リバビリン、ネクサバール／ソラフェニブ、アービタックス／セツキシマブ、アバスタチン／ベバシズマブまたはハーセプチン／トラスツズマブではないという条件で、ｍ’はゼロまたは約１から１０の整数であり、ｍ”はゼロまたは約１から１０の整数であり、かつｍ'＋ｍ”の総和は約１から１０の整数であるが、少なくとも１であり；それぞれＸは、患者が望ましくない免疫応答を発症する、外来性抗原もしくは自己抗原、またはそれらの免疫寛容誘導部分であり；それぞれＹは、リンカー部分もしくは直接結合、またはＸに特異的に結合する、抗体、抗体フラグメント、ペプチドもしくは他のリガンドであり；かつＺは肝臓標的化部分である。

【００１３】

式２を伴う上記態様では、ＺはＡＳＧＰＲ標的化抗体、ＡＳＧＰＲ標的化抗体フラグメント、ＡＳＧＰＲ標的化ペプチド、ＡＳＧＰＲ標的化ｓｃＦｖ、または別のＡＳＧＰＲリガンドを含みうる。Ｙは免疫プロテアソーム切断部位を有するリンカーでありうる。Ｘは、患者が望ましくない免疫応答を発症する関連抗原の群またはその免疫寛容誘導フラグメントの群を含みうる。例えば、Ｘは、以下を含む群から選択されうる：

・　　インスリン、プロインスリン、プレプロインスリン、グルタミン酸デカルボキシラーゼ－６５　ＧＡＤ－６７、グルコース－６－ホスファターゼ２、インスリノーマ－関連タンパク質２、インスリノーマ－関連タンパク質２β、ＩＣＡ６９、ＩＣＡ１２、カルボキシペプチダーゼＨ、Ｉｍｏｇｅｎ３８、ＧＬＩＭＡ３８、クロモグラニンＡ、ＨＳＰ－６０、カルボキシペプチダーゼＥ、ペリフェリン、２型グルコース輸送体、肝細胞癌－腸－膵臓／膵臓の関連タンパク質、Ｓ１００β、グリア線維性酸性タンパク質、再生遺伝子ＩＩ（ｒｅｇｅｎｅｒａｔｅ　ｇｅｎｅ　ＩＩ）、膵臓十二指腸ホメオボックス１、筋強直性ジストロフィーキナーゼ、膵島特異的グルコース－６－ホスファターゼ触媒サブユニット－関連タンパク質、およびＳＳＴ　Ｇタンパク質共役型受容体１－５の２つ以上；

・　　ミエリン塩基性タンパク質、ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質、ミエリンプロテオリピドタンパク質、配列番号：１１、配列番号：１２、配列番号：１３、配列番号：１４、配列番号：１５、配列番号：１６、および配列番号：１７の２つ以上；ならびに

・　　配列番号：２４、配列番号：２５、配列番号：２６、および配列番号：２７の２つ以上。

【００１４】

本開示はまた、かかる治療を必要とする哺乳類に、有効量の、上述の式２の化合物を含む組成物を投与することによる、抗原に対する望ましくない免疫応答のための治療方法に関連する。かかる方法において、抗原部分Ｘに特異的に結合する、循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体のクリアランスのために当該組成物は投与でき、当該循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体は、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、過敏症および／もしくはアレルギーに原因的に関与する。当該組成物は、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、過敏症および／またはアレルギーに原因的に関与する抗体の濃度を患者の血中で少なくとも５０％ｗ／ｗまで減少させるように有効量で投与でき、投与後約１２から約４８時間の間の時間で測定される。当該組成物は抗原部分Ｘに関する患者の寛容化のために投与されうる。

【図面の簡単な説明】

【００１５】

【図１】図１は、ガラクトースコンジュゲーション［Ｆ１ａＡ－ＰＥ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$（Ｇａｌ－ＰＥ）］が、以下を含む肝臓の細胞へＯＶＡを優先的に標的化することを示す一連のグラフである：（Ａ．）類洞内皮細胞（ＬＳＥＣ）、（Ｂ．）クッパー細胞（ＫＣ）、（Ｃ．）肝細胞、および（Ｄ．）他の抗原提示細胞（ＡＰＣ）。

【００１６】

【図２】図２は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$（Ｇａｌ－ＯＶＡ）、ＯＶＡまたは生理食塩水（すなわちナイーブ（ｎａｉｖｅ））で処置されたマウスにおけるＯＴＩ　ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の増殖を示すグラフである。

【００１７】

【図３】図３は、生理食塩水、ＯＶＡまたはＦ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$（ＧＡＬ－ＯＶＡ）で処置された増殖性Ｔ細胞の世代におけるＯＴ－Ｉ　ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞提示表面マーカー（Ａ．）ＰＤ－１$^{+}$および（Ｂ．）アネキシンＶ$^{+}$の割合を示す一連のグラフである。

【００１８】

【図４】図４は、ガラクトースコンジュゲーション［Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$（Ｇａｌ－ＯＶＡ）］がＯＶＡ－特異抗体力価により決定されるＯＶＡの免疫原性を減少させることを示すグラフである（Ａｂ力価ｌｏｇ$^{-1}$で示される）。

【００１９】

【図５】図５は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$（Ｇａｌ－ＯＶＡ）が血清からＯＶＡ－特異的な抗体を枯渇させることができることを示す。

【００２０】

【図６】図６は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$（ｍＧａｌ－ＯＶＡ）、Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－ｍ$_{1}$－ｎ$_{44}$－ｐ$_{34}$（ｐＧａｌ－ＯＶＡ）、およびＮ’－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_{3}$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_{3}$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ’（Ｄｏｍ－ＯＶＡ）が、ＯＶＡおよびアジュバントＬＰＳでの皮内チャレンジ後の流入領域リンパ節におけるＯＶＡ－特異的な免疫応答軽減することができることを示す。

【００２１】

【図７】図７は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$およびＦ１ｂ－ＯＶＡ－ｍ$_{1}$－ｎ$_{44}$－ｐ$_{34}$の特性評価を示す。（Ａ．）Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$（マゼンタ）、Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－ｍ$_{1}$－ｎ$_{44}$－ｐ$_{34}$（青）およびコンジュゲートされていないＯＶＡ（黒色）の、サイズ排除ＨＰＣＬの形跡。左へのシフトは、分子量の増加を表す。（Ｂ．）ＯＶＡコンジュゲーション後の増加した分子量を示すポリアクリルアミドゲル：（１．）コンジュゲートされていないＯＶＡ、（２．）Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$および（３．）Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－ｍ$_{1}$－ｎ$_{44}$－ｐ$_{34}$。

【００２２】

【図８】図８は、静脈内急速投与として注射後のマウスの循環におけるＮ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_{3}$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ（ＯＶＡ）、Ｎ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_{3}$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_{3}$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ（ＤＯＭ－ＯＶＡ）、またはＮ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_{3}$Ｓｅｒ－Ｄ

ＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ（ＯＶＡ　ＤＯＭ）の標準化された量を示すグラフである。

【００２３】

【図９】図９は、生理食塩水、ＤＯＭおよびＯＶＡ、ＤＯＭ－ＯＶＡ、またはＯＶＡ－ＤＯＭでの処置後の個々のマウスの循環における抗ＯＶＡ　ＩｇＧ抗体の力価を示す一連のグラフである。ＯＶＡ単独（ａ）またはＯＶＡおよびＣｐＧ－Ｂ（ｂ）の静脈内注射により抗ＯＶＡ　ＩｇＧの生産が誘導された。処置時間は垂直の破線により示される。力価は、検出可能な抗ＯＶＡ　ＩｇＧを有する血漿の最大倍希釈の$\log_{10}$として計算される。

【００２４】

詳細な説明

２つの公知のアシアロ糖タンパク質受容体（“ＡＳＧＰＲ”）は、肝細胞および肝臓類洞内皮細胞（または“ＬＳＥＣ”）上に発現される。他のガラクトース／ガラクトサミン／Ｎ－アセチルガラクトサミン受容体は、複数の細胞タイプ［例えば、樹状細胞、肝細胞、ＬＳＥＣ、およびクッパー細胞］上に様々な形態で確認されうる。樹状細胞は、“プロフェッショナルな抗原提示細胞”と考えられ、それは、それらの主要な機能が、免疫応答を生成するための免疫系に抗原を提示することだからである。肝臓内のいくつかの細胞は、抗原を提示することができると知られているが、肝臓が免疫寛容誘導に関与していることはより知られている。肝臓は、免疫寛容誘導臓器であると理解されている。例えば、移植臓器の１つが肝臓である場合、複数の臓器移植の事例では、より低い拒絶の発生率が報告されている。ＬＳＥＣの事例は、当該文献よりも新しく；結果的に、免疫寛容誘導および／または炎症性免疫応答の緩和におけるそれらの役割は、未だ広く認められておらず、またはあまり理解されていない。しかしながら、それらはまた、抗原特異的な寛容の誘導において重要な役割を果たしうることが明らかになってきている。

【００２５】

赤血球表面の特有の特徴の１つは、その糖鎖付加、すなわち、かなりの数のグリコシル化タンパク質の存在である。実際に、グリコホリン（例えば、グリコホリンＡ）は、赤血球結合のための標的として利用されてきた。グリコホリンは、共有結合で付着した多くの糖鎖を有するタンパク質であり、終末端はシアル酸である。赤血球が古くなり、かつクリアランスの機が熟すと、そのグリコホリンの末端シアル酸は、失われる傾向があり、遊離末端でＮ－アセチルガラクトサミンを残す。Ｎ－アセチルガラクトサミンは肝細胞関連ＡＳＧＰＲにより選択的に受け取られるリガンドであり、肝細胞によるＮ－アセチルガラクトサミン－含有物質の結合、ならびに肝臓におけるそれらの引き続く取り込みおよびプロセシングにつながる。

【００２６】

これまでに、肝臓の標的化をもたらす様式での治療薬の糖鎖付加は、治療薬の乏しい循環半減期をもたらす肝臓による初回通過クリアランスのために回避されるべきであると当業者に理解されている。同様に、いくつかのモノクローナル抗体は、それらのＦｃ受容体への最適な結合のために、ＡＳＮ２９７で特異的にグリコシル化される必要がある。驚いたことに、ガラクトシル化は免疫寛容誘導を誘導する様式で使用できることがここに見出された。

【００２７】

本開示は、肝臓、特に肝細胞、ＬＳＥＣ、クッパー細胞および／または星状細胞、より特には肝細胞および／またはＬＳＥＣへの送達のため（および、それらによる取り込みのため）に標的化されるある特定の治療用組成物、ならびに、さらにより特には、特異的にＡＳＧＰＲに結合するある特定の治療用組成物を提供する。肝臓標的化は、治療の２つの機構：寛容化およびクリアランスを容易にする。寛容化は、アポトーシス細胞をクリアランスする際および免疫系により“自己（ｓｅｌｆ）”として認識されるそれらのタンパク質をプロセシングする際の肝臓の役割、並びに免疫寛容のための周辺タンパク質をサンプリングする際の肝臓の役割を活用する。クリアランスは、毒素、ポリペプチド等を急速に

除去および分解することによる血液精製における肝臓の役割を活用する。肝臓へのこれらの組成物の標的化は、ガラクトシル化部分（例えば、ガラクトース、ガラクトサミンおよびＮ－アセチルガラクトサミン、特にＣ１、Ｃ２またはＣ６でコンジュゲートされる）により、別の肝臓標的化部分（例えば、モノクローナル抗体、またはそのフラグメントもしくはｓｃＦｖ）により、またはかかる肝臓標的化が望ましいポリペプチドを脱－シアル化することにより達成される。ガラクトシル化または他の肝臓標的化部分は、抗原に化学的にコンジュゲートされ、または組換えにより融合されうる一方で、脱シアル化は抗原ポリペプチド上のガラクトース様部分を晒す。当該抗原は、内在性（自己抗原）または外因性（外来性抗原）であり得、限定されないが：移植患者が望ましくない免疫応答（例えば、移植拒絶）を発症する外来性の移植抗原、患者が望ましくない免疫（例えば、アレルギー性または過敏症）応答を発症する外来性の食物、動物、植物もしくは環境の抗原、患者が望ましくない免疫応答（例えば、過敏症および／または減少治療活性）を発症する治療薬、患者が望ましくない免疫応答（例えば、自己免疫疾患）を発症する自己抗原、またはそれらの免疫寛容誘導部分（例えば、フラグメントまたはエピトープ）；を含み；これらの組成物は、抗原に対する寛容化を誘導するために有用である。あるいは、ガラクトシル化または他の肝臓標的化部分は、循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体に特異的に結合する、抗体、抗体フラグメントもしくはリガンドにコンジュゲートでき、当該循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体は、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、および／またはアレルギー（上述されるように）に原因的に関与し；これらの組成物は、循環タンパク質、ペプチドまたは抗体をクリアランスするために有用である。従って、本開示の組成物は、望ましくない免疫応答、例えば、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、および／またはアレルギー治療するために使用されうる。少なくとも１つの薬学的に許容可能な賦形剤と混合される治療有効量の本開示の組成物を含有する医薬組成物もまた提供される。別の態様では、本開示は、移植拒絶、治療薬に対する応答、自己免疫疾患またはアレルギーなどの望ましくない免疫応答の治療のための方法を提供する。

【００２８】

定義

【００２９】

本明細書中で使用されるように、以下の単語および語句は使用される文脈が他のことを示す場合を除き、下記に記載される意味を有すると一般に意図される。

【００３０】

文脈が明らかに別段の指示をしない限り、単数形“ａ”、“ａｎ、”および“ｔｈｅ”は、複数の対象を含む。

【００３１】

“約”という用語は、数値に関連して使用される場合、典型的により低い限界、すなわち、例えば、指示される数値より５－１０％小さい値を有し、かつ高い限界、すなわち、例えば、指示される数値より５－１０％大きい値を有する範囲以内の数値を包含することを意味する。

【００３２】

“抗原”は、Ｔ細胞受容体、Ｂ細胞受容体または抗体などの適応免疫応答の受容体のための標的として機能する任意の物質である。抗原は体内から由来してもよい（“自己（ｓｅｌｆ）”、“自己（ａｕｔｏ）”または“内在性の”）。例えば、吸入、摂取、注射、または移植により入り込み、抗原が体外から由来してもよい（“非自己”、“外来性の（ｆｏｒｅｉｇｎ）”または“外因性の（ｅｎｄｏｇｅｎｏｕｓ）”）。外来性抗原は、食物抗原、動物抗原、植物抗原、環境抗原、治療薬、同種移植において存在する抗原を含むが、これらに限定されない。

【００３３】

本明細書で使用される“抗原結合分子”は、分子、特に免疫グロブリン分子などのタンパク質に関し、エピトープへの特異的な結合を提供している抗体可変領域を含有する。抗

体可変領域は、例えば、完全な抗体、抗体フラグメント、ならびに抗体もしくは抗体フラグメントの組換え誘導体中に存在しうる。本明細書で使用される抗体の“抗原結合フラグメント”（または“結合部分”）という用語は、標的配列に特異的に結合する能力を保持する１つ以上の抗体のフラグメントを指す。抗体可変領域を含有する抗原結合フラグメントは、“Ｆｖ”、“Ｆａｂ”、および“Ｆ（ａｂ’）２”領域、“単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）”、“ナノボディー”、“一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）”フラグメント、“直列型のｓｃＦｖｓ”（ＶＨＡ－ＶＬＡ－ＶＨＢ－ＶＬＢ）、“ダイアボディー（ｄｉａｂｏｄｉｅｓ）”、“トリアボディー（ｔｒｉａｂｏｄｉｅｓ）”または“トリボディー（ｔｒｉｂｏｄｉｅｓ）”、“一本鎖ダイアボディー（ｓｃＤｂ）”、および“二重特異的なＴ細胞エンゲージャー（ｂｉ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ Ｔ－ｃｅｌｌ ｅｎｇａｇｅｒｓ）（ＢｉＴＥｓ）”を含む（限定なし）。

【００３４】

“化学改変”は、ポリペプチドの１つ以上のアミノ酸の天然に存在する化学構造における変化を指す。かかる改変は側鎖または末端にすることができ、例えば、アミノ末端またはカルボキシル末端を変化させる。いくつかの実施形態では、ポリペプチドを他の材料に連結させ、または治療薬に付着させるために都合よく使用されうる化学基を作製するために、改変は有用である。

【００３５】

“含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）”、“含有する”、または“により特徴づけられる”と同義の“含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）”という用語は、包括的もしくは非限定的であり、かつ付加的な列挙されていない要素または方法工程を除外しない。“からなる”という語句は、任意の要素、工程、または特定されない成分を除外する。“本質的に～からなる”という語句は、特定される材料もしくは工程の主題が記載される範囲を限定し、かつそれらは、その基礎および新規の特徴に実質的に影響しない。

【００３６】

“保存的変化”は、活性を変化させずに一般にアミノ酸配列に対してなすことができる。これらの変化は、“保存的置換”または“変異”と称され；すなわち、特定のサイズまたは特徴を有するアミノ酸の群に属するアミノ酸を別のアミノ酸と置換することができる。アミノ酸配列についての置換物は、そのアミノ酸が属するクラスの他のメンバーから選択することができる。例えば、非極性（疎水性）アミノ酸は、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、およびチロシンを含む。極性の中性のアミノ酸はグリシン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギンおよびグルタミンを含む。正電荷の（塩基性）アミノ酸は、アルギニン、リジンおよびヒスチジンを含む。負電荷の（酸性）アミノ酸は、アスパラギン酸およびグルタミン酸を含む。かかる置換は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動または等電点により決定される見かけ上の分子量に実質的に影響すると予想されない。保存的置換はまた、配列の光学異性体を他の光学異性体に置換すること、具体的には配列の１つ以上残基についてＤアミノ酸をＬアミノ酸に置換することを含む。さらに、配列中のアミノ酸がＤからＬへの異性体置換を受けうる。例示的保存的置換は、正電荷を維持するＡｒｇをＬｙｓへ、およびその逆；負電荷を維持するＡｓｐをＧｌｕへ、およびその逆；ＴｈｒをＳｅｒへ、結果、遊離ＯＨが維持される；ならびに遊離NH_2を維持するＡｓｎをＧｌｎへの置換を含むが、これらに限定されない。化学誘導体化のための要求が生じるならば、保存的置換のさらに別のタイプは、望ましい化学反応性を有するアミノ酸が化学的コンジュゲーション反応のための反応性部位を付与するために導入される場合を構成する。かかるアミノ酸は、Ｃｙｓ（スルフヒドリル基を挿入する）、Ｌｙｓ（第一級アミンを挿入する）、ＡｓｐおよびＧｌｕ（カルボン酸基を挿入する）、またはケトン、アジド、アルキン、アルケン、およびテトラジン側鎖を含有する特殊な非標準アミノ酸を含むが、これらに限定されない。遊離NH_2またはＳＨを有するアミノ酸の保存的置換または付加は、式１のリンカーおよびガラクトシル化部分との化学的コンジュゲーションのために特に有利でありうる。さらに、ポリペプチド配列または対応する核酸配列の点変異、欠失、および挿

入は、いくつかの場合において、ポリペプチドまたは核酸フラグメントの機能の喪失なく作製されうる。置換は、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０以上の残基を含みうる。本発明において使用可能な変異体は、２００まで（１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、または２００まで）の総数のアミノ酸配列における変化（すなわち交換、挿入、欠失、Ｎ末端切断（ｔｒｕｎｃａｔｉｏｎ）、および／またはＣ末端切断）を示してもよい。本明細書に記載されるアミノ酸残基は、標準ポリペプチド命名法、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，（１９６９），２４３，３５５２－３５５９に合わせて一文字アミノ酸表記または三文字略称のいずれかを利用する。全てのアミノ酸残基配列は、アミノ末端からカルボキシ末端の従来の方向における左右配向を有する式により本明細書に表される。

【００３７】

“有効量”または“治療有効量”という用語は、かかる治療を必要とする哺乳類に投与される場合に下記に規定される治療を達成するために十分な本開示の組成物の量を指す。この量は、治療される対象および疾患状態、対象の体重および年齢、疾患状態の重症度、選択される特定の本開示の組成物、投与のタイミング、投与の様式等に従う投薬レジメンに、依存して変動するだろう。そして、それら全ては当業者により容易に決定されうる。

【００３８】

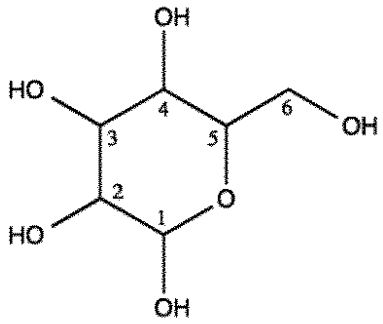
抗原決定基としても知られている“エピトープ”は、巨大分子、例えばタンパク質のセグメントであり、適応免疫系により、例えば抗体、Ｂ細胞、またはＴ細胞により認識される。エピトープは、抗体またはその抗原結合フラグメントに結合することが可能な巨大分子の部分またはセグメントである。この文脈において、“結合”という用語は、特に、特異的な結合に関する。本発明の文脈において、“エピトープ”という用語は、免疫系により認識されるタンパク質またはポリタンパク質のセグメントをことが好ましい。

【００３９】

ガラクトースという用語は、当該技術分野でよく知られており、かつ開鎖型でおよび環状型で両方存在し、Ｄ－およびＬ－異性体を有する単糖を指す。環状型では２つのアノマー、すなわちアルファおよびベータがある。アルファ型において、Ｃ１アルコール基はアキシアル位にあり、一方でベータ型において、Ｃ１アルコール基はエクアトリアル位にある。特に、“ガラクトース”は、環状六員環ピラノース、より特にはＤ－異性体、およびさらにより特にはアルファ－Ｄ－型（α－Ｄ－ガラクトピラノース）を指す。ガラクトースの構造および付番は下記に示される。

【００４０】

【化８】



【００４１】

“ガラクトシル化部分”という用語は、肝臓標的化部分の特定のタイプを指す。ガラクトシル化部分はガラクトース、ガラクトサミンおよび／またはＮ－アセチルガラクトサミン残基を含むが、これらに限定されない。

【００４２】
“肝臓標的化部分”という用語は、例えばポリペプチドを肝臓に導く能力を有する部分を指す。肝細胞、類洞上皮細胞、クッパー細胞、星状細胞、および／または樹状細胞を含むが、これらに限定されない異なる細胞タイプを、肝臓は含む。典型的には、肝臓標的化部分は、これらの細胞の１つ以上へポリペプチドを導く。それぞれの肝細胞の表面上で、受容体は存在し、肝臓標的化部分を認識し、および肝臓標的化部分に特異的に結合する。肝臓標的化は、ガラクトシル化部分への抗原もしくはリガンドの化学的コンジュゲーション、潜在的なガラクトシル部分を晒すための抗原もしくはリガンドの脱シアル化、ＡＳＧＰＲ－結合部分への抗原もしくはリガンドの組換え体の融合もしくは化学的コンジュゲーション、または抗原またはリガンドへの内在性の抗体の特異的な結合により達成でき、ここで抗原またはリガンドは：潜在的なガラクトシル部分を晒すために脱シアル化され、ガラクトシル化部分にコンジュゲートされ、またはＡＳＧＰＲ－結合部分へ組換えにより融合され、もしくは化学的にコンジュゲートされる。天然に存在する脱シアル化タンパク質は、本開示の範囲内に包含されない。

【００４３】
様々な置換基のために提供される“数値”および“範囲”は、記載の範囲内の全ての整数を包含するように意図される。例えば、約１から１００、特に約８から９０、およびより特に約４０から８０のエチレングリコール基を含む混合物であって、典型的にｎ±約１０％（または１から約２５、±３より小さい整数について）として特定される整数を包含する混合物を表す整数としてｎを規定する場合、ｎは、約１から１００の整数（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２２、２５、３０、３４、３５、３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３、８５、８８、９０、９５、９９、１００、１０５または１１０）とすることができ、かつ開示される混合物は、１－４、２－４、２－６、３－８、７－１３、６－１４、１８－２３、２６－３０、４２－５０、４６－５７、６０－７８、８５－９０、９０－１１０および１０７－１１３エチレングリコール基などの範囲を包含すると理解されるべきである。併用の用語“約”および“±１０％”または“±３”は、どこで使用されても同等の範囲のための特異的な裏付けを開示し、および提供すると理解されるべきである。

【００４４】
“任意の”または“任意に”という用語は、引き続いて記載される事象もしくは状況が起こっても起こらなくてもよいこと、ならびに、当該記載は事象もしくは状況が起こる実例、およびそれが起こらない実例を含むことを意味する。

【００４５】
特定の標的に特異的に結合するペプチドは、その標的に対する“リガンド”と称される。

【００４６】
翻訳後修飾（例えば、リン酸化または糖鎖付加）ならびに／または付加的なポリペプチドを有する複合体形成、ならびに／または核酸および／もしくは炭水化物、または他の分子とのマルチサブユニット複合体への合成に関係なく、“ポリペプチド”は、アミノ酸残基の鎖を指す用語である。従ってプロテオグリカンはまた本明細書でポリペプチドと称される。長いポリペプチド（約５０アミノ酸超を有する）は、“タンパク質”と称される。短いポリペプチド（約５０アミノ酸以下を有する）は、“ペプチド”と称される。サイズ、アミノ酸組成および三次元構造に依存して、ある特定のポリペプチドは、“抗原結合分子”、“抗体”、“抗体フラグメント”または“リガンド”と称されうる。ポリペプチドは、多くの方法により産生でき、その多くは当該技術分野でよく知られている。例えば、ポリペプチドを、抽出により（例えば、単離細胞から）、ポリペプチドをコードする組換え核酸の発現により、または化学合成により、得ることができる。ポリペプチドは、例えば、組換え技術、およびコードされるポリペプチドの発現のために宿主細胞へ導入される（例えば、形質転換または遺伝子導入により）ポリペプチドをコードする発現ベクターに

より産生されうる。

【００４７】

本明細書で使用される、“薬学的に許容可能な担体”または“薬学的に許容可能な賦形剤”は、任意の、および全ての溶媒、分散媒、被膜、抗菌および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤等を含む。薬学的に活性な物質のためのかかる媒質および薬剤の使用は、当該技術分野でよく知られている。任意の従来の媒質もしくは薬剤が活性成分と不適合である限りを除いて、治療用組成物におけるその使用が想定される。補助的な活性成分はまた、当該組成物に組み込まれうる。

【００４８】

ポリペプチドに関して本明細書で使用される“精製”という用語は、化学合成されており、従って他のポリペプチドにより実質的に汚染されていないポリペプチド、またはほとんどの自然に付随する他の細胞成分（例えば、他の細胞タンパク質、ポリヌクレオチド、または細胞成分）から分離され、または単離されているポリペプチドを指す。精製ポリペプチドの例は、乾燥重量で少なくとも７０％で、自然に伴うタンパク質および天然に存在する有機物分子からフリーであるポリペプチドである。従って精製ポリペプチドの調製は、例えば、乾燥重量で少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９９％ポリペプチドでありうる。ポリペプチドはまた、精製または標識（例えば、親和性マトリックスへの取り込み、顕微鏡での可視化）を容易にするタグ配列（例えば、ポリヒスチジンタグ、ｍｙｃタグ、ＦＬＡＧ（登録商標）タグ、または他の親和性タグ）を含有するよう設計されうる。従って別段の指示がない限り、ポリペプチドを含む精製組成物は精製ポリペプチドを指す。“単離され”という用語は、本開示のポリペプチドまたは核酸がそれらの自然環境中ではないことを示す。従って本開示の単離産物は、培養上清に含有され、部分的に濃縮され、異種由来から産生され、ベクターにクローニングされ、またはビヒクルを用いて製剤化等されうる。

【００４９】

“配列同一性”という用語は、ポリペプチド配列比較に関して使用される。この表現は特に配列同一性の割合を指し、例えばそれぞれの参照ポリペプチドまたはそれぞれの参照ポリヌクレオチドと少なくとも８０％、少なくとも８１％、少なくとも８２％、少なくとも８３％、少なくとも８４％、少なくとも８５％、少なくとも８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性の割合を指す。問題とするポリペプチドおよび参照ポリペプチドは、特に、一続きの２０、３０、４０、４５、５０、６０、７０、８０、９０、１００以上のアミノ酸に渡ってまたは参照ポリペプチドの全長に渡って示される配列同一性を示す。

【００５０】

生物学の分野で一般に使用されるように、“特異的な結合”という用語は非標的組織と比較して相対的に高い親和性で標的に結合する分子を指し、例えば静電相互作用、ファンデルワールス相互作用、水素結合等の複数の非共有結合性の相互作用を一般に伴う。特異的な結合の相互作用は、抗体－抗原結合、酵素－基質結合、およびある特定のタンパク質－受容体相互作用を特徴づける；一方で、かかる非標的結合が重要でない程度まで随時、それらの特異的な標的加えて組織に、かかる分子は結合するかも知れない、高－親和性結合対はまだ、特異的な結合の定義内に入りうる。

【００５１】

“治療（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）”または“治療（ｔｒｅａｔｉｎｇ）”という用語は、哺乳類における疾病または障害の任意の治療を意味し：

疾病もしくは障害を予防することもしくは保護すること、すなわち、臨床症状が発症しないようにすること；

疾病もしくは障害を阻害すること、すなわち、臨床症状の発症を抑止もしくは抑制すること；ならびに／または

疾病もしくは障害を軽減すること、すなわち、臨床症状の退縮を引き起こすことを含む。

【００５２】

“望ましくない免疫応答”という用語は、対象の免疫系による反応を指し、それは所定の状況で望ましくない。もしかかる反応が疾病または障害の予防、減少、または治癒につながらず、代わりに障害または疾病を引き起こし、増強しまたは悪化させるならば、当該免疫系の反応は望ましくない。典型的には、もし免疫系の反応が不適当な標的に対して向けられるならば、免疫系の反応は、疾病を引き起こし、増強しまたは悪化させる。例示的に、望ましくない免疫応答は、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、ならびにアレルギー性もしくは過敏症を含むが、これらに限定されない。

【００５３】

“変異体”という用語は、その長さ、配列、または構造における１つ以上の変化により由来されるタンパク質と比較して異なるタンパク質として理解されている。タンパク質変異体が由来するポリペプチドはまた、親ポリペプチドまたはポリヌクレオチドとしてよく知られている。“変異体”という用語は、親分子の“フラグメント”または“誘導体”を含む。典型的には、“フラグメント”は、長さまたはサイズにおいて親分子より小さく、一方で“誘導体”は、親分子と比較してそれらの配列または構造における１つ以上差異を示す。改変分子はまた、例えば翻訳後修飾タンパク質（例えばグリコシル化、リン酸化、ユビキチン化、パルミトイル化、もしくはタンパク分解的切断タンパク質）およびメチル化ＤＮＡなどの改変核酸が包含されるが、これらに限定されない。ＲＮＡ－ＤＮＡハイブリッドなどの異なる分子の混合物はまた、“変異体”という用語により包含されるが、限定されない。天然に存在する、および人工的に構築された変異体は、本明細書で使用される“変異体”という用語により包含されると理解されている。さらに、変異体が親分子の少なくとも１つの生物学的活性を示す、すなわち、機能的に活性であるという条件で、本発明において使用可能な変異体はまた、親分子の相同体、オルソログ、もしくはパラログ、または人工的に構築された変異体に由来してもよい。変異体は、それが由来する親ポリペプチドへのある特定の配列同一性の度合により特徴づけられうる。より正確には、本開示の文脈におけるタンパク質変異体は、その親ポリペプチドへの少なくとも８０％の配列同一性を示してもよい。好ましくは、タンパク質変異体の配列同一性は一続きの２０、３０、４０、４５、５０、６０、７０、８０、９０、１００以上のアミノ酸に渡る。

【発明を実施するための形態】

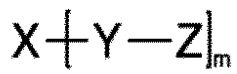
【００５４】

組成物

【００５５】

本開示の一態様は、式１により表される組成物、医薬品製剤、およびかかる組成物を利用する治療方法に関し：

【化９】



式1

ここで：

ｍは約１から１００の整数であり、特に約１から２０、およびもっとも特には１から約１０であり；

Ｘは抗原部分、特に外来性抗原、もしくは患者が望ましくない免疫応答を発症する自己抗原、またはかかる抗原部分の免疫寛容誘導部分（例えば、フラグメントまたはエピトープ）であり；

Ｙはリンカー部分もしくは直接結合、またはＸに特異的に結合する、抗体、抗体フラグメント、ペプチドもしくは他のリガンドであり；かつ

Ｚは肝臓標的化部分、特にガラクトシル化部分である。
それぞれの抗原、抗体、抗体フラグメントもしくはリガンドがリンカーまたはガラクトシル化部分が結合されうる部位（主にＮ末端のアミン、リジン残基およびシステイン残基）の個々の数および密度を有するとされる中で、式１におけるｍについての値は、Ｘの性質に依存するだろう。リジンまたはシステイン残基を加えることにより、かかる部位の限定数を有する抗原は、例えばＮまたはＣ末端で、誘導体化されうる（任意に切断可能なリンカー、特に免疫プロテアソーム切断部位を有するリンカーを介して）。一般に、式１の組成物におけるガラクトシル化の十分な度合を提供することは、肝細胞による取り込みを容易にするするために好ましい。本開示の医薬品製剤および方法は、それぞれ異なるＸ部分（例えば、特定の望ましくない免疫応答に関連するいくつかのエピトープ）を担う式１の組成物の混合物を利用することができる。

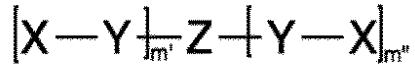
【００５６】

式１の組成物は、反応式に関して下記に記載される式１ａから１ｐにより説明されるように、Ｘが移植患者が望ましくない免疫応答（例えば、移植拒絶）を発症する外来性の移植抗原、患者が望ましくない免疫応答（例えば、アレルギー性または過敏症）を発症する外来性の食物、動物、植物もしくは環境の抗原、患者が望ましくない免疫応答（例えば、過敏症および／または減少治療活性）を発症する外来性の治療薬、または患者が望ましくない免疫応答（例えば、自己免疫疾患）を発症する自己抗原であり；Ｙが式ＹａからＹｐのリンカーであり；かつ／または、Ｚがガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンである、亜属を含む。

【００５７】

本開示はさらに、式２により表される薬学的に許容可能な組成物を提供し：

【化１０】



式２

ここで：
ｍ’はゼロまたは約１から１０の整数であり、ｍ”はゼロまたは約１から１０の整数であり、かつｍ’＋ｍ”の総和は約１から１０の整数であるが、少なくとも１であり；
Ｘは抗原部分、特に外来性抗原、もしくは患者が望ましくない免疫応答を発症する自己抗原、またはかかる抗原部分の免疫寛容誘導部分（例えば、フラグメントまたはエピトープ）であり；
Ｙはリンカー部分もしくは直接結合、またはＸに特異的に結合する、抗体、抗体フラグメント、ペプチドもしくは他のリガンドであり；かつ
Ｚは肝臓標的化部分、特にＡＳＧＰＲ標的化抗体、ＡＳＧＰＲ標的化抗体フラグメント、ＡＳＧＰＲ標的化ペプチド、ＡＳＧＰＲ標的化ｓｃＦｖ、または別のＡＳＧＰＲリガンドであり、
かかる組成物は、任意に単離および精製を容易にするアミノ酸配列［例えば、配列：ＨＨＨＨＨＨ（配列番号：１）を有する“Ｈｉｓタグ”もしくは“６ｘＨｉｓ”］ならびに付加的なリンカー［例えば、配列：ＧＧＧＳ（配列番号：２）を有する“Gly_3Ser”］を含む。ｍ’＋ｍ”が、１より大きい式２の組成物において、Ｘ部分は、同一もしくは異なるものとすることができ、ならびにＹ部分は、同一もしくは異なるものとすることができる。ｍ’＋ｍ”についての値は、Ｘが完全タンパク質である場合、より小さく（例えば、３以下）、またはＸがペプチドである場合、より大きい（約１０まで）。リンカー“Ｙ”は切断部位、特に免疫プロテアソーム切断部位を有利に含みうる。

【００５８】

式２の組成物は、Ｘが移植患者が望ましくない免疫応答（例えば、移植拒絶）を発症す

る外来性の移植抗原、患者が望ましくない免疫応答（例えば、アレルギー性または過敏症）を発症する外来性の食物、動物、植物もしくは環境の抗原、患者が望ましくない免疫応答（例えば、過敏症および／または減少治療活性）を発症する外来性の治療薬、または患者が望ましくない免疫応答（例えば、自己免疫疾患）を発症する自己抗原である、亜属を含む。

【００５９】

あるいは、式１および／または式２の組成物において、Ｘは、循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体に特異的に結合する、抗体、抗体フラグメントもしくはリガンドとすることができ、当該循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体は、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、過敏症および／もしくはアレルギーに原因的に関与する。

【００６０】

式２の組成物は融合タンパク質として調製でき、かつそれらの調製および精製において有用ないくつかの成分、例えば、特異的な輸送経路へ発現ポリペプチドを導き、かつ引き続いてポリペプチドから切断されるシグナル配列もしくはリーダー配列などを含みうる；従ってシグナル配列は、発現されるタンパク質およびそれをコードするＤＮＡのパーツでありうるが、最終的な組成物の部分ではない。発現系において使用される哺乳類のシグナル配列の一例は、Ｉｇ　κ鎖配列であり、タンパク質分泌を導く：ＭＥＴＤＴＬＬＬＷＶＬＬＬＷＶＰＧＳＴＧ（配列番号：３）である。同様に、発現系において使用される一般的な細菌性のシグナル配列の一例は、ｐｅｌＢシグナル配列であり、発現タンパク質を細菌のペリプラズムへ導く：ＭＫＹＬＬＰＴＡＡＡＧＬＬＬＬＡＡＱＰＡＭＡ（配列番号：４）である。

【００６１】

抗原

【００６２】

式１の組成物および／または式２におけるＸとして利用される抗原は、タンパク質またはペプチドとすることができ、例えば抗原は、完全なもしくは部分的な治療薬、完全長の移植タンパク質もしくはそのペプチド、完全長の自己抗原もしくはそのペプチド、完全長のアレルゲンもしくはそのペプチド、ならびに／または核酸、または上述の抗原の模倣体であってもよい。

【００６３】

本開示の実行において利用される抗原は、以下の１つ以上でありうる：

・　抗体フラグメント、ならびに抗体および抗体フラグメントとの融合タンパク質を含む、タンパク質、ペプチド、抗体および抗体様分子である治療薬。これらは、ヒト、非ヒト（マウスなど）および非天然（すなわち、設計された）タンパク質、抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ならびに例えばフィブロネクチン、ＤＡＲＰｉｎ、ノッチン等の非抗体結合スキャフォールドを含む。

・　移植患者が望ましくない免疫応答を発症するヒト同種移植抗原。

・　望ましくない自己免疫応答を引き起こす自己抗原。自己抗原は、自己免疫疾患患者における内在性の起源のものである一方で、本開示の組成物において利用されるポリペプチドは、典型的に外因的に合成される（発生源から精製され、濃縮されることとは対照的に）と当業者は認識するだろう。

・　患者が望ましくない免疫応答を経験する食物、動物、植物および環境の抗原などの外来性抗原。治療用のタンパク質はまた、その外因的起源に起因する外来性抗原と考えらうる一方で、本開示の記載を明確にするために、かかる治療剤は別々の群として記載されていると当業者は認識するだろう。同様に、植物または動物抗原は食すことができ、かつ食物抗原と考えられ、かつ環境抗原は植物から由来してもよい。それらは、しかしながら、全て外来性抗原である。簡潔性の観点で、当業者が、特に詳細な説明および実施例に照らして、本開示の組成物において利用されうる抗原を認識できるかかる潜在的に重複する群の全てを区別し、および規定するように記載する試みはなされないだろう。

抗原は、完全タンパク質、完全タンパク質の部分、ペプチド等とすることができ、かつリンカーおよび／もしくはガラクトシル化部分への付着のために誘導体化でき（上述のように）、変異体とすることができ、および／もしくは特に配列同一性を維持して保存的置換を含有することができ、ならびに／または脱シアル化することができる。

【００６４】

抗原が治療用のタンパク質、ペプチド、抗体または抗体様分子である実施形態では、特異的な抗原は以下から選択されうる：アバタセプト、アブシキシマブ、アダリムマブ、アデノシンデアミナーゼ、アドートラスツズマブエムタンシン、アガルシダーゼアルファ、アガルシダーゼベータ、アルデスロイキン、アルグルセラーゼ、アルグルコシダーゼアルファ、α－１－プロテアーゼ阻害剤、アナキンラ、アニストレプラーゼ（アニソイル化プラスミノーゲンストレプトキナーゼ活性化複合体）、アンチトロンビン　ＩＩＩ、抗胸腺細胞グロブリン、アルテプラーゼ、ベバシズマブ、ビバリルジン、ボツリヌス毒素Ａ型、ボツリヌス毒素Ｂ型、Ｃ１エステラーゼ阻害剤、カナキヌマブ、カルボキシペプチダーゼＧ２（グルカルピダーゼおよびＶｏｒａｘａｚｅ）、セルトリズマブ　ペゴル、セツキシマブ、コラゲナーゼ、マムシ類（Ｃｒｏｔａｌｉｄａｅ）免疫Ｆａｂ、ダルベポエチンーα、デノスマブ、ジゴキシン免疫Ｆａｂ、ドルナーゼアルファ、エクリズマブ、エタネルセプト、活性化第ＶＩＩ因子、第ＶＩＩＩ因子、第ＩＸ因子、第ＸＩ因子、第ＸＩＩＩ因子、フィブリノーゲン、フィルグラスチム、ガルスルファーゼ、ゴリムマブ、酢酸ヒストレリン、ヒアルロニダーゼ、イデュルスルファーゼ、イミグルセラーゼ、インフリキシマブ、インスリン［組換え体ヒトインスリン（“ｒＨｕ　インスリン”）およびウシインスリンを含む］、インターフェロンーα２ａ、インターフェロンーα２ｂ、インターフェロンーβ１ａ、インターフェロンーβ１ｂ、インターフェロンーγ１ｂ、イピリムマブ、Ｌ－アルギナーゼ、Ｌ－アスパラギナーゼ、Ｌ－メチオニナーゼ（ｍｅｔｈｉｏｎａｓｅ）、ラクターゼ、ラロニダーゼ、レピルジン／ヒルジン、メカセルミン、メカセルミンリンファバート、メトキシナタリズマブ、オクトレオチド、オファツムマブ、オプレルベキン、膵臓アミラーゼ、膵臓リパーゼ、パパイン、Ｐｅｇ－アスパラギナーゼ、Ｐｅｇ－ドキソルビシン　ＨＣｌ、ＰＥＧ－エポエチン－β、ペグフィルグラスチム、Ｐｅｇ－インターフェロンーα２ａ、Ｐｅｇ－インターフェロンーα２ｂ、ペグロチカーゼ、ペグビソマント、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（ＰＡＬ）、プロテインＣ、ラスブリカーゼ（ウリカーゼ）、サクロシダーゼ、サケカルシトニン、サルグラモスチム、ストレプトキナーゼ、テネクテプラーゼ、テリパラチド、トシリズマブ（アトリズマブ）、トラスツズマブ、１型アルファ－インターフェロン、ウステキヌマブ、ｖＷ因子。治療用のタンパク質は天然の供給源から獲得され（例えば、濃縮され、かつ精製される）、または例えば、組換えにより合成される得、ならびに典型的にはＩｇＧ　モノクローナルもしくはフラグメントまたは融合物である抗体治療剤を含む。

【００６５】

様々な形式のアブシキシマブ、アダリムマブ、アガルシダーゼアルファ、アガルシダーゼベータ、アルデスロイキン、アルグルコシダーゼアルファ、第ＶＩＩＩ因子、第ＩＸ因子、インフリキシマブ、インスリン（ｒＨｕ　インスリンを含む）、Ｌ－アスパラギナーゼ、ラロニダーゼ、ナタリズマブ、オクトレオチド、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（ＰＡＬ）、またはラスブリカーゼ（ウリカーゼ）および一般にＩｇＧ　モノクローナル抗体を、特定の治療用のタンパク質、ペプチド、抗体もしくは抗体様分子は含む。

【００６６】

別の特定の群は、止血剤（第ＶＩＩＩ因子および第ＩＸ因子）、インスリン（ｒＨｕ　インスリンを含む）、ならびに非ヒト治療ウリカーゼ、ＰＡＬおよびアスパラギナーゼを含む。

【００６７】

血液学および移植において望ましくない免疫応答は、自己免疫性再生不良性貧血、移植拒絶（一般に）、および移植片対宿主病（骨髄移植拒絶）を含む。抗原がヒト同種移植抗原である実施形態では、特定の配列は：様々なＭＨＣクラスＩおよびＭＨＣクラスＩＩハ

プロタイプタンパク質（例えば、組織の交差適合試験において同定されるドナー／レシピエント差異）のサブユニットならびにＲｈＣＥ、Ｋｅｌｌ、Ｋｉｄｄ、ＤｕｆｆｙおよびＳｓを含む少数の血液型抗原上の単一アミノ酸多型から選択されうる。かかる組成物は、所定のドナー／レシピエントの対のために個々に調製されうる。

【００６８】

抗原が自己抗原である実施形態では、特異的な抗原（およびそれらが関連する自己免疫疾患）は以下から選択されうる：

・　　１型糖尿病において、いくつかの主要な抗原は：インスリン、プロインスリン、プレプロインスリン、グルタミン酸デカルボキシラーゼ－６５（ＧＡＤ－６５またはグルタミン酸デカルボキシラーゼ２）、ＧＡＤ－６７、グルコース－６－ホスファターゼ２（ＩＧＲＰまたは膵島特異的グルコース－６－ホスファターゼ触媒サブユニット関連タンパク質）、インスリノーマ－関連タンパク質２（ＩＡ－２）、およびインスリノーマ－関連タンパク質２（ＩＡ－２）と同定されており；他の抗原は、ＩＣＡ６９、ＩＣＡ１２（ＳＯＸ－１３）、カルボキシペプチダーゼＨ、Ｉｍｏｇｅｎ３８、ＧＬＩＭＡ３８、クロモグラニンＡ、ＨＳＰ－６０、カルボキシペプチダーゼＥ、ペリフェリン、２型グルコース輸送体、肝細胞癌－腸－膵臓／膵臓の関連タンパク質、Ｓ１００β、グリア線維性酸性タンパク質、再生遺伝子ＩＩ、膵臓十二指腸ホメオボックス１、筋強直性ジストロフィーキナーゼ、膵島特異的グルコース－６－ホスファターゼ触媒サブユニット－関連タンパク質、およびＳＳＴ　Ｇタンパク質共役型受容体１－５を含む。インスリンは自己抗原および治療用のタンパク質抗原の両方として特徴づけられうる抗原の一例であることに留意すべきである。例えば、ｒＨｕ　インスリンおよびウシインスリンは治療用のタンパク質抗原（望ましくない免疫攻撃の対象である）であり、一方で内在性ヒトインスリンは自己抗原（望ましくない免疫攻撃の対象である）である。内在性ヒトインスリンは、医薬組成物において利用されるためには入手可能ではないので、組換え型が本開示の組成物において利用される。

・　　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むヒトインスリンは、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ０１３０８）を有する：

ＭＡＬＷＭＲＬＬＰＬ　ＬＡＬＬＡＬＷＧＰＤ　ＰＡＡＡＦＶＮＱＨＬ　ＣＧＳＨＬＶＥＡＬＹ　ＬＶＣＧＥＲＧＦＦＹ　ＴＰＫＴＲＲＥＡＥＤ　ＬＱＶＧＱＶＥＬＧＧ　ＧＰＧＡＧＳＬＱＰＬ　ＡＬＥＧＳＬＱＫＲＧ　ＩＶＥＱＣＣＴＳＩＣ　ＳＬＹＱＬＥＮＹＣＮ（配列番号：５）。

・　　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むＧＡＤ－６５は、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｑ０５３２９）を有する：

ＭＡＳＰＧＳＧＦＷＳ　ＦＧＳＥＤＧＳＧＤＳ　ＥＮＰＧＴＡＲＡＷＣ　ＱＶＡＱＫＦＴＧＧＩ　ＧＮＫＬＣＡＬＬＹＧ　ＤＡＥＫＰＡＥＳＧＧ　ＳＱＰＰＲＡＡＡＲＫ　ＡＡＣＡＣＤＱＫＰＣ　ＳＣＳＫＶＤＶＮＹＡ　ＦＬＨＡＴＤＬＬＰＡ　ＣＤＧＥＲＰＴＬＡＦ　ＬＱＤＶＭＮＩＬＬＱ　ＹＶＶＫＳＦＤＲＳＴ　ＫＶＩＤＦＨＹＰＮＥ　ＬＬＱＥＹＮＷＥＬＡ　ＤＱＰＱＮＬＥＥＩＬ　ＭＨＣＱＴＴＬＫＹＡ　ＩＫＴＧＨＰＲＹＦＮ　ＱＬＳＴＧＬＤＭＶＧ　ＬＡＡＤＷＬＴＳＴＡ　ＮＴＮＭＦＴＹＥＩＡ　ＰＶＦＶＬＬＥＹＶＴ　ＬＫＫＭＲＥＩＩＧＷ　ＰＧＧＳＧＤＧＩＦＳ　ＰＧＧＡＩＳＮＭＹＡ　ＭＭＩＡＲＦＫＭＦＰ　ＥＶＫＥＫＧＭＡＡＬ　ＰＲＬＩＡＦＴＳＥＨ　ＳＨＦＳＬＫＫＧＡＡ　ＡＬＧＩＧＴＤＳＶＩ　ＬＩＫＣＤＥＲＧＫＭ　ＩＰＳＤＬＥＲＲＩＬ　ＥＡＫＱＫＧＦＶＰＦ　ＬＶＳＡＴＡＧＴＴＶ　ＹＧＡＦＤＰＬＬＡＶ　ＡＤＩＣＫＫＹＫＩＷ　ＭＨＶＤＡＡＷＧＧＧ　ＬＬＭＳＲＫＨＫＷＫ　ＬＳＧＶＥＲＡＮＳＶ　ＴＷＮＰＨＫＭＭＧＶＰＬＱＣＳＡＬＬＶＲ　ＥＥＧＬＭＱＮＣＮＱ　ＭＨＡＳＹＬＦＱＱＤ　ＫＨＹＤＬＳＹＤＴＧ　ＤＫＡＬＱＣＧＲＨＶ　ＤＶＦＫＬＷＬＭＷＲ　ＡＫＧＴＴＧＦＥＡＨ　ＶＤＫＣＬＥＬＡＥＹ　ＬＹＮＩＩＫＮＲＥＧ　ＹＥＭＶＦＤＧＫＰＱ　ＨＴＮＶＣＦＷＹＩＰ　ＰＳＬＲＴＬＥＤＮＥ　ＥＲＭＳＲＬＳＫＶＡ　ＰＶＩＫＡＲＭＭＥＹ　ＧＴＴＭＶＳＹＱＰＬ　ＧＤＫＶＮＦＦＲＭＶ　ＩＳＮＰＡＡＴＨＱＤ　ＩＤＦＬＩＥＥＩＥＲ　ＬＧＱＤＬ（配列番号：６）。

・　　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むＩＧＲＰは、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　ＱＮ９ＱＲ９）を有する：
ＭＤＦＬＨＲＮＧＶＬＩＩＱＨＬＱＫＤＹＲＡＹＹＴＦＬＮＦＭＳＮＶＧＤＰＲＮＩＦＦ
ＩＹＦＰＬＣＦＱＦＮＱＴＶＧＴＫＭＩＷＶＡＶＩＧＤＷＬＮＬＩＦＫＷＩＬＦＧＨＲＰ
ＹＷＷＶＱＥＴＱＩＹＰＮＨＳＳＰＣＬＥＱＦＰＴＴＣＥＴＧＰＧＳＰＳＧＨＡＭＧＡＳ
ＣＶＷＹＶＭＶＴＡＡＬＳＨＴＶＣＧＭＤＫＦＳＩＴＬＨＲＬＴＷＳＦＬＷＳＶＦＷＬＩ
ＱＩＳＶＣＩＳＲＶＦＩＡＴＨＦＰＨＱＶＩＬＧＶＩＧＧＭＬＶＡＥＡＦＥＨＴＰＧＩＱ
ＴＡＳＬＧＴＹＬＫＴＮＬＦＬＦＬＦＡＶＧＦＹＬＬＬＲＶＬＮＩＤＬＬＷＳＶＰＩＡＫ
ＫＷＣＡＮＰＤＷＩＨＩＤＴＴＰＦＡＧＬＶＲＮＬＧＶＬＦＧＬＧＦＡＩＮＳＥＭＦＬＬ
ＳＣＲＧＧＮＮＹＴＬＳＦＲＬＬＣＡＬＴＳＬＴＩＬＱＬＹＨＦＬＱＩＰＴＨＥＥＨＬＦ
ＹＶＬＳＦＣＫＳＡＳＩＰＬＴＶＶＡＦＩＰＹＳＶＨＭＬＭＫＱＳＧＫＫＳＱ（配列番号：７）。

・　　橋本甲状腺炎およびグレーブス病を含む甲状腺の自己免疫疾患において、主要な抗原は、チログロブリン（ＴＧ）、甲状腺ペルオキシダーゼ（ＴＰＯ）および甲状腺刺激ホルモン受容体（ＴＳＨＲ）を含み；他の抗原は、ナトリウムヨウ素共輸送体（ＮＩＳ）およびメガリンを含む。甲状腺関連眼疾患および皮膚症において、ＴＳＨＲを含む甲状腺自己抗原に加えて、抗原はインスリン様成長因子１受容体である。副甲状腺機能低下症において、主要な抗原はカルシウム感受性受容体である。

・　　アジソン病において、主要な抗原は、２１－ヒドロキシラーゼ、１７　－ヒドロキシラーゼ、およびＰ４５０側鎖切断酵素（Ｐ４５０ｓｃｃ）を含み；他の抗原は、ＡＣＴＨ受容体、Ｐ４５０ｃ２１およびＰ４５０ｃ１７を含む。

・　　早期卵巣機能不全において、主要な抗原は、ＦＳＨ受容体および　－エノラーゼを含む。

・　　自己免疫性下垂体炎または下垂体自己免疫疾患において、主要な抗原は、下垂体特異的タンパク質因子（ＰＧＳＦ）１ａおよび２を含み；別の抗原は、２型ヨードチロニンデヨージナーゼを含む。

・　　多発性硬化症において、主要な抗原は、ミエリン塩基性タンパク質（“ＭＢＰ”）、ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質（“ＭＯＧ”）およびミエリンプロテオリピドタンパク質（“ＰＬＰ”）を含む。

・　　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むＭＢＰは、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ０２６８６）を有する：
ＭＧＮＨＡＧＫＲＥＬＮＡＥＫＡＳＴＮＳＥＴＮＲＧＥＳＥＫＫＲＮＬＧＥＬＳＲＴＴＳ
ＥＤＮＥＶＦＧＥＡＤＡＮＱＮＮＧＴＳＳＱＤＴＡＶＴＤＳＫＲＴＡＤＰＫＮＡＷＱＤＡ
ＨＰＡＤＰＧＳＲＰＨＬＩＲＬＦＳＲＤＡＰＧＲＥＤＮＴＦＫＤＲＰＳＥＳＤＥＬＱＴＩ
ＱＥＤＳＡＡＴＳＥＳＬＤＶＭＡＳＱＫＲＰＳＱＲＨＧＳＫＹＬＡＴＡＳＴＭＤＨＡＲＨ
ＧＦＬＰＲＨＲＤＴＧＩＬＤＳＩＧＲＦＦＧＧＤＲＧＡＰＫＲＧＳＧＫＤＳＨＨＰＡＲＴ
ＡＨＹＧＳＬＰＱＫＳＨＧＲＴＱＤＥＮＰＶＶＨＦＦＫＮＩＶＴＰＲＴＰＰＰＳＱＧＫＧ
ＲＧＬＳＬＳＲＦＳＷＧＡＥＧＱＲＰＧＦＧＹＧＧＲＡＳＤＹＫＳＡＨＫＧＦＫＧＶＤＡ
ＱＧＴＬＳＫＩＦＫＬＧＧＲＤＳＲＳＧＳＰＭＡＲＲ（配列番号：８）。

・　　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むＭＯＧは、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｑ１６６５３）を有する：
ＭＡＳＬＳＲＰＳＬＰＳＣＬＣＳＦＬＬＬＬＬＬＱＶＳＳＳＹＡＧＱＦＲＶＩＧＰＲＨＰ
ＩＲＡＬＶＧＤＥＶＥＬＰＣＲＩＳＰＧＫＮＡＴＧＭＥＶＧＷＹＲＰＰＦＳＲＶＶＨＬＹ
ＲＮＧＫＤＱＤＧＤＱＡＰＥＹＲＧＲＴＥＬＬＫＤＡＩＧＥＧＫＶＴＬＲＩＲＮＶＲＦＳ
ＤＥＧＧＦＴＣＦＦＲＤＨＳＹＱＥＥＡＡＭＥＬＫＶＥＤＰＦＹＷＶＳＰＧＶＬＶＬＬＡ
ＶＬＰＶＬＬＬＱＩＴＶＧＬＩＦＬＣＬＱＹＲＬＲＧＫＬＲＡＥＩＥＮＬＨＲＴＦＤＰＨ
ＦＬＲＶＰＣＷＫＩＴＬＦＶＩＶＰＶＬＧＰＬＶＡＬＩＩＣＹＮＷＬＨＲＲＬＡＧＱＦＬ
ＥＥＬＲＮＰＦ（配列番号：９）。

・　　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むＰＬＰは、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ６０２０１）を有する：

ＭＧＬＬＥＣＣＡＲＣＬＶＧＡＰＦＡＳＬＶＡＴＧＬＣＦＦＧＶＡＬＦＣＧＣＧＨＥＡＬＴＧＴＥＫＬＩＥＴＹＦＳＫＮＹＱＤＹＥＹＬＩＮＶＩＨＡＦＱＹＶＩＹＧＴＡＳＦＦＦＬＹＧＡＬＬＬＡＥＧＦＹＴＴＧＡＶＲＱＩＦＧＤＹＫＴＴＩＣＧＫＧＬＳＡＴＶＴＧＧＱＫＧＲＧＳＲＧＱＨＱＡＨＳＬＥＲＶＣＨＣＬＧＫＷＬＧＨＰＤＫＦＶＧＩＴＹＡＬＴＶＶＷＬＬＶＦＡＣＳＡＶＰＶＹＩＹＦＮＴＷＴＴＣＱＳＩＡＦＰＳＫＴＳＡＳＩＧＳＬＣＡＤＡＲＭＹＧＶＬＰＷＮＡＦＰＧＫＶＣＧＳＮＬＬＳＩＣＫＴＡＥＦＱＭＴＦＨＬＦＩＡＡＦＶＧＡＡＡＴＬＶＳＬＬＴＦＭＩＡＡＴＹＮＦＡＶＬＫＬＭＧＲＧＴＫＦ（配列番号：１０）。

・　　多発性硬化症を治療するための本開示の組成物において有用なペプチド／エピトープは、式１の組成物において個々に、式１の組成物の混合物においてともに、または１つ以上の式２の組成物において融合される、いくつかの、または全ての以下の配列を含む：

・　　ＭＢＰ１３－３２：ＫＹＬＡＴＡＳＴＭＤＨＡＲＨＧＦＬＰＲＨ（配列番号：１１）；

・　　ＭＢＰ８３－９９：ＥＮＰＷＨＦＦＫＮＩＶＴＰＲＴＰ（配列番号：１２）；

・　　ＭＢＰ１１１－１２９：ＬＳＲＦＳＷＧＡＥＧＱＲＰＧＦＧＹＧＧ（配列番号：１３）；

・　　ＭＢＰ１４６－１７０：ＡＱＧＴＬＳＫＩＦＫＬＧＧＲＤＳＲＳＧＳＰＭＡＲＲ（配列番号：１４）；

・　　ＭＯＧ１－２０：ＧＱＦＲＶＩＧＰＲＨＰＩＲＡＬＶＧＤＥＶ（配列番号：１５）；

・　　ＭＯＧ３５－５５：ＭＥＶＧＷＹＲＰＰＦＳＲＷＨＬＹＲＮＧＫ（配列番号：１６）；および

・　　ＰＬＰ１３９－１５４：ＨＣＬＧＫＷＬＧＨＰＤＫＦＶＧＩ（配列番号：１７）。

・　　関節リウマチにおいて、主要な抗原は、コラーゲンＩＩ、免疫グロブリン結合タンパク質、免疫グロブリンＧのフラグメント結晶化領域、二本鎖ＤＮＡ、ならびに関節リウマチの病態において関与されるタンパク質の自然なおよびシトルリン化形態を含み、フィブリン／フィブリノーゲン、ビメンチン、コラーゲンＩおよびＩＩ、ならびにアルファ－エノラーゼを含む。

・　　自己免疫性胃炎において、主要な抗原は、Ｈ＋、Ｋ＋－ＡＴＰａｓｅである。

・　　悪性貧血において、主要な抗原は、内因子である。

・　　セリアック病において、主要な抗原は、組織トランスグルタミナーゼならびに、自然なおよび脱アミドされるグルテンまたはアルファ－、ガンマ－、およびオメガ－グリアジン、グルテニン、ホルデイン、セカリン、ならびにアベニンなどのグルテン－様タンパク質の形態である。例えば、セリアック病の主要な抗原は、アルファグリアジンであると同時に、アルファグリアジンは、組織グルタミナーゼが、アルファグリアジンのグルタミンをグルタミン酸に変換することによる脱アミドを通じて、体において、より免疫原性に変わると当業者は認識するだろう。従って、アルファグリアジンが最初の外来性食物抗原であると同時に、一度体において改変されてより免疫原性になると、それは自己抗原として特徴づけられうる。

・　　白斑において、主要な抗原は、チロシナーゼ、ならびにチロシナーゼ関連タンパク質１および２である。

・　　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むＭＡＲＴ１、Ｔ細胞１により認識されるメラノーマ抗原、メランＡは、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｑ１６６５５）を有する：

ＭＰＲＥＤＡＨＦＩＹＧＹＰＫＫＧＨＧＨＳＹＴＴＡＥＥＡＡＧＩＧＩＬＴＶＩＬＧＶＬＬＬＩＧＣＷＹＣＲＲＲＮＧＹＲＡＬＭＤＫＳＬＨＶＧＴＱＣＡＬＴＲＲＣＰＱＥＧＦＤＨＲＤＳＫＶＳＬＱＥＫＮＣＥＰＶＶＰＮＡＰＰＡＹＥＫＬＳＡＥＱＳＰＰＰＹＳＰ（配列番号：１８）。

・　　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むチロシナーゼは、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ１４６７９）を有する：
ＭＬＬＡＶＬＹＣＬＬＷＳＦＱＴＳＡＧＨＦＰＲＡＣＶＳＳＫＮＬＭＥＫＥＣＣＰＰＷＳ
ＧＤＲＳＰＣＧＱＬＳＧＲＧＳＣＱＮＩＬＬＳＮＡＰＬＧＰＱＦＰＦＴＧＶＤＤＲＥＳＷ
ＰＳＶＦＹＮＲＴＣＱＣＳＧＮＦＭＧＦＮＣＧＮＣＫＦＧＦＷＧＰＮＣＴＥＲＲＬＬＶＲ
ＲＮＩＦＤＬＳＡＰＥＫＤＫＦＦＡＹＬＴＬＡＫＨＴＩＳＳＤＹＶＩＰＩＧＴＹＧＱＭＫ
ＮＧＳＴＰＭＦＮＤＩＮＩＹＤＬＦＶＷＭＨＹＹＶＳＭＤＡＬＬＧＧＳＥＩＷＲＤＩＤＦ
ＡＨＥＡＰＡＦＬＰＷＨＲＬＦＬＬＲＷＥＱＥＩＱＫＬＴＧＤＥＮＦＴＩＰＹＷＤＷＲＤ
ＡＥＫＣＤＩＣＴＤＥＹＭＧＧＱＨＰＴＮＰＮＬＬＳＰＡＳＦＦＳＳＷＱＩＶＣＳＲＬＥ
ＥＹＮＳＨＱＳＬＣＮＧＴＰＥＧＰＬＲＲＮＰＧＮＨＤＫＳＲＴＰＲＬＰＳＳＡＤＶＥＦ
ＣＬＳＬＴＱＹＥＳＧＳＭＤＫＡＡＮＦＳＦＲＮＴＬＥＧＦＡＳＰＬＴＧＩＡＤＡＳＱＳ
ＳＭＨＮＡＬＨＩＹＭＮＧＴＭＳＱＶＱＧＳＡＮＤＰＩＦＬＬＨＨＡＦＶＤＳＩＦＥＱＷ
ＬＲＲＨＲＰＬＱＥＶＹＰＥＡＮＡＰＩＧＨＮＲＥＳＹＭＶＰＦＩＰＬＹＲＮＧＤＦＦＩ
ＳＳＫＤＬＧＹＤＹＳＹＬＱＤＳＤＰＤＳＦＱＤＹＩＫＳＹＬＥＱＡＳＲＩＷＳＷＬＬＧ
ＡＡＭＶＧＡＶＬＴＡＬＬＡＧＬＶＳＬＬＣＲＨＫＲＫＱＬＰＥＥＫＱＰＬＬＭＥＫＥＤ
ＹＨＳＬＹＱＳＨＬ（配列番号：１９）。

・　　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むメラニン形成細胞タンパク質ＰＭＥＬ、ｇｐ１００は、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４０９６７）を有する：
ＭＤＬＶＬＫＲＣＬＬＨＬＡＶＩＧＡＬＬＡＶＧＡＴＫＶＰＲＮＱＤＷＬＧＶＳＲＱＬＲ
ＴＫＡＷＮＲＱＬＹＰＥＷＴＥＡＱＲＬＤＣＷＲＧＧＱＶＳＬＫＶＳＮＤＧＰＴＬＩＧＡ
ＮＡＳＦＳＩＡＬＮＦＰＧＳＱＫＶＬＰＤＧＱＶＩＷＶＮＮＴＩＩＮＧＳＱＶＷＧＧＱＰ
ＶＹＰＱＥＴＤＤＡＣＩＦＰＤＧＧＰＣＰＳＧＳＷＳＱＫＲＳＦＶＹＶＷＫＴＷＧＱＹＷ
ＱＶＬＧＧＰＶＳＧＬＳＩＧＴＧＲＡＭＬＧＴＨＴＭＥＶＴＶＹＨＲＲＧＳＲＳＹＶＰＬ
ＡＨＳＳＳＡＦＴＩＴＤＱＶＰＦＳＶＳＶＳＱＬＲＡＬＤＧＧＮＫＨＦＬＲＮＱＰＬＴＦ
ＡＬＱＬＨＤＰＳＧＹＬＡＥＡＤＬＳＹＴＷＤＦＧＤＳＳＧＴＬＩＳＲＡＬＶＶＴＨＴＹ
ＬＥＰＧＰＶＴＡＱＶＶＬＱＡＡＩＰＬＴＳＣＧＳＳＰＶＰＧＴＴＤＧＨＲＰＴＡＥＡＰ
ＮＴＴＡＧＱＶＰＴＴＥＶＶＧＴＴＰＧＱＡＰＴＡＥＰＳＧＴＴＳＶＱＶＰＴＴＥＶＩＳ
ＴＡＰＶＱＭＰＴＡＥＳＴＧＭＴＰＥＫＶＰＶＳＥＶＭＧＴＴＬＡＥＭＳＴＰＥＡＴＧＭ
ＴＰＡＥＶＳＩＶＶＬＳＧＴＴＡＡＱＶＴＴＴＥＷＶＥＴＴＡＲＥＬＰＩＰＥＰＥＧＰＤ
ＡＳＳＩＭＳＴＥＳＩＴＧＳＬＧＰＬＬＤＧＴＡＴＬＲＬＶＫＲＱＶＰＬＤＣＶＬＹＲＹ
ＧＳＦＳＶＴＬＤＩＶＱＧＩＥＳＡＥＩＬＱＡＶＰＳＧＥＧＤＡＦＥＬＴＶＳＣＱＧＧＬ
ＰＫＥＡＣＭＥＩＳＳＰＧＣＱＰＰＡＱＲＬＣＱＰＶＬＰＳＰＡＣＱＬＶＬＨＱＩＬＫＧ
ＧＳＧＴＹＣＬＮＶＳＬＡＤＴＮＳＬＡＶＶＳＴＱＬＩＭＰＧＱＥＡＧＬＧＱＶＰＬＩＶ
ＧＩＬＬＶＬＭＡＶＶＬＡＳＬＩＹＲＲＲＬＭＫＱＤＦＳＶＰＱＬＰＨＳＳＳＨＷＬＲＬ
ＰＲＩＦＣＳＣＰＩＧＥＮＳＰＬＬＳＧＱＱＶ（配列番号：２０）。

・　　重症筋無力症において、主要な抗原はアセチルコリン受容体である。

・　　尋常性天疱瘡およびバリアント型において、主要な抗原はデスモグレイン３、１および４であり；他の抗原は、ペンファキシン（ｐｅｍｐｈａｘｉｎ）、デスモコリン、プラコグロビン、ペルプラキン（ｐｅｒｐｌａｋｉｎ）、デスモプラキン、およびアセチルコリン受容体を含む。

・　　水疱性類天疱瘡において、主要な抗原は、ＢＰ１８０およびＢＰ２３０を含み；他の抗原は、プレクチンおよびラミニン５を含む。

・　　ジューリング疱疹状皮膚炎において、主要な抗原は、筋内膜および組織トランスグルタミナーゼを含む。

・　　後天性表皮水疱症において、主要な抗原は、コラーゲンＶＩＩである。

・　　全身性硬化症において、主要な抗原は、マトリックスメタロプロテイナーゼ１および３、コラーゲン－特異的分子シャペロン熱ショックタンパク質４７、フィブリリン－１、ならびにＰＤＧＦ受容体を含み；他の抗原は、Ｓｃｌ－７０、Ｕ１　ＲＮＰ、Ｔｈ／Ｔｏ、Ｋｕ、Ｊｏ１、ＮＡＧ－２、セントロメアタンパク質、トポイソメラーゼＩ、核

小体タンパク質、ＲＮＡポリメラーゼＩ、ＩＩおよびＩＩＩ、ＰＭ－Ｓｌｃ、フィブリラリン、ならびにＢ２３を含む。

・　混合性結合組織病において、主要な抗原はＵ１ｓｎＲＮＰである。

・　シェーグレン症候群において、主要な抗原は核抗原ＳＳ－ＡおよびＳＳ－Ｂであり；他の抗原は、フォドリン、ポリ（ＡＤＰ－リボース）ポリメラーゼおよびトポイソメラーゼ、ムスカリン受容体、ならびにＦｃ－γ受容体ＩＩＩｂを含む。

・　全身性エリテマトーデスにおいて、主要な抗原は、“スミス抗原”、ＳＳ－Ａ、ハイモビリティ・グループ・ボックス１（ＨＭＧＢ１）、ヌクレオソーム、ヒストンタンパク質および二本鎖ＤＮＡを含む核タンパク質（これらに対して、疾病過程において自己抗体が作製される）を含む。

・　グッドパスチャー症候群において、主要な抗原は、コラーゲンＩＶを含む糸球体基底膜タンパク質を含む。

・　リウマチ性心疾患において、主要な抗原は、心筋ミオシンである。

・　多腺性自己免疫症候群１型において、抗原は、芳香族Ｌ－アミノ酸デカルボキシラーゼ、ヒスチジンデカルボキシラーゼ、システインスルフィン酸デカルボキシラーゼ、トリプトファンヒドロキシラーゼ、チロシンヒドロキシラーゼ、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ、肝臓Ｐ４５０チトクロームＰ４５０　１Ａ２もしくは２Ａ６、ＳＯＸ－９、ＳＯＸ－１０、カルシウム感知受容体タンパク質、ならびに１型インターフェロンのインターフェロンアルファ、ベータおよびオメガを含む。

・　視神経脊髄炎において、主要な抗原は、ＡＱＰ４である。

・　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むアクアポリン４は、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ５５０８７）を有する：

ＭＳＤＲＰＴＡＲＲＷＧＫＣＧＰＬＣＴＲＥＮＩＭＶＡＦＫＧＶＷＴＱＡＦＷＫＡＶＴＡ
ＥＦＬＡＭＬＩＦＶＬＬＳＬＧＳＴＩＮＷＧＧＴＥＫＰＬＰＶＤＭＶＬＩＳＬＣＦＧＬＳ
ＩＡＴＭＶＱＣＦＧＨＩＳＧＧＨＩＮＰＡＶＴＶＡＭＶＣＴＲＫＩＳＩＡＫＳＶＦＹＩＡ
ＡＱＣＬＧＡＩＩＧＡＧＩＬＹＬＶＴＰＰＳＶＶＧＧＬＧＶＴＭＶＨＧＮＬＴＡＧＨＧＬ
ＬＶＥＬＩＩＴＦＱＬＶＦＴＩＦＡＳＣＤＳＫＲＴＤＶＴＧＳＩＡＬＡＩＧＦＳＶＡＩＧ
ＨＬＦＡＩＮＹＴＧＡＳＭＮＰＡＲＳＦＧＰＡＶＩＭＧＮＷＥＮＨＷＩＹＷＶＧＰＩＩＧ
ＡＶＬＡＧＧＬＹＥＹＶＦＣＰＤＶＥＦＫＲＲＦＫＥＡＦＳＫＡＡＱＱＴＫＧＳＹＭＥＶ
ＥＤＮＲＳＱＶＥＴＤＤＬＩＬＫＰＧＶＶＨＶＩＤＶＤＲＧＥＥＫＫＧＫＤＱＳＧＥＶＬ
ＳＳＶ（配列番号：２１）。

・　ぶどう膜炎において、主要な抗原は、網膜Ｓ－抗原または“Ｓ－アレスチン”および光受容体間レチノイド結合タンパク（ＩＲＢＰ）またはレチノール結合タンパク質３を含む。

・　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むＳ－アレスチンは、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ１０５２３）を有する：

ＭＡＡＳＧＫＴＳＫＳ　ＥＰＮＨＶＩＦＫＫＩ　ＳＲＤＫＳＶＴＩＹＬ　ＧＮＲＤＹＩＤ
ＨＶＳ　ＱＶＱＰＶＤＧＶＶＬ　ＶＤＰＤＬＶＫＧＫＫ　ＶＹＶＴＬＴＣＡＦＲ　ＹＧＱ
ＥＤＩＤＶＩＧ　ＬＴＦＲＲＤＬＹＦＳ　ＲＶＱＶＹＰＰＶＧＡ　ＡＳＴＰＴＫＬＱＥＳ
　ＬＬＫＫＬＧＳＮＴＹ　ＰＦＬＬＴＦＰＤＹＬ　ＰＣＳＶＭＬＱＰＡＰ　ＱＤＳＧＫＳ
ＣＧＶＤ　ＦＥＶＫＡＦＡＴＤＳ　ＴＤＡＥＥＤＫＩＰＫ　ＫＳＳＶＲＬＬＩＲＫ　ＶＱ
ＨＡＰＬＥＭＧＰ　ＱＰＲＡＥＡＡＷＱＦ　ＦＭＳＤＫＰＬＨＬＡ　ＶＳＬＮＫＥＩＹＦ
Ｈ　ＧＥＰＩＰＶＴＶＴＶ　ＴＮＮＴＥＫＴＶＫＫ　ＩＫＡＦＶＥＱＶＡＮ　ＶＶＬＹＳ
ＳＤＹＹＶ　ＫＰＶＡＭＥＥＡＱＥ　ＫＶＰＰＮＳＴＬＴＫ　ＴＬＴＬＬＰＬＬＡＮ　Ｎ
ＲＥＲＲＧＩＡＬＤ　ＧＫＩＫＨＥＤＴＮＬ　ＡＳＳＴＩＩＫＥＧＩ　ＤＲＴＶＬＧＩＬ
ＶＳ　ＹＱＩＫＶＫＬＴＶＳ　ＧＦＬＧＥＬＴＳＳＥ　ＶＡＴＥＶＰＦＲＬＭ　ＨＰＱＰ
ＥＤＰＡＫＥ　ＳＹＱＤＡＮＬＶＦＥ　ＥＦＡＲＨＮＬＫＤＡ　ＧＥＡＥＥＧＫＲＤＫ
ＮＤＶＤＥ（配列番号：２２）。

・　本開示の組成物において有用な外因的に得られる形態を含むＩＲＢＰは、以下の配列（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ１０７４５）を有する：

MMREWVLLMSVLLCGLAGPTHLFQPSLVLDMAKVLLDNYC
FPENLLGMQEAIQQAIKSHEILSISDPQTLASVLTAGVQS
SLNDPRLVISYEPSTPEPPPQVPALTSLSEEELLAWLQRG
LRHEVLEGNVGYLRVDSVPGQEVLSMMGEFLVAHVWGNLM
GTSALVLDLRHCTGGQVSGIPYIISYLHPGNTILHVDTIY
NRPSNTTTEIWTLPQVLGERYGADKDVVVLTSSQTRGVAE
DIAHILKQMRRAIVVGERTGGGALDLRKLRIGESDFFFTV
PVSRSLGPLGGGSQTWEGSGVLPCVGTPAEQALEKALAIL
TLRSALPGVVHCLQEVLKDYYTLVDRVPTLLQHLASMDFS
TVVSEEDLVTKLNAGLQAASEDPRLLVRAIGPTETPSWPA
PDAAAEDSPGVAPELPEDEAIRQALVDSVFQVSVLPGNVG
YLRFDSFADASVLGVLAPYVLRQVWEPLQDTEHLIMDLRH
NPGGPSSAVPLLLSYFQGPEAGPVHLFTTYDRRTNITQEH
FSHMELPGPRYSTQRGVYLLTSHRTATAAEEFAFLMQSLG
WATLVGEITAGNLLHTRTVPLLDTPEGSLALTVPVLTFID
NHGEAWLGGGVVPDAIVLAEEALDKAQEVLEFHQSLGALV
EGTGHLLEAHYARPEVVGQTSALLRAKLAQGAYRTAVDLE
SLASQLTADLQEVSGDHRLLVFHSPGELVVEEAPPPPPAV
PSPEELTYLIEALFKTEVLPGQLGYLRFDAMAELETVKAV
GPQLVRLVWQQLVDTAALVIDLRYNPGSYSTAIPLLCSYF
FEAEPRQHLYSVFDRATSKVTEVWTLPQVAGQRYGSHKDL
YILMSHTSGSAAEAFAHTMQDLQRATVIGEPTAGGALSVG
IYQVGSSPLYASMPTQMAMSATTGKAWDLAGVEPDITVPM
SEALSIAQDIVALRAKVPTVLQTAGKLVADNYASAELGAK
MATKLSGLQSRYSRVTSEVALAEILGADLQMLSGDPHLKA
AHIPENAKDRIPGIVPMQIPSPEVFEELIKFSFHTNVLED
NIGYLRFDMFGDGELLTQVSRLLVEHIWKKIMHTDAMIID
MRFNIGGPTSSIPILCSYFFDEGPPVLLDKIYSRPDDSVS
ELWTHAQVVGERYGSKKSMVILTSSVTAGTAEEFTYIMKR
LGRALVIGEVTSGGCQPPQTYHVDDTNLYLTIPTARSVGA
SDGSSWEGVGVTPHVVVPAEEALARAKEMLQHNQLRVKRS
PGLQDHL（配列番号：２３）。

【００６９】

抗原が、望ましくない免疫応答が発症しうる、食物抗原などの外来性抗原である実施形態では、特異的な抗原は、以下でありうる：

・　ピーナッツ由来のもの：コンアラキン（Ａｒａ　ｈ　１）、アレルゲンＩＩ（Ａｒａ　ｈ　２）、ピーナッツアグルチニン、コングルチン（Ａｒａ　ｈ　６）；

・　コンアラキンは、例えばＵＮＩＰＲＯＴ　Ｑ６ＰＳＵ６として同定される配列を有する

・　リンゴ由来のもの：３１ｋｄａの主要アレルゲン／疾病寛容タンパク質相同体（Ｍａｌ　ｄ　２）、脂質転移タンパク質前駆物質（Ｍａｌ　ｄ　３）、主要アレルゲンＭａｌ　ｄ　１．０３Ｄ（Ｍａｌ　ｄ　１）；

・　乳由来のもの：α－ラクトアルブミン（ＡＬＡ）、ラクトトランスフェリン；キウイ由来のもの：アクチニジン（Ａｃｔ　ｃ　１、Ａｃｔ　ｄ　１）、フィトシスタチン、タウマチン－様タンパク質（Ａｃｔ　ｄ　２）、キウェリン（Ａｃｔ　ｄ　５）；

・　卵白由来のもの：オボムコイド、オボアルブミン、オボトランスフェリン、およびリゾチーム；

・　卵黄由来のもの：リベチン、アポビチリン（ａｐｏｖｉｔｉｌｌｉｎ）、およびボスベチン（ｖｏｓｖｅｔｉｎ）；

・　カラシナ由来のもの：２Ｓ　アルブミン（Ｓｉｎ　ａ　１）、１１Ｓ　グロブ

リン（Ｓｉｎａ　２）、脂質転移タンパク質（Ｓｉｎａ　３）、プロフィリン（Ｓｉｎａ　４）；
・　　セロリ由来のもの：プロフィリン（Ａｐｉ　ｇ　４）、高分子量糖タンパク質（Ａｐｉ　ｇ　５）；
・　　エビ由来のもの：Ｐｅｎａ　１アレルゲン（Ｐｅｎａ　１）、アレルゲン　Ｐｅｎ　ｍ　２（Ｐｅｎ　ｍ　２）、トロポミオシン速筋型アイソフォーム；
・　　コムギおよび／または他の穀物由来のもの：高分子量グルテニン、低分子量グルテニン、アルファー、ガンマーおよびオメガーグリアジン、ホルデイン、セカリンおよび／またはアベニン；
・　　セリアック病を治療するための本開示の組成物において有用なペプチド／エピトープは、式１の組成物において個々に、式１の組成物の混合物においてともに、または１つ以上の式２の組成物において融合される、いくつかの、または全ての以下の配列を含む：
・　　ＤＱ－２関連、天然型（ｎａｔｉｖｅ）アルファーグリアジン“３３－ｍｅｒ”：
ＬＱＬＱＰＦＰＱＰＱＬＰＹＰＱＰＱＬＰＹＰＱＰＱＬＰＹＰＱＰＱＰＦ（配列番号：２４）
・　　ＤＱ－２関連、脱アミド化アルファーグリアジン“３３－ｍｅｒ”：
ＬＱＬＱＰＦＰＱＰＥＬＰＹＰＱＰＥＬＰＹＰＱＰＥＬＰＹＰＱＰＱＰＦ（配列番号：２５）
・　　ＤＱ－８関連、アルファーグリアジン：
ＱＱＹＰＳＧＱＧＳＦＱＰＳＱＱＮＰＱ（配列番号：２６）
・　　ＤＱ－８関連、オメガーグリアジン（コムギ、Ｕ５ＵＡ４６）：
ＱＰＦＰＱＰＥＱＰＦＰＷ（配列番号：２７）
・　　イチゴ由来のもの：主要イチゴアレルギーＦｒａ　ａ　１－Ｅ（Ｆｒａ　ａ　１）；および
・　　バナナ由来のもの：プロフィリン（Ｍｕｓ　ｘｐ　１）。

【００７０】

抗原が、望ましくない免疫応答が発症する、動物、植物および環境の抗原などの外来性抗原である実施形態では、特異的な抗原は例えば、以下の由来のタンパク質またはペプチドを含むネコ、マウス、イヌ、ウマ、ハチ、ホコリ、樹木およびセイタカアワダチソウでありうる：
・　　クサ（ｗｅｅｄ）（ブタクサアレルゲンａｍｂ　ａ　１、２、３、５、および６、ならびにＡｍｂ　ｔ　５；アカザ（ｐｉｇｗｅｅｄ）　Ｃｈｅ　ａ　２および５；ならびに他のクサアレルゲンＰａｒ　ｊ　１、２、および３、ならびにＰａｒ　ｏ　１を含む）；
・　　クサ（ｇｒａｓｓ）（主要アレルゲンＣｙｎ　ｄ　１、７、および１２；Ｄａｃ　ｇ　１、２、および５；Ｈｏｌ　Ｉ　１．０１２０３；Ｌｏｌ　ｐ　１、２、３、５、および１１；Ｍｅｒ　１；Ｐｈａ　１；Ｐｏａ　ｐ　１および５を含む）；
・　　ブタクサおよび他のクサ由来の花粉（ナガバギシギシ（ｃｕｒｌｙ　ｄｏｃｋ）、シロザ（ｌａｍｂｓ　ｑｕａｒｔｅｒｓ）、アカザ、オオバコ、ヒメスイバ、およびヤマヨモギを含む）、クサ（ｇｒａｓｓ）（バミューダグラス、ジョンソングラス、ケンタッキーグラス、オーチャードグラス、ハルガヤ、およびオオアワガエリを含む）、および樹木（キササゲ、ニレ、ヒッコリー、オリーブ、ペカン、アメリカスズカケノキ、およびクルミを含む）；
・　　ホコリ（ヤケヒョウヒダニ種由来の、例えばＤｅｒ　ｐ　１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１４、１５、１８、２０、２１、および２３；コナヒョウヒダニ種由来の、例えばＤｅｒ　ｆ　１、２、３、６、７、１０、１１、１３、１４、１５、１６、１８、２２、および２４；熱帯タマニクダニ種由来の、例えばＢｌｏ　ｔ　１、２、３、４、５、６、１０、１１、１２、１３、１９、および２１の主要アレルゲン

を含み；さらに、シワチリダニ（Ｅｕｒｏｇｌｙｐｈｕｓ　ｍａｙｎｅｉ）由来のアレルゲンＥｕｒ　ｍ　２、ケナガコダニ由来のアレルゲンＴｙｒ　ｐ　１３、ならびにアレルゲンＢｌａ　ｇ　１、２、および４；ゴキブリ由来のＰｅｒ　ａ　１、３、および７を含む）；

・　　ペット（ネコ、イヌ、げっ歯類、および家畜を含み；主要ネコアレルゲンは、Ｆｅｌ　ｄ　１から８、ネコＩｇＡ、ＢＬａ　ｇ　２、およびネコアルブミンを含み；主要イヌアレルゲンは、Ｃａｎ　ｆ　１から６、およびイヌアルブミンを含む）；

・　　主要アレルゲンＡｐｉ　ｍ　１から１２を含む、ハチの針；ならびに

・　　アスペルギルス属およびペニシリウム属の種、並びにアルテルナリア・アルテルナータ（Ａｌｔｅｒｎａｒｉａ　ａｌｔｅｒｎａｔａ）、ダビディエラ・タシアナ（Ｄａｖｉｄｉｅｌｌａ　ｔａｓｓｉａｎａ）、および紅色白癬菌種由来のアレルゲンを含む、真菌。

【００７１】

当業者によって理解されるように、患者を試験して、望ましくない免疫応答を発症したことがある抗原を同定することができ、かつタンパク質、ペプチド等を当該抗原に基づいて開発でき、本開示の組成物におけるＸとして組み込むことができる。

【００７２】

シアル化抗原、抗体、抗体フラグメント

【００７３】

以下は、糖鎖付加が特異的にＡＳＧＰＲを標的とするようにしておくために除去されうるシアル化を有する抗原、抗体、抗体フラグメントの例である：卵胞刺激ホルモン（ＦＳＨ）、ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ＨＣＧ）、黄体形成ホルモン（ＬＨ）、オステオポンチン、甲状腺刺激ホルモン（ＴＳＨ）、アガルシダーゼアルファ、アガルシダーゼベータ（ＦＡＢＲＡＺＹＭＥ（登録商標）；ジェンザイム）、エポエチンアルファおよびエポエチンベータ、フォリトロピンアルファ（ＧＯＮＡＬ－Ｆ（登録商標）；メルク／セローノ）およびフォリトロピンベータ（ＦＯＬＬＩＳＴＩＭ（登録商標）；シェリング・プラウ）、インスリン成長因子結合タンパク質６（ＩＧＦＢＰ－６）、ルトロピンアルファ（ＬＵＶＥＲＩＳ（登録商標）；メルク／セローノ）、トランスフォーミング増殖因子β１、アンチトロンビン（ＡＴｒｙｎ（登録商標）／ＴＲＯＭＢＡＴＥ－ＩＩＩ（登録商標）；ジェンザイム／タレクリス・バイオセラピューティクス）、甲状腺刺激ホルモンアルファ（ＴＨＹＲＯＧＥＮ（登録商標）；ジェンザイム）、レノグラスチム、サルグラモスチム（ＬＥＵＫＩＮＥ（登録商標）；ジェンザイム）、インターロイキン－３、プロウロキナーゼ、リンホトキシン、Ｃ１－エステラーゼ阻害剤（Ｂｅｒｉｎｅｒｔ（登録商標）；ＣＳＬ）、ＩｇＧ－様抗体、インターフェロンベータ、活性化凝固第ＶＩＩ因子（ＮＯＶＯ　ＳＥＶＥＮ（登録商標）；ノボ・ノルディスク）、活性化凝固第ＶＩＩＩ因子（モロクトコグアルファ）、活性化凝固第ＩＸ因子（ノナコグアルファ）（ＢＥＮＥＦＩＸ（登録商標）；ワイス）、ならびにｐ５５腫瘍壊死受容体融合タンパク質。（Ｂｙｒｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　Ｔｏｄａｙ，Ｖｏｌ　１２，Ｎｏ．７／８，ｐａｇｅｓ　３１９－３２６，Ａｐｒ．２００７　ａｎｄ　Ｓｏｌａ　ｅｔ　ａｌ．，ＢｉｏＤｒｕｇｓ．２０１０；２４（１）：９－２１を参照されたい）。以前に高グリコシル化され、かつ肝細胞－ＡＳＧＰＲ標的化のために脱シアル化されうる薬学的に関連するタンパク質は：インターフェロンアルファおよびガンマ、黄体形成ホルモン、Ｆｖ抗体フラグメント、アスパラギナーゼ、コリンエステラーゼ、ダルベポエチンアルファ（ＡｒａＮＥＳＰ（登録商標）；アムジェン）、トロンボポエチン、レプチン、ＦＳＨ、ＩＦＮ－α２、血清アルブミン、およびコリフォリトロピンアルファを含む。

【００７４】

細菌または酵母において産生されるタンパク質（アルギナーゼ、いくつかのインスリン、およびウリカーゼなど）を含む、シアル酸で正常に終わらないグリカンを有するタンパク質は、脱シアル化の影響を受けないだろう。

【００７５】

公的に入手可能なＵＮＩＰＲＯＴなどの参照は、全てではないがほとんどの目的の抗原、抗体、抗体フラグメントおよびリガンド上での脱シアル化のための部位の、存在および位置を開示すると当業者は認識するだろう。

【００７６】

抗体およびペプチドリガンド

【００７７】

抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを利用する実施形態では、かかる部分は、標的とされる循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体に特異的に結合するために選択され、かつ循環している標的とされる部分の肝臓の取り込みをもたらし、おそらく標的化部分を有する付加物として、究極的に、循環している標的とされる部分のクリアランスおよび不活性化をもたらす。例えば、肝臓標的化第ＶＩＩＩ因子は、循環第ＶＩＩＩ因子抗体に結合し、かつクリアランスするだろう。当業者は、かかる部分の同定のための手順を熟知しているだろう。

【００７８】

リンカー

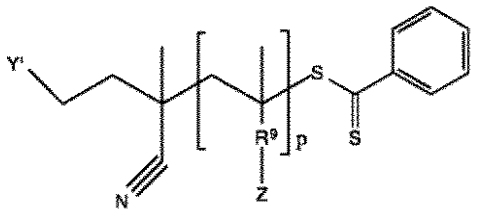
【００７９】

本開示の組成物において利用されるリンカー（式１における“Ｙ”）は、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミジルリンカー、マレイミドリンカー、ビニルスルホンリンカー、ピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）リンカー、ピリジルジチオールリンカー、ｎ－ニトロフェニルカーボネートリンカー、ＮＨＳ－エステルリンカー、ニトロフェノキシポリ（エチレングリコール）エステルリンカー等を含みうる。

【００８０】

リンカーの１つの特定の基は下記の式Ｙ’－ＣＭＰ（ここで、Ｙ’は、リンカーの残存部分を示し、かつR^9およびＺは規定されているとおりである）。より特には、式Ｙ’－ＣＭＰを含むリンカーの基において、R^9置換基は、エチルアセトアミド基、ならびにさらにより特には、Ｎ－アセチルガラクトサミンのＣ１とコンジュゲートされたエチルアセトアミドである。

【化１１】



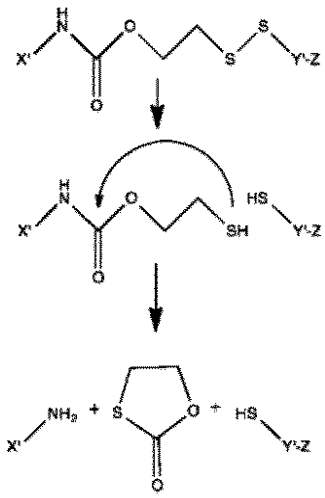
式Y'-CMP

【００８１】

ジチオールを含有するリンカー、とりわけ特には、ジスルファニルエチルカルバミン酸を含有するリンカー（Ｘの遊離アミンを含む名称、そうでなければＸの遊離アミンを含まない“ジスルファニルエチルエステル”と命名される）は、例えば下記に説明されるように（ここで、Ｙ’は、リンカーの残存部分を示し、かつＸ’およびＺは規定されているとおりである）、いったん細胞の内側に入るとその最初の形態において抗原を切断し、かつ解放する能力を有するので、本開示の組成物において特に有利である。

【００８２】

【化１２】



【００８３】

特に式Ｙａから式Ｙｐにおいて下記に説明されるリンカーに関して：

左の括弧“（”は、ＸおよびＹ間の結合を示し；

右または下の括弧“）”は、ＹおよびＺ間の結合を示し；

ｎは、約１から１００、特に約８から９０（例えば、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０または９５）、より特には、約４０から８０（例えば、３９、４０、４３、４５、４６、４８、５０、５２、５３、５５、５７、６０、６２、６５、６６、６８、７０、７３、７５、７８、８０または８１）のエチレングリコール基を含む混合物を表す整数であり、ここで、混合物は典型的に、ｎ±１０％として特定される整数を包含し；

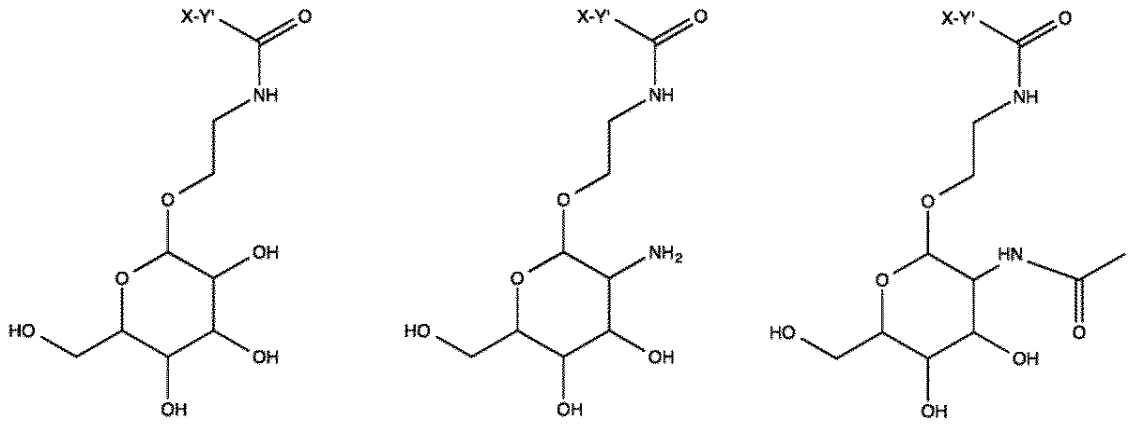
ｐは、約２から１５０、特に約２０から１００（例えば、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００または１０５）およびより特には、約３０から４０（例えば、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３または４４）を含む混合物を表す整数であり、ここで、混合物は典型的に、ｐ±１０％として特定される整数を包含し；

ｑは、約１から４４、特に約３から２０（例えば、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１または２２）およびより特には、約４から１２（例えば、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２または１３）を含む混合物を表す整数であり、ここで、混合物は典型的に、ｑ±１０％として特定される整数を包含し；かつ

R^8は、－CH_2－（“メチル”）または－CH_2－CH_2－Ｃ（CH_3）（ＣＮ）－（“１－シアノ－１－メチル－プロピル”または“ＣＭＰ”）である。

式１の以下の構造：

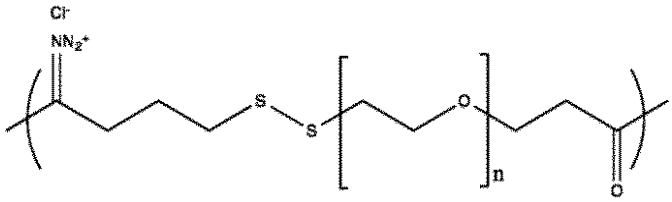
【化１３】



において説明されるように、Ｒ^{9}は、直接結合または－ＣＨ$_{2}$－ＣＨ$_{2}$－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）－（エチルアセトアミド基または“ＥｔＡｃＮ”）、（ここで、ＥｔＡｃＮ基が示され、かつリンカーの残りは、Ｙ’と称される）であり：
かつＺはＣ１でコンジュゲートされたガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。

【００８４】

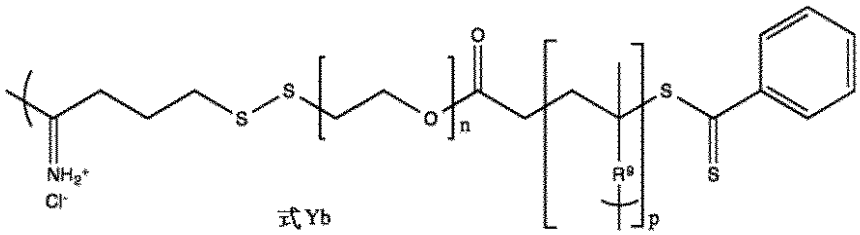
【化１４】



式Ya

【００８５】

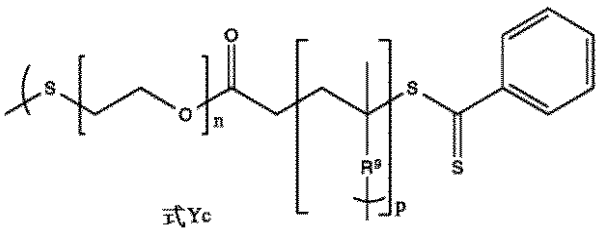
【化１５】



式Yb

【００８６】

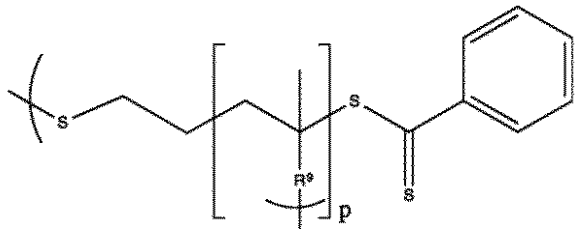
【化１６】



式Yc

【００８７】

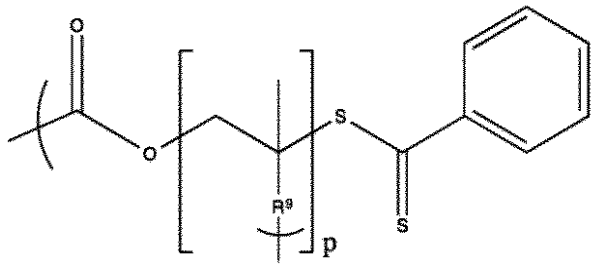
【化１７】



式Yd

【００８８】

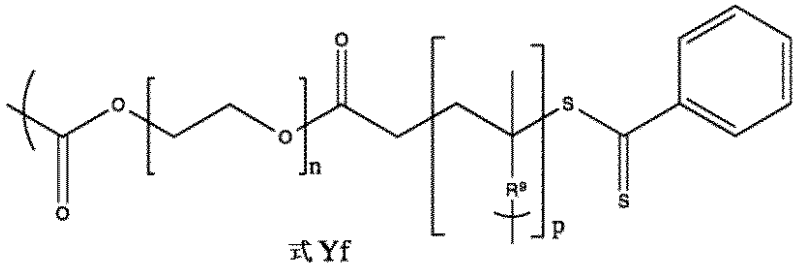
【化１８】



式Ye

【００８９】

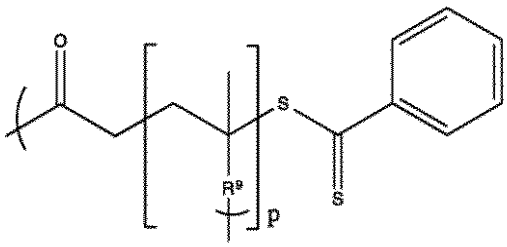
【化１９】



式Yf

【００９０】

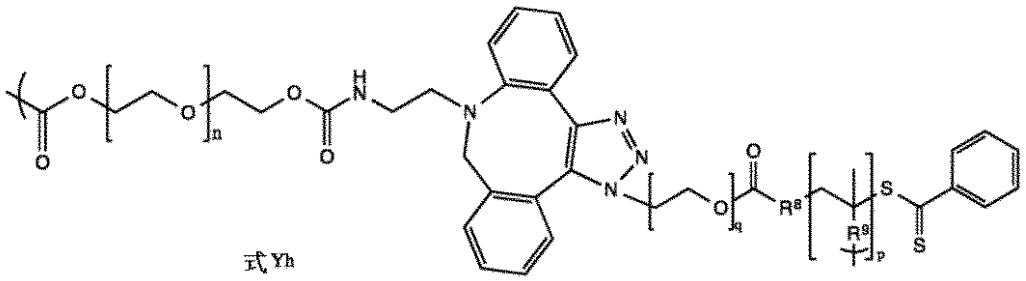
【化２０】



式Yg

【００９１】

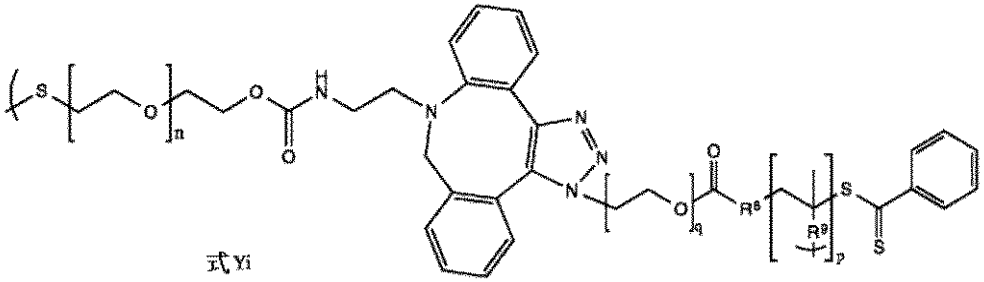
【化２１】



式Yh

【００９２】

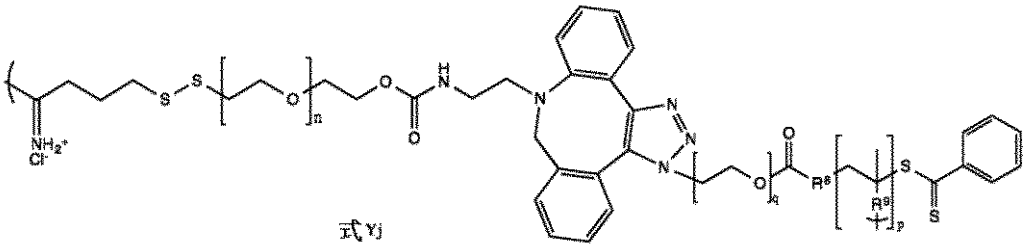
【化２２】



式Yi

【００９３】

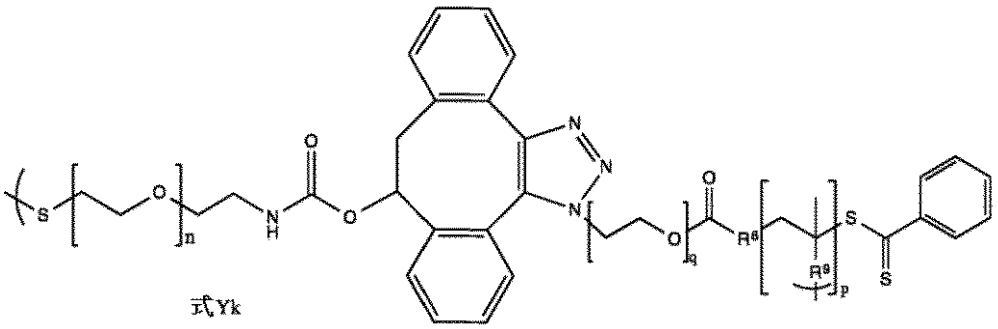
【化２３】



式Yj

【００９４】

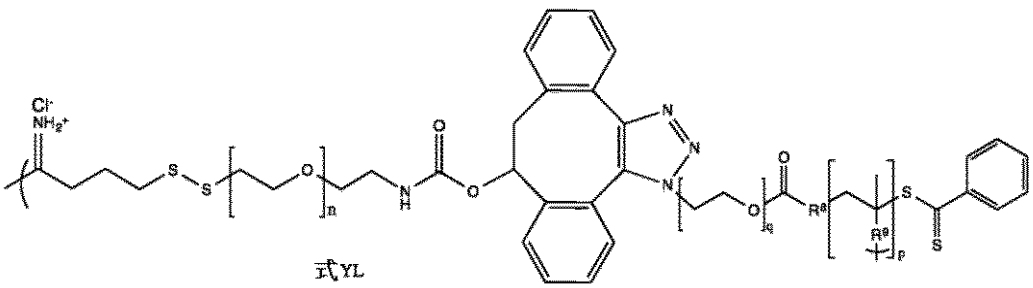
【化２４】



式Yk

【００９５】

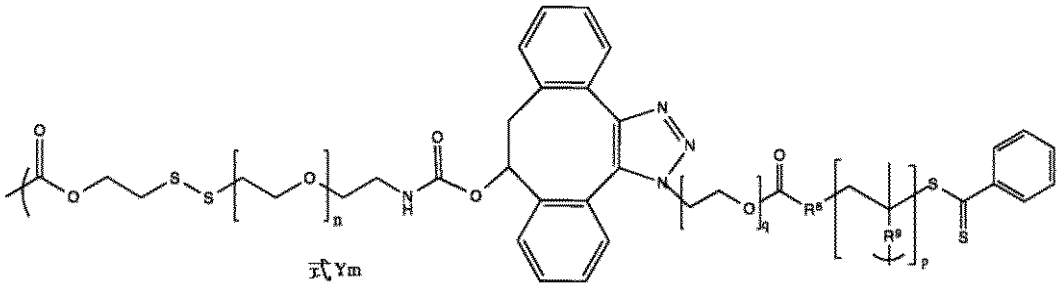
【化２５】



式YL

【００９６】

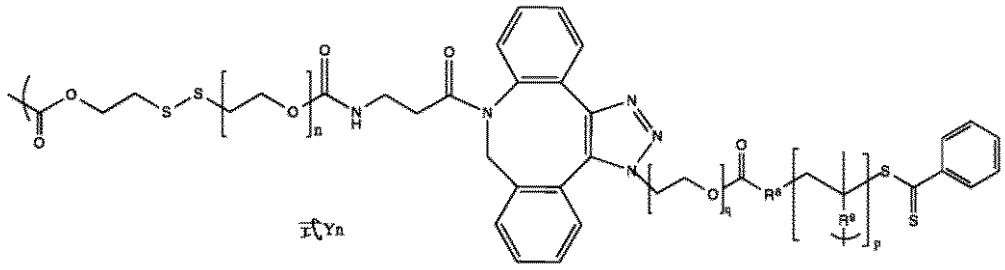
【化２６】



式Ym

【００９７】

【化２７】

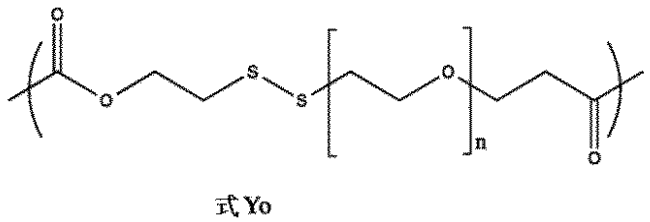


式Yn

（式Ｙｎのリンカーは、疎水性抗原へのコンジュゲーションに特に適切なＹｎを与えるある特定の前駆物質を介して合成されうる。）

【００９８】

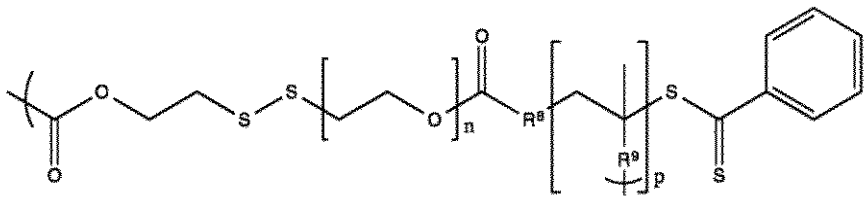
【化２８】



式Yo

【００９９】

【化２９】

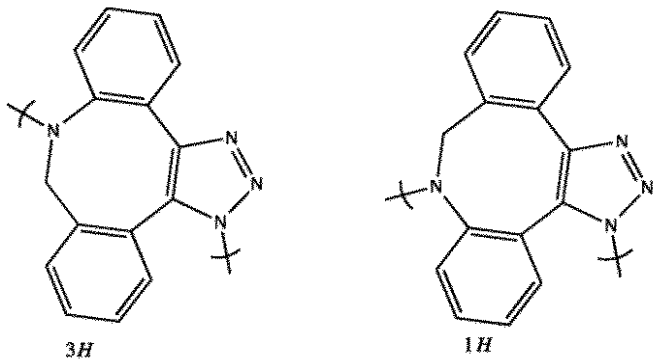


式Yp

【０１００】

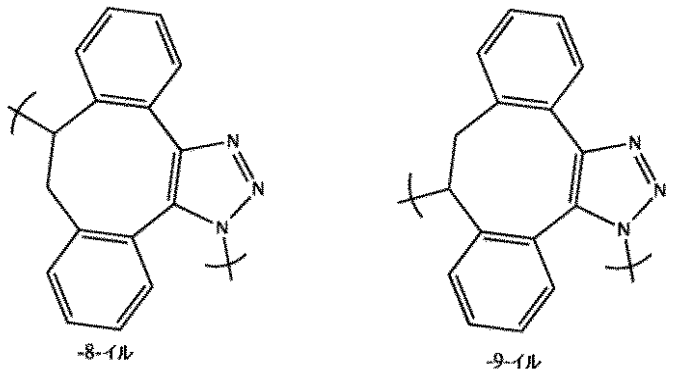
式ＹｈからＹｎとして上記に示されるリンカーは、分離せずに利用される異性体として合成される。例えば、式Ｙｈ、Ｙｉ、ＹｊおよびＹｎのリンカーは、下記に説明される８、９－ジヒドロ－１Ｈ－ジベンゾ［ｂ、ｆ］［１、２、３］トリアゾロ［４、５－ｄ］アゾシン－８イルおよび８、９－ジヒドロ－３Ｈ－ジベンゾ［ｂ、ｆ］［１、２、３］トリアゾロ［４、５－ｄ］アゾシン－８イル構造の混合物だろう：

【化３０】



式Ｙｋ、ＹＬおよびＹｍのリンカーは、下記に説明される８、９－ジヒドロ－１Ｈ－ジベンゾ［３、４：７、８］シクロオクタ［１、２－ｄ］［１、２、３］トリアゾール－８－イルおよび８、９－ジヒドロ－１Ｈ－ジベンゾ［３、４：７、８］シクロオクタ［１、２－ｄ］［１、２、３］トリアゾール－９－イル構造の混合物だろう：

【化３１】



かかる異性体の混合物の存在は、かかるリンカーを利用する組成物の機能性を損なわない。

【０１０１】

ガラクトシル化部分

【０１０２】

本開示の組成物において利用されるガラクトシル化部分は、組成物を肝細胞へ標的とするのに（例えば、特異的に肝細胞に結合すること）役立ち、かつ以下から選択されうる：ガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミン。ガラクトースのＣ３／Ｃ４－ジオールアンカー側のいずれかを改変しながら、ＡＳＧＰＲ親和性が保持されうることが報告されており（Ｍａｍｉｄｙａｌａ，Ｓｒｅｅｍａｎ　Ｋ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．２０１２，１３４，１９７８－１９８１）、従ってコンジュゲーションの箇所は、特にＣ１、Ｃ２およびＣ６である。

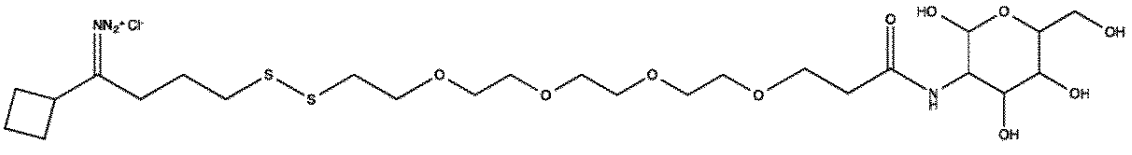
【０１０３】

特定のガラクトシル化部分は、Ｃ１もしくはは Ｃ６でコンジュゲートされたガラクトース、Ｃ２でコンジュゲートされたガラクトサミン、ならびにＣ６でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンを含む。他の特定のガラクトシル化部分は、Ｃ２でコンジュゲートされた、より特には、CH_2であるＲ^{9}置換基を有するリンカーにコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンを含む。さらに他の特定のガラクトシル化部分は、Ｃ１でコンジュゲートされる、より特には、エチルアセトアミド基であるＲ^{9}置換基を有するリンカーにコンジュゲートされたガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンを含む。

【０１０４】

ＡＳＧＰＲ標的化抗体

【０１０５】
本開示の組成物において利用されるＡＳＧＰＲ－特異的な抗体はまた、本開示の組成物を肝細胞へ標的化するのに役立ち、かつ商業的に入手可能な産物から選択されうる、例えば：アブカム・ピーエルシー、ケンブリッジ、イギリス由来の抗アシアロ糖タンパク質受容体１抗体（ａｂ４２４８８）およびサンタクルズ・バイオテクノロジー株式会社、ダラス、テキサス由来のＡＳＧＰＲ^{1}／２（ＦＬ－２９１）（ｓｃ２８９７７）。あるいは、かかる抗体は、Ｄｏｍ２６ｈ－１９６－６１、などの多くの公開されている配列、単一ドメイン抗ＡＳＧＰＲ抗体：
ＥＶＱＬＬＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＥＫＹＡＭＡＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＲＩＳＡＲＧＶＴＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＳＨＫＲＨＥＨＴＲＦＤＳＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
（配列番号：６）
［Ｃｏｕｌｓｔｏｃｋ Ｅ，ｅｔ ａｌ．，（２０１３）“Ｌｉｖｅｒ－ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ ｉｎｔｅｒｆｅｒｏｎ－ａｌｐｈａ ｗｉｔｈ ｔｉｓｓｕｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｄｏｍａｉｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ．”ＰＬｏＳ Ｏｎｅ．８（２）：ｅ５７２６３および米国第２０１３／００７８２１６号］、または保存的置換を有するかかる配列のいずれかを使って発現されうる。上記に参照される米国特許出願は、ある特定の治療剤［肝疾患の治療のためのインターフェロン（インターフェロンアルファ２、インターフェロンアルファ５、インターフェロンアルファ６、またはコンセンサスインターフェロン）、リバビリン、ネクサバール／ソラフェニブ、アービタックス／セツキシマブ、アバスタチン／ベバシズマブ、およびハーセプチン／トラスツズマブを含む］を送達するための、ＤＯＭ２６ｈ－１９６－６１などの肝臓標的化分子を開示する。ＤＯＭ２６ｈ－１９６－６１または米国第２０１３／００７８２１６号において記載される別の肝臓標的化分子を利用する、式２に対応する物質の組成物は、それらの範囲内でインターフェロン（インターフェロンアルファ２、インターフェロンアルファ５、インターフェロンアルファ６、またはコンセンサスインターフェロン）、リバビリン、ネクサバール／ソラフェニブ、アービタックス／セツキシマブ、アバスタチン／ベバシズマブ、およびハーセプチン／トラスツズマブを含む。
【０１０６】
ＡＳＧＰＲを特異的に標的とする抗体、抗体フラグメント、またはペプチドのための新規配列は、当業者によく知られている様々な方法を使って発見されうる。これらの方法は、ワクチン接種技術、ハイブリドーマ技術、ライブラリーディスプレイ技術（細菌性およびファージプラットフォームを含む）、内在性レパートリースクリーニング技術、定向進化（ｄｉｒｅｃｔｅｄ ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ）および合理的設計を含みうるが、これらに限定されない。
【０１０７】
命名法
【０１０８】
式１の組成物は、ＩＵＰＡＣおよび慣用名の組み合わせを使って命名されうる。例えば、式１に対応する化合物、ここでＸはシクロブチル部分（例示の目的のための抗原の代わりに示される）であり、Ｙは式Ｙａであり、ｍは１であり、ｎは４であり、かつＺはＮ－アセチルガラクトサミン－２－イルである：
【化３２】



は、（Ｚ）－（２１－シクロブチル－１－オキソ－１－（（２、４、５－トリヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）アミノ）－４、７

、１０、１３－テトラオキサ－１６、１７－ジチアヘンイコサン－２１－イリデン）トリアズ－１－イン－２－イウムクロライドと命名でき、それ故にＸが組織トランスグルタミナーゼである、対応する本開示の組成物は、（Ｚ）－（２１－（組織トランスグルタミナーゼ）－１－オキソ－１－（（２、４、５－トリヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）アミノ）－４、７、１０、１３－テトラオキサ－１６、１７－ジチアヘンイコサン－２１－イリデン）トリアズ－１－イン－２－イウムクロライドと命名されうる。Ｘ’が組織トランスグルタミナーゼであり、ｍが２であり、ｎが４であり、かつＺ’がＮ－アセチルガラクトサミン－２－イルである、対応する本開示の組成物は、（３Ｚ）－（（組織トランスグルタミナーゼ）－１、３－ジルビス（１－オキソ－１－（（２、４、５－トリヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）アミノ）－４、７、１０、１３－テトラオキサ－１６、１７－ジチアヘンイコサン－２１－イル－２１－イリデン））ビス（トリアズ－１－イン－２－イウム）クロライドと命名されうる。

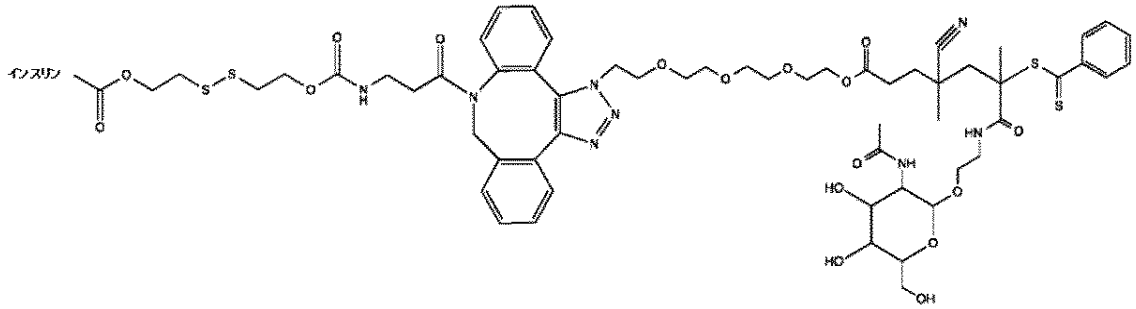
【０１０９】

簡潔性の観点で、式１の組成物は、Ｘおよび式１ａから１ｐの１つに対応する物（反応式において説明される）と、それに続く変数ｍ、ｎ、ｐおよび／もしくはｑ、R^8、R^9ならびに、それがコンジュゲートされたガラクトシル化部分および位置の同定のための整数の記載を参照することにより、代替命名系を使って命名されうる。この系のもとでは、Ｘがオボアルブミンであり、ｍが２であり、ｎが４であり、かつＺがＮ－アセチルガラクトサミン－２－イルである式１ａの組成物は、“Ｆ１ａ－ＯＶＡ－m_2－n_4－２ＮＡｃＧＡＬ”と命名されうる。

【０１１０】

同様に、以下の式１の組成物

【化３３－１】



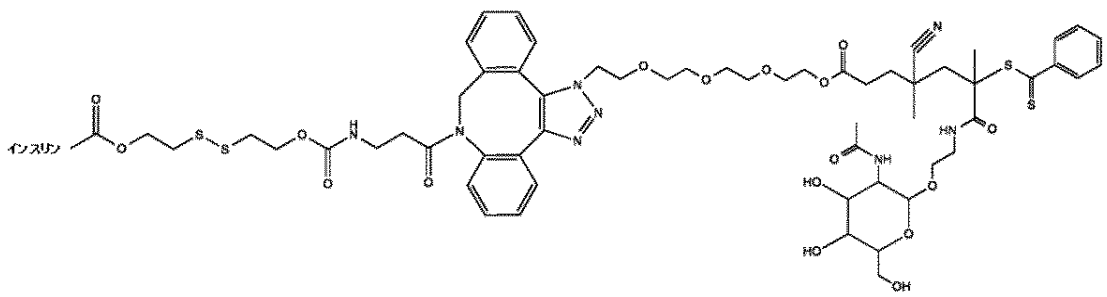
は、

【化３３－２】

”2－((2－(((3－(3－(22－((3－アセトアミド－4,5－ジヒドロキシ－6－(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル)oxy)－16－シアノ－16,18－ジメチル－13,19－ジオキソ－18－((フェニルカルボノチオイル)チオ)－3,6,9,12－テトラオキサ－20－アザドコシル)－3,9－ジヒドロ－8H－ジベンゾ[b,f][1,2,3]トリアゾロ[4,5－d]アゾシン－8－イル)－3－オキソプロピル)カルバモイル)オキシ)エチル)ジスルファニル)エチルインスリンカルボン酸塩”

と命名されうる。異性体：

【化３４】



は、

【化３４－２】

"2－((2－(((3－(1－(22－((3－アセトアミド－4、5－ジヒドロキシ－6－(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル)オキシ)－16－シアノ－16、18－ジメチル－13、19－ジオキソ－18－((フェニルカルボノチオイル)チオ)－3、6、9、12－テトラオキサ－20－アザドコシル)－1、9－ジヒドロ－8H－ジベンゾ[b、f][1、2、3]トリアゾロ[4、5－d]アゾシン－8－イル)－3－オキソプロピル)カルバモイル)－オキシ)エチル)ジスルファニル)エチルインスリンカルボン酸塩"

と命名されうる（正式名称との差異を同定する際に、便宜のために太字のハイライトが加えられる）。本開示のための採用された命名系を利用すると、異性体の両方は、“Ｆ１ｎ－インスリン－m_1－n_1－p_1－q_4－ＣＭＰ－ＥｔＡｃＮ－１ＮＡｃＧＡＬ”と命名でき、ここで、ＣＭＰは、R^8が、１－シアノ－１－メチル－プロピルであることを示し、ＥｔＡｃＮは、R^9が、エチルアセトアミドであることを示し、かつ１ＮＡｃＧＡＬは、Ｚ”がＣ１でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンであることを示す。Ｚの名称の前の略称ＥｔＡｃＮの非存在は、R^9が直接結合であることを示すだろう。

【０１１１】

式２の組成物において、左から右への配向は、反対の特段の表示がない、ＮからＣの順番を特定すると解釈されるべきではない。例えば、ｍ’が１であり、ｍ”が０であり、Ｘがオボアルブミンであり、ＹがGly_3Serであり、かつＺが抗ＡＳＧＰＲ　Ｄｏｍ２６ｈ－１９６－６１である、式２の化合物は、ＯＶＡ－Gly_3Ser－ＤＯＭと命名でき、かつ以下の両方を網羅するとして読まれる：

Ｎ－ＯＶＡ－Gly_3Ser－ＤＯＭ－Ｃ

および

Ｎ－ＤＯＭ－Gly_3Ser－ＯＶＡ－Ｃ

例えばｍ’が１であり、ｍ”が０であり、Ｘがオボアルブミンであり、ＹがGly_3Serであり、かつＺが抗ＡＳＧＰＲ　Ｄｏｍ２６ｈ－１９６－６１である式２の組成物（付加的なリンカーを介して付着される精製タグを有する）は、以下の通り命名されうる：

Ｎ－ＯＶＡ－Gly_3Ser－ＤＯＭ－Gly_3Ser－６ｘＨｉｓ－Ｃ

または

Ｎ－ＤＯＭ－Gly_3Ser－ＯＶＡ－Gly_3Ser－６ｘＨｉｓ－Ｃ

ここで、Ｃ’末端Gly_3Ser－６ｘＨｉｓ基は、単離および精製を容易にするアミノ酸配列を表す。

【０１１２】

ｍ’が１であり、ｍ”が１であり、それぞれＸが第ＶＩＩＩ因子であり、それぞれＹがGly_3Serであり、かつＺが抗ＡＳＧＰＲ　Ｄｏｍ２６ｈ－１９６－６１である式２の組成物（付加的なリンカーを介して付着される精製タグを有する）は、ＦＶＩＩＩ－Gly_3Ser－ＤＯＭ－Gly_3Ser－ＦＶＩＩＩ－Gly_3Ser－６ｘＨｉｓと命名でき、かつ以下の両方を包含する：

Ｎ－ＦＶＩＩＩ－Gly_3Ser－ＤＯＭ－Gly_3Ser－ＦＶＩＩＩ－Gly_3Ser－６ｘＨｉｓ－Ｃ

および

Ｎ－６ｘＨｉｓ－Gly_3Ser－ＦＶＩＩＩ－Gly_3Ser－ＤＯＭ－Gly_3Ser－ＦＶＩＩＩ－Ｃ。

【０１１３】

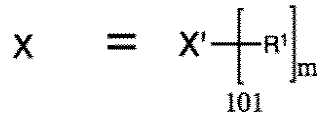
ｍ’が３であり、ｍ”が０、１であり、３つのＸ抗原がそれぞれ、脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２５）、アルファ－グリアジン（配列番号：２６）およびオメガ－グリアジン（配列番号：２７）であり、それぞれＹが、免疫プロテアソーム切断部位を有するリンカー（“ＩＰＣ”）、ならびにＺが抗ＡＳＧＰＲ　Ｄｏｍ２６ｈ－１９６－６１である式２の組成物は：

脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－ＩＰＣ－アルファ－グリアジン－ＩＰＣ－オメガ－グリアジン－ＩＰＣ－ＤＯＭと命名されうる。

【０１１４】

本開示の組成物の調製

【０１１５】
例えば、Ｚｈｕ，Ｌ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．２０１０，２１，２１１９－２１２７において記載される手順を適応させることにより、式１の組成物は調製されうる。ある特定の式１の組成物の合成はまた、反応式１から１４に関して下記に記載される。他の合成アプローチは、当業者にとって明らかだろう。
【０１１６】
式１０１（下記）は、Ｘの代替表示であり、
【化３５】



ここで、R^1は、リンカーへのコンジュゲーションのための到達できるようにするためにＸの三次元構造上に位置する遊離表面アミノ（－NH_2）もしくはチオール（－ＳＨ）部分であり、かつＸ’は、同定される遊離アミノ基を除くＸの残りを表す［（Ｘ”は、遊離チオール基を除くＸの残りを表す反応式において使用される］。Ｘの正体（ｉｄｅｎｔｉｔｙ）に依存して、少なくとも１つの（Ｎ末端のアミン）が存在するだろう、そして、約１から１００の整数である、より典型的には、１もしくは約４から２０、ならびにもっとも典型的には１から約１０であるｍにより表されるように、複数のR^1基（主にリジン残基またはジスルフィド結合に関与するシステイン残基に由来する）が存在できる。
【０１１７】
反応式において利用される変数は、上記に規定されているとおりであり、加えて以下を含み、それらは特定の反応式または工程に関してでなければ、任意の特異的な指標のこれらの意味が存在しないと理解されるべきである。
・　　R^2は、ＯＨまたは保護基であり；
・　　R^3は、ＯＨ、NH_2、ＮＨＡｃ、保護基またはＮＨ－保護基であり；
・　　R^4は、ＯＨまたは保護基であり；
・　　R^5は、ＯＨまたは保護基であり；
・　　R^6は、ＯＨまたは保護基であり；
・　　Ｚ’はＣ１またはＣ６でコンジュゲートされたガラクトース、Ｃ２でコンジュゲートされたガラクトサミン、またはＣ６でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンであり；
・　　R^8は、－CH_2または－CH_2－CH_2－Ｃ（CH_3）（ＣＮ）－であり；および
・　　R^9は直接結合であり、かつＺ”はＣ２でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンであり；
・　　R^9はエチルアセトアミド基であり、かつＺ”はＣ１でコンジュゲートされたガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
【０１１８】
合成反応パラメータ
【０１１９】
“溶媒”、“不活性有機溶媒”または“不活性溶媒”という用語は、それらと組み合わせて記載されている反応の条件のもとでは不活性な溶媒［例えば、ベンゼン、トルエン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン（“ＴＨＦ”）、ジメチルホルムアミド（“ＤＭＦ”）、クロロホルム、メチレンクロライド（またはジクロロメタン）、ジエチルエーテル、メタノール、ピリジン等を含む］を意味する。もし反対に特定されなければ、本開示の反応において使用される溶媒は、不活性有機溶媒である。
【０１２０】
“ｑ．ｓ．”という用語は、述べられた機能を達成する、例えば、溶液を望ましい容積（すなわち、１００％）へともたらすのに十分な量を加えることを意味する。

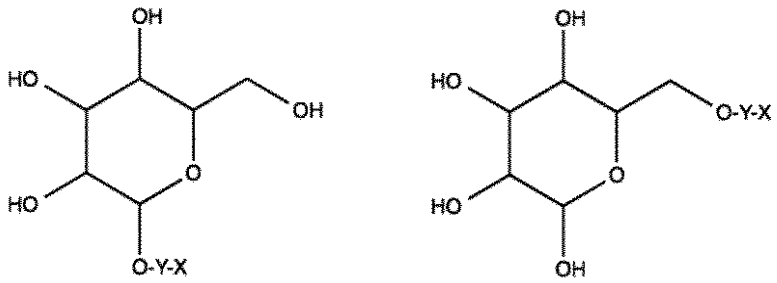
【０１２１】
所望であれば、例えば、濾過、抽出、結晶化、カラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィーもしくは厚層クロマトグラフィー、遠心性サイズ排除クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー、再結晶、昇華、高速タンパク質液体クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、またはこれらの手順組み合わせなどの、任意の適切な分離または精製手順により、本明細書に記載される化合物および中間体の単離および精製が影響されうる。適切な分離および単離手順の特定の例示を、下記の実施例の出典明示により得ることができる。しかしながら、他の同等の分離または単離手順はまた、やはり、使用されうる。

【０１２２】
別段の特定がない限り（実施例を含む）、全ての反応は、標準大気圧（約１気圧）ならびに周囲の（もしくは室温の）温度（約２０℃）、約ｐＨ７．０－８．０で行われる。

【０１２３】
反応産物の特性評価は、通例の手段、例えば、プロトンおよびカーボンＮＭＲ、質量分析法、サイズ排除クロマトグラフィー、赤外分光法、ゲル電気泳動により行われる。

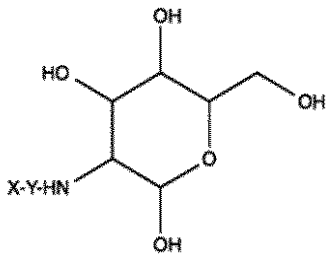
【０１２４】
反応式１は、Ｚがガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンでありうる式１の組成物の調製を説明する。その点において、および上記に規定されているように、反応式１において利用されるようなＺ’が、Ｃ１およびＣ６でコンジュゲートされ、かつ式１による以下の構造に対応するガラクトース：

【化３６】



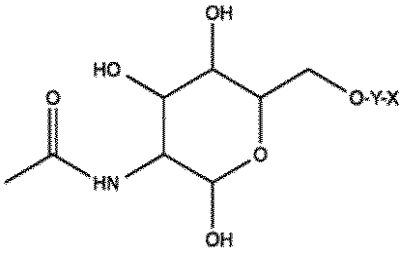
、Ｃ２でコンジュゲートされ、かつ式１による以下の構造に対応するガラクトサミン：

【化３７】



、ならびにＣ６でコンジュゲートされ、かつ式１による以下の構造に対応するＮ－アセチルガラクトサミン：

【化３８】



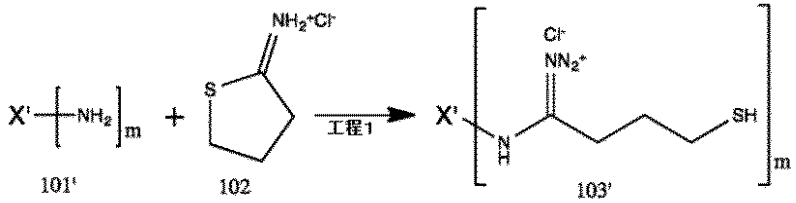
を包含する。

【０１２５】

反応式１

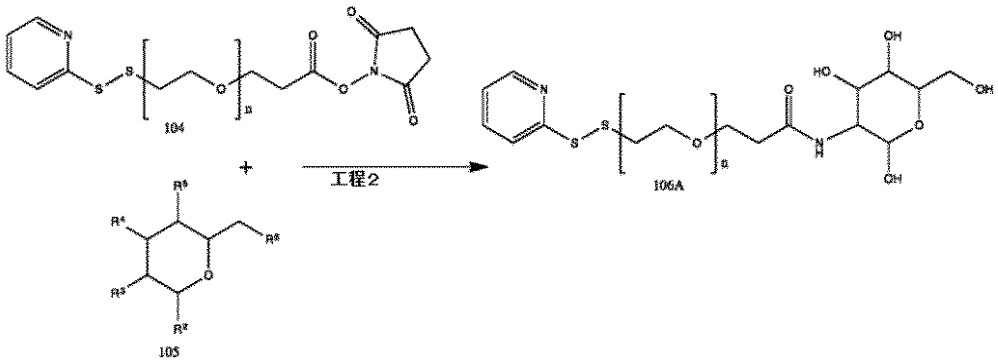
【０１２６】

【化３９】



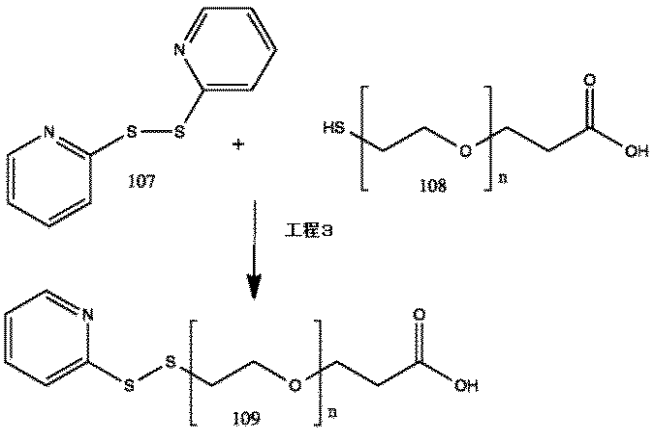
【０１２７】

【化４０】



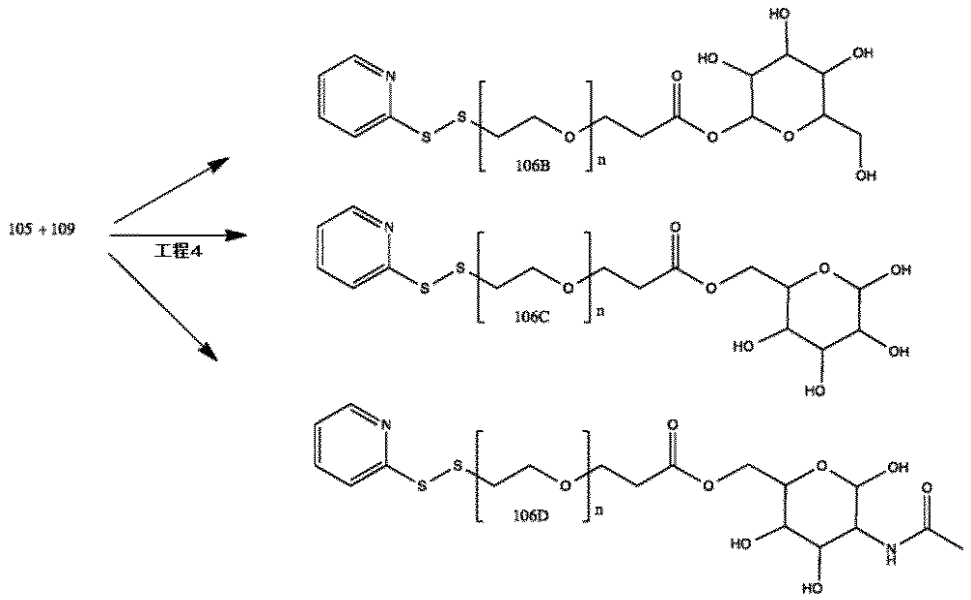
【０１２８】

【化４１】



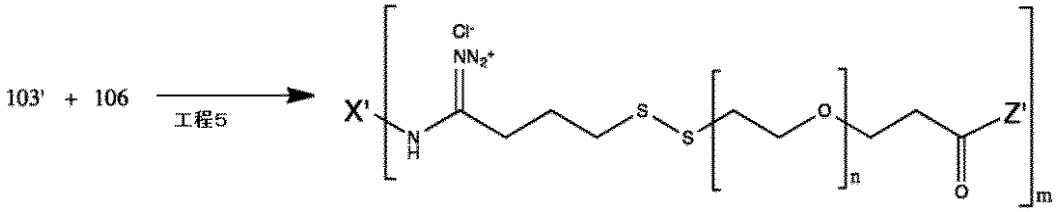
【０１２９】

【化４２】



【０１３０】

【化４３】

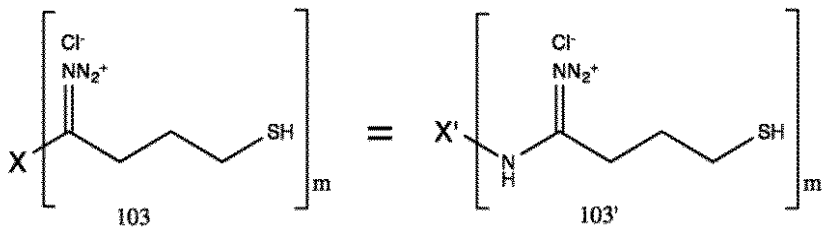


式1a

【０１３１】

反応式１、工程１において上記で説明されるように、ｐＨ約８．０、約１時間でトラウト試薬（式１０２）との接触により遊離表面アミノ基（式１０１’）を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンド上に表面チオール基が生成でき、例えば、遠心性サイズ排除クロマトグラフィーを介して、未反応のトラウト試薬が除去されている式１０３’を与える。下記に示される２つの構造は、反応式１、工程１の産物を説明し、それぞれＸ上に最初に確認される遊離表面アミノ基を示し（すなわち、式１０３’、ここでＸ’は同定される遊離表面アミノ基を除くＸの残りを表す）、および遊離表面アミノ基を省略する（すなわち、式１０３）。これは、Ｘおよび式１０１間として説明される区別に似ている。慣習がその後の反応式において続いた。

【化４４】



【０１３２】

反応式１、工程２において、ピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）－ＮＨＳエステル（式１０４）を、ガラクトサミン（式１０５、ここでＲ^{3}は、ＮＨ$_{2}$およびＲ^{2}、Ｒ^{4}、Ｒ５およびＲ６は、ＯＨである）と約ｐＨ８、約１時間で撹拌しながら、接触させて式１０６Ａの対応するピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）－糖を与

ええ、さらに精製せずに使用することができる。

【０１３３】

反応式１、工程３において、４、４’－ジチオジピリジン（式１０７）を、チオール－ポリ（エチレングリコール）プロパン酸（式１０８）と接触させて、対応するピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）プロパン酸（式１０９）を与える。

【０１３４】

反応式１、工程４において、式１０９の酸を、R^2が、ＯＨであり、ならびにR^3、R^4、Ｒ５およびＲ６が保護基（“ＰＧ”）であり、ここでR^6が、ＯＨであり、かつR^2、R^3、R^4およびR^5がＰＧであり、または、ここでR^6が、Ｎ－アセチルであり、かつR^2、R^3、R^4およびR^5がＰＧである式１０５の保護されるガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミン、と接触させて、式１０６Ｂ、１０６Ｃおよび１０６Ｄの対応するピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）－糖を与え、脱保護後に用いることができる。

【０１３５】

反応式１、工程５において、工程１の産物（式１０３’）の撹拌溶液に、過剰（ｍの値に対応する）の、工程２または工程４（式１０６、すなわち、１０６Ａ、１０６Ｂ、１０６Ｃまたは１０６Ｄ）の産物を約１時間加え、それに続いて遠心性サイズ排除クロマトグラフィーで任意の遊離残存反応物を除去して、式１ａ、それぞれ、式１ａＡ、式１ａＢ、式１ａＣおよび式１ａＤによる対応産物を得る。

【０１３６】

式１ａに対応する組成物は、それぞれ、例えば以下の通りに命名されうる：

“Ｆ１ａＡ－Ｘ’－m_m－n_n”または“Ｆ１ａ－Ｘ’－m_m－n_n－２ＮＧＡＬ”

“Ｆ１ａＢ－Ｘ’－m_m－n_n”または“Ｆ１ａ－Ｘ’－m_m－n_n－１ＧＡＬ”

“Ｆ１ａＣ－Ｘ’－m_m－n_n”または“Ｆ１ａ－Ｘ’－m_m－n_n－６ＧＡＬ”

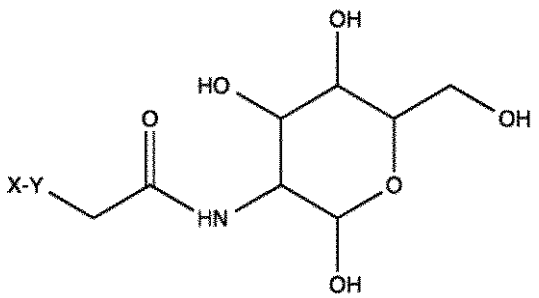
“Ｆ１ａＤ－Ｘ’－m_m－n_n”または“Ｆ１ａ－Ｘ’－m_m－n_n－６ＮＡｃＧＡＬ”

それぞれ、式１０６Ａ－Ｄによる中間体を利用する産物として作製される。

【０１３７】

反応式２－１４に移り、それらと利用される命名法の目的のため、特に明記されている場合を除き、Ｚ”はＣ２でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミン：

【化４５】



またはＣ１でコンジュゲートされたガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンを指す。組成物にコンジュゲートされるＣ１は、例えばＣ３ヒドロキシルでアミンを環化することにより、および続いて隣接性のリンカーの部分への保護されるガラクトサミンの組み込みを脱保護することにより、合成の間、保護される必要があるということに留意すべきである。

【０１３８】

ガラクトースをメタクリル酸化することにより、例えば、ガラクトサミンおよびメタクリル酸無水物を接触させ、それに続いて適切な溶媒においてアゾビスイソブチロニトリル（ＡＩＢＮ）の存在下で、凍結融解サイクルで開始し、それに続いて約６０－８０℃、好ましくは７０℃で約５－８、好ましくは約６時間加熱する、対応するＲＡＦＴ剤との可逆的付加－開裂連鎖移動（ＲＡＦＴ）重合により、式２０１、４０１、５０１、６０１、７０１、８０３および１４０１のポリ（ガラクトースメタクリル酸）反応物を調製すること

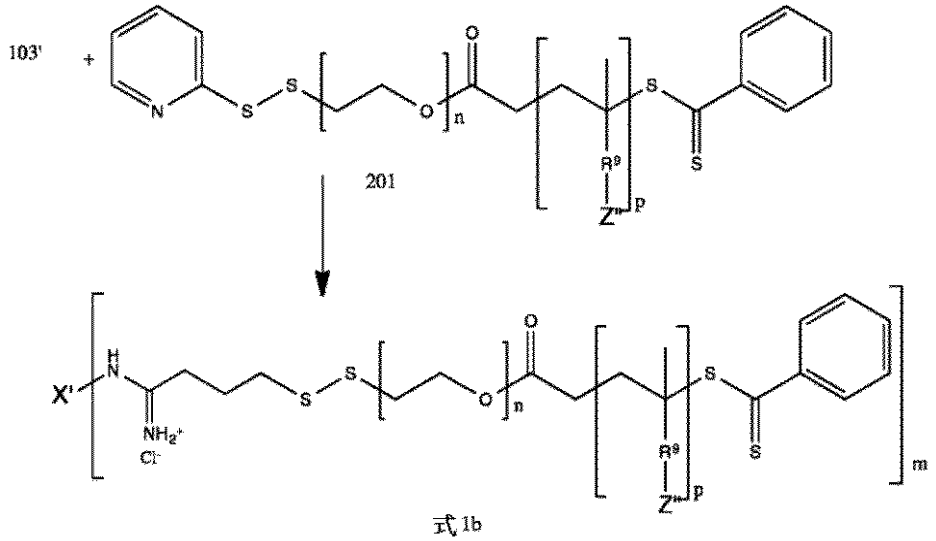
ができる。低級アルカノール、好ましくはメタノールにおいて、ポリマーを沈殿することができる。

【０１３９】

反応式２

【０１４０】

【化４６】



【０１４１】

反応式２において説明されるように、例えば、反応式１、工程１（式１０３’）に関して記載される、調製される遊離表面チオール基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを、過剰（ｍの値に対応する）の式２０１のピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）と約１時間接触させて式１ｂによる対応産物を得る。

【０１４２】

式１ｂの組成物は以下の通り命名されうる：

“Ｆ１ｂ－Ｘ’－m_m－n_n－p_p－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｂ－Ｘ’－m_m－n_n－p_p－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。

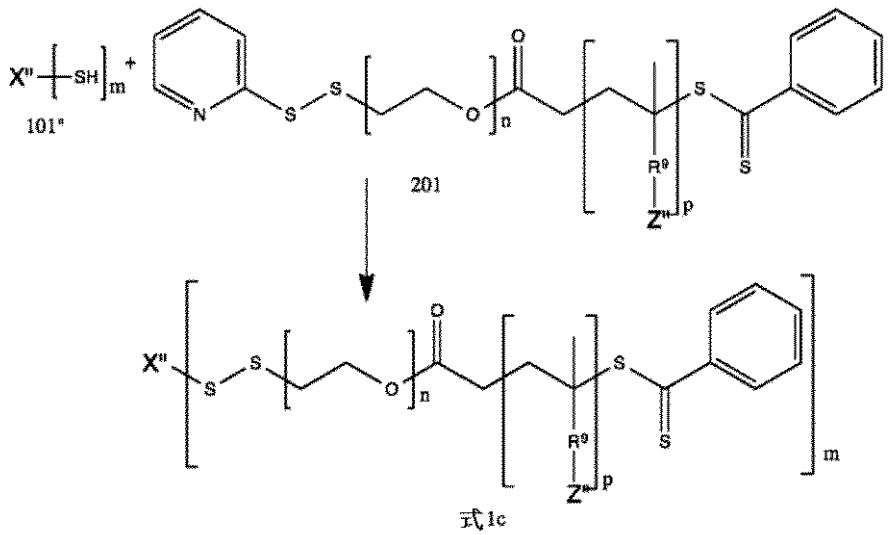
例えば、Ｘ’がウリカーゼであり、ｍが１であり、ｎが４であり、ｐが４であり、かつＺ”がＣ２でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンである式１ｂの組成物は、“Ｆ１ｂ－ウリカーゼ－m_1－n_4－p_4－２ＮＡｃＧＡＬ”または“３０－（ウリカーゼ）－３、５、７、９－テトラメチル－１２－オキソ－１－フェニル－１－チオキソ－３、５、７、９－テトラキス（（２、４、５－トリヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）カルバモイル）－１３、１６、１９、２２－テトラオキサ－２、２５、２６－トリチアトリアコンタン－３０－イミニウム”と命名されうる。

【０１４３】

反応式３

【０１４４】

【化４７】



【０１４５】

反応式３において説明されるように、天然型の遊離表面チオール基（システイン）を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンド［式１０１に対応し、かつここで当該用語が引き続いて利用されるように、Ｘ”は、同定される遊離表面チオール基を除くＸを表すことを説明する式１０１”］を、過剰（ｍの値に対応する）の式２０１のピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）と接触させて式１ｃによる対応産物を得る。

【０１４６】

式１ｃに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：

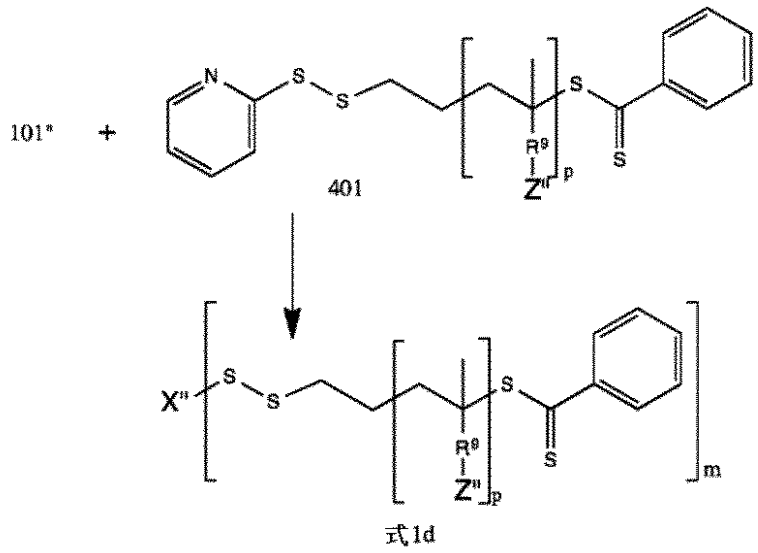
“Ｆ１ｃ－Ｘ’－m_m－n_n－p_p－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｃ－Ｘ’－m_m－n_n－p_p－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。

【０１４７】

反応式４

【０１４８】

【化４８】



【０１４９】

反応式４において説明されるように、式１０１”の天然型の遊離表面チオール基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを、過剰（ｍの値に対応する）の式４０１のピリジルジチオールと接触させて式１ｄによる対応産物を得る。

【０１５０】

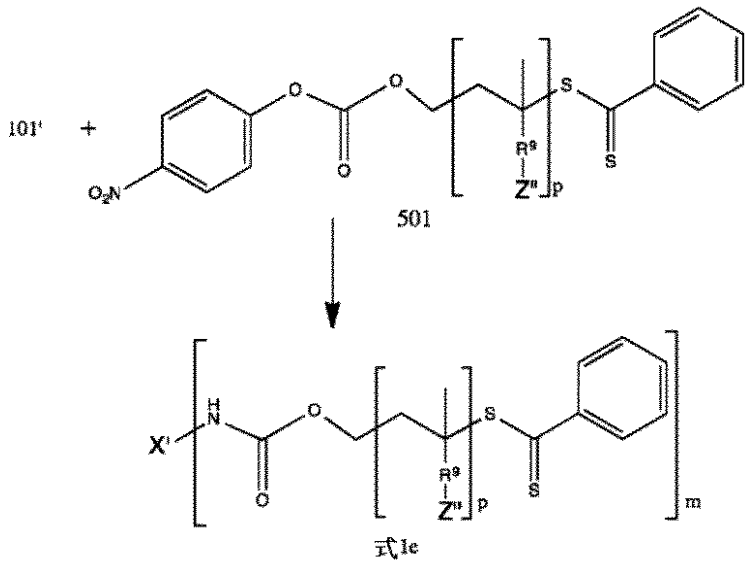
式１ｄに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：
“Ｆ１ｄ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｐ$_{p}$－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｄ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｐ$_{p}$－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。

【０１５１】

反応式５

【０１５２】

【化４９】



【０１５３】

反応式５において説明されるように、式１０１’の天然型の遊離表面アミノ基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを、過剰（ｍの値に対応する）の式５０１のｎ－ニトロフェニルカーボネートと接触させて式１ｅによる対応産物を得る。

【０１５４】

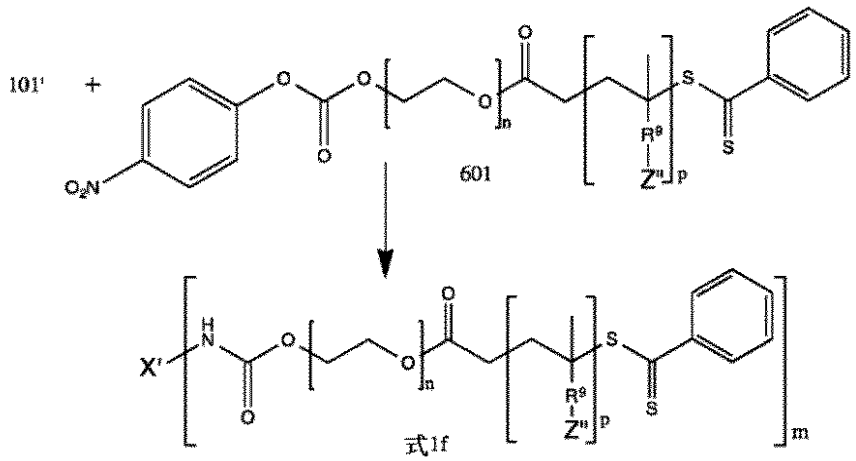
式１ｅに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：
“Ｆ１ｅ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｐ$_{p}$－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｅ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｐ$_{p}$－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。

【０１５５】

反応式６

【０１５６】

【化５０】



【０１５７】

反応式６において説明されるように、式１０１’の天然型の遊離表面アミノ基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを、過剰（ｍの値に対応する）の式６０１

のｎ－ニトロフェニルカーボネートポリ（エチレングリコール）エステルと接触させて式１ｆによる対応産物を得る。

【０１５８】

式１ｆに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：

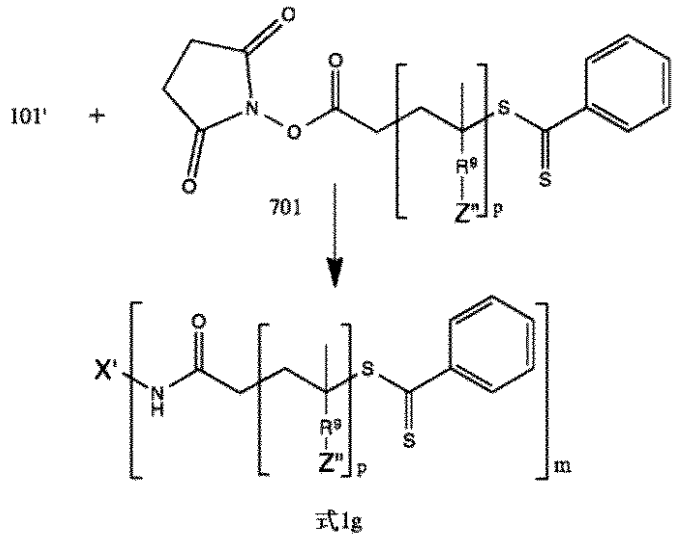
“Ｆ１ｆ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｆ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。

【０１５９】

反応式７

【０１６０】

【化５１】



式1g

【０１６１】

反応式７において説明されるように、式１０１’の天然型の遊離表面アミノ基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを、過剰（ｍの値に対応する）の式７０１のＮＨＳ－エステルポリ（エチレングリコール）エステルと接触させて式１ｇによる対応産物を得る。

【０１６２】

式１ｇに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：

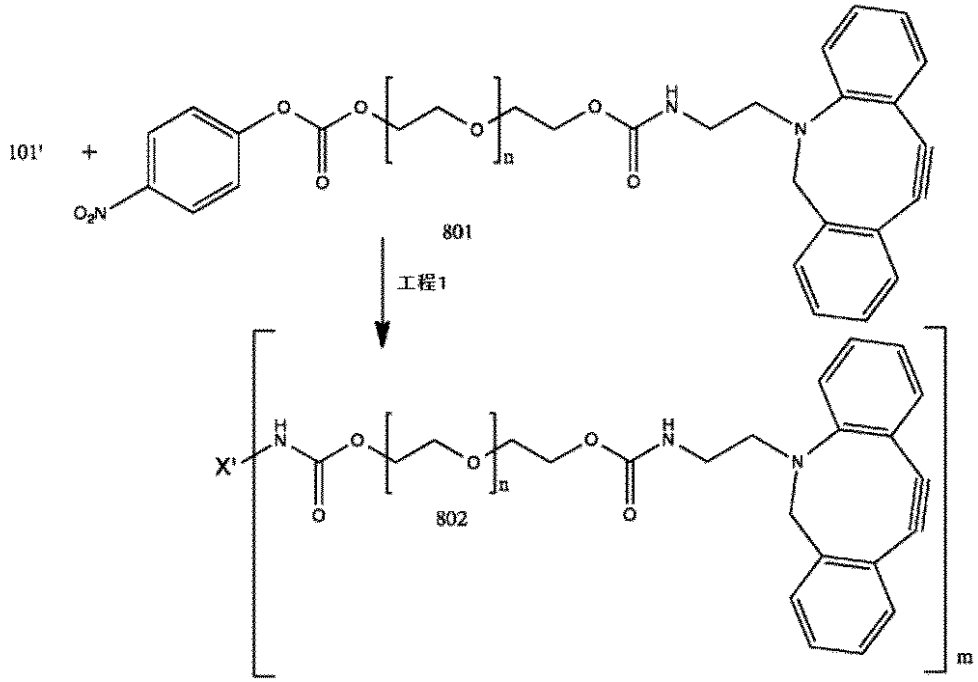
“Ｆ１ｇ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｐ$_{p}$－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｇ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｐ$_{p}$－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”

【０１６３】

反応式８

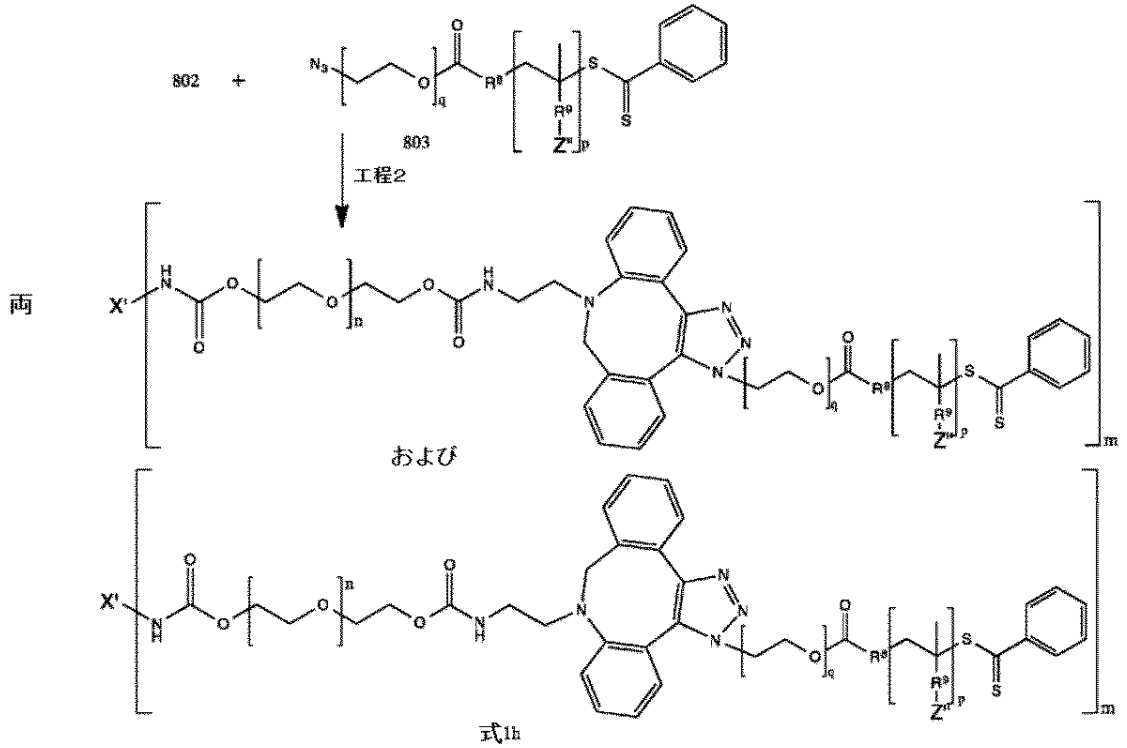
【０１６４】

【化５２】



【０１６５】

【化５３】



【０１６６】

反応式８、工程１において説明されるように、式１０１’の天然型の遊離表面アミノ基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを、式８０１のクリックケミストリーのための過剰（ｍの値に対応する）のアミン－反応性リンカーと接触させて式８０２による対応産物を得る。

【０１６７】

反応式８、工程２において、式８０２の産物を、その後式８０３のガラクトース（アミン）ポリマーの同等量（再度ｍの値に対応する）と接触させて式１ｈによる対応する異性体産物を得る。上記に説明される２つの異性体は、式８０２の三重結合を有する式８０３

のアジドの非特異的な環化を生じる。かかる非特異的な環化は、他の組成物の合成において起こり、ここでＹは式ＹｈからＹｎから選択されるが、それぞれの実例において説明されないだろう。

【０１６８】

式１ｈに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：

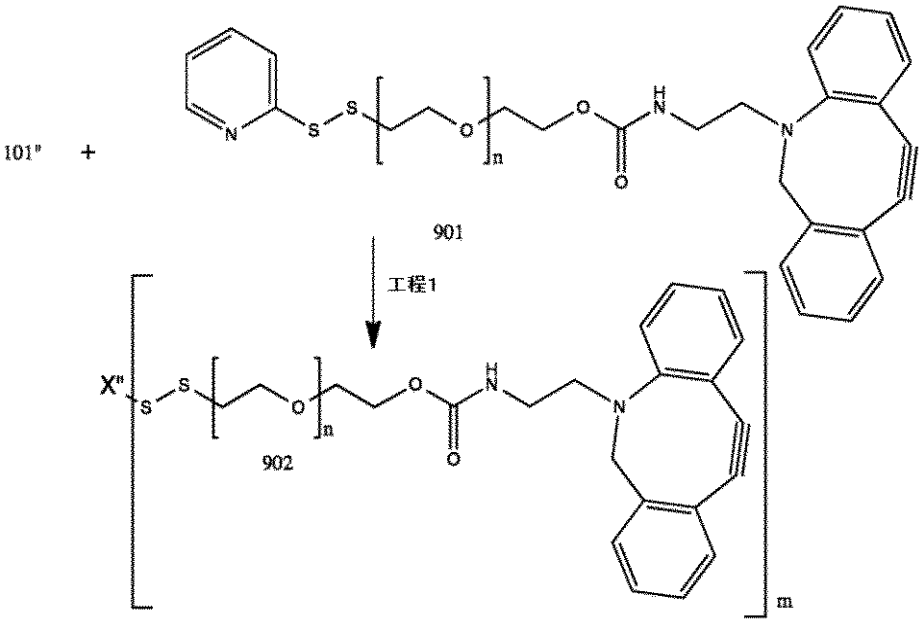
“Ｆ１ｈ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ｑ$_{q}$－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｈ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ｑ$_{q}$－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。

【０１６９】

反応式９

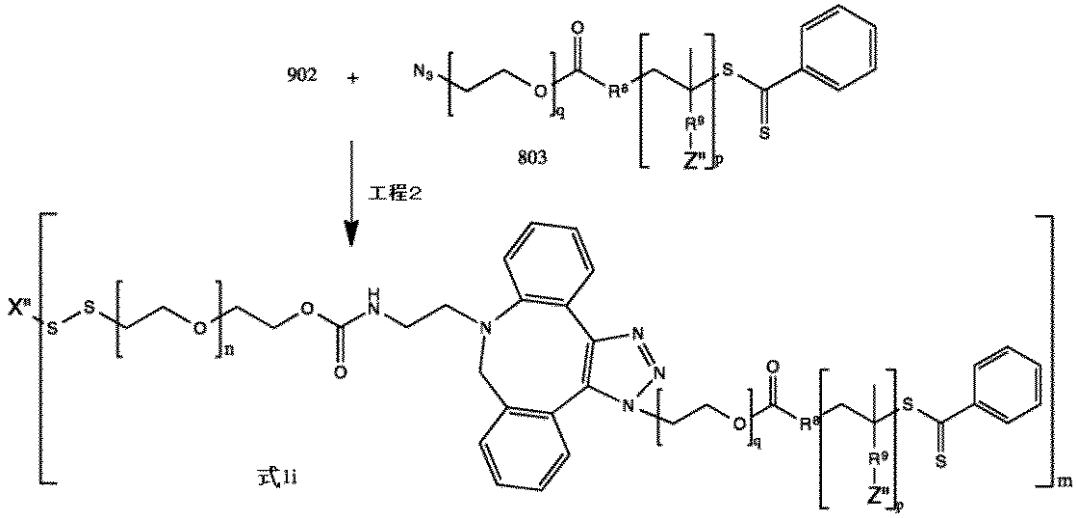
【０１７０】

【化５４】



【０１７１】

【化５５】



【０１７２】

反応式９、工程１において説明されるように、式１０１”の天然型の遊離表面チオール基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを、式９０１のクリックケミストリーのための過剰（ｍの値に対応する）のチオール－反応性リンカーと接触させて式９０２”による対応産物を得る。

【０１７３】

反応式９、工程２において、式９０２”の産物を、その後式８０３のガラクトース（アミン）ポリマーの同等量（再度ｍの値に対応する）と接触させて式１ｉによる対応する異性体産物を得る。

【０１７４】

式１ｉに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：

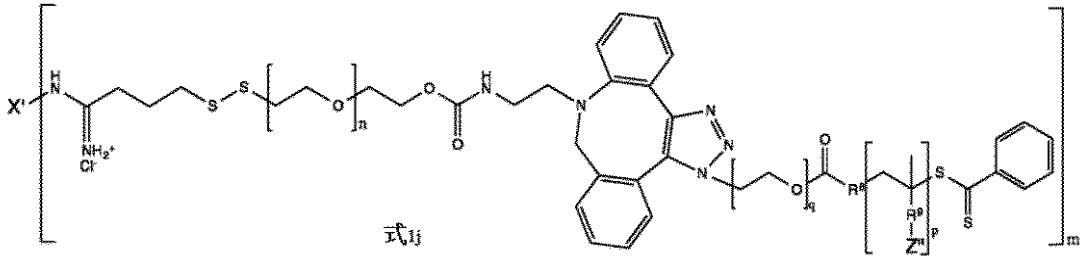
“Ｆ１ｉ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ｑ$_{q}$－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｉ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ｑ$_{q}$－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。

【０１７５】

反応式９に関して記載される手順に従い、出発物質１０１”を式１０３’の化合物（トラウト試薬で誘導体化される）に置換することにより、下記に示されるように式１ｊの対応する異性体産物が得られる。

【０１７６】

【化５６】



【０１７７】

式１ｊに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：

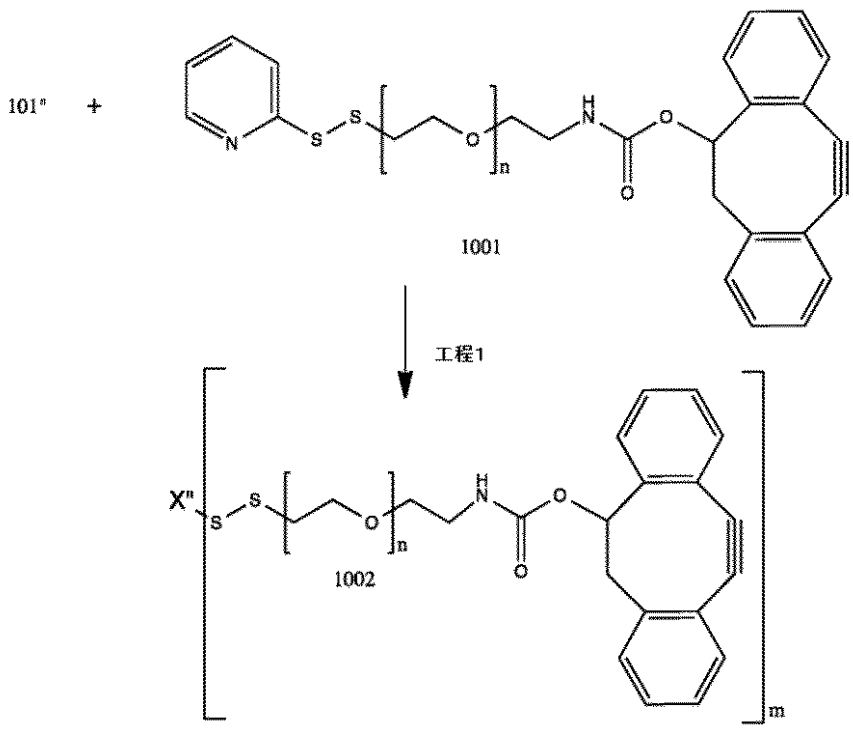
“Ｆ１ｊ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ｑ$_{q}$－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｊ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ｑ$_{q}$－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。

【０１７８】

反応式１０

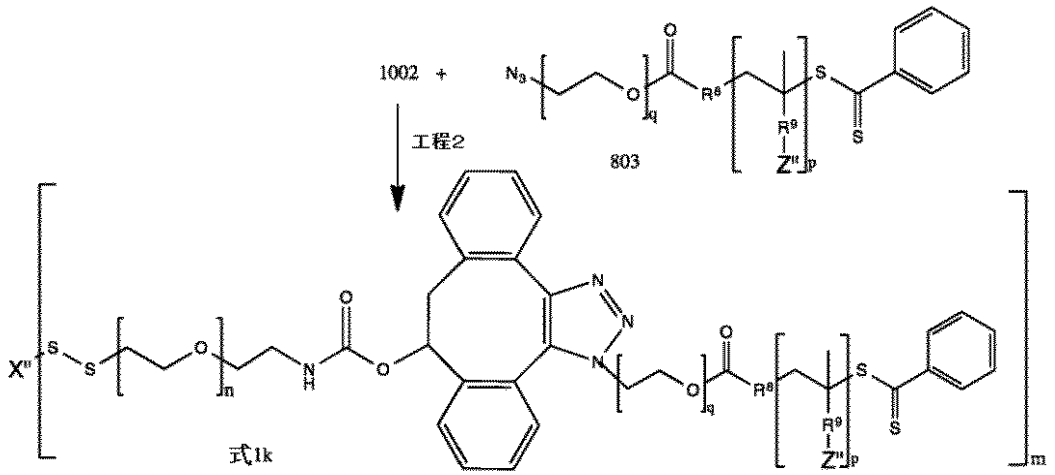
【０１７９】

【化５７】



【０１８０】

【化５８】



【０１８１】

反応式１０、工程１において説明されるように、式１０１”の天然型の遊離表面チオール基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを、式１００１のクリックケミストリーのための過剰（ｍの値に対応する）のチオール－反応性リンカーと接触させて式１００２による対応産物を得る。

【０１８２】

反応式１０、工程２において、式１００２の産物を、その後式８０３のガラクトース（アミン）ポリマーの同等量（再度ｍの値に対応する）と接触させて式１ｋによる対応する異性体産物を得る。

【０１８３】

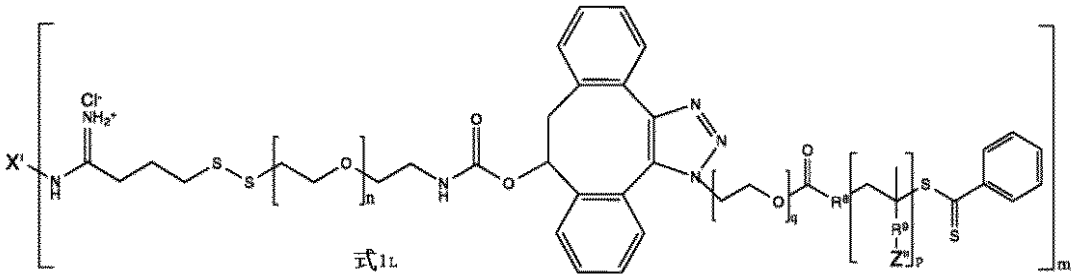
式１ｋに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：
“Ｆ１ｋ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ｑ$_{q}$－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｋ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ｑ$_{q}$－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。

【０１８４】

反応式１０に関して記載される手順に従い、出発物質１０１”を式１０３’の化合物（トラウト試薬で誘導体化される）に置換することにより、下記に示されるように式１Ｌの対応する異性体産物が得られる。

【０１８５】

【化５９】



【０１８６】

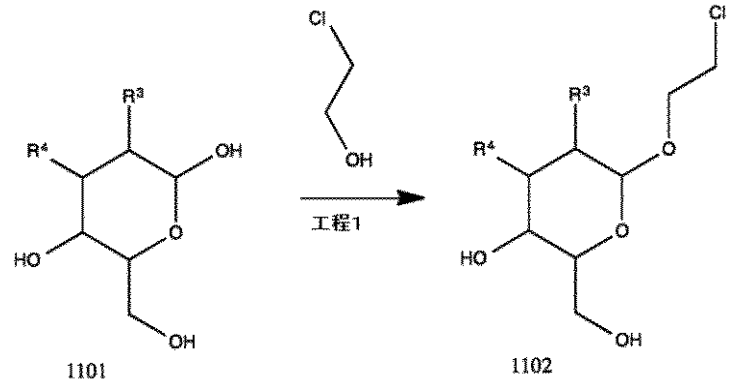
式１Ｌに対応する組成物は以下の通り命名されうる：
“Ｆ１Ｌ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ｑ$_{q}$－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１Ｌ－Ｘ’－ｍ$_{m}$－ｎ$_{n}$－ｐ$_{p}$－ｑ$_{q}$－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。

【０１８７】

反応式１１

【０１８８】

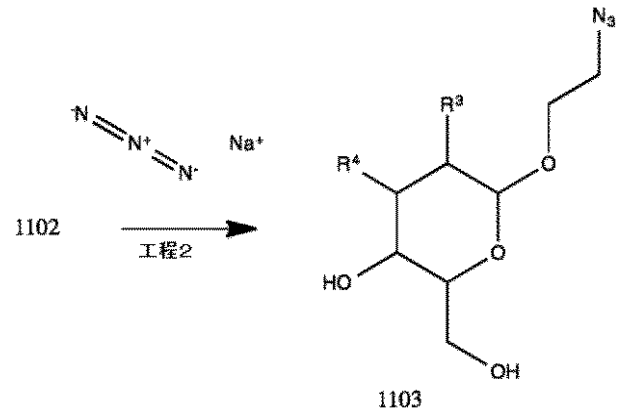
【化６０】



1101　　1102

【０１８９】

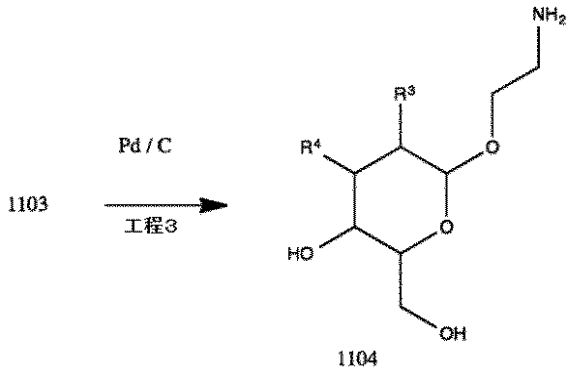
【化６１】



1103

【０１９０】

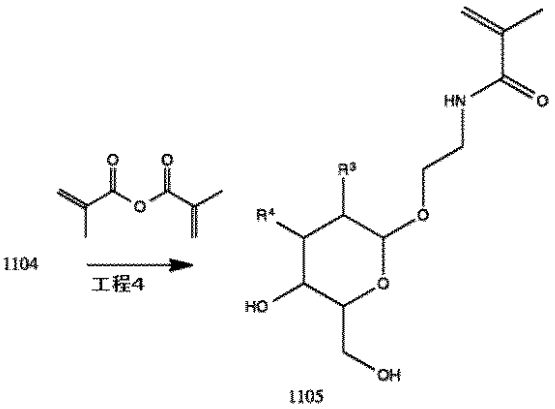
【化６２】



1104

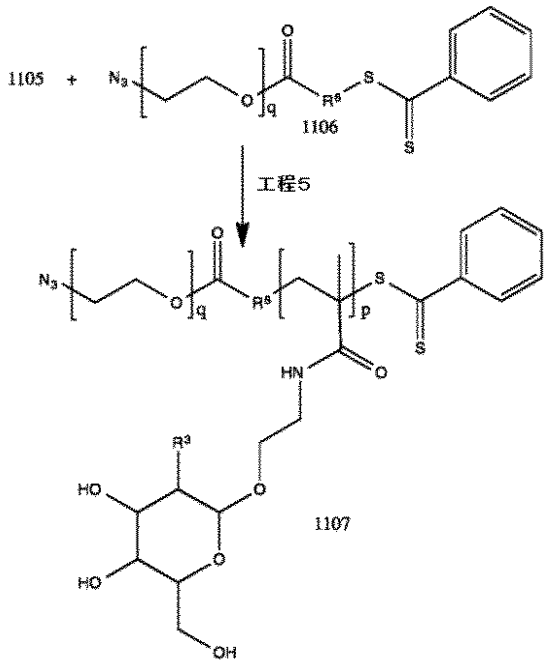
【０１９１】

【化６３】



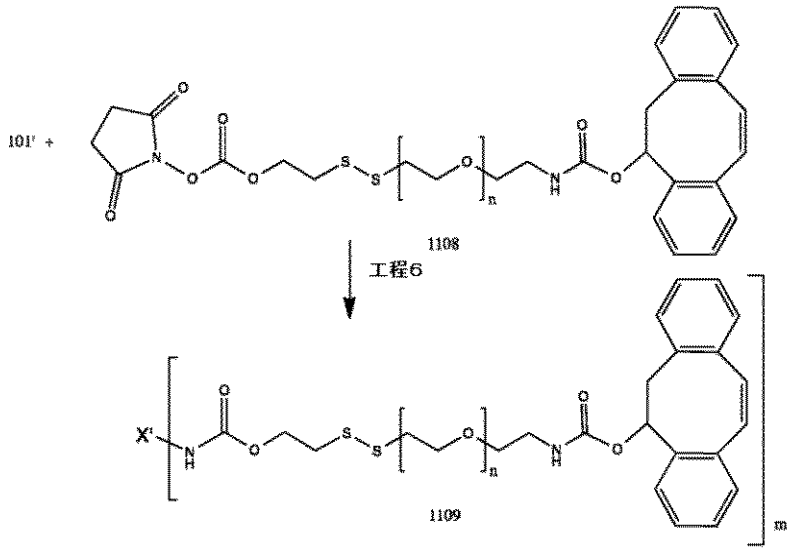
【０１９２】

【化６４】

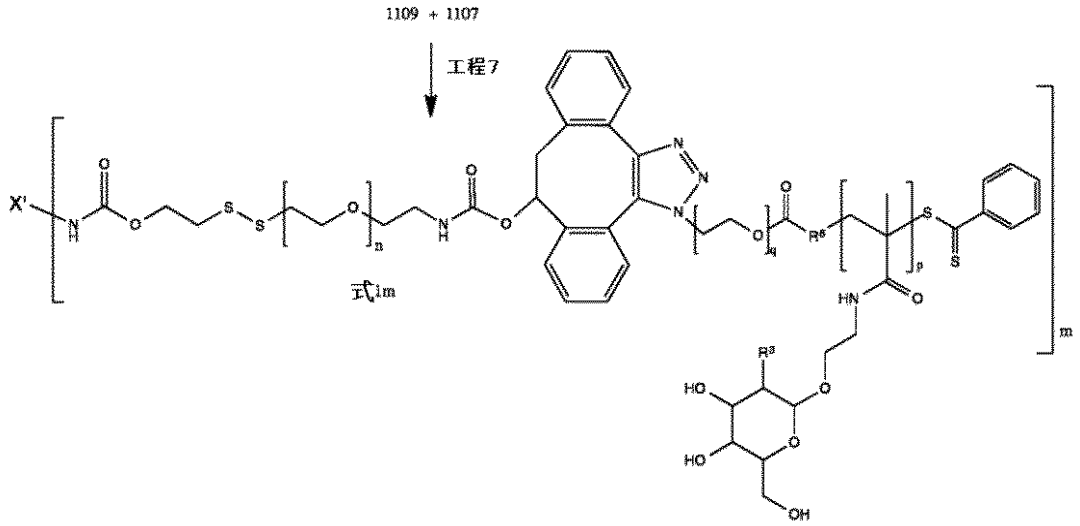


【０１９３】

【化６５】

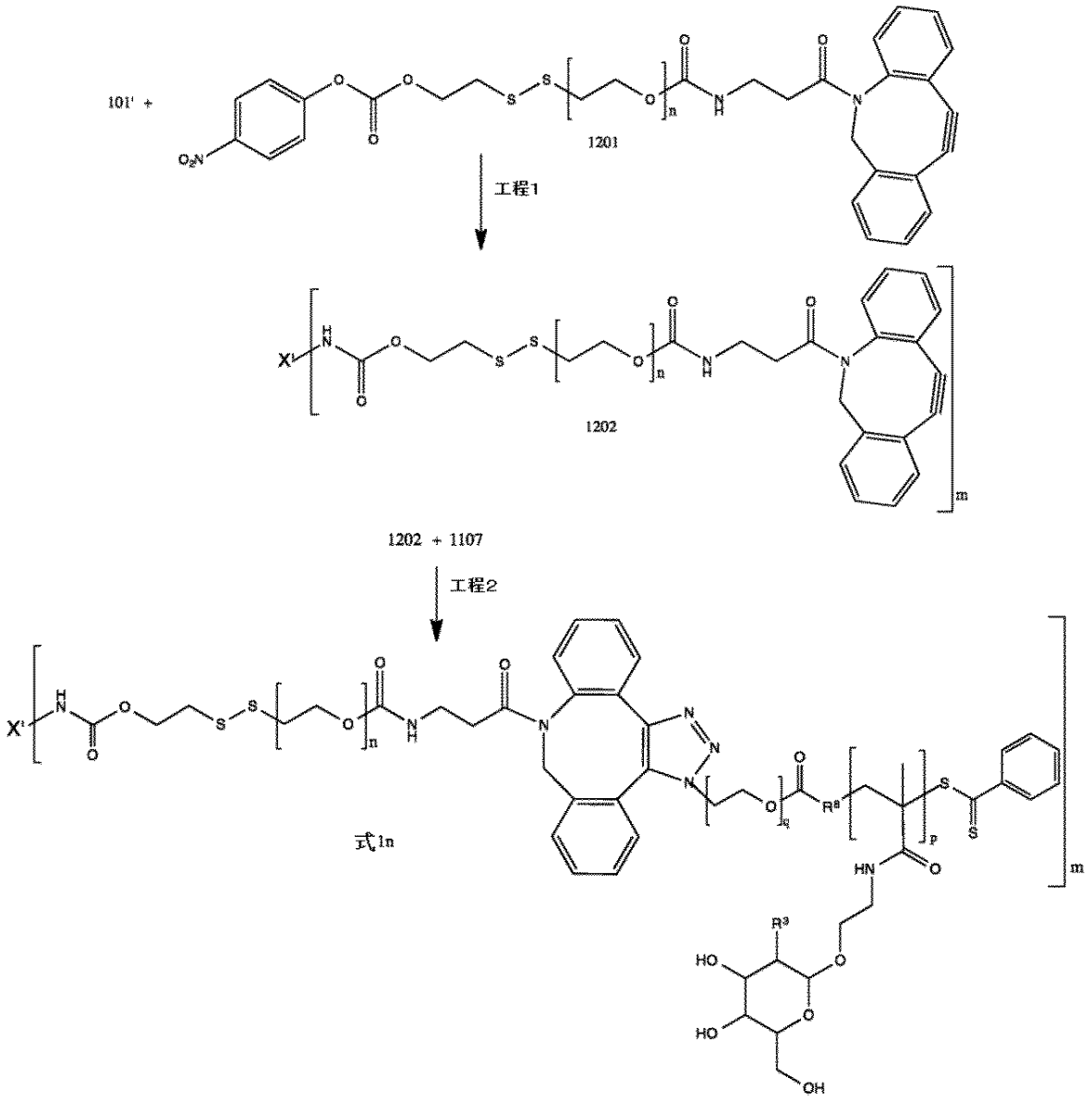


【０１９４】
【化６６】



【０１９５】
反応式１１、工程１において説明されるように、ガラクトース、保護されるガラクトサミンまたはＮ－アセチル－Ｄ－ガラクトサミン（式１１０１、ここでそれぞれR^3およびR^4は、ＯＨであり、R^3は、ＮＨ－保護基（例えば、R^4で環化される）であり、またはR^3は、ＮＨＡｃでありかつR^4は、ＯＨである）を、２－クロロエタン－１－オールと接触させて、それに続いて冷却およびアセチルクロライドを滴下する。当該溶液を室温に加温し、かつその後７０℃に数時間加熱した。エタノールを粗産物に加え、かつ得られる溶液を炭素存在下で撹拌し、その後濾過し、それに続いて溶媒除去し式１１０２の対応産物を得る。
【０１９６】
反応式１１、工程２において説明されるように、式１１０２の産物を、過剰のアジ化ナトリウムに加え、かつ９０℃に数時間加熱し、その後濾過し、それに続いて溶媒除去し式１１０３の対応産物を得る。
【０１９７】
反応式１１、工程３において説明されるように、式１１０３の産物を炭素およびエタノールのパラジウムの溶液に加え、かつ水素ガス（３気圧）のもとで数時間撹拌し、その後濾過し、それに続いて溶媒除去し式１１０４の対応産物を得る。
【０１９８】
反応式１１、工程４において説明されるように、式１１０４の産物をメタクリル酸無水物の溶液に加え、トリエチルアミンを加えて、かつ反応を２時間撹拌し、それに続いて溶媒除去および単離により式１１０５の対応産物を得る。
【０１９９】
反応式１１、工程５において説明されるように、アジド－改変ｕＲＡＦＴ剤（式１１０６）を、アゾビスイソブチロニトリルを有する式１１０５の産物の溶液に加えて、４凍結脱気サイクルに供し、かつその後７０℃で撹拌する。数時間後、式１１０７の対応するポリマー産物を低級アルカノールの添加により沈殿させ、それに続いて溶媒除去する。ここでR^3は、ＮＨ－保護基（例えば、R^4で環化される）であり、保護基はこの箇所で除去される。
【０２００】
反応式１１、工程６において説明されるように、式１０１’の天然型の遊離表面アミノ基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドをｐＨ８．０緩衝液に加え、かつ過剰（ｍの値に対応する）の式１１０８のジオキソピロリジンと撹拌しながら接触させる。１時間後、未反応の式１１０８を除去し、かつ得られる式１１０９の産物はさらに精製せずに使用される。

【０２０１】
反応式１１、工程７において説明されるように、式１１０７の産物をｐＨ８．０緩衝液に加え、そして式１１０９の産物に加える。２時間撹拌後、過剰の式１１０７を除去し、式１ｍの対応する異性体産物を得る。
【０２０２】
工程５において式１１０５の産物をＮ－（２、４、５－トリヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）メタクリルアミドに置換し、かつ工程６および７を続行することにより、Ｚ”がＣ２でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンである式１ｍの対応する異性体産物が得られる。
【０２０３】
式１ｍに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：
“Ｆ１ｍ－Ｘ’－m_m－n_n－p_p－q_q－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”、ここでＺ“は１ＧＡＬ、１ＮＧＡＬもしくは１ＮＡｃＧＡＬ、または”Ｆ１ｍ－Ｘ’－m_m－n_n－p_p－q_q－２ＮＡｃＧＡＬ”である。
【０２０４】
反応式１２
【化６７】



【０２０５】
反応式１２の合成アプローチは、有機溶媒の使用のために疎水性の抗原、抗体、抗体フ

ラグメントおよびリガンド（例えば、インスリン）に特に適切である。

【０２０６】

反応式１２、工程１において説明されるように、式１０１’の天然型の遊離表面アミノ基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを、トリエチルアミンを含有する有機溶媒（例えば、ＤＭＦ）において溶解する。これに、式１２０１の化合物の量（ｍの値に対応する）を加え、それに続いて撹拌およびｔ－ブチルメチルエーテルを加える。式１２０２の対応産物を沈殿物として回収する。

【０２０７】

式１２０２の産物を有機溶媒において再懸濁し、かつ式１１０７（例えば、反応式１１に関して記載されるように得られる）の量（ｍの値に対応する）を加え、それに続いて撹拌する。当該反応産物をジクロロメタンの添加を介して沈殿させ、それに続いて濾過および溶媒除去した。精製（例えば、ＰＢＳにおける再懸濁、それに続く遠心性サイズ排除クロマトグラフィー）は、式１ｎの対応する異性体産物を得る。

【０２０８】

式１ｎに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：

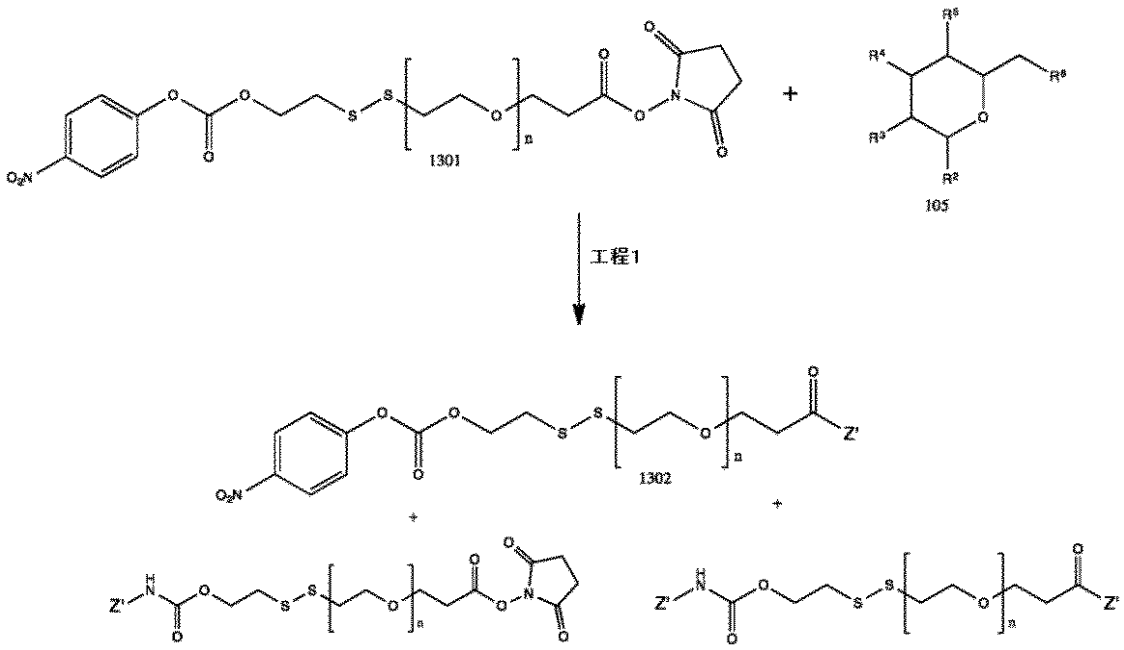
“Ｆ１ｎ－Ｘ’－m_m－n_n－p_p－q_q－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”、ここでＺ“は１ＧＡＬ、１ＮＧＡＬもしくは１ＮＡｃＧＡＬ、または”Ｆ１ｍ－Ｘ’－ｎｍ－n_n－p_p－q_q－２ＮＡｃＧＡＬ”である。

【０２０９】

反応式１３

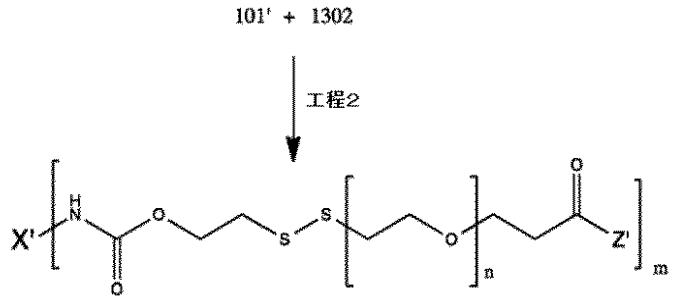
【０２１０】

【化６８】



【０２１１】

【化６９】



式1o

【０２１２】

反応式１３、工程１において、ニトロフェノキシカルボニル－オキシアルキルジチオール－ポリ（エチレングリコール）－ＮＨＳエステル（式１３０１）を、ガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミン（式１０５）と接触させて、他の２つの説明される産物と一緒に、式１３０２の対応産物を与え、ここから式１３０２の望ましいニトロフェノキシカルボニルジチオール－ポリ（エチレングリコール）－カルボキシエチルガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンが次の工程に進む前に単離される。

【０２１３】

反応式１３、工程２において説明されるように、式１０１’の天然型の遊離表面アミノ基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを、過剰（ｍの値に対応する）の式１３０２の産物と接触させて式１ｏによる対応産物を得る。

【０２１４】

式１ｏに対応する組成物は、以下の通り式１ｏに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：

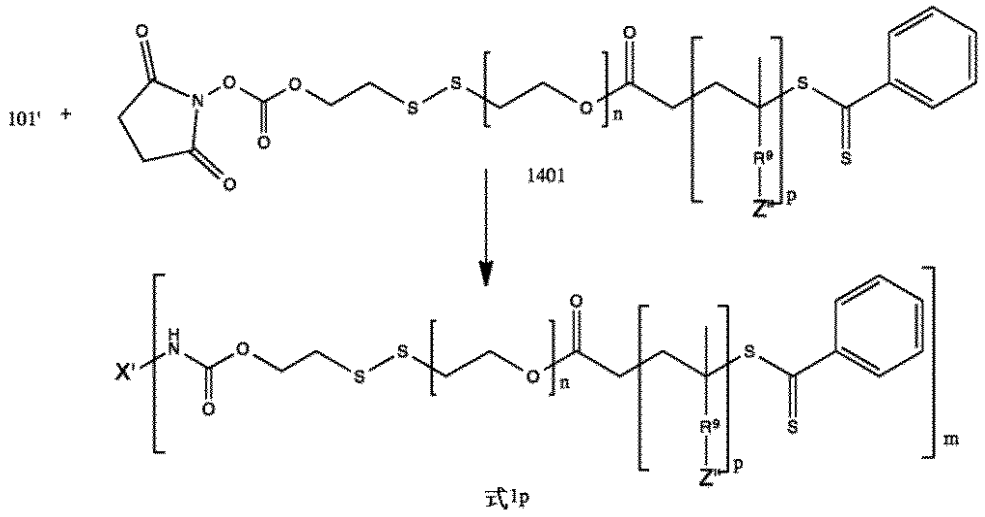
“Ｆ１ｏ－Ｘ’－m_m－n_n－Ｚ’”。

【０２１５】

反応式１４

【０２１６】

【化７０】



式1p

【０２１７】

反応式１４において説明されるように、天然型の遊離表面アミノ基を有する抗原、抗体、抗体フラグメントまたはリガンド（式１０１’）を、過剰（ｍの値に対応する）の式１４０１のピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）－ＮＨＳエステルと接触させて式１ｐによる対応産物を得る。

【０２１８】
式１ｐに対応する組成物は、以下の通り命名されうる：
“Ｆ１ｐ－Ｘ’－m_m－n_n－p_p－２ＮＡｃＧＡＬ”または“Ｆ１ｐ－Ｘ’－m_m－n_n－p_p－ＥｔＡｃＮ－Ｚ”。
【０２１９】
融合タンパク質の調製
【０２２０】
商業的に入手可能な哺乳類の、細菌性の、酵母の、もしくは昆虫の細胞発現ベクター、ならびに公開されている、発見されている、もしくは設計されている遺伝子配列を使って、人工的に許容される方法論を介して、式２の融合タンパク質組成物を発現させることができる。タグ配列と共にＸ、ＹおよびＺをコードする配列を、発現ベクターに、例えば、哺乳類の発現ベクターｐＳｅｃＴａｇ　Ａにクローニングすることができ、ここで、融合タンパク質はＣ末端からＩｇ　κ鎖分泌リーダー配列に挿入される。部位特異的突然変異誘発法およびＱｕｉｋＣｈａｎｇｅプロトコール（Ｇｅｉｓｅｒ，ｅｔ　ａｌ．）のバリエーションを含む様々な他のクローニング技術は利用でき、かつ当業者によく知られている。哺乳類細胞において［例えば、ヒト胚腎臓（ＨＥＫ２９３）細胞またはチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞において］、ポリエチレンイミンを使って上記に記載されるベクターでの一過性の遺伝子導入により融合タンパク質を一過性に発現することができる。例えば、約７日間バルプロ酸またはＤＭＳＯが補充される適切な培地（例えば、ＦｒｅｅＳｔｙｌｅ　２９３培地、ライフ・テクノロジーズ）において、遺伝子導入細胞を培養し、その後、当該細胞を遠心分離により除去し、かつ培養上清を収集し、かつ濾過により無菌化する。
【０２２１】
あるいは、安定に遺伝子導入された哺乳類の細胞系統を作製することにより、融合タンパク質を安定に発現することができる。加えて、適合性の培地（例えばＬＢ、２ＸＹＴ、ＳＯＢ、ＳＯＣ、ＴＢおよび他の培地（ｂｒｏｔｈ））、補充物（例えばグリセリン、グルコース、および他の補充物）ならびに適切な増殖および発現条件を使うことによって、大腸菌、コリネバクテリウム属、またはシュードモナス・フルオレッセンスなどの細菌において融合タンパク質を産生するために発現ベクターを使用することができる。酵母における発現系は、一般にサッカロマイセス・セレビシエおよびピキア・パストリス、またはサッカロマイセス属、ピキア属、クリベロマイセス属、およびヤロウイア属の他の生物、ならびにあまり一般には使用されない、例えば糸状菌アスペルギルス、トリコデルマ、もしくはミセリオフトラサーモフィラＣ１などの生物を使用することができる。昆虫発現系は、バキュロウイルス感染昆虫細胞または非溶解性昆虫細胞発現を利用して、高い量でタンパク質発現レベルを達成することができ；ほとんどの一般的な昆虫細胞はＳｆ９およびＳｆ２１（スポドプテラ・フルギペルダ由来）、Ｈｉ－５（イラクサギンウワバ由来）、ならびにシュナイダー２および３（キイロショウジョウバエ由来）を含むが、これらに限定されない。
【０２２２】
アフィニティークロマトグラフィーにより（例えば、ＨｉｓＴｒａｐ　Ni^{2+}セファロースカラム、ＧＥヘルスケア、Ｈｉｓタグ融合タンパク質用を使って）培養上清から、発現融合タンパク質産物を精製することができ、それに続いて、サイズ排除クロマトグラフィー（例えば、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ７５カラム、ＧＥヘルスケアを使って）またはイオン交換クロマトグラフィーなどの他のクロマトグラフィーの精製工程を行う。例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルのクマシーブリリアントブルー染色およびウェスタンブロッティング（例えばＨｉｓタグ融合タンパク質用抗６ｘＨｉｓタグウェスタンブロッティング）により、タンパク質純度を検証することができる。タンパク質濃度をランベルト・ベールの法則を使って決定することができ、それは例えば、ＮａｎｏＤｒｏｐ　２０００（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使って２８０ｎｍでの吸光度を測定することができる。例えば、ＥｘＰＡＳｙ　ＰｒｏｔＰａｒａｍ　ツールを使ってタンパク質のアミノ酸配列か

ら、分子量および吸光係数を推定することができる。例えば、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＴＬＲ４レポーター細胞系統（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）を使って、製造元の指示書に従ってエンドトキシンレベルを測定することができる。

【０２２３】

脱シアル化抗原、抗体、抗体フラグメントおよびリガンドの調製

【０２２４】

商業的に入手可能なノイラミニダーゼ（アセチルノイラミニルヒドロラーゼまたはシアリダーゼとしてもよく知られている）酵素または硫酸を使って、人工的に許容される方法論を介して脱シアル化タンパク質を産生させることができる。目的のタンパク質の酵素的脱シアル化について、当該タンパク質をノイラミニダーゼと共に３７℃で１時間、または必要に応じてそれより長くインキュベートすることができる。酸加水分解による化学的脱シアル化について、目的のタンパク質を硫酸０．０２５Ｎで、８０℃で１時間または必要に応じてそれより長く処理することができる。その後、固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィーにより（例えば、ＨｉｓＴｒａｐ　Ｎｉ$^{2+}$セファロースカラム、ＧＥヘルスケアを使って）反応混合物から脱シアル化タンパク質を精製することができ、それに続いてサイズ排除クロマトグラフィー（例えば、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ７５カラム、ＧＥヘルスケアを使って）を行う。例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルのクマシーブリリアントブルー染色および抗６ｘＨｉｓタグウェスタンブロッティングにより、タンパク質純度を検証することができる。例えば商業的に入手可能なキット（例えばアブカム、プロザイム、またはシグマ）を使って、レクチンに基づくタンパク質の検出、ウェスタンブロットにおけるシアル酸含量またはシアル酸含量の比色定量により、脱シアル化を検証することができる。脱シアル化タンパク質濃度をランベルト・ベールの法則を使って決定することができ、それは例えば、ＮａｎｏＤｒｏｐ　２０００（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使って２８０ｎｍでの吸光度を測定することができる。例えば、ＥｘＰＡＳｙ　ＰｒｏｔＰａｒａｍ　ツールを使ってタンパク質のアミノ酸配列から、分子量および吸光係数を推定することができる。例えば、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＴＬＲ４レポーター細胞系統（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）を使って、製造元の指示書に従ってエンドトキシンレベルを測定することができる。

【０２２５】

特定のプロセスおよび最終工程

【０２２６】

式１０３’の化合物を、過剰（ｍの値に対応する）の式１０６の化合物と接触させて式１ａの対応産物を与える。

【０２２７】

式１０３’の化合物を、過剰（ｍの値に対応する）の式２０１の化合物と接触させて式１ｂの対応産物を与える。

【０２２８】

式８０２の化合物、９０２または１００２を、過剰（ｍの値に対応する）の式８０３の化合物と接触させてそれぞれ式１ｈ、式１ｉまたは式１ｋの対応産物を与える。

【０２２９】

式１１０９の化合物を、過剰（ｍの値に対応する）の式１１０７の化合物と接触させて式１ｍの対応産物を与え、特には、ここで、ｎは約８０であり、ｐは約３０であり、ｑは約４であり、かつ抗原の機能であるｍは約２から１０である。

【０２３０】

式１２０２の化合物を、過剰（ｍの値に対応する）の式１１０７の化合物と接触させて式１ｎの対応産物を与え、特には、ここでｎは約１であり、ｐは約３０であり、ｑは約４であり、かつ抗原の機能であるｍ約２から１０である。

【０２３１】

特定の組成物

【０２３２】

非限定例として、当該組成物、医薬品製剤、製造方法および本開示の使用のための好ましい特定の基は、式１の置換基群の以下の組み合わせおよび並べ替えである（それぞれ、優先の増加順にサブグループ化される）：

・　　Ｘは、移植患者が望ましくない免疫応答を発症する外来性の移植抗原、患者が望ましくない免疫応答を発症する外来性抗原、患者が望ましくない免疫応答を発症する治療用のタンパク質、患者が望ましくない免疫応答を発症する自己抗原、またはそれらの免疫寛容誘導部分である。

・　　Ｘは、以下から選択される患者が望ましくない免疫応答を発症する治療用のタンパク質である：アバタセプト、アブシキシマブ、アダリムマブ、アデノシンデアミナーゼ、アドートラスツズマブエムタンシン、アガルシダーゼアルファ、アガルシダーゼベータ、アルデスロイキン、アルグルセラーゼ、アルグルコシダーゼアルファ、α－１－プロテアーゼ阻害剤、アナキンラ、アニストレプラーゼ（アニソイル化プラスミノーゲンストレプトキナーゼ活性化複合体）、アンチトロンビン　ＩＩＩ、抗胸腺細胞グロブリン、アルテプラーゼ、ベバシズマブ、ビバリルジン、ボツリヌス毒素Ａ型、ボツリヌス毒素Ｂ型、Ｃ１エステラーゼ阻害剤、カナキヌマブ、カルボキシペプチダーゼＧ２（グルカルピダーゼおよびＶｏｒａｘａｚｅ）、セルトリズマブ　ペゴル、セツキシマブ、コラゲナーゼ、マムシ類（Ｃｒｏｔａｌｉｄａｅ）免疫Ｆａｂ、ダルベポエチンーα、デノスマブ、ジゴキシン免疫Ｆａｂ、ドルナーゼアルファ、エクリズマブ、エタネルセプト、活性化第ＶＩＩ因子、第ＶＩＩＩ因子、第ＩＸ因子、第ＸＩ因子、第ＸＩＩＩ因子、フィブリノーゲン、フィルグラスチム、ガルスルファーゼ、ゴリムマブ、酢酸ヒストレリン、ヒアルロニダーゼ、イデュルスルファーゼ、イミグルセラーゼ、インフリキシマブ、インスリン（ｒＨｕ　インスリンおよびウシインスリンを含む）、インターフェロンーα２ａ、インターフェロンーα２ｂ、インターフェロンーβ１ａ、インターフェロンーβ１ｂ、インターフェロンーγ１ｂ、イピリムマブ、Ｌ－アルギナーゼ、Ｌ－アスパラギナーゼ、Ｌ－メチオニナーゼ（ｍｅｔｈｉｏｎａｓｅ）、ラクターゼ、ラロニダーゼ、レピルジン／ヒルジン、メカセルミン、メカセルミンリンファバート、メトキシオファツムマブ、ナタリズマブ、オクトレオチド、オプレルベキン、膵臓アミラーゼ、膵臓リパーゼ、パパイン、Ｐｅｇ－アスパラギナーゼ、Ｐｅｇ－ドキソルビシン　ＨＣｌ、ＰＥＧ－エポエチンーβ、ペグフィルグラスチム、Ｐｅｇ－インターフェロンーα２ａ、Ｐｅｇ－インターフェロンーα２ｂ、ペグロチカーゼ、ペグビソマント、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（ＰＡＬ）、プロテインＣ、ラスブリカーゼ（ウリカーゼ）、サクロシダーゼ、サケカルシトニン、サルグラモスチム、ストレプトキナーゼ、テネクテプラーゼ、テリパラチド、トシリズマブ（アトリズマブ）、トラスツズマブ、１型アルファーインターフェロン、ウステキヌマブ、およびｖＷ因子。

・　　特にＸはアブシキシマブ、アダリムマブ、アガルシダーゼアルファ、アガルシダーゼベータ、アルデスロイキン、アルグルコシダーゼアルファ、第ＶＩＩＩ因子、第ＩＸ因子、インフリキシマブ、Ｌ－アスパラギナーゼ、ラロニダーゼ、ナタリズマブ、オクトレオチド、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（ＰＡＬ）、またはラスブリカーゼ（ウリカーゼ）である。

・　　特にＸは第ＶＩＩＩ因子、第ＩＸ因子、ウリカーゼ、ＰＡＬまたはアスパラギナーゼである。

・　　Ｘは１型糖尿病、小児多発性硬化症、若年性関節リウマチ、セリアック病、または全身性脱毛症を治療するために選択される自己抗原ポリペプチドである。

・　　特にＸは新規発症1型糖尿病、小児多発性硬化症またはセリアック病を治療するために選択される自己抗原ポリペプチドである。

・　　Ｘは患者が望ましくない免疫応答を発症する以下の外来性抗原である。

・　　ピーナッツ由来のもの、コンアラキン（Ａｒａ　ｈ　１）を含む。

・　　コムギ由来のもので、天然型アルファーグリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２４）、脱アミド化アルファーグリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２５）、アルファーグリアジン（配列番号：２６）およびオメガーグリアジン（配列番号：２７）を

含む。
・　　ネコ由来のもの、Ｆｅｌ　ｄ　１Ａ（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ３０４３８）およびネコアルブミン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４９０６４）を含む。
・　　イヌ由来のもの、Ｃａｎ　ｆ　１（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｏ１８８７３）およびイヌアルブミン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４９８２２）を含む。
・　　Ｘは移植患者が望ましくない免疫応答を発症する外来性の移植抗原、例えばヒト白血球抗原タンパク質である。
・　　Ｘは循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体に特異的に結合する、抗体、抗体フラグメントもしくはリガンドであり、当該循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体は、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、および／またはアレルギーを生じさせる。
・　　特にＸは内在性の循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体に結合する。
・　　Ｙは以下から選択されるリンカーである：式Ｙａ、式Ｙｂ、式Ｙｈ、式Ｙｉ、式Ｙｋ、式Ｙｍ、式Ｙｎ、式Ｙｏおよび式Ｙｐ。
・　　特には、ここで、ｎは８から９０±１０％であり、ｐは２０から１００±１０％であり、かつｑは３から２０±３である。
・　　特には、ここで、ｎは４０から８０±１０％であり、ｐは３０から４０±１０％であり、かつｑは４から１２±３である。
・　　特には、ここで、Ｙは式Ｙａ、式Ｙｂ、式Ｙｍまたは式Ｙｎである。
・　　特には、ここで、ｎは８から９０±１０％であり、ｐは２０から１００±１０％であり、かつｑは３から２０±３である。
・　　より特には、ここで、ｎは４０から８０±１０％であり、ｐは３０から４０±１０％であり、かつｑは４から１２±３である。
・　　特には、ここで、Ｚはエチルアセトアミド基を介してＹにコンジュゲートされる。
・　　より特には、ここで、ＺはそのＣ１でＹにコンジュゲートされる。
・　　より特には、ここで、$Ｒ^{8}$はＣＭＰである。
・　　より特には、ここで、$Ｒ^{8}$はＣＭＰである。
・　　特には、ここで、$Ｒ^{8}$はＣＭＰである。
・　　Ｚはガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　　特には、ここで、ＺはＣ１、Ｃ２またはＣ６でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　　特には、ここで、ＺはＣ１またはＣ２でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　　より特には、ここで、ＺはＣ１でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンである。

【０２３３】
上記に記載される群およびサブグループのそれぞれは個々に好ましく、かつさらに好ましい本開示の態様を記載するために組み合わせることができ、例えば限定するものではないが、以下の通りである：
・　　Ｘは１型糖尿病、小児多発性硬化症、若年性関節リウマチ、セリアック病、または全身性脱毛症を治療するために選択される自己抗原ポリペプチドである。
・　　特に、ここで、Ｘは新規発症1型糖尿病、小児多発性硬化症またはセリアック病を治療するために選択される自己抗原ポリペプチドである。
・　　特には、ここで、Ｙは以下から選択されるリンカーである：式Ｙａ、式Ｙｂ、式Ｙｈ、式Ｙｉ、式Ｙｋ、式Ｙｍ、式Ｙｎ、式Ｙｏおよび式Ｙｐ。
・　　特には、ここで、ｎは８から９０±１０％であり、ｐは２０から１００±１０％であり、かつｑは３から２０±３である。
・　　特には、ここで、ｎは４０から８０±１０％であり、ｐは３０から４０±１０

％であり、かつｑは４から１２±３である。
・　特には、ここで、Ｙは式Ｙａ、式Ｙｂ、式Ｙｍまたは式Ｙｎである。
・　特には、ここで、ｎは８から９０±１０％であり、ｐは２０から１００±１０％であり、かつｑは３から２０±３である。
・　より特には、ここで、ｎは４０から８０±１０％であり、ｐは３０から４０±１０％であり、かつｑは４から１２±３である。
・　さらにより特には、ここで、Ｚはエチルアセトアミド基を介してＹにコンジュゲートされる。
・　より特には、ここで、Ｚはエチルアセトアミド基を介してＹにコンジュゲートされる。
・　特には、ここで、Ｚはエチルアセトアミド基を介してＹにコンジュゲートされる。
・　特には、ここで、Ｚはガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　特には、ここで、ＺはＣ１、Ｃ２またはＣ６でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　より特には、ここで、ＺはＣ１またはＣ２でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　さらにより特には、ここで、ＺはＣ１でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　特には、ここで、Ｚはガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　特には、ここで、ＺはＣ１、Ｃ２またはＣ６でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　特には、ここで、ＺはＣ１またはＣ２でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　より特には、ここで、ＺはＣ１でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　特には、ここで、Ｙは以下から選択されるリンカーである：式Ｙａ、式Ｙｂ、式Ｙｈ、式Ｙｉ、式Ｙｋ、式Ｙｍ、式Ｙｎ、式Ｙｏおよび式Ｙｐ。
・　特には、ここで、ｎは８から９０±１０％であり、ｐは２０から１００±１０％であり、かつｑは３から２０±３である。
・　より特には、ここで、ｎは４０から８０±１０％であり、ｐは３０から４０±１０％であり、かつｑは４から１２±３である。
・　特には、ここで、Ｙは式Ｙａ、式Ｙｂ、式Ｙｍまたは式Ｙｎである。
・　より特には、ここで、ｎは８から９０±１０％であり、ｐは２０から１００±１０％であり、かつｑは３から２０±３である。
・　より好ましくは、ここで、ｎは４０から８０±１０％であり、ｐは３０から４０±１０％であり、かつｑは４から１２±３である。
・　より特には、ここで、Ｚはエチルアセトアミド基を介してＹにコンジュゲートされる。
・　特には、ここで、Ｚはガラクトース、ガラクトサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　特には、ここで、ＺはＣ１、Ｃ２またはＣ６でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　より特には、ここで、ＺはＣ１またはＣ２でコンジュゲートされたガラクトースまたはＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　より好ましくは、ここでＺはＣ１でコンジュゲートされたＮ－アセチルガラクトサミンである。
・　ｍは約１から１００の整数である。

・　　mは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００または１１０である。
・　　特にmは約１から２０である。
・　　mは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１または２２である。
・　　より特には、mは約１０である。
・　　mは９、１０または１１である。
・　　nは約１から１００を含む混合物を表す整数である。
・　　nは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２２、２５、３０、３４、３５、３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３、８５、８８、９０、９５、９９、１００、１０５または１１０である。
・　　特には、nは約８から９０である。
・　　特には、nは８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２２、２５、３０、３４、３５、３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３、８５、８８、９０、９５または９９である。
・　　より特には、nは約４０から８０である。
・　　より特には、nは３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３または８８である。
・　　nは範囲１－４、２－４、２－６、３－８、７－１３、６－１４、１５－２５、２６－３０、４２－５０、４６－５７、６０－８２、８５－９０、９０－１１０および１０７－１１３を包含する混合物を表す。
・　　特には、nは範囲７－１３、６－１４、１５－２５、２６－３０、４２－５０、４６－５７、６０－８２、８５－９０および８２－９９を包含する混合物を表す。
・　　より特には、nは範囲３６－４４、４２－５０、４６－５７、６０－８２および７５－８５を包含する混合物を表す。
・　　pは約２から１５０を含む混合物を表す整数である。
・　　pは２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０または１６５である。
・　　特には、ここで、nは約１から１００を含む混合物を表す整数である。
・　　特には、nは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２２、２５、３０、３４、３５、３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３、８５、８８、９０、９５、９９、１００、１０５または１１０である。
・　　より特には、ここで、nは約８から９０である。
・　　より特には、nは８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２２、２５、３０、３４、３５、３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３、８５、８８、９０、９５または９９である。
・　　さらにより特には、ここで、nは約４０から８０である。
・　　さらにより特には、nは３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３または８８である。
・　　より特には、pは１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００または１１０である。
・　　特には、ここで、nは約１から１００を含む混合物を表す整数である。
・　　特には、nは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３

、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２２、２５、３０、３４、３５、３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３、８５、８８、９０、９５、９９、１００、１０５または１１０である。
・　　より特には、ここで、ｎは約８から９０である。
・　　より特には、ｎは８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２２、２５、３０、３４、３５、３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３、８５、８８、９０、９５または９９である。
・　　さらにより特には、ここで、ｎは約４０から８０である。
・　　さらにより特には、ｎは３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３または８８である。
・　　より特には、ｐは２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、または４４である。
・　　特には、ここで、ｎは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２２、２５、３０、３４、３５、３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３、８５、８８、９０、９５、９９、１００、１０５または１１０である。
・　　より特には、ここで、ｎは約８から９０である。
・　　より特には、ｎは８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２２、２５、３０、３４、３５、３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３、８５、８８、９０、９５または９９である。
・　　さらにより特には、ここで、ｎは約４０から８０である。
・　　さらにより特には、ｎは３７、４０、４１、４５、５０、５４、５５、５９、６０、６５、７０、７５、８０、８２、８３または８８である。
・　　ｑは約１から４４を含む混合物を表す整数でである。
・　　ｑは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、４４または４８である。

【０２３４】

非限定例として、当該組成物、医薬品製剤、製造方法および本開示の使用のための好ましい特定の基は、式２の置換基群の以下の組み合わせ、および並べ替えである（それぞれ、優先の増加順にサブグループ化される）：
・　　Ｘは、以下から選択される、患者が望ましくない免疫応答を発症する治療用のタンパク質である：アバタセプト、アブシキシマブ、アダリムマブ、アデノシンデアミナーゼ、アドートラスツズマブエムタンシン、アガルシダーゼアルファ、アガルシダーゼベータ、アルデスロイキン、アルグルセラーゼ、アルグルコシダーゼアルファ、α－１－プロテアーゼ阻害剤、アナキンラ、アニストレプラーゼ（アニソイル化プラスミノーゲンストレプトキナーゼ活性化複合体）、アンチトロンビン　ＩＩＩ、抗胸腺細胞グロブリン、アルテプラーゼ、ベバシズマブ、ビバリルジン、ボツリヌス毒素Ａ型、ボツリヌス毒素Ｂ型、Ｃ１エステラーゼ阻害剤、カナキヌマブ、カルボキシペプチダーゼＧ２（グルカルピダーゼおよびＶｏｒａｘａｚｅ）、セルトリズマブ　ペゴル、セツキシマブ、コラゲナーゼ、マムシ類（Ｃｒｏｔａｌｉｄａｅ）免疫Ｆａｂ、ダルベポエチンーα、デノスマブ、ジゴキシン免疫Ｆａｂ、ドルナーゼアルファ、エクリズマブ、エタネルセプト、活性化第ＶＩＩ因子、第ＶＩＩＩ因子、第ＩＸ因子、第ＸＩ因子、第ＸＩＩＩ因子、フィブリノーゲン、フィルグラスチム、ガルスルファーゼ、ゴリムマブ、酢酸ヒストレリン、ヒアルロニダーゼ、イデュルスルファーゼ、イミグルセラーゼ、インフリキシマブ、インスリン、インターフェロンーα２ａ、インターフェロンーα２ｂ、インターフェロンーβ１ａ、インターフェロンーβ１ｂ、インターフェロンーγ１ｂ、イピリムマブ、Ｌ－アルギナーゼ、Ｌ－アスパラギナーゼ、Ｌ－メチオニナーゼ（ｍｅｔｈｉｏｎａｓｅ）、ラクターゼ、

ラロニダーゼ、レピルジン／ヒルジン、メカセルミン、メカセルミンリンファバート、メトキシオファツムマブ、ナタリズマブ、オクトレオチド、オプレルベキン、膵臓アミラーゼ、膵臓リパーゼ、パパイン、Ｐｅｇ－アスパラギナーゼ、Ｐｅｇ－ドキソルビシン　ＨＣｌ、ＰＥＧ－エポエチン－β、ペグフィルグラスチム、Ｐｅｇ－インターフェロン－α２ａ、Ｐｅｇ－インターフェロン－α２ｂ、ペグロチカーゼ、ペグビソマント、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（ＰＡＬ）、プロテインＣ、ラスブリカーゼ（ウリカーゼ）、サクロシダーゼ、サケカルシトニン、サルグラモスチム、ストレプトキナーゼ、テネクテプラーゼ、テリパラチド、トシリズマブ（アトリズマブ）、トラスツズマブ、１型アルファ－インターフェロン、ウステキヌマブ、およびｖＷ因子；ｍ’＋ｍ”が１に等しく、かつＺがＤＯＭ　２６ｈ－１９６－６１または米国第２０１３／００７８２１６号に記載される別の肝臓標的化分子である場合、インターフェロン（インターフェロンアルファ２、インターフェロンアルファ５、インターフェロンアルファ６、またはコンセンサスインターフェロン）、リバビリン、ネクサバール／ソラフェニブ、アービタックス／セツキシマブ、アバスタチン／ベバシズマブ、およびハーセプチン／トラスツズマブが式２の範囲から除外されるということを条件とする。

・　特にＸはアブシキシマブ、アダリムマブ、アガルシダーゼアルファ、アガルシダーゼベータ、アルデスロイキン、アルグルコシダーゼアルファ、第ＶＩＩＩ因子、第ＩＸ因子、インフリキシマブ、Ｌ－アスパラギナーゼ、ラロニダーゼ、ナタリズマブ、オクトレオチド、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（ＰＡＬ）、またはラスブリカーゼ（ウリカーゼである）。

・　特に、ここで、Ｘは第ＶＩＩＩ因子、第ＩＸ因子、ウリカーゼ、ＰＡＬまたはアスパラギナーゼである。

・　Ｘは１型糖尿病、小児多発性硬化症、若年性関節リウマチ、セリアック病、または全身性脱毛症を治療するために選択される自己抗原ポリペプチドである。

・　特に、ここで、Ｘは新規発症1型糖尿病、小児多発性硬化症またはセリアック病を治療するために選択される自己抗原ポリペプチドである。

・　Ｘは患者が望ましくない免疫応答を発症する外来性抗原である

・　ピーナッツ由来のもの、コンアラキン（Ａｒａ　ｈ　１）を含む。

・　コムギ由来のもの、天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２４）、脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２５）、アルファ－グリアジン（配列番号：２６）およびオメガ－グリアジン（配列番号：２７）を含む。

・　ネコ由来のもの、Ｆｅｌ　ｄ　１Ａ（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ３０４３８）およびネコアルブミン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４９０６４）を含む。

・　イヌ由来のもの、Ｃａｎ　ｆ　１（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｏ１８８７３）およびイヌアルブミン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４９８２２）を含む。

・　Ｘは移植患者が望ましくない免疫応答を発症する外来性の移植抗原、例えばヒト白血球抗原タンパク質である。

・　Ｘは循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体に特異的に結合する、抗体、抗体フラグメントもしくはリガンドであり、当該循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体は、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、および／またはアレルギーを生じさせる。

・　特に、ここで、Ｘは内在性の循環タンパク質もしくはペプチドまたは抗体に結合する。

・　ＹはＧｌｙ$_3$Ｓｅｒである。

・　Ｚは抗ＡＳＧＰＲ　Ｄｏｍ２６ｈ－１９６－６１または保存的置換である。

・　ｍ’＋ｍ”は１または２に等しく、かつＸはタンパク質治療剤を含む完全長タンパク質である。

・　ｍ’＋ｍ”は１または２に等しく、ここで、ｍ’は１であり、かつｍ”は０または１である。

・　　ｍ’＋ｍ”は２から約１０に等しく、ここで、Ｘは特定の自己免疫疾患に関連する、または遺伝的に様々な標的集団の治療としてよく知られている自己抗原ペプチド（エピトープ）の基である。
・　　ｍ’＋ｍ”は約４から７に等しく、ここで、当該自己免疫疾患は多発性硬化症であり、かつＸは非依存的に以下から選択される：ＭＢＰ１３－３２（配列番号：１１）、ＭＢＰ８３－９９（配列番号：１２）、ＭＢＰ１１１－１２９（配列番号：１３）、ＭＢＰ１４６－１７０（配列番号：１４）、ＭＯＧ１－２０（配列番号：１５）、ＭＯＧ３５－５５（配列番号：１６）およびＰＬＰ１３９－１５４（配列番号：１７）。
・　　ｍ’＋ｍ”は７に等しくかつ、Ｘは、それぞれ、ＭＢＰ１３－３２（配列番号：１１）、ＭＢＰ８３－９９（配列番号：１２）、ＭＢＰ１１１－１２９（配列番号：１３）、ＭＢＰ１４６－１７０（配列番号：１４）、ＭＯＧ１－２０（配列番号：１５）、ＭＯＧ３５－５５（配列番号：１６）およびＰＬＰ１３９－１５４（配列番号：１７）である。

【０２３５】
式１に関する上記の議論と同様に、上記に記載される式２についての群およびサブグループのそれぞれは個々に好ましく、かつさらに好ましい本開示の態様を記載するために組み合わせることができる。

【０２３６】
有用性、試験および投与

【０２３７】
一般的有用性

【０２３８】
本開示の組成物は、当業者に理解されるような、移植拒絶、治療薬に対する免疫応答、自己免疫疾患、および食物アレルギーの治療を含む様々な用途での使用を見出す。

【０２３９】
好ましい実施形態では、本開示の組成物を調節する、特には、抗原特異的な望ましくない免疫応答をダウンレギュレートするために使用する。

【０２４０】
患者において内在的に生成される抗体（すなわち、患者に投与される外来性でない抗体）、ペプチド等を含む、自己免疫および関連する病変、アレルギー、炎症性免疫応答、ならびにアナフィラキシーを引き起こす、循環特異的な望ましくないタンパク質に結合し、かつクリアランスするのに、本開示の組成物は有用である。

【０２４１】
本開示において、免疫系を特異的にダウンレギュレートする抗原提示細胞を介する提示のため、または望ましくない循環タンパク質のクリアランスのため、肝臓へ、抗原は標的化される。以前の肝臓標的化の使用、例えば米国第２０１３／００７８２１６号に記載されるものとは、これは別個であり、ここでは、ＤＯＭ２６ｈ－１９６－６１などの肝臓標的化分子の目的は、線維症、肝炎、硬変および肝臓癌などの肝疾患を治療する治療薬の送達であった。

【０２４２】
本開示は、限定されないが、以下を含む、自己抗原および外来性抗原への望ましくない免疫応答を治療する組成物および方法を提供する：移植患者が望ましくない免疫応答（例えば、移植拒絶）を発症する外来性の移植抗原、患者が望ましくない免疫応答（例えば、アレルギー性または過敏症）を発症する外来性抗原、患者が望ましくない免疫応答（例えば、過敏症および／または減少治療活性）を発症する治療薬、患者が望ましくない免疫応答（例えば、自己免疫疾患）を発症する自己抗原。

【０２４３】
本明細書で提供される方法および組成物を使って治療することができる自己免疫疾患状態は以下を含むが、これらに限定されない：急性散在性脳脊髄炎（ＡＤＥＭ）；急性間質性アレルギー性腎炎（薬物アレルギー）；急性壊死性出血性白質脳炎；アジソン病；円形

脱毛症；全身性脱毛症；強直性脊椎炎；若年性関節炎；乾癬性関節炎；リウマチ性関節炎；アトピー性皮膚炎；自己免疫性再生不良性貧血；自己免疫性胃炎；自己免疫性肝炎；自己免疫性下垂体炎；自己免疫性卵巣炎；自己免疫性精巣炎；多腺性自己免疫症候群１型；多腺性自己免疫症候群２型；自己免疫性甲状腺炎；ベーチェット病；閉塞性細気管支炎；水疱性類天疱瘡；セリアック病；チャーグ・ストラウス症候群；慢性炎症性脱髄性多発神経炎；瘢痕性類天疱瘡；クローン病；コクサッキー心筋炎；ジューリング疱疹状皮膚炎；糖尿病（１型）；結節性紅斑；後天性表皮水疱症、巨細胞性動脈炎（側頭動脈炎）；巨細胞性心筋炎；グッドパスチャー症候群；グレーブス病；ギラン・バレー症候群；橋本脳症；橋本甲状腺炎；ＩｇＧ４－関連硬化性疾患；ランバート・イートン症候群；混合性結合組織病；ムッハ・ハーベルマン病；多発性硬化症；重症筋無力症；視神経炎；視神経脊髄炎；尋常性天疱瘡およびバリアント型；悪性貧血；下垂体自己免疫疾患；多発性筋炎；心膜切開後症候群；早発卵巣不全；原発性胆汁性肝硬変；原発性硬化性胆管炎；乾癬；リウマチ性心疾患；シェーグレン症候群；全身性エリテマトーデス；全身性硬化症；潰瘍性大腸炎；未分化型結合組織病（ＵＣＴＤ）；ぶどう膜炎；白斑；ならびにウェゲナー肉芽腫症。

【０２４４】

本明細書で提供される方法および組成物を使って治療することができる自己免疫疾患状態の特定の群は以下を含むが、これらに限定されない：急性壊死性出血性白質脳炎；アジソン病；乾癬性関節炎；リウマチ性関節炎；自己免疫性再生不良性貧血；自己免疫性下垂体炎；自己免疫性胃炎；多腺性自己免疫症候群１型；水疱性類天疱瘡；セリアック病；コクサッキー心筋炎；ジューリング疱疹状皮膚炎；糖尿病（１型）；後天性表皮水疱症；巨細胞性心筋炎；グッドパスチャー症候群；グレーブス病；橋本甲状腺炎；混合性結合組織病；多発性硬化症；重症筋無力症；視神経脊髄炎；悪性貧血；尋常性天疱瘡およびバリアント型；下垂体自己免疫疾患；早発卵巣不全；リウマチ性心疾患；全身性硬化症；シェーグレン症候群；全身性エリテマトーデス；ならびに白斑。

【０２４５】

望ましくない免疫応答を発症する食物抗原などの抗原を利用する実施形態では、例えば：ピーナッツ、リンゴ、乳、卵白、卵黄、カラシナ、セロリ、エビ、コムギ（および他の穀類）、イチゴおよびバナナに対する反応のために治療を提供することができる。

【０２４６】

望ましくない免疫応答を発症したことがある外来性抗原、および抗原に基づいて開発されうる本開示の組成物を開示するために患者が試験されうることを、当業者は理解するだろう。

【０２４７】

試験

【０２４８】

本開示の組成物および方法の有用性を確立するには、肝臓における抗原提示細胞に結合における特異性（特には、肝細胞に結合すること、具体的にはＡＳＧＰＲ）が、初期に決定されるべきである。本開示の組成物において、これは、例えば、マーカー（蛍光マーカーフィコエリトリン（“ＰＥ”）など）を利用することにより達成されうる。当該組成物を適切な実験対象に投与する。コントロール、例えば、コンジュゲートされていないＰＥ、またはビヒクル（生理食塩水）を、対象の他の群に投与する。組成物およびコントロールを、１から５時間の間循環させ、その後対象の脾臓および肝臓を収集し、かつ蛍光について測定する。蛍光が確認される特定の細胞を引き続いて同定することができる。この様式において試験される場合、本開示の組成物は、コンジュゲートされていないＰＥまたは媒体と比較して、肝臓の抗原提示細胞において濃度のより高いレベルを示す。

【０２４９】

抗原単独または単なるビヒクルの投与と比較して、オボアルブミン（“ＯＶＡ”）などの周知抗原を組み込む本開示の組成物の投与への応答において、ＯＴ－Ｉ　ＣＤ８$^{+}$細胞（宿主マウスへ移植される）の増殖を測定することにより、免疫調節における有効性を試

験することができる。この様式において試験される場合、本開示の組成物は、抗原単独またはビヒクルと比較して、増加したＣＤ８＋Ｔ細胞クロスプライミングを示してＯＴ１細胞増殖の増加を示す。機能的なエフェクター表現型へと増殖されているＴ細胞を、増殖かつ除去されているものから区別するために、増殖性のＯＴ－Ｉ　ＣＤ８＋Ｔ細胞を、消耗の分子サイン［ｐｒｏｇｒａｍｍｅｄ　ｄｅａｔｈ－１（ＰＤ－１）、ＦａｓＬ、およびその他など］、並びにアポトーシス、ひいては除去の特徴としてのアネキシンＶについて、表現型的に分析することができる。ＯＴ－Ｉ　ＣＤ８＋Ｔ細胞はまた、機能的な非応答性、ひいては抗原への免疫寛容を実証するために、アジュバントを有する抗原チャレンジへのそれらの応答性について評価することができる。そうするために、本開示の組成物の宿主マウスへの投与それに続く抗原チャレンジ後に細胞を、炎症性のサインについて分析する。この様式において試験される場合、本開示の組成物は、非常に低（例えば、バックグラウンド）レベルのＯＶＡへの炎症性のＯＴ－Ｉ　ＣＤ８＋Ｔ細胞応答、ひいては免疫寛容を示すことを実証する。

【０２５０】

抗原単独または単なるビヒクルの投与と比較して、ＯＶＡなどの周知抗原を組み込む本開示の組成物を投与すること、および得られる抗体のレベルを測定することにより、体液性免疫応答を試験することができる。この様式において試験される場合、本開示の組成物は、それらの投与およびビヒクルの投与に応答する非常に低（例えば、バックグラウンド）レベルの抗体形成、および抗原の投与に応答する有意により高いレベルの抗体形成を示す。

【０２５１】

抗原に対する寛容化における有効性を、体液性免疫応答に関して上記のように試験することができ、ここで、本開示の組成物での治療後数週間、対象の群を抗原単独の投与によりチャレンジし、それに続いて抗原に対する抗体のレベルを測定した。この様式において試験される場合、前処理されていない群と比較して、かかる組成物で前処理されている群において、本開示の組成物は抗原のチャレンジに応答する低レベルの抗体形成を示す。

【０２５２】

疾病に焦点をあてる実験モデルは当業者よく知られており、かつ、自己免疫および寛容のＮＯＤ（または非肥満性糖尿病）マウスモデルならびにヒト炎症性脱髄疾患、多発性硬化症のためのＥＡＥ（実験的自己免疫性脳脊髄炎）モデルを含む。特には、ＮＯＤマウスは、自発性の自己免疫性糖尿病（ヒトにおける１ａ型糖尿病と同様）を発症する。ＮＯＤマウスの群を、試験化合物または陰性コントロールで治療し、それに続いて血糖を測定する。治療の成功は、ヒトにおいて糖尿病を治療する可能性、または他の自己免疫疾患の治療へのアプローチのための機構の証明に対応する。（例えば、Ａｎｄｅｒｓｏｎ　ａｎｄ　Ｂｌｕｅｓｔｏｎｅ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２００５；２３：４４７－８５を参照されたい。）

【０２５３】

投与

【０２５４】

本開示の組成物を、治療的に有効な薬用量、例えば、以前に記載される疾病状態のための治療を提供するために十分な薬用量で投与する。本開示の化合物または薬学的に許容可能なその塩の投与は、同様の有用性果たす薬のための任意の許容される投与様式を介することができる。

【０２５５】

ヒト薬用量レベルは未だ、本開示の化合物について最適化されていないが、これらは最初、マウスについて投与された約１０μｇから１００μｇの用量と推定することができる。一般に、個々のヒト用量は、約０．０１から２．０ｍｇ／ｋｇ体量、好ましくは約０．１から１．５ｍｇ／ｋｇ体量、およびもっとも好ましくは約０．３から１．０ｍｇ／ｋｇ体量である。治療を、一日または数日の期間投与することができ、かつ数日の間隔、１もしくは数週間、または１もしくは数ヶ月繰り返すことができる。投与は、単一用量として

（例えば、急速投与として）または初期の急速投与としてであり、それに続いて時間とともに例えば、１から７日、完全用量の残存部分の連続的な注入でありうる。投与される活性化合物の量はもちろん、以下の任意のまたは全てに依存するだろう：治療される対象および疾病の状態、苦痛の重症度、投与の様式およびスケジュールならびに処方する医師の判断。それはまた、抗原、抗体、抗体フラグメントもしくはリガンドの分子量並びにリンカーのサイズに依存するであろう投与される量と認識されるだろう。

【０２５６】

本開示の組成物を単独または他の薬学的に許容可能な賦形剤との組み合わせのいずれかで投与することができる。全ての典型的な投与経路が想定され、それは現在注射に適切な液体薬用量形態を提供することが好ましい。製剤は、従来の医薬品の担体もしくは賦形剤ならびに本開示の組成物もしくは薬学的に許容可能なその塩を典型的に含む。さらに、これらの組成物は、本開示の組成物において利用される抗原（Ｘ）に対応する治療用のタンパク質、ペプチド、抗体もしくは抗体様分子、ならびに抗葉酸、免疫抑制剤、細胞増殖抑制剤、有糸分裂阻害剤、および抗代謝物、またはそれらの組み合わせを含む、免疫調節薬として作用することができかつ、より具体的にはＢ細胞に抑制性効果を有することができる他の活性の薬を含む他の薬用の薬、医薬品の薬、担体等を含むことができるが、これらに限定されない。

【０２５７】

一般に、意図される投与様式に依存し、薬学的に許容可能な組成物は、本開示の組成物の重量で約０．１％から９５％、好ましくは約０．５％から５０％を含有し、残りが適切な医薬品の賦形剤、担体等であるだろう。０．００５％から９５％の範囲において、無毒性担体からなるバランスのとれた活性成分を含有する薬用量形態または組成物を調製することができる。

【０２５８】

液体薬学的に投与可能な組成物を、例えば、溶解、分散等により調製することができる。本開示の活性の組成物（例えば、凍結乾燥した粉末）および例えば、水（注射用の水）、生理食塩水、水性ブドウ糖、グリセリン、グリコール、エタノール等（ガラクトースを除く）などの担体における任意の医薬品のアジュバントは、それによって溶液または懸濁液を形成する。所望であれば、投与される医薬組成物はまた、微量な量の湿潤剤、乳化剤、安定化剤、可溶化剤、ｐＨ緩衝作用剤等、例えば、酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、シクロデキストリン誘導体、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミン酢酸およびトリエタノールアミンオレイン酸等、浸透圧調節物質、アミノ酸、糖および炭水化物、タンパク質およびポリマー、塩、界面活性物質、キレート剤および抗酸化剤、保存料、ならびに特異的なリガンドなどの無毒性補助物質を含むことができる。かかる薬用量形態を調製する実際の方法はよく知られており、または当業者に明らかであろう；例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｐｒｅｓｓ，２２ｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，２０１２を参照されたい。投与される組成物または製剤は、任意の事象において、治療される対象の症状を治療するのに有効な量の活性化合物の量を含有するだろう。

【０２５９】

実施例

以下の実施例は、上記に記載される開示の使用様式をより十分に記載する、並びに様々な本開示の態様を実施するために想定される最上の様式を記載するのに役立つ。決してこれらの実施例は、本開示の真の範囲を限定するものと理解されるべきではなく、むしろ例示の目的で提示される。本明細書に引用される全ての引用文献は、出典明示によりそれらの全体が組み込まれる。

【０２６０】

実施例１

Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{８０}$（またはＦ１ａ－ＯＶＡ－ｍ$_{4}$－ｎ$_{８０}$－２ＮＧＡＬ）

【０２６１】

実施例１Ａ．　Ｘ’がＯＶＡであり、かつｍが４である式１０３’

【０２６２】

エンドトキシンフリーのチューブにおいて、ＯＶＡ（５．０ｍｇ、０．０００１２ｍｍｏｌ）を、５ｍＭ　ＥＤＴＡを含有する１００μｌのｐＨ８．０　ＰＢＳに加え、撹拌した。別々に、１ｍｇのトラウト試薬を１００μｌのｐＨ７．０　ＰＢＳに溶解し、ついで、このようにして得られた１６μｌ（０．００１１９ｍｍｏｌ）のトラウト試薬溶液を、撹拌を続けてＯＶＡの撹拌溶液に加えた。１時間後、式１０３’の対応産物を得るために遠心性サイズ排除カラムを使って過剰トラウト試薬を除去した。

【０２６３】

実施例１Ｂ．　ｎが８０である式１０６Ａ

【０２６４】

エンドトキシンフリーのチューブにおいて、ガラクトサミン（１０．０ｍｇ、０．０４６３８ｍｍｏｌ）を、５ｍＭ　ＥＤＴＡを含有する１００μｌのｐＨ８．０　ＰＢＳにおいて撹拌しながら溶解させた。１００μｌのｐＨ７．０　ＰＢＳにおいて溶解されるピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）－ＮＨＳエステル（ｎが８０である、式１０４）（１６．２３ｍｇ、０．００４６４ｍｍｏｌ）を、ガラクトサミンの撹拌溶液に加えた。１時間後、得られるピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）－Ｎ－アセチルガラクトサミン（式１０６Ａ）をさらに精製せずに使用するよう準備した。

【０２６５】

実施例１Ｃ．　Ｘ’がＯＶＡであり、ｍが４であり、ｎが８０であり（かつＺ’がＣ２ガラクトサミンである）式１ａＡ

【０２６６】

実施例１Ａにおいて調製される式１０３’の精製ＯＶＡ－トラウトコンジュゲーション体に、実施例１Ｂにおいて調製される式１０６Ａの撹拌産物を直接加えた。１時間後、反応混合物を通過させることにより、遠心性サイズ排除カラムから得られる式１ａの産物を精製した。特性評価（ＵＨＰＬＣ　ＳＥＣ、ゲル電気泳動）で産物の正体を確認した。（図５を参照されたい。）

【０２６７】

実施例１Ｄ．　式１０３’の他の化合物

【０２６８】

実施例１Ａに記載される手順に従い、かつＯＶＡを以下に置換することにより：

・　アブシキシマブ、
・　アダリムマブ、
・　アガルシダーゼアルファ、
・　アガルシダーゼベータ、
・　アルデスロイキン、
・　アルグルコシダーゼアルファ、
・　第ＶＩＩＩ因子、
・　第ＩＸ因子、
・　Ｌ－アスパラギナーゼ、
・　ラロニダーゼ、
・　オクトレオチド、
・　フェニルアラニンアンモニアリアーゼ、
・　ラスブリカーゼ、
・　インスリン（配列番号：５）、
・　ＧＡＤ－６５（配列番号：６）、
・　ＩＧＲＰ（配列番号：７）
・　ＭＢＰ（配列番号：８）、
・　ＭＯＧ（配列番号：９）、
・　ＰＬＰ（配列番号：１０）、

・ ＭＢＰ１３－３２（配列番号：１１）、
・ ＭＢＰ８３－９９（配列番号：１２）、
・ ＭＢＰ１１１－１２９（配列番号：１３）、
・ ＭＢＰ１４６－１７０（配列番号：１４）、
・ ＭＯＧ１－２０（配列番号：１５）、
・ ＭＯＧ３５－５５（配列番号：１６）、
・ ＰＬＰ１３９－１５４（配列番号：１７）、
・ ＭＡＲＴ１（配列番号：１８）、
・ チロシナーゼ（配列番号：１９）、
・ ＰＭＥＬ（配列番号：２０）、
・ アクアポリン４（配列番号：２１）、
・ Ｓ－アレスチン（配列番号：２２）、
・ ＩＲＢＰ（配列番号：２３）、
・ コンアラキン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｑ６ＰＳＵ６）、
・ 天然アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２４）、
・ 脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２５）、
・ アルファ－グリアジン（配列番号：２６）、
・ オメガ－グリアジン（配列番号：２７）、
・ Ｆｅｌ　ｄ　１Ａ（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ３０４３８）、
・ ネコアルブミン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４９０６４）、
・ Ｃａｎ　ｆ　１（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｏ１８８７３）、
・ イヌアルブミン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４９８２２）、および
・ ＲｈＣＥ　ｅｘａｍｐｌｅ（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ１８５７７）、

式１０３’の以下の対応する化合物が得られ、ここで：

・ Ｘはアブシキシマブであり、かつｍは１０である、
・ Ｘはアダリムマブであり、かつｍは１１である、
・ Ｘはアガルシダーゼアルファであり、かつｍは１４である、
・ Ｘはアガルシダーゼベータであり、かつｍは１４である、
・ Ｘはアルデスロイキンであり、かつｍは６である、
・ Ｘはアルグルコシダーゼアルファであり、かつｍは１３である、
・ Ｘは第ＶＩＩＩ因子であり、かつｍは１００である、
・ Ｘは第ＩＸ因子であり、かつｍは１８である、
・ ＸはＬ－アスパラギナーゼであり、かつｍは５である、
・ Ｘはラロニダーゼであり、かつｍは７である、
・ Ｘはオクトレオチドであり、かつｍは１である、
・ Ｘはフェニルアラニンアンモニアリアーゼであり、かつｍは１２である、
・ Ｘはラスブリカーゼであり、かつｍは１２である、
・ Ｘはインスリン（配列番号：５）であり、かつｍは２である、
・ ＸはＧＡＤ－６５（配列番号：６）であり、かつｍは８である、
・ ＸはＩＧＲＰ（配列番号：７）であり、かつｍは７である、
・ ＸはＭＢＰ（配列番号：８）であり、かつｍは６である、
・ ＸはＭＯＧ（配列番号：９）であり、かつｍは５である、
・ ＸはＰＬＰ（配列番号：１０）であり、かつｍは８である、
・ ＸはＭＢＰ１３－３２（配列番号：１１）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＢＰ８３－９９（配列番号：１２）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＢＰ１１１－１２９（配列番号：１３）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＢＰ１４６－１７０（配列番号：１４）であり、かつｍは２である、
・ ＸはＭＯＧ１－２０（配列番号：１５）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＯＧ３５－５５（配列番号：１６）であり、かつｍは２である、
・ ＸはＰＬＰ１３９－１５４（配列番号：１７）であり、かつｍは３である、

・ ＸはＭＡＲＴ１（配列番号：１８）であり、かつｍは４である、
・ ＸはチロシナーゼⅠ（配列番号：１９）であり、かつｍは８である、
・ ＸはＰＭＥＬ（配列番号：２０）であり、かつｍは５である、
・ Ｘはアクアポリン４（配列番号：２１）であり、かつｍは４である、
・ ＸはＳ－アレスチン（配列番号：２２）であり、かつｍは１２である、
・ ＸはＩＲＢＰ（配列番号：２３）であり、かつｍは２１である、
・ Ｘはコンアラキンであり、かつｍは２１である、
・ Ｘは天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２４）であり、かつｍは１である、
・ Ｘは脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２５）であり、かつｍは１である、
・ Ｘはアルファ－グリアジン（配列番号：２６）であり、かつｍは１である、
・ Ｘはオメガ－グリアジン（配列番号：２７）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＦｅｌ ｄ １であり、かつｍは４である、
・ Ｘはネコアルブミンであり、かつｍは１６である、
・ ＸはＣａｎ ｆ １であり、かつｍは６である、
・ Ｘはイヌアルブミンであり、かつｍは２３である、ならびに
・ ＸはＲｈＣＥ ｅｘａｍｐｌｅであり、かつｍは１０である。

【０２６９】

実施例１Ｅ． 式１ａＡの他の化合物

【０２７０】

実施例１Ｃに記載される手順に従い、かつ式１０３’の化合物を置換することにより、例えば実施例１Ｄにおいて得られるように、式１ａＡの以下の対応する化合物が得られる：

・ Ｆ１ａＡ－アブシキシマブ－m_{10}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－アダリムマブ－m_{11}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－アガルシダーゼアルファ－m_{14}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－アガルシダーゼベータ－m_{14}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－アルデスロイキン－m_{6}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－アルグルコシダーゼアルファ－m_{13}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－第ＶＩＩＩ因子－m_{100}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－第ＩＸ因子－m_{18}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－Ｌ－アスパラギナーゼ－m_{5}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ラロニダーゼ－m_{7}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－オクトレオチド－m_{1}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－フェニルアラニンアンモニアリアーゼ－m_{12}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ラスブリカーゼ－m_{12}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－インスリン－m_{2}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＧＡＤ－６５－m_{8}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＩＧＲＰ－m_{7}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＭＢＰ－m_{6}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＭＯＧ－m_{5}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＰＬＰ－m_{8}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＭＢＰ１３－３２－m_{1}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＭＢＰ８３－９９－m_{1}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＭＢＰ１１１－１２９－m_{1}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＭＢＰ１４６－１７０－m_{2}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＭＯＧ１－２０－m_{1}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＭＯＧ３５－５５－m_{2}－n_{80}、
・ Ｆ１ａＡ－ＰＬＰ１３９－１５４－m_{3}－n_{80}、

・ ＦｌａＡ－ＭＡＲＴ１－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－チロシナーゼ－ｍ$_{8}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－ＰＭＥＬ－ｍ$_{5}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－アクアポリン４－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－Ｓ－アレスチン－ｍ$_{12}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－ＩＲＢＰ－ｍ$_{21}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－コンアラキン－ｍ$_{21}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－ｍ$_{1}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－ｍ$_{1}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－アルファ－グリアジン－ｍ$_{1}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－オメガ－グリアジン－ｍ$_{1}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－Ｆｅｌ ｄ １－ｍ$_{4}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－ネコアルブミン－ｍ$_{16}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－Ｃａｎ ｆ １－ｍ$_{6}$－ｎ$_{80}$、
・ ＦｌａＡ－イヌアルブミン－ｍ$_{23}$－ｎ$_{80}$、および
・ ＦｌａＡ－ＲｈＣＥ－ｍ$_{10}$－ｎ$_{80}$。

【０２７１】

実施例１Ｆ． 式１０６Ａの他の化合物

【０２７２】

実施例１Ｂに記載される手順に従い、かつピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）－ＮＨＳエステル（ｎが８０である、式１０４）を以下に置換することにより：

・ ｎが１２である、式１０４、
・ ｎが３３である、式１０４、
・ ｎが４０である、式１０４、
・ ｎが４３である、式１０４、
・ ｎが５０である、式１０４、
・ ｎが６０である、式１０４、
・ ｎが７５である、式１０４、および
・ ｎが８０である、式１０４、

式１０６Ａの以下の対応する化合物が得られ、ここで：

・ ｎは１２、
・ ｎは３３、
・ ｎは４０、
・ ｎは４３、
・ ｎは５０、
・ ｎは６０、
・ ｎは７５、および
・ ｎは８４である。

【０２７３】

実施例１Ｇ． 式１ａＡの他の化合物

【０２７４】

実施例１Ｅに記載される手順に従い、かつ式１０６Ａの化合物を実施例１Ｆにおいて得られる化合物に置換することにより、式１ａＡの対応する化合物が得られる、ここで、ｎは１２、３３、４０、４３、５０、６０、７５および８４であり：

・ ＦｌａＡ－インスリン－ｍ$_{2}$－ｎ$_{12}$、
・ ＦｌａＡ－インスリン－ｍ$_{2}$－ｎ$_{33}$、
・ ＦｌａＡ－インスリン－ｍ$_{2}$－ｎ$_{40}$、
・ ＦｌａＡ－インスリン－ｍ$_{2}$－ｎ$_{43}$、
・ ＦｌａＡ－インスリン－ｍ$_{2}$－ｎ$_{50}$、

・ Ｆ１ａＡ－インスリン－m_2－n_{60}、
・ Ｆ１ａＡ－インスリン－m_2－n_{75}、および
・ Ｆ１ａＡ－インスリン－m_2－n_{84}などである。

【０２７５】

実施例２

【０２７６】

Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－m_1－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ

【０２７７】

実施例２Ａ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、かつｍが１である式１０３’

【０２７８】

エンドトキシンフリーのチューブにおいて、ＯＶＡ（６．５ｍｇ、０．０００１５５ｍｍｏｌ）を、５ｍＭ　ＥＤＴＡを含有する２００μｌのｐＨ８．０　ＰＢＳに加え、撹拌した。別々に、１ｍｇのトラウト試薬を１００μｌのｐＨ７．０　ＰＢＳに溶解し、かつ４３μｌ（０．００３１０ｍｍｏｌ）のこのようにして得られるトラウト試薬溶液を、撹拌を続けてＯＶＡの撹拌溶液に加えた。１時間後、式１０３’の産物を得るために遠心性サイズ排除カラムを使って未反応のトラウト試薬を除去した。

【０２７９】

実施例２Ｂ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、ｍが１であり、ｎが４であり、ｐが３４であり、R^9が直接結合であり、かつＺ”が２ＮＡｃＧＡＬである式１ｂ

【０２８０】

微小遠心チューブにおいて、ポリ（ガラクトサミンメタクリル酸）－（ピリジルジスルフィド）（式２０１）（２０．０ｍｇ、０．００２０ｍｍｏｌ）を５ｍＭ　ＥＤＴＡを含有する５０μｌのｐＨ８．０　ＰＢＳにおいて可溶化した。これに、実施例２Ａ由来の精製ＯＶＡ－トラウト産物を加え、それに続いて１時間撹拌した。反応混合物を通過させることにより、遠心性サイズ排除カラムから得られる式１ｂの産物を精製した。特性評価（ＵＨＰＬＣ　ＳＥＣ、ゲル電気泳動）で産物の正体を確認した。（図５を参照されたい。）

【０２８１】

実施例２Ｃ．　式１ｂの他の化合物

【０２８２】

実施例２Ｂに記載される手順に従い、かつ式１０３’の化合物を置換することにより、例えば実施例１Ｄにおいて得られるように、式１ｂの以下の対応する化合物が得られる：

・ Ｆ１ｂ－アブシキシマブ－m_{10}－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－アダリムマブ－m_{11}－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－アガルシダーゼアルファ－m_{14}－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－アガルシダーゼベータ－m_{14}－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－アルデスロイキン－m_6－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－アルグルコシダーゼアルファ－m_{13}－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－第ＶＩＩＩ因子－m_{100}－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－第ＩＸ因子－m_{18}－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－Ｌ－アスパラギナーゼ－m_5－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ラロニダーゼ－m_7－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－オクトレオチド－m_1－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－フェニルアラニンアンモニアリアーゼ－m_{12}－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ラスブリカーゼ－m_{12}－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－インスリン－m_2－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＧＡＤ－６５－m_8－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＩＧＲＰ－m_7－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、

・ Ｆ１ｂ－ＭＢＰ－ｍ$_{6}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＭＯＧ－ｍ$_{5}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＰＬＰ－ｍ$_{8}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＭＢＰ１３－３２－ｍ$_{1}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＭＢＰ８３－９９－ｍ$_{1}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＭＢＰ１１１－１２９－ｍ$_{1}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＭＢＰ１４６－１７０－ｍ$_{2}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＭＯＧ１－２０－ｍ$_{1}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＭＯＧ３５－５５－ｍ$_{2}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＰＬＰ１３９－１５４－ｍ$_{3}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＭＡＲＴ１－ｍ$_{4}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－チロシナーゼ－ｍ$_{8}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＰＭＥＬ－ｍ$_{5}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－アクアポリン４－ｍ$_{4}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－Ｓ－アレスチン－ｍ$_{12}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ＩＲＢＰ－ｍ$_{21}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－コンアラキン－ｍ$_{21}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－ｍ$_{1}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－ｍ$_{1}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－アルファ－グリアジン－ｍ$_{1}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－オメガ－グリアジン－ｍ$_{1}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－Ｆｅｌ ｄ １－ｍ$_{4}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－ネコアルブミン－ｍ$_{16}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－Ｃａｎ ｆ １－ｍ$_{6}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、
・ Ｆ１ｂ－イヌアルブミン－ｍ$_{23}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ、および
・ Ｆ１ｂ－ＲｈＣＥ－ｍ$_{10}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{34}$－２ＮＡｃＧＡＬ。

【０２８３】

実施例３

【０２８４】

Ｆ１ｆ－ＯＶＡ－ｍ$_{1}$－ｎ$_{4}$－ｐ$_{33}$－２ＮＡｃＧＡＬ

【０２８５】

実施例３Ａ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、かつｍが１であり、ｎが４であり、ｐが３３であり、Ｒ^{9}が直接結合であり、かつＺ”が２ＮＡｃＧＡＬである式１ｆ

【０２８６】

エンドトキシンフリーのチューブにおいて、ＯＶＡ（４．０ｍｇ、０．０００９５２３８１ｍｍｏｌ）を、０．１ｍｌのｐＨ７．４　ＰＢＳに加え、撹拌した。別々に、ｎが４であり、かつｐが３３である式６０１のポリ－（Ｎ－アセチルガラクトサミン）－ｐ－ニトロフェニルカーボネート（３３．０ｍｇ、０．００２３８０９５２ｍｍｏｌ）を、１００μｌのｐＨ７．５　ＰＢＳに加え、溶解されるまでボルテックスした。２つの溶液を合わせ、当該混合物を激しく１時間撹拌した。式１ｆの産物を得るために混合物をその後収集し、ｐＨ７．４　ＰＢＳで３日間透析した（３０ｋＤａ分子量カットオフ）。

【０２８７】

実施例４

【０２８８】

Ｆ１ｇ－ＰＶＡ－ｍ$_{1}$－ｐ$_{90}$－２ＮＡｃＧＡＬ

【０２８９】

実施例４Ａ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、かつｍが１であり、ｐが９０であり、Ｒ^{9}が直接結合であり、かつＺ”が２ＮＡｃＧＡＬである式１ｇ

【０２９０】
エンドトキシンフリーのチューブにおいて、ＯＶＡ（５．０ｍｇ、０．０００１１９０４８ｍｍｏｌ）を、０．２ｍｌのｐＨ７．４　ＰＢＳに加え、撹拌した。撹拌溶液に、０．４ｍｌのｐＨ７．４　ＰＢＳにおいて溶解される７５ｍｇ（０．００２９７６１９ｍｍｏｌ）のポリ（ガラクトサミンメタクリル酸）－ＮＨＳ（式７０１）を加えた。混合物を２時間撹拌した。式１ｇの産物を得るために混合物をその後収集し、ｐＨ７．４　ＰＢＳで３日間透析した（３０ｋＤａ分子量カットオフ）。
【０２９１】
実施例５
【０２９２】
Ｆ１ｈ－ＯＶＡ－m_{2}－n_{45}－p_{55}－q_{4}－２ＮＡｃＧＡＬ
【０２９３】
実施例５Ａ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、ｍが２であり、かつｎが４５である式８０２’
【０２９４】
エンドトキシンフリーのチューブにおいて、ＯＶＡ（３．０ｍｇ、０．０００７１４２８６ｍｍｏｌ）を、１５ｍＭ　ＥＤＴＡを含有する５０μｌのｐＨ８．０　ＰＢＳに加え、撹拌した。ＤＭＦにおいて溶解されるジベンゾシクロオクチン－ＰＥＧ－（ｐ－ニトロフェニルカーボネート）（式８０１）（５．２６５ｍｇ、０．００２１４２８５７ｍｍｏｌ）を、ＯＶＡ溶液に加え、１時間撹拌した。式８０２’の産物を得るために遠心性サイズ排除カラムを使って過剰ジベンゾシクロオクチン－ＰＥＧ－（ｐ－ニトロフェニルカーボネート）を除去した。
【０２９５】
実施例５Ｂ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、ｍが２であり、ｎが４５であり、ｐが５５であり、ｑが４であり、R^{8}が、CH_{2}であり、R^{9}が直接結合であり、かつＺ”が２ＮＡｃＧＡＬである式１ｈ
【０２９６】
ポリ（ガラクトサミンメタクリル酸）－Ｎ３（ｐが５５であり、ｑが４であり、かつＺ”がＮ－アセチルガラクトサミンである式８０３）（３３ｍｇ、０．００２１４２８５７ｍｍｏｌ）を１００μｌのｐＨ７．４　ＰＢＳに溶解し、撹拌しながら実施例５Ａの産物を加えた。１時間後、遠心性サイズ排除クロマトグラフィーにより得られる式１ｈの産物を精製した。
【０２９７】
実施例６
【０２９８】
Ｆ１ｊ－ＯＶＡ－m_{10}－n_{45}－p_{55}－q_{4}－２ＮＡｃＧＡＬ
【０２９９】
実施例６Ａ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、かつｍが１０である式１０３’
【０３００】
エンドトキシンフリーのチューブにおいて、ＯＶＡ（５．０ｍｇ、０．０００１９ｍｍｏｌ）を、１５ｍＭ　ＥＤＴＡを含有する５０μｌのｐＨ８．０　ＰＢＳに加え、撹拌した。別々に、１ｍｇのタウト試薬を１００μｌのｐＨ７．０　ＰＢＳに溶解し、かつ１６μｌ（０．００１９ｍｍｏｌ）のこのようにして得られるトラウト試薬溶液を、撹拌を続けてＯＶＡの撹拌溶液に加えた。１時間後、式１０３’の産物を得るために遠心性サイズ排除カラムを使って未反応のトラウト試薬を除去した。
【０３０１】
実施例６Ｂ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、ｍが１０であり、かつｎが４５である式９０２”
【０３０２】
ジベンゾシクロオクチン－ＰＥＧ－（ピリジルジスルフィド）（ｎが４５である、式９

０１）（６．０ｍｇ、０．００２３８ｍｍｏｌ）をＤＭＦに溶解し、得られる溶液を、実施例６Ａにおいて得られるＯＶＡ溶液に加え、１時間撹拌した。式９０２”の産物を得るために遠心性サイズ排除クロマトグラフィーを使って過剰ジベンゾシクロオクチン－ＰＥＧ－（ピリジルジスルフィド）を除去した。

【０３０３】

実施例６Ｃ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、ｍが１０であり、ｎが４５であり、ｐが５５であり、ｑが４であり、$Ｒ^{8}$が、$ＣＨ_{2}$であり、$Ｒ^{9}$が直接結合であり、かつＺ”が２ＮＡｃＧＡＬである式１ｊ

【０３０４】

ポリ（ガラクトサミンメタクリル酸）－Ｎ３（ｐが５５であり、ｑが４であり、かつＺ”がＮ－アセチルガラクトサミンである式８０３）（３６ｍｇ、０．００２３８ｍｍｏｌ）を１５０μｌのｐＨ７．４　ＰＢＳに溶解し、撹拌しながら実施例６Ｂの産物を加えた。１時間後、得られる式１ｊの産物を遠心性サイズ排除クロマトグラフィーにより精製した（過剰ｐ（ＧＭＡ）－Ｎ３が除去される）。特性評価（ＵＨＰＬＣ　ＳＥＣ、ゲル電気泳動）で産物の正体を確認した。

【０３０５】

実施例７

【０３０６】

Ｆ１Ｌ－ＯＶＡ－$ｍ_{2}$－$ｎ_{80}$－$ｐ_{55}$－$ｑ_{4}$－２ＮＡｃＧＡＬ

【０３０７】

実施例７Ａ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、ｍが２であり、かつｎが８０である式１００２

【０３０８】

ジベンゾシクロオクチン－ＰＥＧ－（ピリジルジスルフィド）（ｎが８０である、式１００１）（９．０ｍｇ、０．００２３８ｍｍｏｌ）をＤＭＦにおいて溶解し、得られる溶液を、式１０３’（ここで、Ｘ’はオボアルブミンであり、かつｍは２）の精製ＯＶＡ溶液に加え、例えば実施例６Ａに記載されるように調製され、１時間撹拌した。式１００２の産物を得るために遠心性サイズ排除クロマトグラフィーを使って過剰ジベンゾシクロオクチン－ＰＥＧ－（ピリジルジスルフィド）を除去した。

【０３０９】

実施例７Ｂ．　Ｘ’がオボアルブミンであり、ｍが２であり、ｎが８０であり、ｐが５５であり、ｑが４であり、$Ｒ^{8}$が、$ＣＨ_{2}$であり、$Ｒ^{9}$が直接結合であり、かつＺ”が２ＮＡｃＧＡＬである式１Ｌ

【０３１０】

ポリ（ガラクトサミンメタクリル酸）－Ｎ３（ｐが５５であり、ｑが４であり、かつＺ”がＮ－アセチルガラクトサミンである式８０３）（３６ｍｇ、０．００２３８ｍｍｏｌ）を１５０μｌのｐＨ７．４　ＰＢＳにおいて溶解し、撹拌しながら実施例７Ａの産物を加えた。１時間後、得られる式１Ｌの産物を遠心性サイズ排除クロマトグラフィーにより精製した（過剰ポリ（ガラクトサミンメタクリル酸）－Ｎ３が除去される）。特性評価（ＵＨＰＬＣ　ＳＥＣ、ゲル電気泳動）で産物の正体を確認した。

【０３１１】

実施例８

【０３１２】

ポリ（ガラクトサミンメタクリル酸）ポリマーの調製

【０３１３】

実施例８Ａ．　ガラクトサミンメタクリル酸

【０３１４】

撹拌されたガラクトサミン塩酸塩（２．１５ｇ、１０．０ｍｍｏｌ）に、０．５Ｍ　ナトリウムメトキシド（２２ｍｌ、１１．０ｍｍｏｌ）を加えた。３０分後、メタクリル酸無水物（１４．６９４ｇ、１１．０ｍｍｏｌ）を加え、連続して４時間撹拌した。得られ

るガラクトサミンメタクリル酸を、ロータリーエバポレーターを介してシリカゲルに装填し、ＤＣＭ：ＭｅＯＨ（８５：１５）を使うカラムクロマトグラフィーを介して精製した。

【０３１５】

実施例８Ｂ．　ｎが４であり、かつｐが３０である式２０１

【０３１６】

ガラクトースメタクリル酸（６００ｍｇ、２．４３ｍｍｏｌ）、２－（２－（２－（２－（ピリジン－２－イルジスルファニル）エトキシ）エトキシ）エトキシ）エチル２－（（フェニルカルボノチオイル）チオ）酢酸（４４．８ｍｇ、０．０８１ｍｍｏｌ）およびＡＩＢＮ（３．１７４０８９０６９ｍｇ、０．０１６ｍｍｏｌ）を、シュレンクフラスコにおいて１．５ｍｌのＤＭＦに加えた。反応混合物を４凍結融解サイクルに供し、その後７０℃で６時間撹拌した。式２０１の望ましいポリマー産物を１２ｍｌのメタノール下で沈殿させ、過剰溶媒を減圧下で除去した。

【０３１７】

実施例９

【０３１８】

Ｆ１ａＡ－ＰＥ－ｍ$_{3}$－ｎ$_{８０}$の調製

【０３１９】

実施例９Ａ．　Ｘ’がフィコエリトリンである式１０３’

【０３２０】

エンドトキシンフリーのチューブにおいて、フィコエリトリン（“ＰＥ”）（ピアスから購入される）（２００μｌ、０．０００００４ｍｍｏｌ）を、５ｍＭ　ＥＤＴＡを含有する５０μｌのｐＨ８．０　ＰＢＳに加え、撹拌した。別々に、１ｍｇのタウト試薬を１００μｌのｐＨ７．０　ＰＢＳに溶解し、かつ２μｌ（０．０００１３ｍｍｏｌ）のこのようにして得られるトラウト試薬溶液を、撹拌を続けてＰＥの撹拌溶液に加えた。１時間後、式１０３’の産物を得るために遠心性サイズ排除カラムを使って過剰トラウト試薬を除去した。

【０３２１】

実施例９Ｂ．　ｎが８０である式１０６Ａ

【０３２２】

エンドトキシンフリーのチューブにおいて、ガラクトサミン（７．０ｍｇ、０．０３２４６ｍｍｏｌ）を５ｍＭ　ＥＤＴＡを含有する１００μｌのｐＨ８．０　ＰＢＳにおいて撹拌しながら溶解した。５０μｌのｐＨ７．０　ＰＢＳにおいて溶解されるピリジルジチオール－ポリ（エチレングリコール）－ＮＨＳエステル（ｎが８０である、式１０４）（１６．２３ｍｇ、０．００４６４ｍｍｏｌ）を、ガラクトサミンの撹拌溶液に加えた。１時間後、得られる式１０６Ａの産物をさらに精製せずに使用するよう準備した。

【０３２３】

実施例９Ｃ．　Ｘ’がフィコエリトリンであり、ｍが３であり、ｎが８０であり、かつＺ’がガラクトサミンである式１ａ

【０３２４】

実施例９Ａにおいて調製される精製ＰＥ－トラウトコンジュゲーション体に、実施例９Ｂにおいて調製される式１０６Ａの撹拌産物を直接加えた。１時間後、反応混合物を通過させることにより、遠心性サイズ排除カラムから得られる式１ａの産物を精製した。特性評価（ＵＨＰＬＣ　ＳＥＣ、ゲル電気泳動）で産物の正体を確認した。

【０３２５】

実施例１０

【０３２６】

ＯＶＡ－ＤＯＭ

【０３２７】

１０Ａ．　発現ベクターの調製

【０３２８】
哺乳類の細胞発現ベクターｐＳｅｃＴａｇ Ａをライフ・テクノロジーズから購入した。抗ＡＳＧＰＲドメイン抗体、本明細書で“ＤＯＭ”と称されるＤｏｍ２６ｈ－１９６－６１をコードする遺伝子を、ヒト細胞におけるタンパク質発現のためのコドン最適化配列としてプロバイダージェンスクリプトから購入した。ＱｕｉｋＣｈａｎｇｅプロトコール（Ｇｅｉｓｅｒ，ｅｔ ａｌ）のバリエーション後の部位特異的突然変異誘発法により哺乳類の発現ベクターｐＳｅｃＴａｇ Ａ、Ｃ末端にＩｇ κ鎖分泌リーダー配列ＯＶＡ、ＤＯＭ、可動性のリンカー$Ｇｌｙ_{3}Ｓｅｒ$、および６ｘＨｉｓタグをコードする配列をクローニングした。

【０３２９】
１０Ｂ． ｍ’が１であり、ｍ”が０であり、Ｘがオボアルブミンであり、Ｙが$Ｇｌｙ_{3}Ｓｅｒ$であり、Ｚが抗ＡＳＧＰＲ Ｄｏｍ２６ｈ－１９６－６１である式２の発現および精製

【０３３０】
ＨＥＫ２９３細胞を、例えば実施例１０Ａに記載されるように調製される改変ｐＳｅｃＴａｇ Ａ ベクターでポリエチレンイミンを使って一過的に遺伝子導入した。遺伝子導入された細胞をバルプロ酸が補充されたＦｒｅｅＳｔｙｌｅ ２９３培地（ライフ・テクノロジーズ）で７日間培養し、その後遠心分離により細胞を除去し、培養上清を収集し、濾過により無菌化した。ＨｉｓＴｒａｐ $Ｎｉ^{2+}$セファロースカラム（ＧＥヘルスケア）を使って、固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィーにより培養上清から式２のＯＶＡ／ＤＯＭ融合タンパク質を精製し、それに続いて Ｓｕｐｅｒｄｅｘ７５カラム（ＧＥヘルスケア）を使ってサイズ排除クロマトグラフィーをし、それは以下の一般化された構造を有し：
Ｎ－ＯＶＡ－$Ｇｌｙ_{3}Ｓｅｒ$－ＤＯＭ－$Ｇｌｙ_{3}Ｓｅｒ$－６ｘＨｉｓ－Ｃ
かつ以下のアミノ酸配列を有する：
ＧＳＩＧＡＡＳＭＥＦＣＦＤＶＦＫＥＬＫＶＨＨＡＮＥＮＩＦＹＣＰＩＡＩＭＳＡＬＡＭＶＹＬＧＡＫＤＳＴＲＴＱＩＮＫＶＶＲＦＤＫＬＰＧＦＧＤＳＩＥＡＱＣＧＴＳＶＮＶＨＳＳＬＲＤＩＬＮＱＩＴＫＰＮＤＶＹＳＦＳＬＡＳＲＬＹＡＥＥＲＹＰＩＬＰＥＹＬＱＣＶＫＥＬＹＲＧＧＬＥＰＩＮＦＱＴＡＡＤＱＡＲＥＬＩＮＳＷＶＥＳＱＴＮＧＩＩＲＮＶＬＱＰＳＳＶＤＳＱＴＡＭＶＬＶＮＡＩＶＦＫＧＬＷＥＫＡＦＫＤＥＤＴＱＡＭＰＦＲＶＴＥＱＥＳＫＰＶＱＭＭＹＱＩＧＬＦＲＶＡＳＭＡＳＥＫＭＫＩＬＥＬＰＦＡＳＧＴＭＳＭＬＶＬＬＰＤＥＶＳＧＬＥＱＬＥＳＩＩＮＦＥＫＬＴＥＷＴＳＳＮＶＭＥＥＲＫＩＫＶＹＬＰＲＭＫＭＥＥＫＹＮＬＴＳＶＬＭＡＭＧＩＴＤＶＦＳＳＳＡＮＬＳＧＩＳＳＡＥＳＬＫＩＳＱＡＶＨＡＡＨＡＥＩＮＥＡＧＲＥＶＶＧＳＡＥＡＧＶＤＡＡＳＶＳＥＥＦＲＡＤＨＰＦＬＦＣＩＫＨＩＡＴＮＡＶＬＦＦＧＲＣＶＳＰＧＧＧＳＥＶＱＬＬＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＥＫＹＡＭＡＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＲＩＳＡＲＧＶＴＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＳＨＫＲＨＥＨＴＲＦＤＳＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＧＧＧＧＳＨＨＨＨＨＨ（配列番号：２８）。

【０３３１】
ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルのクマシーブリリアントブルー染色および抗６ｘＨｉｓタグウェスタンブロッティングにより、タンパク質純度を検証した。ランベルト・ベールの法則を使ってタンパク質濃度を決定し、そのためにＮａｎｏＤｒｏｐ ２０００（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使って２８０ｎｍでの吸光度を測定し、分子量（５７．３ｋＤａ）および吸光係数（５７、０９０$Ｍ^{-1}ｃｍ^{-1}$）をＥｘＰＡＳｙ ＰｒｏｔＰａｒａｍツールを使ってタンパク質のアミノ酸配列から推定した。製造業者の指示書に従って、ＨＥＫ－ＢＬＵＥ ＴＬＲレポーター細胞系統（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）を使ってエンドトキシンレベルを測定した。

【０３３２】
１０Ｃ． 式２の他の組成物

【０３３３】
実施例１０Ａおよび１０Ｂに記載される手順に従い、かつｐＳｅｃＴａｇ　Ａベクターを置換することにより、それに応じて、以下の式２の融合タンパク質が得られた：
Ｎ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ
以下のアミノ酸配列を有し：
ＥＶＱＬＬＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＥＫＹＡＭＡＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＲＩＳＡＲＧＶＴＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＳＨＫＲＨＥＨＴＲＦＤＳＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＧＧＧＳＧＳＩＧＡＡＳＭＥＦＣＦＤＶＦＫＥＬＫＶＨＨＡＮＥＮＩＦＹＣＰＩＡＩＭＳ
ＡＬＡＭＶＹＬＧＡＫＤＳＴＲＴＱＩＮＫＶＶＲＦＤＫＬＰＧＦＧＤＳＩＥＡＱＣＧＴＳ
ＶＮＶＨＳＳＬＲＤＩＬＮＱＩＴＫＰＮＤＶＹＳＦＳＬＡＳＲＬＹＡＥＥＲＹＰＩＬＰＥ
ＹＬＱＣＶＫＥＬＹＲＧＧＬＥＰＩＮＦＱＴＡＡＤＱＡＲＥＬＩＮＳＷＶＥＳＱＴＮＧＩ
ＩＲＮＶＬＱＰＳＳＶＤＳＱＴＡＭＶＬＶＮＡＩＶＦＫＧＬＷＥＫＡＦＫＤＥＤＴＱＡＭ
ＰＦＲＶＴＥＱＥＳＫＰＶＱＭＭＹＱＩＧＬＦＲＶＡＳＭＡＳＥＫＭＫＩＬＥＬＰＦＡＳ
ＧＴＭＳＭＬＶＬＬＰＤＥＶＳＧＬＥＱＬＥＳＩＩＮＦＥＫＬＴＥＷＴＳＳＮＶＭＥＥＲ
ＫＩＫＶＹＬＰＲＭＫＭＥＥＫＹＮＬＴＳＶＬＭＡＭＧＩＴＤＶＦＳＳＳＡＮＬＳＧＩＳ
ＳＡＥＳＬＫＩＳＱＡＶＨＡＡＨＡＥＩＮＥＡＧＲＥＶＶＧＳＡＥＡＧＶＤＡＡＳＶＳＥ
ＥＦＲＡＤＨＰＦＬＦＣＩＫＨＩＡＴＮＡＶＬＦＦＧＲＣＶＳＰＧＧＧＳＨＨＨＨＨＨ（
配列番号：２９）；および
Ｎ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘ
Ｈｉｓ－Ｃ
そして以下のアミノ酸配列を有する：
ＧＳＩＧＡＡＳＭＥＦＣＦＤＶＦＫＥＬＫＶＨＨＡＮＥＮＩＦＹＣＰＩＡＩＭＳＡＬＡＭ
ＶＹＬＧＡＫＤＳＴＲＴＱＩＮＫＶＶＲＦＤＫＬＰＧＦＧＤＳＩＥＡＱＣＧＴＳＶＮＶＨ
ＳＳＬＲＤＩＬＮＱＩＴＫＰＮＤＶＹＳＦＳＬＡＳＲＬＹＡＥＥＲＹＰＩＬＰＥＹＬＱＣ
ＶＫＥＬＹＲＧＧＬＥＰＩＮＦＱＴＡＡＤＱＡＲＥＬＩＮＳＷＶＥＳＱＴＮＧＩＩＲＮＶ
ＬＱＰＳＳＶＤＳＱＴＡＭＶＬＶＮＡＩＶＦＫＧＬＷＥＫＡＦＫＤＥＤＴＱＡＭＰＦＲＶ
ＴＥＱＥＳＫＰＶＱＭＭＹＱＩＧＬＦＲＶＡＳＭＡＳＥＫＭＫＩＬＥＬＰＦＡＳＧＴＭＳ
ＭＬＶＬＬＰＤＥＶＳＧＬＥＱＬＥＳＩＩＮＦＥＫＬＴＥＷＴＳＳＮＶＭＥＥＲＫＩＫＶ
ＹＬＰＲＭＫＭＥＥＫＹＮＬＴＳＶＬＭＡＭＧＩＴＤＶＦＳＳＳＡＮＬＳＧＩＳＳＡＥＳ
ＬＫＩＳＱＡＶＨＡＡＨＡＥＩＮＥＡＧＲＥＶＶＧＳＡＥＡＧＶＤＡＡＳＶＳＥＥＦＲＡ
ＤＨＰＦＬＦＣＩＫＨＩＡＴＮＡＶＬＦＦＧＲＣＶＳＰＧＧＧＳＥＶＱＬＬＥＳＧＧＧＬ
ＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＥＫＹＡＭＡＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＲＩ
ＳＡＲＧＶＴＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴ
ＡＶＹＹＣＡＳＨＫＲＨＥＨＴＲＦＤＳＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＧＧＧＳＧＳＩＧＡＡＳ
ＭＥＦＣＦＤＶＦＫＥＬＫＶＨＨＡＮＥＮＩＦＹＣＰＩＡＩＭＳＡＬＡＭＶＹＬＧＡＫＤ
ＳＴＲＴＱＩＮＫＶＶＲＦＤＫＬＰＧＦＧＤＳＩＥＡＱＣＧＴＳＶＮＶＨＳＳＬＲＤＩＬ
ＮＱＩＴＫＰＮＤＶＹＳＦＳＬＡＳＲＬＹＡＥＥＲＹＰＩＬＰＥＹＬＱＣＶＫＥＬＹＲＧ
ＧＬＥＰＩＮＦＱＴＡＡＤＱＡＲＥＬＩＮＳＷＶＥＳＱＴＮＧＩＩＲＮＶＬＱＰＳＳＶＤ
ＳＱＴＡＭＶＬＶＮＡＩＶＦＫＧＬＷＥＫＡＦＫＤＥＤＴＱＡＭＰＦＲＶＴＥＱＥＳＫＰ
ＶＱＭＭＹＱＩＧＬＦＲＶＡＳＭＡＳＥＫＭＫＩＬＥＬＰＦＡＳＧＴＭＳＭＬＶＬＬＰＤ
ＥＶＳＧＬＥＱＬＥＳＩＩＮＦＥＫＬＴＥＷＴＳＳＮＶＭＥＥＲＫＩＫＶＹＬＰＲＭＫＭ
ＥＥＫＹＮＬＴＳＶＬＭＡＭＧＩＴＤＶＦＳＳＳＡＮＬＳＧＩＳＳＡＥＳＬＫＩＳＱＡＶ
ＨＡＡＨＡＥＩＮＥＡＧＲＥＶＶＧＳＡＥＡＧＶＤＡＡＳＶＳＥＥＦＲＡＤＨＰＦＬＦＣ
ＩＫＨＩＡＴＮＡＶＬＦＦＧＲＣＶＳＰＧＧＧＳＨＨＨＨＨＨ（配列番号：３０）。
【０３３４】
１０Ｄ．　式２の他の組成物
【０３３５】
実施例１０Ａおよび１０Ｂに記載される手順に従い、かつ免疫プロテアソーム切断部位（“ＩＰＣ”）を有するリンカーのためのＧｌｙ$_3$Ｓｅｒベクター、および以下のための

ＯＶＡベクターに置換することにより：
ＭＢＰ１３－３２（配列番号：１１）、
ＭＢＰ８３－９９（配列番号：１２）、
ＭＢＰ１１１－１２９（配列番号：１３）、
ＭＢＰ１４６－１７０（配列番号：１４）、
ＭＯＧ１－２０（配列番号：１５）、
ＭＯＧ３５－５５（配列番号：１６）、および
ＰＬＰ１３９－１５４（配列番号：１７）、
または以下のためのベクター：
脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２５）
アルファ－グリアジン（配列番号：２６）、および
オメガ－グリアジン（配列番号：２７）、
以下の式２の融合タンパク質が得られる：
・　　ＭＢＰ１３－３２－ＩＰＣ－ＭＢＰ８３－９９－ＩＰＣ－ＭＢＰ１１１－１２９－ＩＰＣ－ＭＢＰ１４６－１７０－ＩＰＣ－ＭＯＧ１－２０－ＩＰＣ－ＭＯＧ３５－５５－ＩＰＣ－ＰＬＰ１３９－１５４－ＩＰＣ－ＤＯＭ、および
・　　脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－ＩＰＣ－アルファ－グリアジン－ＩＰＣ－オメガ－グリアジン－ＩＰＣ－ＤＯＭ。

【０３３６】

実施例１１

【０３３７】

脱シアル化ＯＶＡ

【０３３８】

１１Ａ．　発現ベクターの調製

【０３３９】

哺乳類の細胞発現ベクターｐＳｅｃＴａｇ　Ａをライフ・テクノロジーズから購入した。ＱｕｉｋＣｈａｎｇｅプロトコール（Ｇｅｉｓｅｒ，ｅｔ　ａｌ）のバリエーション後の部位特異的突然変異誘発法によりｐＳｅｃＴａｇ　Ａ、Ｃ末端にＩｇ　κ鎖分泌リーダー配列に、ＯＶＡ、可動性のリンカーGly_3Ser、および６ｘＨｉｓタグをコードする配列をクローニングした。

【０３４０】

１１Ｂ．　ＯＶＡの発現および精製

【０３４１】

ＨＥＫ２９３細胞を、例えば実施例１０Ａに記載されるように調製される改変ｐＳｅｃＴａｇ　Ａ　ベクターでポリエチレンイミンを使って一過的に遺伝子導入した。遺伝子導入された細胞をバルプロ酸が補充されたＦｒｅｅＳｔｙｌｅ　２９３培地（ライフ・テクノロジーズ）で７日間培養し、その後遠心分離により細胞を除去し、培養上清を収集し、濾過により無菌化した。ＨｉｓＴｒａｐ　Ni^{2+}セファロースカラム（ＧＥヘルスケア）を使って、固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィーにより培養上清からＯＶＡタンパク質を精製し、それに続いてＳｕｐｅｒｄｅｘ７５カラム（ＧＥヘルスケア）を使ってサイズ排除クロマトグラフィーをし、それは以下の構造を有し：
Ｎ’－ＯＶＡ　Gly_3Ser－６ｘＨｉｓ－Ｃ’
かつ以下のアミノ酸配列を有する：
ＧＳＩＧＡＡＳＭＥＦＣＦＤＶＦＫＥＬＫＶＨＨＡＮＥＮＩＦＹＣＰＩＡＩＭＳＡＬＡＭ
ＶＹＬＧＡＫＤＳＴＲＴＱＩＮＫＶＶＲＦＤＫＬＰＧＦＧＤＳＩＥＡＱＣＧＴＳＶＮＶＨ
ＳＳＬＲＤＩＬＮＱＩＴＫＰＮＤＶＹＳＦＳＬＡＳＲＬＹＡＥＥＲＹＰＩＬＰＥＹＬＱＣ
ＶＫＥＬＹＲＧＧＬＥＰＩＮＦＱＴＡＡＤＱＡＲＥＬＩＮＳＷＶＥＳＱＴＮＧＩＩＲＮＶ
ＬＱＰＳＳＶＤＳＱＴＡＭＶＬＶＮＡＩＶＦＫＧＬＷＥＫＡＦＫＤＥＤＴＱＡＭＰＦＲＶ
ＴＥＱＥＳＫＰＶＱＭＭＹＱＩＧＬＦＲＶＡＳＭＡＳＥＫＭＫＩＬＥＬＰＦＡＳＧＴＭＳ
ＭＬＶＬＬＰＤＥＶＳＧＬＥＱＬＥＳＩＩＮＦＥＫＬＴＥＷＴＳＳＮＶＭＥＥＲＫＩＫＶ

ＹＬＰＲＭＫＭＥＥＫＹＮＬＴＳＶＬＭＡＭＧＩＴＤＶＦＳＳＳＡＮＬＳＧＩＳＳＡＥＳＬＫＩＳＱＡＶＨＡＡＨＡＥＩＮＥＡＧＲＥＶＶＧＳＡＥＡＧＶＤＡＡＳＶＳＥＥＦＲＡＤＨＰＦＬＦＣＩＫＨＩＡＴＮＡＶＬＦＦＧＲＣＶＳＰＧＧＧＳＨＨＨＨＨＨ（配列番号：３１）

【０３４２】

ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルのクマシーブリリアントブルー染色および抗６ｘＨｉｓタグウェスタンブロッティングにより、タンパク質純度を検証した。ランベルト・ベールの法則を使ってタンパク質濃度を決定し、そのためにＮａｎｏＤｒｏｐ　２０００（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使って２８０ｎｍでの吸光度を測定し、分子量（４３．８ｋＤａ）および吸光係数（３１、５２５$M^{-1}cm^{-1}$）をＥｘＰＡＳｙ　ＰｒｏｔＰａｒａｍツールを使ってタンパク質のアミノ酸配列から推定した。

【０３４３】

１１Ｃ．　脱シアル化

【０３４４】

ＯＶＡを３７℃で１時間ノイラミニダーゼ（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ）とのインキュベーションにより脱シアル化した。固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィー（例えば、ＨｉｓＴｒａｐ　Ni^{2+}　セファロースカラム、ＧＥヘルスケアを使って）により反応混合物から、脱シアル化ＯＶＡを精製し、それに続いてサイズ排除クロマトグラフィーした（例えば、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ７５カラム、ＧＥヘルスケアを使って）。

【０３４５】

ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルのクマシーブリリアントブルー染色および抗６ｘＨｉｓタグウェスタンブロッティングにより、タンパク質純度を検証した。ウェスタンブロットにおいてタンパク質シアル酸含量のセイヨウニワトコレクチンに基づく検出により（ベクター　Ｂｉｏｌａｂｓ）およびシアル酸媒介蛍光アッセイ（プロザイム）により、脱シアル化を検証した。脱シアル化前のタンパク質について上記に記載されるように、脱シアル化タンパク質濃度を、ランベルト・ベールの法則を使って決定した。製造業者の指示書に従って、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＴＬＲ４レポーター細胞系統（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）を使ってエンドトキシンレベルを測定する。

【０３４６】

実施例１２

【０３４７】

肝臓の分布

【０３４８】

１２Ａ．　例えば、実施例９に記載されるように、Ｆ１ａＡ－ＰＥ－m_3－n_{80}を調製した。無菌の生理食塩水において、３０μｇ／１００μｌ溶液を注射のために調製した。

【０３４９】

Ｃ５７　ｂｌａｃｋ　６マウスの３つの群うちの１つ（群当たり３）に尾静脈注射を介して、Ｆ１ａＡ－ＰＥ－m_3－n_{80}溶液（３０μｇ）を投与した。２つのマウスの他の群は、１００μｌの生理食塩水または生理食塩水媒体において等量のフィコエリトリンを受けた。投与後３時間、これらの動物の肝臓および脾臓を収集し、これらの臓器における細胞蛍光のレベルを、細胞ＰＥ含量の指標として、フローサイトメトリーにより決定した。

【０３５０】

図１に示されるように、Ｆ１ａＡ－ＰＥ－m_3－n_{80}で治療されたマウスの肝臓由来の類洞内皮細胞（ＬＳＥＣ）、肝細胞、クッパー細胞（ＫＣ）、および他の抗原提示細胞（ＡＰＣ）は、ＰＥ溶液を受けた動物と比較して、蛍光において少なくとも３倍の増加を示した。３群から収集された脾臓細胞における蛍光において、検出可能な差異は確認されなかった。これらの結果は、Ｆ１ａＡ－ＰＥ－m_3－n_{80}は、肝臓における抗原提示細

胞に結合する十分な特異性を有することを確認する。

【０３５１】

１２Ｂ．　実施例１２Ａに記載される手順に従い、かつＦ１ａＡ－ＰＥ－m_3－n_{80}を、例えば、実施例９に関して記載されるように、実施例２Ｂ、３、４、５Ｂ、６Ｂ、７Ｂ、１９Ｇ、１９Ｌ、２０Ｂおよび２０ＦにおけるＸの置換により、調製される化合物Ｆ１ｂ－ＰＥ－m_3－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１ｆ－ＰＥ－m_3－n_4－p_{33}－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１ｇ－ＰＥ－m_3－p_{90}－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１ｈ－ＰＥ－m_3－n_{45}－p_{55}－q_4－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１ｊ－ＰＥ－m_3－n_{45}－p_{55}－q_4－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１Ｌ－ＰＥ－m_3－n_{80}－p_{55}－q_4－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１ｍ－ＰＥ－m_3－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、Ｆ１ｍ－ＰＥ－m_3－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、Ｆ１ｎ－ＰＥ－m_3－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃおよびＦ１ｎ－ＰＥ－m_3－n_{33}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨに置換することにより、それぞれ、化合物Ｆ１ａＡ－ＰＥ－m_3－n_{80}と化合物Ｆ１ｂ－ＰＥ－m_3－n_4－p_{34}－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１ｆ－ＰＥ－m_3－n_4－p_{33}－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１ｇ－ＰＥ－m_3－p_{90}－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１ｈ－ＰＥ－m_3－n_{45}－p_{55}－q_4－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１ｊ－ＰＥ－m_3－n_{45}－p_{55}－q_4－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１Ｌ－ＰＥ－m_3－n_{80}－p_{55}－q_4－２ＮＡｃＧＡＬ、Ｆ１ｍ－ＰＥ－m_3－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、Ｆ１ｍ－ＰＥ－m_3－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、Ｆ１ｎ－ＰＥ－m_3－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃおよびＦ１ｎ－ＰＥ－m_3－n_{33}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨが、肝臓における抗原提示細胞に結合する十分な特異性を有すると確認される。

【０３５２】

実施例１３

【０３５３】

抗原特異的なＯＴ１　ＣＤ８$^+$Ｔ細胞の増殖

【０３５４】

１３Ａ．　例えば、実施例１に記載されるような、合成Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_{80}を、注射のための１０μｇ／１００μｌ生理食塩水溶液として調製した。０日目、10^6ＯＴ－１　Ｔ細胞を蛍光標識し、かつＣＤ４５．２マウスの３群に尾静脈注射を介して養子性に移行させた（群あたり５）。翌日（すなわち１日）、それぞれ３群のマウスにそれぞれ、１０μｇのＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_{80}、ＯＶＡまたは生理食塩水を、尾静脈注射を介して投与した。６日目に、当該動物を屠殺し、かつ脾臓増殖性ＯＴ－１細胞の割合を、蛍光活性化細胞選別を介して決定した。

【０３５５】

当該研究の結果（図２を参照されたい）は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_{80}（図２における“Ｇａｌ－ＯＶＡ”）で治療されたマウスにおける増殖性ＯＴＩ　Ｔ細胞の割合は、ＯＶＡまたは生理食塩水（図２における“ナイーブ”）で治療されたマウスの脾臓における増殖性ＯＴＩ細胞の割合より有意に大きいことを示す。ＯＴＩ細胞増殖における増加は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_{80}対、他の治療法で治療される動物における増加したＣＤ８$^+$Ｔ細胞クロスプライミングを実証する。実施例１２の結果に応じて、これらの結果は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_{80}の抗原を肝臓へ標的とする能力が、ＯＶＡ－特異的なＯＴＩ　Ｔ細胞への肝臓における抗原提示細胞による、ＯＶＡ提示を増加させることを示す。

【０３５６】

１３Ｂ．　機能的なエフェクター表現型へと増殖されているＴ細胞を、増殖かつ除去されているものから区別するために、増殖性ＯＴＩ　ＣＤ８$^+$Ｔ細胞を、アポトーシス、ひいては除去の特徴としてアネキシンＶ、並びに消耗マーカーｐｒｏｇｒａｍｍｅｄ　ｄｅａｔｈ－１（ＰＤ－１）について分析した。図３に示されるように、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_{80}（図３における“Ｇａｌ－ＯＶＡ”）は、可溶性のＯＶＡよりずっと多い数のアネキシンＶ$^+$およびＰＤ－１$^+$増殖性ＯＴＩ　ＣＤ８$^+$Ｔ細胞を誘導した。

【０３５７】
１３Ｃ．　実施例１３Ａおよび１３Ｂに記載される手順に従い、かつＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8を例えば、実施例３Ａ、４Ａ、５Ｂ、６Ｃ、７Ｂおよび１９Ｇに記載される、得られる式１の化合物に置換することにより、実施例３Ａ、４Ａ、５Ｂ、６Ｃ、７Ｂおよび１９Ｇ由来の化合物は、可溶性のＯＶＡよりずっと多い数のアネキシンＶ$^+$およびＰＤ－１$^+$増殖性ＯＴＩ　ＣＤ８$^+$Ｔ細胞を誘導することが示される。
【０３５８】
１３Ｄ．　実施例１３Ａおよび１３Ｂに記載される手順に従い、かつＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8を例えば、実施例１Ｅ、１Ｇ、２Ｃ、１０Ｄ、１９Ｉ、１９Ｌ、２０Ｂ、２０Ｄおよび２０Ｆに記載される、得られる式１および２の化合物に置換すること、ならびにＯＶＡをＸ（またはＸ’もしくはＸ”）に対応する抗原に置換することにより、それぞれに、実施例１Ｅ、１Ｇ、２Ｃ、１０Ｄ、１９Ｉ、１９Ｌ、２０Ｂ、２０Ｄおよび２０Ｆ由来の化合物は、可溶性抗原Ｘよりずっと多い数のアネキシンＶ$^+$およびＰＤ－１$^+$増殖性ＯＴＩ　ＣＤ８$^+$Ｔ細胞を誘導することが示される。
【０３５９】
実施例１４
Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8は、ＯＶＡ－特異抗体応答を誘導しない
【０３６０】
１４Ａ．　Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8に対する体液性免疫応答を評価するために、我々はマウスをＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8またはＯＶＡのいずれかの毎週静脈内注射で治療し、その後血液におけるＯＶＡ－特異的な抗体のレベルを測定した。実験の０、７、および１４日目に、マウスに以下の１つを含有する１００μｌの生理食塩水の静脈内注射を投与した：１．）６μｇのＯＶＡ；２．）６μｇのＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8；３．）３０μｇのＯＶＡ；４．）３０μｇのＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8、または５．）生理食塩水単独。それぞれの群は５マウスを含有した。１９日目に、頬の穿刺を介してマウスから採血し、かつそれぞれのマウスの血液におけるＯＶＡ－特異的な抗体の力価を、ＥＬＩＳＡを介して決定した。この研究の結果は、６および３０μｇのＯＶＡで治療されたマウスは、ＯＶＡ－特異抗体力価が増加するにも関わらず、６および３０μｇの両方のＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8（図４における“Ｇａｌ－ＯＶＡ”）で治療されたマウスは、生理食塩水で治療されたマウス（すなわち媒体で治療される動物）と同様の血液力価を有することを示した（図４）。例えば６および３０μｇのＯＶＡで治療されたマウスは、それぞれ３．５および２．５の平均抗体力価を有し；一方で、６および３０μｇのＯＶＡで治療されたマウスは、それぞれ０．７５および０．２５の平均抗体力価を有していた。
【０３６１】
１４Ｂ．　実施例１４Ａに記載される手順に従い、かつＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8を例えば、実施例３Ａ、４Ａ、５Ｂ、６Ｃ、７Ｂおよび１９Ｇに記載される、得られる式１の化合物に置換することにより、実施例３Ａ、４Ａ、５Ｂ、６Ｃ、７Ｂおよび１９Ｇ由来の化合物で治療されたマウスは、生理食塩水で治療されたマウスと同様のＯＶＡ－特異抗体力価を有することが示される。
【０３６２】
１４Ｃ．　実施例１４Ａに記載される手順に従い、かつＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8を例えば、実施例１Ｅ、１Ｇ、２Ｃ、１０Ｄ、１９Ｉ、１９Ｌ、２０Ｂ、２０Ｄおよび２０Ｆに記載される、得られる式１および２の化合物に置換することにより、ならびにＯＶＡをＸ（またはＸ’もしくはＸ”）に対応する抗原に置換することにより、それぞれに、実施例１Ｅ、１Ｇ、２Ｃ、１０Ｄ、１９Ｉ、１９Ｌ、２０Ｂ、２０Ｄおよび２０Ｆ由来の化合物で治療されたマウスは、生理食塩水で治療されたマウスと同様の抗原Ｘ－特異抗体力価を有することが示される。
【０３６３】
実施例１５

【０３６４】
Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8は、ＯＶＡ－特異的な抗体を枯渇させる
【０３６５】
１５Ａ．　我々は異なるＯＶＡ－抗体血液力価（それぞれのマウスは０から４．５の力価を有していた）を有するマウスを１００μｌの生理食塩水可溶化した２０μｇのＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8の静脈内注射で治療した。マウスに、０、５、７、１２、および１４日目にＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8の静脈内注射を与えた（Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8の注射を“Ｇａｌ－ＯＶＡ”として標識し、かつ図５のｘ軸上に緑色の矢印として示す）。Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8の、血清ＯＶＡ－特異的な抗体を枯渇させる能力を決定するために、－１日目にマウスから初期抗体力価を確立するために採血し、その後引き続いて、２、６、９、１３、および１６日目に、それぞれのＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8の注射後に採血を実施した。それぞれのマウスの抗体力価を、ＥＬＩＳＡを介して決定した。当該研究の結果は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8は、マウスにおける血清抗体レベルを枯渇させることができるということを示す。例えば、第一のＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8注射後の１日（すなわち２日目）に、陽性ＯＶＡ－抗体力価経験を有するマウスは、血清抗体レベルにおいて５から１００倍減少する（図５）。我々の結果は、１９日の実験の過程にわたって、ある特定のマウスについて抗体力価は増加したにもかかわらず、力価レベルは、－１日目に測定される初期の抗体力価に決して達せず、引き続くＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8の用量は、抗体力価におけるこれらの一過性の増加を減少させる際に有効であることを示す。これらの結果は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8は、血清ＯＶＡ－特異的な抗体に結合する特異性を有すること、およびＯＶＡ－特異的な血清抗体を枯渇させるのに必要とされる動態（ｋｉｎｅｔｉｃｓ）を実証する。
【０３６６】
１５Ｂ．　実施例１５Ａに記載される手順に従い、かつＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8を例えば、実施例３Ａ、４Ａ、５Ｂ、６Ｃ、７Ｂおよび１９Ｇに記載される、得られる式１の化合物に置換することにより、実施例３Ａ、４Ａ、５Ｂ、６Ｃ、７Ｂおよび１９Ｇ由来の化合物は、血清ＯＶＡ－特異的な抗体に結合する特異性を有すること、およびＯＶＡ－特異的な血清抗体を枯渇させるのに必要とされる動態が示される。
【０３６７】
１５Ｃ．　実施例１５Ａに記載される手順に従い、かつＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8を例えば、実施例１Ｅ、１Ｇ、２Ｃ、１０Ｄ、１９Ｉ、１９Ｌ、２０Ｂ、２０Ｄおよび２０Ｆに記載される、得られる式１および２の化合物に置換することにより、ならびにＯＶＡをＸ（またはＸ’もしくはＸ”）に対応する抗原に置換することにより、それぞれに、実施例１Ｅ、１Ｇ、２Ｃ、１０Ｄ、１９Ｉ、１９Ｌ、２０Ｂ、２０Ｄおよび２０Ｆ由来の化合物は血清抗原Ｘ－特異的な抗体に結合する特異性を有することおよび抗原Ｘ－特異的な血清抗体を枯渇させるのに必要とされる動態が示される。
【０３６８】
実施例１６
【０３６９】
寛容モデルへのＯＴ－１チャレンジ
【０３７０】
１６Ａ．　確立された寛容モデルへのＯＴＩチャレンジ（Ｌｉｕ、Ｉｙｏｄａ、ｅｔａｌ．，２００２）を使って、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8（ｍＧａｌ－ＯＶＡ）、Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－m_1－n_4－p_{34}（ｐＧａｌ－ＯＶＡ）、およびＮ－ＤＯＭ－Gly_3Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Gly_3Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ（Ｄｏｍ－ＯＶＡ）の、引き続くワクチン－媒介抗原チャレンジへの免疫応答を予防する能力を、非常に強い細菌由来のアジュバント（すなわちリポ多糖）を伴うチャレンジでも実証した。寛容化するために、ＯＴＩ
ＣＤ８$^+$（ＣＤ４５．２$^+$）Ｔ細胞をＣＤ４５．１$^+$マウスに養子性に移行（群あたりｎ＝５マウス）後、１および６日目に、１００μｌの生理食塩水中２３３ｎｍｏｌのＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8、Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－m_1－n_4－p_{34}、Ｎ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ

$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ、または可溶性のＯＶＡのいずれかを静脈内に投与した。さらに９日後、移行Ｔ細胞の潜在的な除去を可能にするため、レシピエントマウスをその後皮内注射によりリポ多糖（ＬＰＳ）（５０ｎｇ）でアジュバントされるＯＶＡ（１０μｇ）でチャレンジした。チャレンジ後４日の流入領域リンパ節の特徴は、除去が実際に起こったか否かの決定を可能にする。

【０３７１】

１６Ｂ．　Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_4$－ｎ$_8$、Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－ｍ$_1$－ｎ$_4$－ｐ$_{34}$、およびＮ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃの静脈内投与は、ＬＰＳでの抗原チャレンジ前の未改変のＯＶＡで治療されたマウスと比較して、流入領域リンパ節におけるＯＴＩ　ＣＤ８$^+$Ｔ細胞密度における多大な減少を引き起こし、これは除去寛容（ｄｅｌｅｔｉｏｎａｌ　ｔｏｌｅｒａｎｃｅ）を示す。例えば、図６は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_4$－ｎ$_8$（ｍＧａｌ－ＯＶＡ）、Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－ｍ$_1$－ｎ$_4$－ｐ$_{34}$（ｐＧａｌ－ＯＶＡ）、およびＮ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ（Ｄｏｍ－ＯＶＡ）のいずれかで治療されたマウスからの流入領域リンパ節が、ＯＶＡ－治療されるマウスと比較して９倍超少ないＯＴＩ　ＣＤ８$^+$Ｔ細胞、および抗原の静脈内注射を受けなかったチャレンジコントロールマウスより４３倍超少ない細胞を含有したことを示し；脾臓細胞における応答は同様であった。これらの結果は、Ｆ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_4$－ｎ$_8$、Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－ｍ$_1$－ｎ$_4$－ｐ$_{34}$、およびＮ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃは、アジュバントＯＶＡチャレンジ後のＯＶＡ－特異的な免疫応答を軽減したことを実証する。

【０３７２】

１６Ｃ．　実施例１６ＡおよびＢに記載される手順に従い、かつＦ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_4$－ｎ$_8$、Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－ｍ$_1$－ｎ$_4$－ｐ$_{34}$、およびＮ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃを例えば、実施例３Ａ、４Ａ、５Ｂ、６Ｃ、７Ｂおよび１９Ｇに記載される、得られる式１の化合物に置換することにより、実施例３Ａ、４Ａ、５Ｂ、６Ｃ、７Ｂおよび１９Ｇ由来の化合物は、アジュバントされるＯＶＡチャレンジ後のＯＶＡ－特異的な免疫応答を軽減することが示される。

【０３７３】

１６Ｄ．　実施例１６ＡおよびＢに記載される手順に従い、かつＦ１ａＡ－ＯＶＡ－ｍ$_4$－ｎ$_8$、Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－ｍ$_1$－ｎ$_4$－ｐ$_{34}$、およびＮ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃを例えば、実施例１Ｅ、１Ｇ、２Ｃ、１０Ｄ、１９Ｉ、１９Ｌ、２０Ｂ、２０Ｄおよび２０Ｆに記載される、得られる式１および２の化合物に置換することにより、ならびにＯＶＡをＸ（またはＸ’もしくはＸ”）に対応する抗原に置換することにより、それぞれに、実施例１Ｅ、１Ｇ、２Ｃ、１０Ｄ、１９Ｉ、１９Ｌ、２０Ｂ、２０Ｄおよび２０Ｆ由来の化合物はアジュバントされる抗原Ｘチャレンジ後の抗原Ｘ－特異的な免疫応答を軽減することが示される。

【０３７４】

実施例１７

【０３７５】

薬物動態

【０３７６】

１７Ａ．　製造業者の指示書に従って、ＯＶＡならびに融合タンパク質Ｎ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－ＣおよびＮ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ（例えば、実施例１０に記載されるように調製される）をＩＲＤｙｅ　８００ＣＷ（ＬＩ－ＣＯＲ　バイオサイエンス）で標識した。未反応の色素は、Ｚｅｂａ脱塩カラム（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使って除去した。用量あたり１００μｌのＰＢＳ中５０μｇの標識タンパク質をＣ５７ＢＬ／６マウスへ静脈内または皮下に投与した（群あたり５マウス）。注射後の時点＝０、０．２５、０．５、１、２、４、８、２４、４８、および９６時間で、尾の先端からヘパリン被覆キャピラリーチューブへ血液試料を収集した。当該試料を４℃で保存し、解析まで

光から保護した。

【０３７７】

解析の日に、血液試料を遠心し、細胞成分を除去した。血漿を新しいキャピラリーチューブへ移し、オデッセイ赤外イメージングシステム（ＬＩ－ＣＯＲバイオサイエンス）を使ってスキャンした。シグナルは、８００ｎｍのチャネルで得られる。イメージ－プロセシングプログラムイメージＪ（米国国立衛生研究所）を使って、それぞれの試料は幅２の線として近似され、かつ線に沿う平均強度は、その時点で循環タンパク質の量の相対測定値として決定した。

【０３７８】

ＯＶＡならびに融合タンパク質ＤＯＭ－ＯＶＡおよびＯＶＡ－ＤＯＭについての（時点＝０での蛍光に標準化される）蛍光シグナル対時間は、図８において、二重指数関数的減衰の形態に収まる曲線と一緒に、ＡＳＧＰＲ標的化ＯＶＡ融合タンパク質が未改変のＯＶＡより急速に循環からクリアランスされることを示す。

【０３７９】

１７Ｂ．　実施例１７Ａに記載される手順に従い、かつＮ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ融合タンパク質およびＯＶＡをアシアロ第ＶＩＩ因子および第ＶＩＩＩ因子に置換することにより、それぞれに、アシアロ第ＶＩＩＩ因子は未改変の第ＶＩＩＩ因子より急速に循環からクリアランスされることが示される。

【０３８０】

実施例１８

【０３８１】

体内分布

【０３８２】

１８Ａ．　製造業者の指示書に従って、ＯＶＡおよびＮ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ融合タンパク質（例えば、実施例１０に記載されるように調製される）は、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６４７（ライフ・テクノロジーズ）で標識した。未反応の色素を、Ｚｅｂａ脱塩カラム（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使って除去した。用量あたり１００μｌのＰＢＳ中５０μｇの標識タンパク質を、Ｃ５７ＢＬ／６マウスへ静脈内または皮下に投与した（群あたり５マウス）。注射２時間後、マウスをCO_2窒息により安楽死させた。血液、心臓、腸、腎臓、肝臓、胚、胃、脾臓、および残存死体を、ＩＶＩＳスペクトルイメージングシステム（Ｃａｌｉｐｅｒ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ）を使って撮像した。データを、リヴィングイメージソフトウェア（Ｃａｌｉｐｅｒ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ）を使って得、かつ分析した。肝臓および脾臓の単一細胞懸濁液を調製し、０．１％（ｗ／ｖ）ＢＳＡのＰＢＳ中で蛍光性にコンジュゲートされたＭＨＣクラスＩＩ、ＣＤ１ｄ、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１１ｃ、ＣＤ１４、ＣＤ１９、ＣＤ４５、ＣＤ１２３、および／またはＬｉｎに対する抗体で染色した。ＬＳＲ　ＩＩフローサイトメトリーおよびＦＡＣＳ　Ｄｉｖａ　ソフトウェア（ＢＤ　バイオサイエンス）を使って、試料を分析した。

【０３８３】

それぞれの臓器およびそれぞれのタンパク質について蛍光シグナル密度（光子／重量）を示すヒストグラムは、Ｎ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ融合タンパク質で注射される動物において、未改変のＯＶＡで治療されるものと比較して最も高い蛍光シグナルは肝臓におけるものであることを示す。

【０３８４】

Ｎ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－ＣおよびＯＶＡ－陽性細胞の割合を示すヒストグラムは、Ｎ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ融合タンパク質で注射される動物は未改変のＯＶＡで治療されるものと比較して有意に高い陽性の肝細胞の割合を有することを示す。

【０３８５】

１８Ｂ．　実施例１８Ａに記載される手順に従い、かつＮ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－

ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ融合タンパク質およびＯＶＡをアシアロ第ＶＩＩＩ因子および第ＶＩＩＩ因子に置換することにより、それぞれに、アシアロ第ＶＩＩＩ因子で注射される動物は、未改変の第ＶＩＩＩ因子で治療されるものと比較して有意に高い陽性の肝細胞の割合を有するということが示される。

【０３８６】

１８Ｃ．　実施例１８Ａに記載される手順に従い、かつＮ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃ融合タンパク質を例えば、実施例３Ａ、４Ａ、５Ｂ、６Ｃ、７Ｂおよび１９Ｇに記載される、得られる式１の化合物に置換することにより、実施例３Ａ、４Ａ、５Ｂ、６Ｃ、７Ｂおよび１９Ｇ由来の化合物で注射される動物は、ＯＶＡで治療されるものと比較して有意に高い陽性の肝細胞の割合を有するということが示される。

【０３８７】

１８Ｄ。実施例１８ＡおよびＢに記載される手順に従い、かつＦ１ａＡ－ＯＶＡ－m_4－n_8、Ｆ１ｂ－ＯＶＡ－m_1－n_4－p_{34}、およびＮ－ＤＯＭ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－ＯＶＡ－Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ－６ｘＨｉｓ－Ｃを例えば、実施例１Ｅ、１Ｇ、２Ｃ、１０Ｄ、１９Ｉ、１９Ｌ、２０Ｂ、２０Ｄおよび２０Ｆに記載される、得られる式１および２の化合物に置換することにより、ならびにＯＶＡをＸ（またはＸ’もしくはＸ”）に対応する抗原に置換することにより、それぞれに、実施例１Ｅ、１Ｇ、２Ｃ、１０Ｄ、１９Ｉ、１９Ｌ、２０Ｂ、２０Ｄおよび２０Ｆ由来の化合物で注射される動物は、抗原Ｘで治療されるものと比較して有意に高い陽性の肝細胞の割合を有するということが示されることが示される。

【０３８８】

実施例１９

【０３８９】

Ｆ１ｍ－ＯＶＡ－m_2－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ

【０３９０】

１９Ａ．　R^3がＮＨＡｃであり、かつR^4がＯＨである式１１０２

【０３９１】

Ｎ－アセチル－Ｄ－ガラクトサミン（R^3がＮＨＡｃであり、かつR^4がＯＨである式１１０１）（５ｇ、２２．６ｍｍｏｌ）を、室温でクロロエタノール（２００ｍｌ）の撹拌溶液に加えた。当該溶液を４℃まで冷却し、アセチルクロライドを、当該溶液に滴下して加えた。当該溶液を室温までにし、その後７０℃に加熱した。４時間後、未反応のクロロエタノールを減圧下で除去した。１００ｍｌのエタノールを、粗産物に加え、得られる溶液を２時間炭素存在下で撹拌した。当該溶液を濾過し、溶媒を減圧下で除去した。式１１０２の対応産物、Ｎ－（２－（２－クロロエトキシ）－４、５－ジヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）アセトアミドをさらに精製せずに使用した。

【０３９２】

１９Ｂ．　R^3がＮＨＡｃであり、かつR^4がＯＨである式１１０３

【０３９３】

実施例１９Ａにおいて調製されるＮ－（２－（２－クロロエトキシ）－４、５－ジヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）アセトアミド（２ｇ、７．４ｍｍｏｌ）を、ＤＭＦおよびアジ化ナトリウム（４ｇ、６１．５ｍｍｏｌ）の撹拌溶液（１００ｍｌ）に加えた。当該溶液を１２時間９０℃で加熱し、その後、濾過した。残留している溶媒を減圧下で除去し、粗産物をフラッシュクロマトグラフィー（ジクロロメタンにおいて１０％ＭｅＯＨ）を介して精製し、式１１０３の対応産物、Ｎ－（２－（２－アジドエトキシ）－４、５－ジヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）アセトアミドを与えた。

【０３９４】

１９Ｃ．　R^3がＮＨＡｃであり、かつR^4がＯＨである式１１０４

【０３９５】
実施例１９Ｂにおいて調製されるＮ－（２－（２－アジドエトキシ）－４、５－ジヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）アセトアミド（２ｇ、６．９ｍｍｏｌ）を、パラジウム炭素およびエタノールの溶液（５０ｍｌ）に加えた。当該溶液を水素ガス（３気圧）のもとで４時間撹拌した。得られる溶液を濾過し、残留している溶媒を減圧下で除去し、式１１０４の対応産物、Ｎ－（２－（２－アミノエトキシ）－４、５－ジヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）アセトアミドを得、さらに精製せずにを使用した。
【０３９６】
１９Ｄ．　Ｒ^{3}がＮＨＡｃであり、かつＲ^{4}がＯＨである式１１０５
【０３９７】
実施例１９Ｃにおいて調製されるＮ－（２－（２－アミノエトキシ）－４、５－ジヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）アセトアミド（１．０ｇ、３．７８ｍｍｏｌ）を、ＤＭＦ（５０ｍｌ）におけるメタクリル酸無水物（０．５８３ｇ、３．７８ｍｍｏｌ）の溶液に加えた。トリエチルアミンをその後、当該溶液に加えて反応液を２時間室温で撹拌した。２時間後、過剰溶媒を減圧下で除去し、式１１０５の対応産物、Ｎ－（２－（（３－アセトアミド－４、５－ジヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イル）オキシ）エチル）メタクリルアミド、を、フラッシュクロマトグラフィーを介して単離した。
【０３９８】
１９Ｅ．　ｐが３０であり、ｑが４であり、Ｒ^{3}がＮＨＡｃであり、Ｒ^{4}がＯＨであり、かつＲ^{8}が、ＣＭＰである式１１０７
【０３９９】
ｑが４である式１１０６のアジド－改変ｕＲＡＦＴ剤（２８ｍｇ）を、ＤＭＦにおける実施例１９Ｄにおいて調製されるＮ－（２－（（３－アセトアミド－４、５－ジヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イル）オキシ）エチル）メタクリルアミド（５７９ｍｇ、１．７４ｍｍｏｌ）およびアゾビスイソブチロニトリル（２．２ｍｇ、０．０１１６ｍｍｏｌ）の溶液に加えた。当該反応混合物を４凍結脱気サイクルに供し、その後７０℃で撹拌した。１２時間後、ｐが３０であり、かつｑが４である式１１０７のポリマー産物を、メタノールの添加を介して反応混合物から沈殿させた。当該溶媒を、容器を傾けて固形から上清を移し、固形を収集し、残留している溶媒を、減少圧力を介して除去した。
【０４００】
１９Ｆ．　Ｘ’がＯＶＡであり、ｍが２であり、かつｎが８０である式１１０９
【０４０１】
オボアルブミン（５ｍｇ、０．０００１２ｍｍｏｌ）を、１００μｌのリン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ８．０）に加え、撹拌した。この溶液に、５ｍｇのｎが８０である式１１０８の化合物を加えた。１時間後、未反応の式１１０８の化合物を遠心性サイズ排除クロマトグラフィーを介して当該溶液から除去した。式１１０９の対応産物を含有する、得られる緩衝溶液をさらに精製せずに次の反応において使用した。
【０４０２】
１９Ｇ．　Ｘ’がＯＶＡであり、ｍが２であり、ｎが８０であり、ｐが３０であり、ｑが４であり、Ｒ^{3}が、ＮＨＡｃであり、かつＲ^{8}が、ＣＭＰである式１ｍ
【０４０３】
実施例１９Ｆにおいて調製される溶液に、実施例１９Ｅにおいて調製される式１１０７の１０ｍｇの産物を含有する１００μｌのリン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ８．０）を加えた。反応液を２時間撹拌し、その後、過剰の式１１０７を、遠心性サイズ排除クロマトグラフィーを介して除去し、当該溶液において式１ｍの対応する異性体産物を得、それをさらに精製せずに生物学的な研究において使用した。Ｒ^{3}置換基は、２ＮＨＡｃとして標記化合物の名称において示される。

【０４０４】
１９Ｈ．　式１１０９の他の化合物
【０４０５】
実施例１９Ｆに記載される手順に従い、かつＯＶＡを以下に置換することにより：
・　アブシキシマブ、
・　アダリムマブ、
・　アガルシダーゼアルファ、
・　アガルシダーゼベータ、
・　アルデスロイキン、
・　アルグルコシダーゼアルファ、
・　第ＶＩＩＩ因子、
・　第ＩＸ因子、
・　Ｌ－アスパラギナーゼ、
・　ラロニダーゼ、
・　オクトレオチド、
・　フェニルアラニンアンモニアリアーゼ、
・　ラスブリカーゼ、
・　インスリン（配列番号：５）、
・　ＧＡＤ－６５（配列番号：６）、
・　ＩＧＲＰ（配列番号：７）
・　ＭＢＰ（配列番号：８）、
・　ＭＯＧ（配列番号：９）、
・　ＰＬＰ（配列番号：１０）、
・　ＭＢＰ１３－３２（配列番号：１１）、
・　ＭＢＰ８３－９９（配列番号：１２）、
・　ＭＢＰ１１１－１２９（配列番号：１３）、
・　ＭＢＰ１４６－１７０（配列番号：１４）、
・　ＭＯＧ１－２０（配列番号：１５）、
・　ＭＯＧ３５－５５（配列番号：１６）、
・　ＰＬＰ１３９－１５４（配列番号：１７）、
・　ＭＡＲＴ１（配列番号：１８）、
・　チロシナーゼ（配列番号：１９）、
・　ＰＭＥＬ（配列番号：２０）、
・　アクアポリン４（配列番号：２１）、
・　Ｓ－アレスチン（配列番号：２２）、
・　ＩＲＢＰ（配列番号：２３）、
・　コンアラキン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｑ６ＰＳＵ６）、
・　天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２４）、
・　脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２５）、
・　アルファ－グリアジン（配列番号：２６）、
・　オメガ－グリアジン（配列番号：２７）、
・　Ｆｅｌ　ｄ　１Ａ（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ３０４３８）、
・　ネコアルブミン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４９０６４）、
・　Ｃａｎ　ｆ　１（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｏ１８８７３）、
・　イヌアルブミン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４９８２２）、および
・　ＲｈＣＥ　ｅｘａｍｐｌｅ（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ１８５７７）、
式１１０９の以下の対応する化合物が得られ、ここでｎは８０であり：
・　Ｘはアブシキシマブであり、かつｍは１０である、
・　Ｘはアダリムマブであり、かつｍは１１である、
・　Ｘはアガルシダーゼアルファであり、かつｍは１４である、

・ Ｘはアガルシダーゼベータであり、かつｍは１４である、
・ Ｘはアルデスロイキンであり、かつｍは６である、
・ Ｘはアルグルコシダーゼアルファであり、かつｍは１３である、
・ Ｘは第ＶＩＩＩ因子であり、かつｍは１００である、
・ Ｘは第ＩＸ因子であり、かつｍは１８である、
・ ＸはＬ－アスパラギナーゼであり、かつｍは５である、
・ Ｘはラロニダーゼであり、かつｍは７である、
・ Ｘはオクトレオチドであり、かつｍは１である、
・ Ｘはフェニルアラニンアンモニアリアーゼであり、かつｍは１２である、
・ Ｘはラスブリカーゼであり、かつｍは１２である、
・ Ｘはインスリン（配列番号：５）であり、かつｍは２である、
・ ＸはＧＡＤ－６５（配列番号：６）であり、かつｍは８である、
・ ＸはＩＧＲＰ（配列番号：７）であり、かつｍは７である、
・ ＸはＭＢＰ（配列番号：８）であり、かつｍは６である、
・ ＸはＭＯＧ（配列番号：９）であり、かつｍは５である、
・ ＸはＰＬＰ（配列番号：１０）であり、かつｍは８である、
・ ＸはＭＢＰ１３－３２（配列番号：１１）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＢＰ８３－９９（配列番号：１２）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＢＰ１１１－１２９（配列番号：１３）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＢＰ１４６－１７０（配列番号：１４）であり、かつｍは２である、
・ ＸはＭＯＧ１－２０（配列番号：１５）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＯＧ３５－５５（配列番号：１６）であり、かつｍは２である、
・ ＸはＰＬＰ１３９－１５４（配列番号：１７）であり、かつｍは３である、
・ ＸはＭＡＲＴ１（配列番号：１８）であり、かつｍは４である、
・ Ｘはチロシナーゼ（配列番号：１９）であり、かつｍは８である、
・ ＸはＰＭＥＬ（配列番号：２０）であり、かつｍは５である、
・ Ｘはアクアポリン４（配列番号：２１）であり、かつｍは４である、
・ ＸはＳ－アレスチン（配列番号：２２）であり、かつｍは１２である、
・ ＸはＩＲＢＰ（配列番号：２３）であり、かつｍは２１である、
・ Ｘはコンアラキンであり、かつｍは２１である、
・ Ｘは天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２４）であり、かつｍは１である、
・ Ｘは脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２５）であり、かつｍは１である、
・ Ｘはアルファ－グリアジン（配列番号：２６）であり、かつｍは１である、
・ Ｘはオメガ－グリアジン（配列番号：２７）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＦｅｌ ｄ １であり、かつｍは４である、
・ Ｘはネコアルブミンであり、かつｍは１６である、
・ ＸはＣａｎ ｆ １であり、かつｍは６である、
・ Ｘはイヌアルブミンであり、かつｍは２３である、かつ
・ ＸはＲｈＣＥ ｅｘａｍｐｌｅであり、かつｍが１０である。

【０４０６】

１９Ｉ． 式１ｍの他の化合物

【０４０７】

実施例１９Ｇに記載される手順に従い、かつ式１１０９の化合物を置換することにより、例えば実施例１９Ｈにおいて得られるように、式１ｍの以下の対応する化合物が得られる：

・ Ｆ１ｍ－アブシキシマブ－m_{10}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｍ－アダリムマブ－m_{11}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ

、
・　　Ｆ１ｍ－アガルシダーゼアルファ－m_{14}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－アガルシダーゼベータ－m_{14}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－アルデスロイキン－m_6－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－アルグルコシダーゼアルファ－m_{13}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－第ＶＩＩＩ因子－m_{100}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－第ＩＸ因子－m_{18}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－Ｌ－アスパラギナーゼ－m_5－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ラロニダーゼ－m_7－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－オクトレオチド－m_1－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－フェニルアラニンアンモニアリアーゼ－m_{12}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ラスブリカーゼ－m_{12}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－インスリン－m_2－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＧＡＤ－６５－m_8－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＩＧＲＰ－m_7－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＭＢＰ－m_6－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＭＯＧ－m_5－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＰＬＰ－m_8－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＭＢＰ１３－３２－m_1－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＭＢＰ８３－９９－m_1－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＭＢＰ１１１－１２９－m_1－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＭＢＰ１４６－１７０－m_2－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＭＯＧ１－２０－m_1－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＭＯＧ３５－５５－m_2－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＰＬＰ１３９－１５４－m_3－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＭＡＲＴ１－m_4－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－チロシナーゼ－m_8－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＰＭＥＬ－m_5－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－アクアポリン４－m_4－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－Ｓ－アレスチン－m_{12}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ＩＲＢＰ－m_{21}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－コンアラキン－m_{21}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ

、
・　　Ｆ１ｍ－天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－m_1－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－m_1－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－アルファ－グリアジン－m_1－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－オメガ－グリアジン－m_1－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－Ｆｅｌ　ｄ　１－m_4－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－ネコアルブミン－m_{16}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－Ｃａｎ　ｆ　１－m_6－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｍ－イヌアルブミン－m_{23}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、および
・　　Ｆ１ｍ－ＲｈＣＥ－m_{10}－n_{80}－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ。

【０４０８】

１９Ｊ．　ｐが３０であり、ｑが８であり、R^3がＯＨであり、R^4がＯＨであり、かつR^8が、ＣＭＰである式１１０７

【０４０９】

実施例１９Ａに記載される手順に従い、Ｎ－アセチル－Ｄ－ガラクトサミンをガラクトースに置換し、かつｑが８である式１１０６のアジド－改変ｕＲＡＦＴ剤を使うことを除き、実施例１９Ｅに記載される手順に従うことにより、ｐが３０であり、ｑが８であり、R^3がＯＨであり、R^4がＯＨであり、かつR^8がＣＭＰである式１１０７の化合物が得られる。

【０４１０】

１９Ｋ．　ｎが６２であり、かつＸ’およびｍが、実施例１９Ｈである式１１０９

【０４１１】

実施例１９Ｆに記載される手順に従い、ＯＶＡを実施例１９Ｈに記載される化合物に置換し、かつｎが６２である式１１０８の化合物を利用することにより、ｎが６２である式１１０９の対応する化合物が得られる。

【０４１２】

１９Ｌ．　式１ｍの他の化合物

【０４１３】

実施例１９Ｇに記載される手順に従い、式１１０７の化合物を実施例１９Ｊにおいて得られる化合物に置換し、かつ式１１０９の化合物を実施例１９Ｋにおいて得られる化合物に置換することにより、式１ｍの以下の対応する化合物が得られる：

・　　Ｆ１ｍ－アブシキシマブ－m_{10}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｍ－アダリムマブ－m_{11}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｍ－アガルシダーゼアルファ－m_{14}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｍ－アガルシダーゼベータ－m_{14}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｍ－アルデスロイキン－m_6－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｍ－アルグルコシダーゼアルファ－m_{13}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｍ－第ＶＩＩＩ因子－m_{100}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、

・ Ｆ１ｍ－第ＩＸ因子－m_{18}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－Ｌ－アスパラギナーゼ－m_5－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ラロニダーゼ－m_7－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－オクトレオチド－m_1－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－フェニルアラニンアンモニアリアーゼ－m_{12}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ラスブリカーゼ－m_{12}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－インスリン－m_2－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＧＡＤ－６５－m_8－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＩＧＲＰ－m_7－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＭＢＰ－m_6－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＭＯＧ－m_5－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＰＬＰ－m_8－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＭＢＰ１３－３２－m_1－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＭＢＰ８３－９９－m_1－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＭＢＰ１１１－１２９－m_1－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＭＢＰ１４６－１７０－m_2－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＭＯＧ１－２０－m_1－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＭＯＧ３５－５５－m_2－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＰＬＰ１３９－１５４－m_3－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＭＡＲＴ１－m_4－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－チロシナーゼ－m_8－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＰＭＥＬ－m_5－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－アクアポリン４－m_4－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－Ｓ－アレスチン－m_{12}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ＩＲＢＰ－m_{21}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－コンアラキン－m_{21}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－m_1－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－m_1－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－アルファ－グリアジン－m_1－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－オメガ－グリアジン－m_1－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－Ｆｅｌ ｄ １－m_4－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－ネコアルブミン－m_{16}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－Ｃａｎ ｆ １－m_6－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｍ－イヌアルブミン－m_{23}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
および
・ Ｆ１ｍ－ＲｈＣＥ－m_{10}－n_{62}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ。

【０４１４】

実施例２０

【０４１５】

Ｆ１ｎ－インスリン－m_2－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ

【０４１６】

２０Ａ．　Ｘ’がインスリンであり、ｍが２であり、かつｎが１である式１２０２。

【０４１７】

組換えヒトインスリン（５ｍｇ）を、１０μｌのトリエチルアミンを含有する１００μｌのＤＭＦに加え、インスリンが溶けるまで撹拌した。この溶液に、ｎが１である式１２０１の前駆物質リンカーの１０ｍｇ（０．０１６１ｍｍｏｌ）（？？？から得られる）を加え、当該反応液を撹拌した。１時間後、１．３ｍｌのｔｅｒｔ－ブチルメチルエーテルを、式１２０２の対応産物を単離するために加え、それを沈殿物としてを回収した。残留しているＤＭＦおよびｔｅｒｔ－ブチルメチルエーテルを減圧下で除去した。液体クロマトグラフィー、質量分析およびポリアクリルアミドゲル電気泳動を介する特性評価で産物の正体を確認した。式１２０２の改変インスリン産物をさらに精製せずに使用した。

【０４１８】

２０Ｂ．　Ｘ’がインスリンであり、ｍが２であり、ｎが１であり、ｐが３０であり、ｑが４であり、かつR^8が、ＣＭＰである式１ｎ

【０４１９】

実施例２０Ａにおける得られる式１２０２の産物を１００μｌのＤＭＦにおいて再懸濁した。実施例１９Ｅにおいて得られる式１１０７のポリマー産物（１０ｍｇ）を加え、反応液を１時間撹拌した。１時間後、反応産物をジクロロメタン（１．３ｍｌ）の添加により沈殿させた。当該産物を濾過し、残留している溶媒を減圧下で除去した。粗産物をその後５００μｌのＰＢＳにおいて再懸濁し、低分子量成分を、遠心性サイズ排除クロマトグラフィーを介して除去した、式１ｎの対応する異性体産物を得た。液体クロマトグラフィー、質量分析およびポリアクリルアミドゲル電気泳動を介する特性評価で産物の正体を確認した。式１２０２の改変インスリン産物をさらに精製せずに使用した。

【０４２０】

２０Ｃ．　式１２０２の他の化合物

【０４２１】

実施例１９Ｆに記載される手順に従い、かつＯＶＡインスリンを以下に置換することにより：

・　アブシキシマブ、
・　アダリムマブ、
・　アガルシダーゼアルファ、
・　アガルシダーゼベータ、
・　アルデスロイキン、
・　アルグルコシダーゼアルファ、
・　第ＶＩＩＩ因子、
・　第ＩＸ因子、
・　Ｌ－アスパラギナーゼ、
・　ラロニダーゼ、
・　オクトレオチド、
・　フェニルアラニンアンモニアリアーゼ、
・　ラスブリカーゼ、
・　ＧＡＤ－６５（配列番号：６）、
・　ＩＧＲＰ（配列番号：７）
・　ＭＢＰ（配列番号：８）、
・　ＭＯＧ（配列番号：９）、
・　ＰＬＰ（配列番号：１０）、
・　ＭＢＰ１３－３２（配列番号：１１）、
・　ＭＢＰ８３－９９（配列番号：１２）、
・　ＭＢＰ１１１－１２９（配列番号：１３）、
・　ＭＢＰ１４６－１７０（配列番号：１４）、
・　ＭＯＧ１－２０（配列番号：１５）、

・ ＭＯＧ３５－５５（配列番号：１６）、
・ ＰＬＰ１３９－１５４（配列番号：１７）、
・ ＭＡＲＴ１（配列番号：１８）、
・ チロシナーゼ（配列番号：１９）、
・ ＰＭＥＬ（配列番号：２０）、
・ アクアポリン４（配列番号：２１）、
・ Ｓ－アレスチン（配列番号：２２）、
・ ＩＲＢＰ（配列番号：２３）、
・ コンアラキン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｑ６ＰＳＵ６）、
・ 天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２４）、
・ 脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２５）、
・ アルファ－グリアジン（配列番号：２６）、
・ オメガ－グリアジン（配列番号：２７）、
・ Ｆｅｌ　ｄ　１Ａ（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ３０４３８）、
・ ネコアルブミン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４９０６４）、
・ Ｃａｎ　ｆ　１（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｏ１８８７３）、
・ イヌアルブミン（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ４９８２２）、および
・ ＲｈＣＥ　ｅｘａｍｐｌｅ（ＵＮＩＰＲＯＴ　Ｐ１８５７７）、

式１２０２の以下の対応する化合物が得られ、ここでｎは１であり：

・ Ｘはアブシキシマブであり、かつｍは１０である、
・ Ｘはアダリムマブであり、かつｍは１１である、
・ Ｘはアガルシダーゼアルファであり、かつｍは１４である、
・ Ｘはアガルシダーゼベータであり、かつｍは１４である、
・ Ｘはアルデスロイキンであり、かつｍは６である、
・ Ｘはアルグルコシダーゼアルファであり、かつｍは１３である、
・ Ｘは第ＶＩＩＩ因子であり、かつｍは１００である、
・ Ｘは第ＩＸ因子であり、かつｍは１８である、
・ ＸはＬ－アスパラギナーゼであり、かつｍは５である、
・ Ｘはラロニダーゼであり、かつｍは７である、
・ Ｘはオクトレオチドであり、かつｍは１である、
・ Ｘはフェニルアラニンアンモニアリアーゼであり、かつｍは１２である、
・ Ｘはラスブリカーゼであり、かつｍは１２である、
・ ＸはＧＡＤ－６５（配列番号：６）であり、かつｍは８である、
・ ＸはＩＧＲＰ（配列番号：７）であり、かつｍは７である、
・ ＸはＭＢＰ（配列番号：８）であり、かつｍは６である、
・ ＸはＭＯＧ（配列番号：９）であり、かつｍは５である、
・ ＸはＰＬＰ（配列番号：１０）であり、かつｍは８である、
・ ＸはＭＢＰ１３－３２（配列番号：１１）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＢＰ８３－９９（配列番号：１２）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＢＰ１１１－１２９（配列番号：１３）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＢＰ１４６－１７０（配列番号：１４）であり、かつｍは２である、
・ ＸはＭＯＧ１－２０（配列番号：１５）であり、かつｍは１である、
・ ＸはＭＯＧ３５－５５（配列番号：１６）であり、かつｍは２である、
・ ＸはＰＬＰ１３９－１５４（配列番号：１７）であり、かつｍは３である、
・ ＸはＭＡＲＴ１（配列番号：１８）であり、かつｍは４である、
・ Ｘはチロシナーゼ（配列番号：１９）であり、かつｍは８である、
・ ＸはＰＭＥＬ（配列番号：２０）であり、かつｍは５である、
・ Ｘはアクアポリン４（配列番号：２１）であり、かつｍは４である、
・ ＸはＳ－アレスチン（配列番号：２２）であり、かつｍは１２である、
・ ＸはＩＲＢＰ（配列番号：２３）であり、かつｍは２１である、

・　　Ｘはコンアラキンであり、かつｍは２１である、
・　　Ｘは天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２４）であり、かつｍは１である、
・　　Ｘは脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”（配列番号：２５）であり、かつｍは１である、
・　　Ｘはアルファ－グリアジン（配列番号：２６）であり、かつｍは１である、
・　　Ｘはオメガ－グリアジン（配列番号：２７）であり、かつｍは１である、
・　　ＸはＦｅｌ　ｄ　１であり、かつｍは４である、
・　　Ｘはネコアルブミンであり、かつｍは１６である、
・　　ＸはＣａｎ　ｆ　１であり、かつｍは６である、
・　　Ｘはイヌアルブミンであり、かつｍは２３である、かつ
・　　ＸはＲｈＣＥ　ｅｘａｍｐｌｅであり、かつｍが１０である。

【０４２２】

２０Ｄ．　式１ｎの他の化合物

【０４２３】

例Ｂに記載される手順に従い、かつ式１２０２の化合物を置換することにより、例えば実施例２０Ｃにおいて得られるように、式１ｍの以下の対応する化合物が得られる：

・　　Ｆ１ｎ－アブシキシマブ－m_{10}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－アダリムマブ－m_{11}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－アガルシダーゼアルファ－m_{14}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－アガルシダーゼベータ－m_{14}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－アルデスロイキン－m_6－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－アルグルコシダーゼアルファ－m_{13}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－第ＶＩＩＩ因子－m_{100}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－第ＩＸ因子－m_{18}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－Ｌ－アスパラギナーゼ－m_5－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－ラロニダーゼ－m_7－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－オクトレオチド－m_1－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－フェニルアラニンアンモニアリアーゼ－m_{12}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－ラスブリカーゼ－m_{12}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－ＧＡＤ－６５－m_8－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－ＩＧＲＰ－m_7－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＢＰ－m_6－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＯＧ－m_5－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－ＰＬＰ－m_8－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＢＰ１３－３２－m_1－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＢＰ８３－９９－m_1－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＢＰ１１１－１２９－m_1－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、

・ Ｆ１ｎ－ＭＢＰ１４６－１７０－m_2－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－ＭＯＧ１－２０－m_1－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－ＭＯＧ３５－５５－m_2－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－ＰＬＰ１３９－１５４－m_3－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－ＭＡＲＴ１－m_4－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－チロシナーゼ－m_8－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－ＰＭＥＬ－m_5－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－アクアポリン４－m_4－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－Ｓ－アレスチン－m_{12}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－ＩＲＢＰ－m_{21}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－コンアラキン－m_{21}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－m_1－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－m_1－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－アルファ－グリアジン－m_1－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－オメガ－グリアジン－m_1－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－Ｆｅｌ ｄ １－m_4－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－ネコアルブミン－m_{16}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－Ｃａｎ ｆ １－m_6－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、
・ Ｆ１ｎ－イヌアルブミン－m_{23}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ、および
・ Ｆ１ｎ－ＲｈＣＥ－m_{10}－n_1－p_{30}－q_4－ＣＭＰ－２ＮＨＡｃ。

【０４２４】

２０Ｅ． ｎが３３であり、かつＸ’およびｍが実施例２０Ｃである式１２０２

【０４２５】

実施例１９Ｆに記載される手順に従い、インスリンを実施例２０Ｃに記載される化合物に置換し、かつｎが３３である式１２０１の化合物を利用することにより、ｎが３３である式１２０２の対応する化合物が得られる。

【０４２６】

２０Ｆ． 式１ｎの他の化合物

【０４２７】

実施例２０Ｂに記載される手順に従い、式１１０７の化合物を実施例１９Ｊにおいて得られる化合物に置換し、かつ式１２０２の化合物を実施例２０Ｅにおいて得られる化合物に置換することにより、式１ｎの以下の対応する化合物が得られる：

・ Ｆ１ｎ－アブシキシマブ－m_{10}－n_{33}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｎ－アダリムマブ－m_{11}－n_{33}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｎ－アガルシダーゼアルファ－m_{14}－n_{33}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｎ－アガルシダーゼベータ－m_{14}－n_{33}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｎ－アルデスロイキン－m_6－n_{33}－p_{30}－q_8－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・ Ｆ１ｎ－アルグルコシダーゼアルファ－m_{13}－n_{33}－p_{30}－q_8－ＣＭ

Ｐ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－第ＶＩＩＩ因子－m_{100}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－第ＩＸ因子－m_{18}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－Ｌ－アスパラギナーゼ－m_{5}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ラロニダーゼ－m_{7}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－オクトレオチド－m_{1}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－フェニルアラニンアンモニアリアーゼ－m_{12}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ラスブリカーゼ－m_{12}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＧＡＤ－６５－m_{8}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＩＧＲＰ－m_{7}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＢＰ－m_{6}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＯＧ－m_{5}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＰＬＰ－m_{8}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＢＰ１３－３２－m_{1}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＢＰ８３－９９－m_{1}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＢＰ１１１－１２９－m_{1}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＢＰ１４６－１７０－m_{2}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＯＧ１－２０－m_{1}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＯＧ３５－５５－m_{2}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＰＬＰ１３９－１５４－m_{3}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＭＡＲＴ１－m_{4}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－チロシナーゼ－m_{8}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＰＭＥＬ－m_{5}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－アクアポリン４－m_{4}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－Ｓ－アレスチン－m_{12}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ＩＲＢＰ－m_{21}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－コンアラキン－m_{21}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－天然型アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－m_{1}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－脱アミド化アルファ－グリアジン“３３－ｍｅｒ”－m_{1}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－アルファ－グリアジン－m_{1}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－オメガ－グリアジン－m_{1}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－Ｆｅｌ　ｄ　１－m_{4}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－ネコアルブミン－m_{16}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－Ｃａｎ　ｆ　１－m_{6}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
・　　Ｆ１ｎ－イヌアルブミン－m_{23}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ、
および
・　　Ｆ１ｎ－ＲｈＣＥ－m_{10}－n_{33}－p_{30}－q_{8}－ＣＭＰ－２ＯＨ。

【０４２８】

実施例２１

【０４２９】

循環からのＯＶＡ－特異的な抗体のクリアランス

【０４３０】

引き続く枯渇のためのＯＶＡ－特異的な抗体の生産を誘導するために、ＥＬＩＳＡにより決定される、血漿における抗ＯＶＡ　ＩｇＧの力価が３に達するまで、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに１０μｇのＯＶＡの５用量まで静脈内注射をした（図９Ａ）。室温で１０分間、２０００ｘｇでＥＤＴＡ－被覆チューブに収集された血液の遠心分離により血漿試料を調製し、解析まで－２０℃で保存した。力価は、検出可能な抗ＯＶＡ　ＩｇＧを有する血漿の最大倍希釈の$\log_{10}$として規定される。ここでは、血漿試料を１０－、５０－、１００－、５００－、１、０００－、５、０００－、１０、０００－、および５０、０００倍希釈でアッセイし、０、１、１．７、２、２．７、３、３．７、４、および４．７の潜在的な力価測定が得られた。１０μｇのＯＶＡの５用量後の、３未満の力価のマウスに、１０μｇのＣｐＧ－Ｂでアジュバントされる１０μｇのＯＶＡの、さらなる２用量を与え、抗ＯＶＡ　ＩｇＧ生産を後押しし、それ故に枯渇のために利用可能な循環抗ＯＶＡ　ＩｇＧの量を得た（図９Ｂ）。

【０４３１】

抗ＯＶＡ抗体クリアランスのための、肝細胞ＡＳＧＰＲ標的化ＯＶＡの有効性を評価するために、循環抗ＯＶＡ　ＩｇＧを有するマウスに、ＤＯＭおよびＯＶＡ、ＤＯＭ－ＯＶＡ、またはＯＶＡ－ＤＯＭの同等のモル濃度を含有する生理食塩水または生理食塩水を静脈内注射した。特には、図９に示されるように、マウスを１０、５０、１００、または２００μｇのＯＶＡと同等のモル濃度で治療した。時点ｔ＝－１日、＋３時間、＋１日、および＋７日では、治療注射の比較上の時間に対して、血液試料を収集し、血漿のＥＬＩＳＡ解析により、循環における抗ＯＶＡ　ＩｇＧの量を評価した。循環からの抗ＯＶＡ　ＩｇＧのクリアランスは、血漿における抗ＯＶＡ　ＩｇＧの量を減少させ、それ故にＥＬＩＳＡにより決定される血漿抗ＯＶＡ　ＩｇＧ力価を減少させると予想される。ＯＶＡ単独で免疫され、およびＤＯＭ－ＯＶＡまたはＯＶＡ－ＤＯＭで治療されるマウスにおいて、抗ＯＶＡ　ＩｇＧの力価は３または２まで減少し、それぞれ、循環抗ＯＶＡ　ＩｇＧの量における１０００－または１００倍の減少を表し、生理食塩水またはＤＯＭおよびＯＶＡを使う、コントロール治療より５０倍まで有効である（図９Ａ）。ＣｐＧ－ＢでアジュバントされるＯＶＡで免疫されたマウスにおいて、循環抗ＯＶＡ　ＩｇＧのクリアランスは、観察されなかった（図９Ｂ）。

【０４３２】

実施例２２

【０４３３】

ＮＯＤマウス

【０４３４】

非肥満性糖尿病（ＮＯＤ）マウスは、自己免疫性糖尿病の自発性の発症に感受性で、それは様々な膵臓の自己抗原への自己免疫応答の結果である。膵島への様々な白血球の浸潤により特徴づけられる膵島炎の結果、ＮＯＤマウスにおいて糖尿病を発症する。

【０４３５】

糖尿病のための治療の有効性を評価するために、６週齢で開始し、ＮＯＤマウスをコントロールもしくは試験群へ分け、それぞれ試験組成物（１０μｇ）もしくは生理食塩水などの不活性なコントロールの毎週の静脈内注射で治療する。１８週間連続、注射を続ける。

【０４３６】

マウスの血糖濃度を毎週測定する。実験中３００ｍｇ／ｍｌ未満の血糖濃度を維持するマウスは非糖尿病性であると考えられる。さらに、研究の終了時にマウスの膵臓を収集し、かつ膵臓におけるＴ細胞浸潤を膵島炎の評価として免疫組織化学を介して決定する。生理食塩水で治療され、糖尿病を発症するマウスと比較して、寛容誘導は自己抗原特異的なＣＤ８　Ｔ細胞の枯渇により評価される。自己抗原特異的なＣＤ８　Ｔ細胞の存在は、ＥＬＩＳｐｏｔアッセイを介して決定される。

【０４３７】

上記に記載されるように試験される場合、ＸがＦ１ｍ－インスリン－m_2－n_1－p_{30}－q_4－２ＮＡｃＧＡＬなどのインスリンである式１および２の組成物は、糖尿病を治療するための有効性を示す。

【０４３８】

本開示は、その特定の実施形態を参照して記載したが、当業者により開示の真の意図および範囲から逸脱せずに、様々な変形を行うことができ、等価物を置換することができると理解されるべきである。さらに、本開示の目的、意図および範囲へ、多くの改変を特定の状況、材料、物質の組成物、プロセス、プロセス工程または工程に適応させることができる。全てのかかる改変は添付の特許請求の範囲内であることが意図される。全ての上記で引用した特許および刊行物は、本明細書に出典明示により組み込まれる。

【図１】

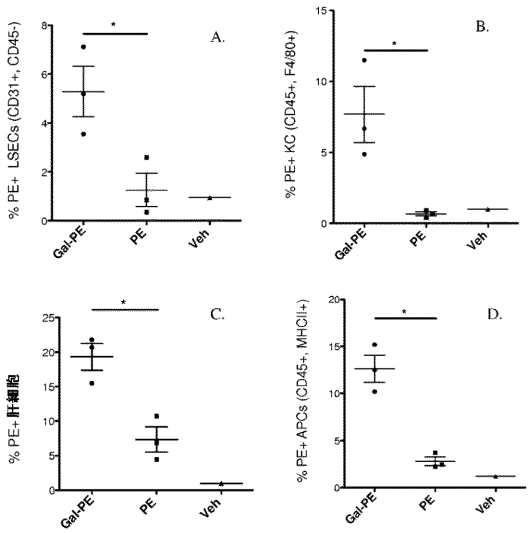


FIG. 1

【図２】

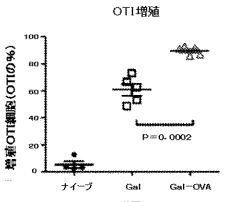


FIG. 2

【図３】

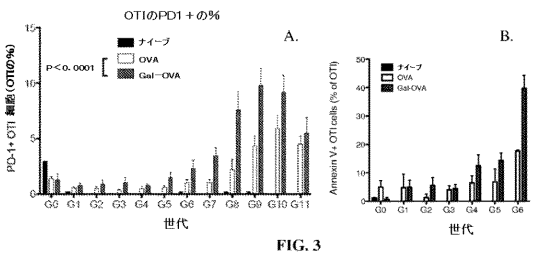


FIG. 3

【図４】

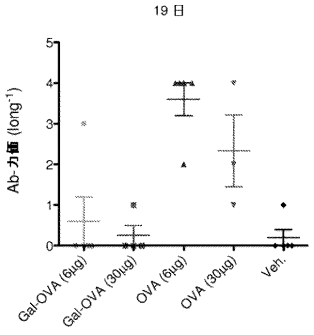


FIG. 4

【図５】

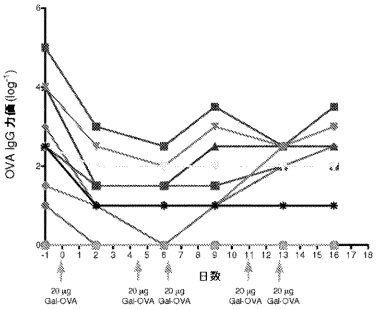


FIG. 5

【図６】

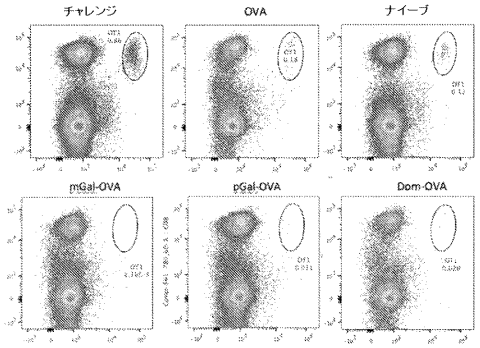


FIG. 6

【図７－Ａ】

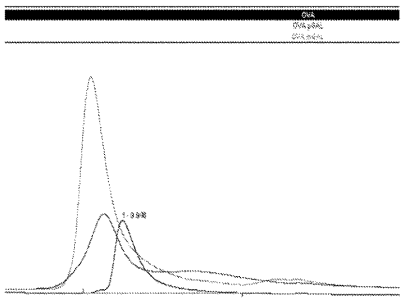


FIG. 7A

【図７－Ｂ】

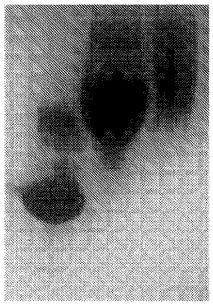


FIG. 7B

【図８】

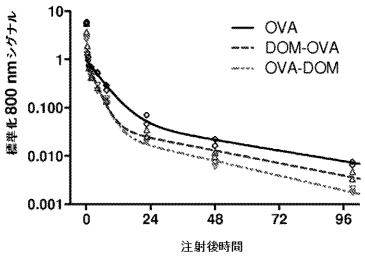
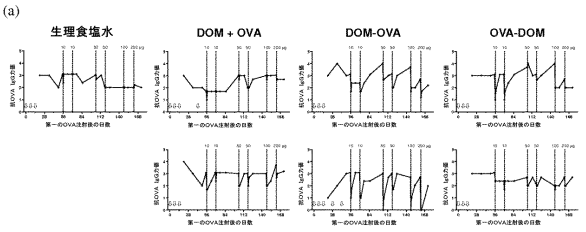
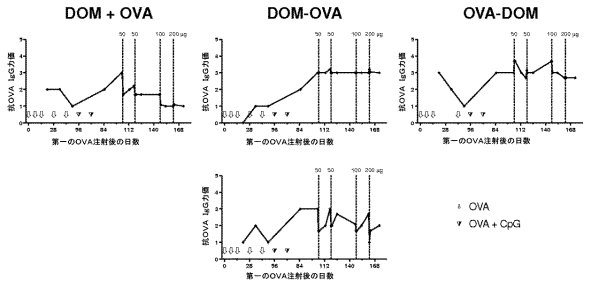


FIG. 8

【図９（ａ）】



【図９（ｂ）】



【配列表】
0006744227000001.app

フロントページの続き

(73)特許権者 516251749
アノキオン・ソシエテ・アノニム
ＡＮＯＫＩＯＮ ＳＡ
スイス、ツェーハー－１０２４エキュブラン、シュマン・ドゥ・ラ・ダン・ドッシュ１ア番、ウペエフエル・イノヴァシオン・パルク、アン・ルショー
(74)代理人 100106518
弁理士 松谷 道子
(74)代理人 100122301
弁理士 冨田 憲史
(74)代理人 100157956
弁理士 稲井 史生
(74)代理人 100170520
弁理士 笹倉 真奈美
(72)発明者 ジェフリー・エイ・フッベル
アメリカ合衆国６０６１５－１９１５イリノイ州シカゴ、サウス・キンバーク・アベニュー４８３７番
(72)発明者 ステファーヌ・コントス
スイス、ツェーハー－１０２２シャヴァンヌ－プレ－ルナン、アヴニュ・デプネ１ベ番
(72)発明者 クリステン・マリー・ロレンツ
スイス、ツェーハー－１０２２シャヴァンヌ－プレ－ルナン、アブニュ・デプネ１ベ番
(72)発明者 デイビッド・スコット・ウィルソン
スイス、ツェーハー－１００７ローザンヌ、アブニュ・ドゥ・ティヴォリ７０番
(72)発明者 シュニング・ガイ
スイス、ツェーハー－１１９６グラン、アレー・ヴァルド８番

審査官 山村 祥子

(56)参考文献 国際公開第２０１３／１２１２９６（WO，Ａ１）
特表２０１３－５１６９６７（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１２／１６７０８８（WO，Ａ１）
特開２００７－３１２７７６（ＪＰ，Ａ）
特表２０１３－５０８４４２（ＪＰ，Ａ）
JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY，２０１２年，Vol.134，p.1978-1981

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ ３９／００
Ａ６１Ｋ ４７／５０
Ａ６１Ｐ ３７／０６
Ａ６１Ｐ ３７／０８
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）