(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-527364
(P2023-527364A)
(43)公表日　令和5年6月28日(2023.6.28)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ　38/46　(2006.01)		Ａ６１Ｋ	38/46	ＺＮＡ	４Ｂ０５０
Ａ６１Ｋ　48/00　(2006.01)		Ａ６１Ｋ	48/00		４Ｃ０８１
Ａ６１Ｋ　35/76　(2015.01)		Ａ６１Ｋ	35/76		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ　9/00　(2006.01)		Ａ６１Ｐ	9/00		４Ｃ０８５
Ａ６１Ｐ　43/00　(2006.01)		Ａ６１Ｐ	43/00	１０５	４Ｃ０８７

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全199頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-572585(P2022-572585)
(86)(22)出願日　令和3年5月27日(2021.5.27)
(85)翻訳文提出日　令和5年1月25日(2023.1.25)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/034533
(87)国際公開番号　WO2021/243031
(87)国際公開日　令和3年12月2日(2021.12.2)
(31)優先権主張番号　63/030,840
(32)優先日　令和2年5月27日(2020.5.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　521317586
イノザイム ファーマ インク.
Ｉｎｏｚｙｍｅ Ｐｈａｒｍａ，Ｉｎｃ．
アメリカ合衆国 ０２２１０ マサチューセッツ ボストン サマー ストリート ３２１ スイート ４００
３２１ Ｓｕｍｍｅｒ Ｓｔｒｅｅｔ，Ｓｕｉｔｅ ４００，Ｂｏｓｔｏｎ，Ｍａｓｓａｃｈｕｓｅｔｔｓ ０２２１０，Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａ
(71)出願人　507069575
ヴェストフェーリッシェ ヴィルヘルムス－ウニヴェルズィテート ミュンスター
Ｗｅｓｔｆａｅｌｉｓｃｈｅ Ｗｉｌｈ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　末梢動脈疾患を治療するための組成物及び方法

(57)【要約】
本開示は、エクトヌクレオチドピロホスファターゼホスホジエステラーゼ－１（ＥＮＰＰ１）剤又はエクトヌクレオチドピロホスファターゼホスホジエステラーゼ－３（ＥＮＰＰ３）を投与することによって、対象における末梢動脈疾患を治療するための組成物及び方法を提供する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
末梢動脈疾患を有する対象を治療するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を前記対象に投与し、それによって、前記対象における前記末梢動脈疾患を治療することを含む、方法。
【請求項２】
末梢動脈疾患を有する対象の末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を前記対象に投与し、それによって、前記対象の前記末梢動脈における前記血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。
【請求項３】
前記対象が、ステージＩＩＩ、ステージＩＶ、又はステージＩＶ、グレードＩＩＩの末梢動脈疾患を有する、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を前記対象に投与し、それによって、前記対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害及び／又は減速することを含む、方法。
【請求項５】
前記対象が、総大腿動脈疾患を有する、請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６】
前記対象が、大腿膝窩疾患を有する、請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７】
前記対象が、脛骨腓骨疾患を有する、請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８】
末梢動脈の手術を必要とする対象の前記末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記対象が、末梢動脈疾患を有し、前記方法が、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を前記対象に投与し、それによって、前記対象における前記末梢動脈の手術部位での前記末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。
【請求項９】
前記薬剤が、手術の前、間、及び／又は後に前記対象に投与される、請求項８に記載の方法。
【請求項１０】
前記手術が、ステントの留置を含む、請求項８又は９に記載の方法。
【請求項１１】
前記対象が、ＥＮＰＰ１の欠乏を有していない、請求項１～１０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、ＥＮＰＰ１ポリペプチドを含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、ＥＮＰＰ１ポリペプチドをコードする核酸を含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、ＥＮＰＰ１ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１５】
前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドが、ＥＮＰＰ１の細胞外ドメインを含む、請求項１２～１４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１６】
前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドが、ＥＮＰＰ１の触媒ドメインを含む、請求項１２～１４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１７】
前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドが、配列番号１のアミノ酸９９～９２５を含む、請求項１２～１４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１８】
前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドが、異種タンパク質を含む、請求項１２～１４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１９】
前記異種タンパク質が、哺乳動物における前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドの循環半減期を増加させる、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
前記異種タンパク質が、イムノグロブリン分子のＦｃ領域である、請求項１８又は１９に記載の方法。
【請求項２１】
前記イムノグロブリン分子が、ＩｇＧ１分子である、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
前記異種タンパク質が、アルブミン分子である、請求項１８又は１９に記載の方法。
【請求項２３】
前記異種タンパク質が、前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドのカルボキシ末端である、請求項１８～２２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２４】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、リンカーを含む、請求項１８～２３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２５】
前記リンカーが、前記ＥＮＰＰ１ポリペプチド及び前記異種タンパク質を分離する、請求項２４に記載の方法。
【請求項２６】
前記リンカーが、以下のアミノ酸配列：（ＧＧＧＧＳ）$_n$を含み、ｎが、１～１０の整数である、請求項２４又は２５に記載の方法。
【請求項２７】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、前記対象に皮下投与される、請求項１～２６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２８】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、前記対象に静脈内投与される、請求項１～２６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２９】
前記対象が、タバコ使用者であるか、高血圧症を有するか、コレステロール値若しくはトリグリセリド値の上昇を有するか、糖尿病であるか、腎疾患を有するか、又は肥満である、請求項１～２８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３０】
末梢動脈血管内のステント留置を受ける対象の前記末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を前記対象に投与し、それによって、前記末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。
【請求項３１】
前記薬剤が、手術の前、間、及び／又は後に前記対象に投与される、請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】

末梢動脈疾患を有する対象を治療するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ３薬剤を前記対象に投与し、それによって、前記対象における前記末梢動脈疾患を治療することを含む、方法。
【請求項３３】
末梢動脈疾患を有する対象の末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ３薬剤を前記対象に投与し、それによって、前記対象の前記末梢動脈における前記血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。
【請求項３４】
前記対象が、ステージＩＩＩ、ステージＩＶ、又はステージＩＶ、グレードＩＩＩの末梢動脈疾患を有する、請求項３２又は３３に記載の方法。
【請求項３５】
対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ３薬剤を前記対象に投与し、それによって、前記対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害及び／又は減速することを含む、方法。
【請求項３６】
前記対象が、総大腿動脈疾患を有する、請求項３２～３５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３７】
前記対象が、大腿膝窩疾患を有する、請求項３２～３５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３８】
前記対象が、脛骨腓骨疾患を有する、請求項３２～３５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３９】
末梢動脈の手術を必要とする対象の前記末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記対象が、末梢動脈疾患を有し、前記方法が、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を前記対象に投与し、それによって、前記対象における前記末梢動脈の手術部位での前記末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。
【請求項４０】
前記薬剤が、手術の前、間、及び／又は後に前記対象に投与される、請求項３９に記載の方法。
【請求項４１】
前記手術が、ステントの留置を含む、請求項３９又は４０に記載の方法。
【請求項４２】
前記対象が、ＥＮＰＰ１の欠乏を有していない、請求項３２～４１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４３】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、ＥＮＰＰ３ポリペプチドを含む、請求項３２～４２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４４】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、ＥＮＰＰ３ポリペプチドをコードする核酸を含む、請求項３２～４２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４５】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、ＥＮＰＰ３ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む、請求項３２～４２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４６】
前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドが、ＥＮＰＰ３の細胞外ドメインを含む、請求項３２～４５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４７】

前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドが、ＥＮＰＰ３の触媒ドメインを含む、請求項３２～４５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４８】
前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドが、配列番号７のアミノ酸４９～８７５を含む、請求項３２～４５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４９】
前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドが、異種タンパク質を含む、請求項３２～４５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５０】
前記異種タンパク質が、哺乳動物における前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドの循環半減期を増加させる、請求項４９に記載の方法。
【請求項５１】
前記異種タンパク質が、イムノグロブリン分子のＦｃ領域である、請求項４９又は５０に記載の方法。
【請求項５２】
前記イムノグロブリン分子が、ＩｇＧ１分子である、請求項５１に記載の方法。
【請求項５３】
前記異種タンパク質が、アルブミン分子である、請求項４９又は５０に記載の方法。
【請求項５４】
前記異種タンパク質が、前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドのカルボキシ末端である、請求項４９～５３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５５】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、リンカーを含む、請求項４９～５３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５６】
前記リンカーが、前記ＥＮＰＰ３ポリペプチド及び前記異種タンパク質を分離する、請求項５５に記載の方法。
【請求項５７】
前記リンカーが、以下のアミノ酸配列：（ＧＧＧＧＳ）$_n$を含み、ｎが、１～１０の整数である、請求項５５又は５６に記載の方法。
【請求項５８】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、前記対象に皮下投与される、請求項３２～５７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５９】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、前記対象に静脈内投与される、請求項３２～５７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６０】
前記対象が、タバコ使用者であるか、高血圧症を有するか、コレステロール値若しくはトリグリセリド値の上昇を有するか、糖尿病であるか、腎疾患を有するか、又は肥満である、請求項３２～５９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６１】
末梢動脈血管内のステント留置を受ける対象の前記末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ３薬剤を前記対象に投与し、それによって、前記末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。
【請求項６２】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、手術の前、間、及び／又は後に前記対象に投与される、請求項３０に記載の方法。
【請求項６３】
コーティングされたステントであって、

血管ステントと、
前記ステント上のコーティングであって、ＥＮＰＰ１薬剤を含む、コーティングと、
前記ＥＮＰＰ１薬剤のための担体と、を含み、
前記コーティングが、前記ＥＮＰＰ１薬剤を前記ステントから１日当たり１～１０μｇ／ｍｌの速度で放出するように構成される、コーティングされたステント。
【請求項６４】
前記コーティングの総重量に基づいて、１重量％～５０重量％の量の前記ＥＮＰＰ１薬剤である、請求項６３に記載のコーティングされたステント。
【請求項６５】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、ＥＮＰＰ１、ＥＮＰＰ１－Ｆｃ、ＥＮＰＰ１－アルブミン、及びＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡからなる群から選択される、請求項６４に記載のコーティングされたステント。
【請求項６６】
前記担体が、前記ＥＮＰＰ１薬剤と非反応性である、請求項６３に記載のコーティングされたステント。
【請求項６７】
前記担体が、前記ＥＮＰＰ１薬剤に物理的に結合されているポリマー担体を含む、請求項６３に記載のコーティングされたステント。
【請求項６８】
前記担体が、前記ＥＮＰＰ１薬剤に化学的に結合されているポリマー担体を含む、請求項６３に記載のコーティングされたステント。
【請求項６９】
前記担体が、ポリマー生分解性担体を含む、請求項６３に記載のコーティングされたステント。
【請求項７０】
前記担体が、非ポリマー担体を含む、請求項６３に記載のコーティングされたステント。
【請求項７１】
前記非ポリマー担体が、ビタミンＥ、ビタミンＥアセテート、ビタミンＥスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油からなる群から選択される、請求項７０に記載のコーティングされたステント。
【請求項７２】
前記担体が、体温で液体である、請求項６３に記載のコーティングされたステント。
【請求項７３】
前記担体が、体温で固体である、請求項６３に記載のコーティングされたステント。
【請求項７４】
コーティングされたステントであって、
血管ステントと、
前記ステント上のコーティングであって、ＥＮＰＰ３薬剤を含む、コーティングと、
前記ＥＮＰＰ３薬剤のための担体と、を含み、
前記コーティングが、前記ＥＮＰＰ３薬剤を前記ステントから１日当たり１～１０μｇ／ｍｌの速度で放出するように構成される、コーティングされたステント。
【請求項７５】
前記コーティングの総重量に基づいて、１重量％～５０重量％の量の前記ＥＮＰＰ３薬剤である、請求項７４に記載のコーティングされたステント。
【請求項７６】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、ＥＮＰＰ３、ＥＮＰＰ３－Ｆｃ、ＥＮＰＰ３－アルブミン、及びＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡからなる群から選択される、請求項７５に記載のコーティングされたステント。
【請求項７７】

前記担体が、前記ＥＮＰＰ３薬剤と非反応性である、請求項７４に記載のコーティングされたステント。
【請求項７８】
前記担体が、前記ＥＮＰＰ３薬剤に物理的に結合されているポリマー担体を含む、請求項７４に記載のコーティングされたステント。
【請求項７９】
前記担体が、前記ＥＮＰＰ３薬剤に化学的に結合されているポリマー担体を含む、請求項７４に記載のコーティングされたステント。
【請求項８０】
前記担体が、ポリマー生分解性担体を含む、請求項７４に記載のコーティングされたステント。
【請求項８１】
前記担体が、非ポリマー担体を含む、請求項７４に記載のコーティングされたステント。
【請求項８２】
前記非ポリマー担体が、ビタミンＥ、ビタミンＥアセテート、ビタミンＥスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油からなる群から選択される、請求項７４に記載のコーティングされたステント。
【請求項８３】
前記担体が、体温で液体である、請求項７４に記載のコーティングされたステント。
【請求項８４】
前記担体が、体温で固体である、請求項７４に記載のコーティングされたステント。
【請求項８５】
末梢動脈疾患を有する対象を治療するための方法であって、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされた動脈ステントを前記対象の動脈に埋め込むことを含み、前記埋め込まれたステントが、前記対象における前記末梢動脈疾患を治療するために有効な量で前記ＥＮＰＰ１薬剤を放出するように構成される、方法。
【請求項８６】
末梢動脈疾患を有する対象の末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記方法が、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされた動脈ステントを前記対象の動脈に埋め込むことを含み、前記埋め込まれたステントが、前記対象の前記末梢動脈における前記血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するために有効な量で前記ＥＮＰＰ１薬剤を放出するように構成される、方法。
【請求項８７】
前記対象が、ステージＩＩＩ、ステージＩＶ、又はステージＩＶ、グレードＩＩＩの末梢動脈疾患を有する、請求項８５又は８６に記載の方法。
【請求項８８】
対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するための方法であって、前記方法が、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされた動脈ステントを前記対象の動脈に埋め込むことを含み、前記埋め込まれたステントが、前記対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するために有効な量で前記ＥＮＰＰ１薬剤を放出するように構成される、方法。
【請求項８９】
前記対象が、総大腿動脈疾患を有する、請求項８５～８８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９０】
前記対象が、大腿膝窩疾患を有する、請求項８５～８８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９１】
前記対象が、脛骨腓骨疾患を有する、請求項８５～８８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項９２】
末梢動脈の手術を必要とする状態を有する対象の前記末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記対象が、末梢動脈疾患を有し、前記方法が、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされた動脈ステントを前記対象の動脈に埋め込むことを含み、前記埋め込まれたステントが、前記対象における前記末梢動脈の手術部位での前記末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するために有効な量で前記ＥＮＰＰ１薬剤を放出するように構成される、方法。
【請求項９３】
前記薬剤が、手術の前、間、及び／又は後に前記対象に投与される、請求項９２に記載の方法。
【請求項９４】
前記手術を必要とする状態が、前記動脈内の非溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する、請求項９２又は９３に記載の方法。
【請求項９５】
前記必要とする状態が、前記ＥＮＰＰ１薬剤以外の治療剤を溶出する前記動脈内の溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する、請求項９２又は９３に記載の方法。
【請求項９６】
前記対象が、ＥＮＰＰ１の欠乏を有していない、請求項８５～９５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９７】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、ＥＮＰＰ１ポリペプチドを含む、請求項８５～９６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９８】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、ＥＮＰＰ１ポリペプチドをコードする核酸を含む、請求項８５～９６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９９】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、ＥＮＰＰ１ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む、請求項８５～９６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１００】
前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドが、ＥＮＰＰ１の細胞外ドメインを含む、請求項９７～９９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０１】
前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドが、ＥＮＰＰ１の触媒ドメインを含む、請求項９７～９９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０２】
前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドが、配列番号１のアミノ酸９９～９２５を含む、請求項９７～９９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０３】
前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドが、異種タンパク質を含む、請求項９７～９９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０４】
前記異種タンパク質が、哺乳動物における前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドの循環半減期を増加させる、請求項１０３に記載の方法。
【請求項１０５】
前記異種タンパク質が、イムノグロブリン分子のＦｃ領域である、請求項１０３又は１０４に記載の方法。
【請求項１０６】
前記イムノグロブリン分子が、ＩｇＧ１分子である、請求項１０５に記載の方法。
【請求項１０７】
前記異種タンパク質が、アルブミン分子である、請求項１０３又は１０４に記載の方法

。
【請求項１０８】
前記異種タンパク質が、前記ＥＮＰＰ１ポリペプチドのカルボキシ末端である、請求項１０３～１０７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０９】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、リンカーを含む、請求項１０３～１０８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１０】
前記リンカーが、前記ＥＮＰＰ１ポリペプチド及び前記異種タンパク質を分離する、請求項１０９に記載の方法。
【請求項１１１】
前記リンカーが、以下のアミノ酸配列：（ＧＧＧＧＳ）$_n$を含み、ｎが、１～１０の整数である、請求項１０９又は１１０に記載の方法。
【請求項１１２】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、前記対象に皮下投与される、請求項８５～１１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１３】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、前記対象に静脈内投与される、請求項８５～１１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１４】
前記対象が、タバコ使用者であるか、高血圧症を有するか、コレステロール値若しくはトリグリセリド値の上昇を有するか、糖尿病であるか、腎疾患を有するか、又は肥満である、請求項８５～１１３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１５】
末梢動脈疾患を有する対象を治療するための方法であって、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされた動脈ステントを前記対象の動脈に埋め込むことを含み、前記埋め込まれたステントが、前記対象における前記末梢動脈疾患を治療するために有効な量で前記ＥＮＰＰ３薬剤を放出するように構成される、方法。
【請求項１１６】
末梢動脈疾患を有する対象の末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記方法が、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされた動脈ステントを前記対象の動脈に埋め込むことを含み、前記埋め込まれたステントが、前記対象の前記末梢動脈における前記血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するために有効な量で前記ＥＮＰＰ３薬剤を放出するように構成される、方法。
【請求項１１７】
前記対象が、ステージＩＩＩ、ステージＩＶ、又はステージＩＶ、グレードＩＩＩの末梢動脈疾患を有する、請求項１１５又は１１６に記載の方法。
【請求項１１８】
対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するための方法であって、前記方法が、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされた動脈ステントを前記対象の動脈に埋め込むことを含み、前記埋め込まれたステントが、前記対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するために有効な量で前記ＥＮＰＰ１薬剤を放出するように構成される、方法。
【請求項１１９】
前記対象が、総大腿動脈疾患を有する、請求項１１５～１１８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２０】
前記対象が、大腿膝窩疾患を有する、請求項１１５～１１８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１２１】
前記対象が、脛骨腓骨疾患を有する、請求項１１５～１１８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２２】
末梢動脈の手術を必要とする状態を有する対象の前記末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記対象が、末梢動脈疾患を有し、前記方法が、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされた動脈ステントを前記対象の動脈に埋め込むことを含み、前記埋め込まれたステントが、前記対象における前記末梢動脈の手術部位での前記末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するために有効な量で前記ＥＮＰＰ３薬剤を放出するように構成される、方法。
【請求項１２３】
前記薬剤が、手術の前、間、及び／又は後に前記対象に投与される、請求項１２２に記載の方法。
【請求項１２４】
前記手術を必要とする状態が、前記動脈内の非溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する、請求項１２２又は１２３に記載の方法。
【請求項１２５】
前記必要とする状態が、前記ＥＮＰＰ３薬剤以外の治療剤を溶出する前記動脈内の溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する、請求項１２２又は１２３に記載の方法。
【請求項１２６】
前記対象が、ＥＮＰＰ１の欠乏を有していない、請求項１１５～１２５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２７】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、ＥＮＰＰ３ポリペプチドを含む、請求項１１５～１２６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２８】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、ＥＮＰＰ１ポリペプチドをコードする核酸を含む、請求項１１５～１２６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２９】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、ＥＮＰＰ３ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む、請求項１１５～１２６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３０】
前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドが、ＥＮＰＰ３の細胞外ドメインを含む、請求項１２７～１２９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３１】
前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドが、ＥＮＰＰ３の触媒ドメインを含む、請求項１２７～１２９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３２】
前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドが、配列番号７のアミノ酸４９～８７５を含む、請求項１２７～１２９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３３】
前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドが、異種タンパク質を含む、請求項１２７～１２９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３４】
前記異種タンパク質が、哺乳動物における前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドの循環半減期を増加させる、請求項１３３に記載の方法。
【請求項１３５】
前記異種タンパク質が、イムノグロブリン分子のＦｃ領域である、請求項１３３又は１３４に記載の方法。
【請求項１３６】

前記イムノグロブリン分子が、ＩｇＧ１分子である、請求項１３５に記載の方法。
【請求項１３７】
前記異種タンパク質が、アルブミン分子である、請求項１３３又は１３４に記載の方法。
【請求項１３８】
前記異種タンパク質が、前記ＥＮＰＰ３ポリペプチドのカルボキシ末端である、請求項１３３～１３７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３９】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、リンカーを含む、請求項１３３～１３８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４０】
前記リンカーが、前記ＥＮＰＰ３ポリペプチド及び前記異種タンパク質を分離する、請求項１３９に記載の方法。
【請求項１４１】
前記リンカーが、以下のアミノ酸配列：（ＧＧＧＧＳ）$_n$を含み、ｎが、１～１０の整数である、請求項１３９又は１４０に記載の方法。
【請求項１４２】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、前記対象に皮下投与される、請求項１１５～１４１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４３】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、前記対象に静脈内投与される、請求項１１５～１４１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４４】
前記対象が、タバコ使用者であるか、高血圧症を有するか、コレステロール値若しくはトリグリセリド値の上昇を有するか、糖尿病であるか、腎疾患を有するか、又は肥満である、請求項１１５～１４３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４５】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、酵素活性を保持するＥＮＰＰ１バリアントを含む、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４６】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、酵素活性を保持するＥＮＰＰ３バリアントを含む、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４７】
前記ＥＮＰＰ１薬剤が、酵素活性を保持するＥＮＰＰ１バリアントを含む、請求項６３～７３のいずれか一項に記載のコーティングされたステント。
【請求項１４８】
前記ＥＮＰＰ３薬剤が、酵素活性を保持するＥＮＰＰ３バリアントを含む、請求項７４～８４のいずれか一項に記載のコーティングされたステント。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
発明の分野
本開示は、血管疾患を治療するための組成物及び方法に関する。
【０００２】
相互参照
本出願は、その内容が参照によりその全体で本明細書に組み込まれる、２０２０年５月２７日に出願された米国出願第６３／０３０，８４０号の優先権を主張する。
【０００３】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子的に提出された配列表を含み、その全体で参照により

本明細書に組み込まれる。２０２１年５月２７日に作成された当該ＡＳＣＩＩコピーは、４４２７－１０２０２＿ｓｅｑｕｅｎｃｅ＿ＳＴ２５．ｔｘｔと名付けられ、３４０キロバイトのサイズである。

【背景技術】

【０００４】

末梢動脈疾患（ＰＡＤ）は、筋肉の灌流及び酸素化の減少につながる、下肢動脈の狭窄及び／又は閉塞によって特徴付けられるアテローム性動脈硬化症に起因して生じる一般的な障害である。症候性ＰＡＤ患者は、運動誘発性虚血に起因して運動中に四肢筋に生じる疲労、不快感、又は疼痛として定義される、間欠性跛行（ＩＣ）の症状を患う。ＰＡＤは、進行性であり、壊死、壊疽、及び四肢切断の必要性につながり得る。ＰＡＤの複雑性及び多因子性起源、並びに筋適応応答の差異により、正確なＰＡＤの病態生理学的機機構は、依然として大部分が不明である。

【０００５】

発明の概要

本開示は、少なくとも部分的に、ＥＮＰＰ１ポリペプチドが、哺乳動物における末梢動脈への外傷後に生じる血管平滑筋細胞の望ましくない増殖を阻害したという驚くべき発見に基づく。実施例に記載されるように、ＥＮＰＰ１－Ｆｃ融合タンパク質の治療効果は、ヨークシャーブタの前もって損傷され、ステント留置された末梢動脈における血管形成術後の狭窄を阻害する能力に関して評価された。ＥＮＰＰ１－ＦｃタンパクＦ質で治療された動物は、ビヒクル対照で治療された動物に対して、ステント留置された深動脈において顕著に低い内膜肥厚を示し、ＥＮＰＰ１が、損傷した末梢動脈における内膜肥厚及び／又は増殖を阻害並びに／若しくは防止することに治療的有用性を有することを実証した。

【０００６】

したがって、一態様では、本開示は、末梢動脈疾患を有する対象を治療するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を対象に投与し、それによって、当該対象における当該末梢動脈疾患を治療する方法を含む、方法に関する。

【０００７】

本開示は、対象の末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を対象に投与し、それによって、当該対象の当該末梢動脈における当該血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法を含む。

【０００８】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ステージＩＩＩ、ステージＩＶ、又はステージＩＶ、グレードＩＩＩの末梢動脈疾患を有する。

【０００９】

本開示はまた、対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を対象に投与し、それによって、当該対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害及び／又は減速することを含む、方法も含む。

【００１０】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、総大腿動脈疾患を有する。

【００１１】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、大腿膝窩疾患を有する。

【００１２】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、脛骨腓骨疾患を有する。

【００１３】

本開示はまた、末梢動脈の手術を受ける対象の当該末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を対象に投与し、それによって、当該対象における当該末梢動脈の手術部位での当該末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法に関する。

【００１４】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤は、当該手術の前、間、及び／又は後に投与される。

【００１５】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術は、ステントの留置を含む。

【００１６】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、ＥＮＰＰ１ポリペプチドを含む。

【００１７】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、酵素活性を保持するＥＮＰＰ１バリアントを含む。

【００１８】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、ＥＮＰＰ１ポリペプチドをコードする核酸を含む。

【００１９】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、ＥＮＰＰ１ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む。

【００２０】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、ＥＮＰＰ１の細胞外ドメインを含む。

【００２１】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、ＥＮＰＰ１の触媒ドメインを含む。

【００２２】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸９９～９２５を含む。

【００２３】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、異種タンパク質を含む。

【００２４】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、哺乳動物におけるＥＮＰＰ１ポリペプチドの循環半減期を増加させる。

【００２５】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、イムノグロブリン分子のＦｃ領域である。

【００２６】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、イムノグロブリン分子は、ＩｇＧ１分子である。

【００２７】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、アルブミン分子である。

【００２８】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、ＥＮＰＰ１ポリペプチドのカルボキシ末端である。

【００２９】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、リンカーを含む。

【００３０】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、ＥＮＰＰ１ポリペプチド及び異種タンパク質を分離する。

【００３１】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、以下のアミノ酸配列：（ＧＧＧＧＳ）$_n$を含み、ｎは、１～１０の整数である。

【００３２】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、対象に皮下投与される。

【００３３】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、対象に静脈内投与される。

【００３４】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、タバコ使用者であるか、高血圧症を有するか、コレステロール値若しくはトリグリセリド値の上昇を有するか、糖尿病であるか、腎疾患を有するか、又は肥満である。

【００３５】

別の態様では、本開示はまた、末梢動脈血管内のステント留置を受ける対象の当該末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を対象に投与し、それによって、当該末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法も含む。

【００３６】

別の態様では、本開示は、末梢動脈血管内のステント留置を受ける対象の当該末梢血管における狭窄若しくは再狭窄を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ１薬剤を対象に投与し、それによって、当該末梢動脈における狭窄若しくは再狭窄を低減及び／又は予防することを含む、方法を特徴とする。

【００３７】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤は、ステント留置の前、間、及び／又は後に投与される。

【００３８】

別の態様では、本開示は、末梢動脈疾患を有する対象を治療するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ３薬剤を対象に投与し、それによって、当該対象における当該末梢動脈疾患を治療する方法を含む、方法を特徴とする。

【００３９】

更に別の態様では、本開示は、末梢動脈疾患を有する対象の末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ３薬剤を対象に投与し、それによって、当該対象の当該末梢動脈における当該血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法を特徴とする。

【００４０】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ステージＩＩＩ、ステージＩＶ、又はステージＩＶ、グレードＩＩＩの末梢動脈疾患を有する。

【００４１】

別の態様では、本開示は、対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ３薬剤を対象に投与し、それによって、当該対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害及び／又は減速することを含む、方法を特徴とする。

【００４２】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、総大腿動脈疾患を有する。
【００４３】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、大腿膝窩疾患を有する。
【００４４】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、脛骨腓骨疾患を有する。
【００４５】
別の態様では、本開示は、末梢動脈の手術を必要とする対象の当該末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、対象が、末梢動脈疾患を有し、方法が、有効量のＥＮＰＰ３薬剤を対象に投与し、それによって、当該対象における当該末梢動脈の手術部位での当該末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法を特徴とする。
【００４６】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤は、当該手術の前、間、及び／又は後に投与される。
【００４７】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術は、ステントの留置を含む。
【００４８】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ＥＮＰＰ１の欠乏を有していない。
【００４９】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、ＥＮＰＰ３ポリペプチドを含む。
【００５０】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、酵素活性を保持するＥＮＰＰ３バリアントを含む。
【００５１】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、ＥＮＰＰ３ポリペプチドをコードする核酸を含む。
【００５２】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、ＥＮＰＰ３ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む。
【００５３】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、ＥＮＰＰ３の細胞外ドメインを含む。
【００５４】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、ＥＮＰＰ３の触媒ドメインを含む。
【００５５】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、配列番号７のアミノ酸４９～８７５を含む。
【００５６】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、異種タンパク質を含む。
【００５７】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク

質は、哺乳動物におけるＥＮＰＰ３ポリペプチドの循環半減期を増加させる。
【００５８】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、イムノグロブリン分子のＦｃ領域である。
【００５９】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、イムノグロブリン分子は、ＩｇＧ１分子である。
【００６０】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、アルブミン分子である。
【００６１】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、ＥＮＰＰ３ポリペプチドのカルボキシ末端である。
【００６２】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、リンカーを含む。
【００６３】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、ＥＮＰＰ３ポリペプチド及び異種タンパク質を分離する。
【００６４】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、以下のアミノ酸配列：（ＧＧＧＧＳ）ｎを含み、ｎは、１～１０の整数である。
【００６５】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、対象に皮下投与される。
【００６６】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、対象に静脈内投与される。
【００６７】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、タバコ使用者であるか、高血圧症を有するか、コレステロール値若しくはトリグリセリド値の上昇を有するか、糖尿病であるか、腎疾患を有するか、又は肥満である。
【００６８】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、閉塞性末梢動脈疾患を有する。
【００６９】
別の態様では、本開示は、末梢動脈血管内のステント留置を受ける対象の当該末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ３薬剤を対象に投与し、それによって、当該末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法を特徴とする。
【００７０】
別の態様では、本開示は、末梢動脈血管内のステント留置を受ける対象の当該末梢血管における狭窄若しくは再狭窄を低減及び／又は予防するための方法であって、有効量のＥＮＰＰ３薬剤を対象に投与し、それによって、当該末梢動脈における狭窄若しくは再狭窄を低減及び／又は予防することを含む、方法を特徴とする。
【００７１】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、ステント留置の前、間、及び／又は後に投与される。
【００７２】
更に別の態様では、本開示は、血管ステントと、ステント上のコーティングであって、

ＥＮＰＰ１薬剤を含む、コーティングと、当該ＥＮＰＰ１薬剤のための担体とを含む、コーティングされたステントを特徴とし、当該コーティングは、当該ＥＮＰＰ１薬剤をステントから１日当たり１～１０μｕｇ／ｍｌの速度で放出するように構成される。

【００７３】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、コーティングの総重量に基づいて、１重量％～５０重量％の量のＥＮＰＰ１薬剤である。

【００７４】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、ＥＮＰＰ１、ＥＮＰＰ１－Ｆｃ、ＥＮＰＰ１－アルブミン、及びＥＮＰＰ１ｍＲＮＡからなる群から選択される。

【００７５】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、酵素活性を保持するＥＮＰＰ１バリアントを含む。

【００７６】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該ＥＮＰＰ１薬剤と非反応性である。

【００７７】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該ＥＮＰＰ１薬剤に物理学的に結合されているポリマー担体を含む。

【００７８】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該ＥＮＰＰ１薬剤に化学的に結合されているポリマー担体を含む。

【００７９】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、ポリマー生分解性担体を含む。

【００８０】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、非ポリマー担体を含む。

【００８１】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、非ポリマー担体は、ビタミンＥ、ビタミンＥアセテート、ビタミンＥスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油からなる群から選択される。

【００８２】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、体温で液体である。

【００８３】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、体温で固体である。

【００８４】

更に別の態様では、本開示は、血管ステントと、ステント上のコーティングであって、ＥＮＰＰ３剤を含む、コーティングと、ＥＮＰＰ３剤のための担体とを含む、コーティングされたステントを特徴とし、当該コーティングは、当該ＥＮＰＰ３薬剤をステントから１日当たり１～１０μｇ／ｍｌの速度で放出するように構成される。

【００８５】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、コーティングの総重量に基づいて、１重量％～５０重量％の量のＥＮＰＰ３薬剤である。

【００８６】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、ＥＮＰＰ３、ＥＮＰＰ３－Ｆｃ、ＥＮＰＰ３－アルブミン、及びＥＮＰＰ３ｍＲＮＡからなる群から選択される。

【００８７】
本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、酵素活性を保持するＥＮＰＰ３バリアントを含む。
【００８８】
本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該ＥＮＰＰ３薬剤と非反応性である。
【００８９】
本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該ＥＮＰＰ３薬剤に物理学的に結合されているポリマー担体を含む。
【００９０】
本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該ＥＮＰＰ３薬剤に化学的に結合されているポリマー担体を含む。
【００９１】
本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、ポリマー生分解性担体を含む。
【００９２】
本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、非ポリマー担体を含む。
【００９３】
本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、非ポリマー担体は、ビタミンＥ、ビタミンＥアセテート、ビタミンＥスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油からなる群から選択される。
【００９４】
本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、体温で液体である。
【００９５】
本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、体温で固体である。
【００９６】
更に別の態様では、本開示は、末梢動脈疾患を有する対象を治療するための方法であって、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされた動脈ステントを当該対象の動脈に埋め込むことを含み、当該埋め込まれたステントが、当該対象における当該末梢動脈疾患を治療するために有効な量で当該ＥＮＰＰ１薬剤を放出するように構成される、方法を特徴とする。
【００９７】
更に別の態様では、本開示は、末梢動脈疾患を有する対象の末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、方法が、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされた動脈ステントを当該対象の動脈に埋め込むことを含み、当該埋め込まれたステントが、当該対象の当該末梢動脈における当該血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するために有効な量で当該ＥＮＰＰ１薬剤を放出するように構成される、方法を特徴とする。
【００９８】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ステージＩＩＩ、ステージＩＶ、又はステージＩＶ、グレードＩＩＩの末梢動脈疾患を有する。
【００９９】
更に別の態様では、本開示は、対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するための方法であって、方法が、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされた動脈ステントを当該対象の動脈に埋め込むことを含み、当該埋め込まれたステントが、当該対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するために有効な量で当該ＥＮＰＰ１薬剤を放

出するように構成される、方法を特徴とする。
【０１００】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、総大腿動脈疾患を有する。
【０１０１】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、大腿膝窩疾患を有する。
【０１０２】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、脛骨腓骨疾患を有する。
【０１０３】
更に別の態様では、本開示は、末梢動脈の手術を必要とする状態を有する対象の当該末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、対象が、末梢動脈疾患を有し、方法が、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされた動脈ステントを当該対象の動脈に埋め込むことを含み、当該埋め込まれたステントが、当該対象における当該末梢動脈の手術部位での当該末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するために有効な量で当該ＥＮＰＰ１薬剤を放出するように構成される、方法を特徴とする。
【０１０４】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤は、当該手術の前、間、及び／又は後に投与される。
【０１０５】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術を必要とする状態は、当該動脈内の非溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する。
【０１０６】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、必要とする状態は、当該ＥＮＰＰ１薬剤以外の治療剤を溶出する当該動脈内の溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する。
【０１０７】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ＥＮＰＰ１の欠乏を有していない。
【０１０８】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、ＥＮＰＰ１ポリペプチドを含む。
【０１０９】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、ＥＮＰＰ１ポリペプチドをコードする核酸を含む。
【０１１０】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、ＥＮＰＰ１ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む。
【０１１１】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、ＥＮＰＰ１の細胞外ドメインを含む。
【０１１２】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、ＥＮＰＰ１の触媒ドメインを含む。
【０１１３】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸９９～９２５を含む。
【０１１４】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、異種タンパク質を含む。

【０１１５】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、哺乳動物におけるＥＮＰＰ１ポリペプチドの循環半減期を増加させる。

【０１１６】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、イムノグロブリン分子のＦｃ領域である。

【０１１７】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、イムノグロブリン分子は、ＩｇＧ１分子である。

【０１１８】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、アルブミン分子である。

【０１１９】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、ＥＮＰＰ１ポリペプチドのカルボキシ末端である。

【０１２０】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、リンカーを含む。

【０１２１】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１ポリペプチド及び異種タンパク質である。

【０１２２】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、以下のアミノ酸配列：（ＧＧＧＧＳ）ｎを含み、ｎは、１～１０の整数である。

【０１２３】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、対象に皮下投与される。

【０１２４】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、対象に静脈内投与される。

【０１２５】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、タバコ使用者であるか、高血圧症を有するか、コレステロール値若しくはトリグリセリド値の上昇を有するか、糖尿病であるか、腎疾患を有するか、又は肥満である。

【０１２６】

更に別の態様では、本開示は、末梢動脈疾患を有する対象を治療するための方法であって、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされた動脈ステントを当該対象の動脈に埋め込むことを含み、当該埋め込まれたステントが、当該対象における当該末梢動脈疾患を治療するために有効な量で当該ＥＮＰＰ３薬剤を放出するように構成される、方法を特徴とする。

【０１２７】

更に別の態様では、本開示は、末梢動脈疾患を有する対象の末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、方法が、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされた動脈ステントを当該対象の動脈に埋め込むことを含み、当該埋め込まれたステントが、当該対象の当該末梢動脈における当該血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するために有効な量で当該ＥＮＰＰ３薬剤を放出するように構成される、方法を特徴とする。

【０１２８】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ステ

ージＩＩＩ、ステージＩＶ、又はステージＩＶ、グレードＩＩＩの末梢動脈疾患を有する。

【０１２９】

更に別の態様では、本開示は、対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するための方法であって、方法が、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされた動脈ステントを当該対象の動脈に埋め込むことを含み、当該埋め込まれたステントが、当該対象においてステージＩＶの末梢動脈疾患へのステージＩＩＩの末梢動脈疾患の進行を阻害又は減速するために有効な量で当該ＥＮＰＰ１薬剤を放出するように構成される、方法を特徴とする。

【０１３０】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、総大腿動脈疾患を有する。

【０１３１】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、大腿膝窩疾患を有する。

【０１３２】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、脛骨腓骨疾患を有する。

【０１３３】

更に別の態様では、本開示は、末梢動脈の手術を必要とする状態を有する対象の当該末梢血管における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、対象が、末梢動脈疾患を有し、方法が、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされた動脈ステントを当該対象の動脈に埋め込むことを含み、当該埋め込まれたステントが、当該対象における当該末梢動脈の手術部位での当該末梢動脈における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するために有効な量で当該ＥＮＰＰ３薬剤を放出するように構成される、方法を特徴とする。

【０１３４】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤は、当該手術の前、間、及び／又は後に投与される。

【０１３５】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術を必要とする状態は、当該動脈における非溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する。

【０１３６】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、必要とする状態は、当該ＥＮＰＰ３薬剤以外の治療剤を溶出する当該動脈内の溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する。

【０１３７】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ＥＮＰＰ１の欠乏を有していない。

【０１３８】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ１薬剤は、ＥＮＰＰ３ポリペプチドを含む。

【０１３９】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、ＥＮＰＰ１ポリペプチドをコードする核酸を含む。

【０１４０】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、ＥＮＰＰ３ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む。

【０１４１】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３ポ

リペプチドは、ＥＮＰＰ３の細胞外ドメインを含む。
【０１４２】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、ＥＮＰＰ３の触媒ドメインを含む。
【０１４３】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、配列番号７のアミノ酸４９～８７５を含む。
【０１４４】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、異種タンパク質を含む。
【０１４５】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、哺乳動物におけるＥＮＰＰ３ポリペプチドの循環半減期を増加させる。
【０１４６】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、イムノグロブリン分子のＦｃ領域である。
【０１４７】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、イムノグロブリン分子は、ＩｇＧ１分子である。
【０１４８】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、アルブミン分子である。
【０１４９】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、ＥＮＰＰ３ポリペプチドのカルボキシ末端である。
【０１５０】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、リンカーを含む。
【０１５１】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、ＥＮＰＰ３ポリペプチド及び異種タンパク質を分離する。
【０１５２】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、以下のアミノ酸配列：（ＧＧＧＧＳ）ｎを含み、ｎは、１～１０の整数である。
【０１５３】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、対象に皮下投与される。
【０１５４】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＥＮＰＰ３薬剤は、対象に静脈内投与される。
【０１５５】
本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、タバコ使用者であるか、高血圧症を有するか、コレステロール値若しくはトリグリセリド値の上昇を有するか、糖尿病であるか、腎疾患を有するか、又は肥満である。
【０１５６】
本開示の他の特徴及び利点は、以下の発明を実施するための形態及び特許請求の範囲から明らかであろう。
【図面の簡単な説明】
【０１５７】
【図１】ステント埋め込み後１４日目及び４２日目に血管造影によって捕捉された代表的

な深動脈画像の一連の写真である。２つの対照画像は、１４日目の血管の形態に対して、４２日目の内膜増殖に起因する深動脈の狭小化を例証する。対照的に、ＥＮＰＰ１－Ｆｃで治療された動物では、深動脈形態の可視的な変化が１４日目～４２日目にほとんど観察されなかった。血管内のステントの上方及び下方境界は、各写真内で長方形によって識別される。

【図２】ステント埋め込み後１４日目及び４２日目に光干渉断層撮影（ＯＣＴ）によって捕捉された代表的な深動脈画像の一連の写真である。２つの対照画像は、１４日目の血管の形態に対して、４２日目の深動脈内の顕著な内膜肥厚を例証する。対照的に、ＥＮＰＰ１－Ｆｃで治療された動物では、可視的な内膜肥厚が１４日目～４２日目にほとんど観察されなかった。狭窄の程度は、４２日目の写真で強調されている。

【図３】ＯＣＴによって測定される、ＥＮＰＰ１－Ｆｃで治療されたブタ（治療）又はビヒクル対照を与えられたブタ（対照）の深動脈における１４日目及び４２日目の狭窄の面積率を描写する、棒グラフである。

【図４Ａ】コーティングされていないステントの存在下で再狭窄を経験している動脈の断面図である。内皮１２は、通常、平滑筋細胞１４の層と動脈内腔２０との間の固体障壁として機能する。内皮１２の小さな亀裂１６は、平滑筋細胞１４を露出させ得、次いで、動脈内腔２０内へ移動し、動脈１０内の血管形成術などの手順６０の間に、動脈内腔２０を開いたままにするために、コーティングされていないステント２１が留置されていても、部分的に又は完全に内腔２０を閉塞し得る、塊１８に過増殖し得る。

【図４Ｂ】コーティングされたステント２２を含む動脈１０の断面図である。ステントは、担体と、再狭窄を阻害及び／又は予防するＥＮＰＰ１薬剤６５などの生物活性化合物とを含有する、コーティング２４を有する。このコーティング２４を有するステントを使用することにより、内皮１２における図４Ａに示される亀裂１６は、低減又は排除され得る。加えて、図４Ａに示されるような平滑筋細胞１４の増殖によって作成された塊１８は、排除されるか、又は実質的に低減される。

【発明を実施するための形態】

【０１５８】

定義

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似又は同等である任意の方法及び材料を、本開示の実践又は試験に使用することができるが、好ましい方法及び材料が記載される。

【０１５９】

明確にするために、「ＮＰＰ１」及び「ＥＮＰＰ１」は、同じタンパク質を指し、本明細書では同義的に使用される。本明細書で使用される場合、「ＥＮＰＰ１タンパク質」又は「ＥＮＰＰ１ポリペプチド」という用語は、ＡＴＰを切断してＰＰｉを生成することが可能であり、また、軟部組織における異所性石灰化も低減する、ＥＮＰＰ１遺伝子によってコードされるエクトヌクレオチドピロホスファターゼ／ホスホジエステラーゼ－１タンパク質を指す。

【０１６０】

ＥＮＰＰ１タンパク質は、ＩＩ型膜貫通糖タンパク質であり、ヌクレオチド及びヌクレオチド糖のホスホジエステル結合、並びにヌクレオチド及びヌクレオチド糖のピロホスファート結合を含む、様々な基質を切断する。ＥＮＰＰ１タンパク質は、膜貫通ドメイン及び可溶性細胞外ドメインを有する。細胞外ドメインは、ソマトメジンＢドメイン、触媒ドメイン、及びヌクレアーゼドメインに更に細分される。野生型ＥＮＰＰ１の配列及び構造は、参照によりその全体で本明細書に組み込まれる、Ｂｒａｄｄｏｃｋ，ｅｔ　ａｌ．のＰＣＴ出願公開第２０１４／１２６９６５号に詳細に説明されている。

【０１６１】

本明細書で使用される場合のＥＮＰＰ１ポリペプチドは、ＥＮＰＰ１酵素活性を呈するポリペプチド、ＥＮＰＰ１酵素活性を保持するＥＮＰＰ１の変異体、ＥＮＰＰ１の断片、

又はＥＮＰＰ１酵素活性を呈する欠失バリアントを含むＥＮＰＰ１のバリアントを包含する。ＥＮＰＰ１酵素活性は、以下に記述されるように、アデノシン三リン酸（ＡＴＰ）を血漿ピロホスファート（ＰＰｉ）に切断するＥＮＰＰ１ポリペプチドの能力を指す。

【０１６２】

本明細書で使用される場合のＥＮＰＰ３ポリペプチドは、ＡＴＰ切断酵素活性を呈するポリペプチド、ＡＴＰ切断酵素活性を保持するＥＮＰＰ３の変異体、ＡＴＰ切断酵素活性を呈する欠失バリアントを含むＮＰＰ３の断片又はＮＰＰ３のバリアントを包含する。ＡＴＰ切断酵素活性は、以下に記述されるように、アデノシン三リン酸（ＡＴＰ）を血漿ピロホスファート（ＰＰｉ）に切断するＥＮＰＰ３ポリペプチドの能力を指す。

【０１６３】

ＥＮＰＰ１及びＥＮＰＰ３ポリペプチド、変異体、又はその変異体断片のいくつかの例は、国際ＰＣＴ出願公開第２０１４／１２６９６５－Ｂｒａｄｄｏｃｋ ｅｔ ａｌ．、同第２０１６／１８７４０８－Ｂｒａｄｄｏｃｋ ｅｔ ａｌ．、同第２０１７／０８７９３６－Ｂｒａｄｄｏｃｋ ｅｔ ａｌ．、及び同第２０１８／０２７０２４－Ｂｒａｄｄｏｃｋ ｅｔ ａｌ．で以前に開示されており、その全ては、参照によりそれらの全体で本明細書に組み込まれる。

【０１６４】

ＥＮＰＰ１ポリペプチド又はＥＮＰＰ３ポリペプチドに関する酵素的に活性」は、ＡＴＰ加水分解活性をＡＭＰ及びＰＰｉに処理すること、並びに／又はＡＤＰ及びＡＭＰへのＡＰ３ａ加水分解として定義される。ＮＰＰ１及びＮＰＰ３は、ＡＴＰをＡＭＰ及びＰＰｉに容易に加水分解する。ＮＰＰ１の定常状態のミカエリス－メンテン酵素定数は、ＡＴＰを基質として使用して決定される。ＮＰＰ１は、酵素反応のＨＰＬＣ分析によってＡＴＰを切断することが示され得、反応の基質及び生成物の同一性は、ＡＴＰ、ＡＭＰ、及びＡＤＰ標準を使用して確認される。ＡＴＰ基質は、ＮＰＰ１の存在下で経時的に分解し、酵素産物ＡＭＰの蓄積を伴う。ＡＴＰ基質の様々な濃度を使用して、ＮＰＰ１の初期速度の速度は、ＡＴＰの存在下で導出され、データは、酵素速度定数を導出するために曲線に適合される。生理学的ｐＨでは、ＮＰＰ１の運動速度定数は、Ｋｍ＝１４４μＭ及びｋｃａｔ＝７．８s^{-1}である。

【０１６５】

本明細書で使用される場合、「血漿ピロホスファート（ＰＰｉ）レベル」という用語は、動物の血漿中に存在するピロリン酸塩の量を指す。ある特定の実施形態では、動物には、ラット、マウス、ネコ、イヌ、ヒト、ウシ、及びウマが含まれる。ＰＰｉを測定するにはいくつかの方法があり、そのうちの１つは、修飾を伴うウリジン－ジホスホグルコース（ＵＤＰＧ）ピロホスホリラーゼ（Ｌｕｓｔ ＆ Ｓｅｅｇｍｉｌｌｅｒ，１９７６，Ｃｌｉｎ．Ｃｈｉｍ．Ａｃｔａ ６６：２４１－２４９；Ｃｈｅｕｎｇ ＆ Ｓｕｈａｄｏｌｎｉｋ，１９７７，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．８３：６１－６３）を使用した酵素アッセイによるものである。

【０１６６】

典型的には、健康なヒト対象における血漿ＰＰｉレベルは、約１μｍ～約３μＭの範囲であり、いくつかの場合では、１～２μｍである。ＥＮＰＰ１発現欠損を有する対象は、正常なレベルより少なくとも１０％下回る、正常なレベルより少なくとも２０％下回る、正常なレベルより少なくとも３０％下回る、正常なレベルより少なくとも４０％下回る、正常なレベルより少なくとも５０％下回る、正常なレベルより少なくとも６０％下回る、正常なレベルより少なくとも７０％下回る、正常なレベルより少なくとも８０％下回る、及びそれらの組み合わせの範囲である、低ｐｐｉレベルを呈する傾向がある。乳児全身性動脈石灰化（ＧＡＣＩ）に罹患した患者では、ｐｐｉレベルは、１μｍ未満であることが見出され、いくつかの場合では、検出レベルを下回る。弾性線維性仮性黄色腫（ＰＸＥ）に罹患した患者では、ｐｐｉレベルは、０．５μｍを下回る。（Ａｒｔｅｒｉｏｓｃｌｅｒ Ｔｈｒｏｍｂ Ｖａｓｃ Ｂｉｏｌ．２０１４ Ｓｅｐ；３４（９）：１９８５－９；Ｂｒａｄｄｏｃｋ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｃｏｍｍｕｎ．２０１５；６：１０００６．）

【０１６７】
本明細書で使用される場合、「ＰＰｉ」という用語は、無機ピロリン酸塩を指す。
【０１６８】
本明細書で使用される場合、「改変」、「欠陥」、「変動」、又は「変異」という用語は、ミスセンス及びナンセンス変異、挿入、欠失、フレームシフト、並びに未成熟終止を含む、それがコードするポリペプチドの機能、活性、発現（転写若しくは翻訳）、又は立体配座に影響を及ぼす、細胞内の遺伝子の変異を指す。
【０１６９】
本明細書で使用される場合、「ＥＮＰＰ１前駆体タンパク質」という用語は、ＥＮＰＰ１　Ｎ末端にそのシグナルペプチド配列を有するＥＮＰＰ１ポリペプチドを指す。タンパク質分解時に、シグナル配列は、ＥＮＰＰ１から切断され、ＥＮＰＰ１タンパク質を提供する。本開示内で有用なシグナルペプチド配列としては、これらに限定されないが、アルブミンシグナル配列、アズロシジンシグナル配列、ＥＮＰＰ１シグナルペプチド配列、ＥＮＰＰ２シグナルペプチド配列、ＥＮＰＰ７シグナルペプチド配列、及び／又はＥＮＰＰ５シグナルペプチド配列が挙げられる。
【０１７０】
本明細書で使用される場合、「ＥＮＰＰ３前駆体タンパク質」という用語は、ＥＮＰＰ３　Ｎ末端にそのシグナルペプチド配列を有するＥＮＰＰ３を指す。タンパク質分解時に、シグナル配列は、ＥＮＰＰ３から切断され、ＥＮＰＰ３タンパク質を提供する。本開示内で有用なシグナルペプチド配列としては、これらに限定されないが、アルブミンシグナルペプチド配列、アズロシジンシグナルペプチド配列、ＥＮＰＰ１シグナルペプチド配列、ＥＮＰＰ２シグナルペプチド配列、ＥＮＰＰ７シグナルペプチド配列、及び／又はＥＮＰＰ５シグナルペプチド配列が挙げられる。
【０１７１】
本明細書で使用される場合、「アズロシジンシグナルペプチド配列」という用語は、ヒトアズロシジンに由来するシグナルペプチドを指す。カチオン性抗微生物タンパク質ＣＡＰ３７又はヘパリン結合タンパク質（ＨＢＰ）としても知られるアズロシジンは、ヒトにおいてＡＺＵ１遺伝子によってコードされるタンパク質である。アズロシンシグナルペプチドＭＴＲＬＴＶＬＡＬＬＡＧＬＬＡＳＳＲＡ（配列番号４２）をコードするヌクレオチド配列は、コードされると、ＥＮＰＰ１前駆体タンパク質又はＥＮＰＰ３前駆体タンパク質を生成する、ＮＰＰ１又はＮＰＰ３遺伝子のヌクレオチド配列と融合される。（Ｏｐｔｉｍｉｚｅｄ ｓｉｇｎａｌ ｐｅｐｔｉｄｅｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ｏｆ ｈｉｇｈ ｅｘｐｒｅｓｓｉｎｇ ＣＨＯ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅｓ，Ｋｏｂｅｒ ｅｔ ａｌ.，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ Ｂｉｏｅｎｇ．２０１３ Ａｐｒ；１１０（４）：１１６４－７３）
【０１７２】
本明細書で使用される場合、「ＥＮＰＰ１－Ｆｃ構築物」という用語は、ＩｇＧ分子（好ましくは、ヒトＩｇＧ）のＦｃＲ結合ドメインに（共有結合及び非共有結合の両方を含む）組換え融合及び／又は化学的にコンジュゲートされたＥＮＰＰ１（例えば、ＥＮＰＰ１の細胞外ドメイン）を指す。ある特定の実施形態では、ＥＮＰＰ１のＣ末端は、ＦｃＲ結合ドメインのＮ末端に融合又はコンジュゲートされる。
【０１７３】
本明細書で使用される場合、「ＥＮＰＰ３－Ｆｃ構築物」という用語は、ＩｇＧ分子（好ましくは、ヒトＩｇＧ）のＦｃＲ結合ドメインに（共有結合及び非共有結合の両方を含む）組換え融合及び／又は化学的にコンジュゲートされたＥＮＰＰ３を指す。ある特定の実施形態では、ＥＮＰＰ１のＣ末端は、ＦｃＲ結合ドメインのＮ末端に融合又はコンジュゲートされる。
【０１７４】
本明細書で使用される場合、「Ｆｃ」という用語は、ヒトＩｇＧ（イムノグロブリン）Ｆｃドメインを指す。ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４などのＩｇＧのサブ

タイプは、Ｆｃドメインとして使用するために企図される。「Ｆｃ領域又はＦｃポリペプチド」は、ＩｇＧ分子のパパイン消化により得られた結晶性断片と相関するＩｇＧ分子の部分である。Ｆｃ領域は、ジスルフィド結合によって連結されるＩｇＧ分子の２つの重鎖のＣ末端の半分を含む。抗原結合活性はないが、ＦｃＲｎ受容体を含む相補体及びＦｃ受容体の炭水化物部分及び結合部位を含む。Ｆｃ断片は、第２の定常ドメインＣＨ２全体（ＫａｂａｔナンバリングシステムによるヒトイｇＧ１の残基２３１～３４０）及び第３の定常ドメインＣＨ３（残基３４１～４４７）を含む。「ＩｇＧヒンジ－Ｆｃ領域」又は「ヒンジ－Ｆｃ断片」という用語は、Ｆｃ領域（残基２３１～４４７）及びＦｃ領域のＮ末端から延びるヒンジ領域（残基２１６～２３０）からなるＩｇＧ分子の領域を指す。「定常ドメイン」という用語は、イムノグロブリンの他の部分、抗原結合部位を含む可変ドメインに対して、より保存されたアミノ酸配列を有するイムノグロブリン分子の部分を指す。定常ドメインは、重鎖のＣＨ１、ＣＨ２、及びＣＨ３ドメイン、並びに軽鎖のＣＨＬドメインを含む。

【０１７５】

本明細書で使用される場合、「機能的等価バリアント」という用語は、本明細書で使用される場合、ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３（上記で定義される）の配列に対して実質的に相同であり、かつそれぞれＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３の酵素及び生物学的活性を保持するポリペプチドに関する。バリアントが天然のＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３の生物学的活性を保持するかどうかを決定する方法は、当業者に広く知られており、当該出願の実験部分で使用されるアッセイのうちのいずれかを含む。特に、ウイルスベクターによって送達されるＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３の機能的等価バリアントは、本開示によって包含される。

【０１７６】

ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３の機能的等価バリアントは、それぞれ天然のＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３に対して実質的に相同であるポリペプチドである。「実質的に相同」という表現は、当該タンパク質配列が、それぞれ、上記に記載されるＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３配列に関して少なくとも８０％、少なくとも８５％、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％、又は少なくとも９９％の同一性の程度を有し、ＡＴＰ切断に関して野生型ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３タンパク質の少なくとも５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、又は９０％の活性を依然として保持している、タンパク質配列に関する。

【０１７７】

２つのポリペプチド間の同一性の程度は、当業者に広く知られているコンピュータアルゴリズム及び方法を使用して決定される。２つのアミノ酸配列間の同一性は、好ましくは、ＢＬＡＳＴＰアルゴリズム（ＢＬＡＳＴ Ｍａｎｕａｌ，Ａｌｔｓｃｈｕｌ，Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，ＮＣＢＩ ＮＬＭ ＮＩＨ Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．２０８９４，Ａｌｔｓｃｈｕｌ，Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０（１９９０））を使用することによって決定されるが、他の類似のアルゴリズムも使用することができる。ＢＬＡＳＴ及びＢＬＡＳＴ ２．０は、本明細書に記載されるパラメータを用いて、配列同一性パーセントを決定するために使用される。ＢＬＡＳＴ解析を行うためのソフトウェアは、アメリカ国立生物工学情報センターを通じて公開されている。

【０１７８】

ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３の「機能的等価バリアント」は、それぞれ、ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３を産生するために使用される宿主細胞中のコドン選好を説明するポリヌクレオチド内のヌクレオチドを置き換えることによって得ることができる。そのような「コドン最適化」は、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｐａｃｋａｇｅ Ｖｅｒｓｉｏｎ ９．０（Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，Ｍａｄｉｓｏｎ，Ｗｉｓ．）によって提供されるコドン選好の「Ｈｕｍａｎ ｈｉｇｈ．ｃｏｄ」などのコドン出現頻度表を組み込むコンピュータアルゴリズムを介して決定され得る。ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドのバリアントは、ＡＴＰ切断に関して野生型ＥＮＰＰ１

又はＥＮＰＰ３タンパク質の少なくとも５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、又は９０％の活性を保持することが予期される。

【０１７９】

本明細書で使用される場合、「野生型」という用語は、天然発生型起源から単離された遺伝子又は遺伝子産物を指す。野生型遺伝子は、集団で最も頻繁に観察され、したがって、ヒトＮＰＰ１遺伝子又はＮＰＰ３遺伝子の「正常」又は「野生型」形態を任意に設計される。対照的に、「機能的等価」という用語は、野生型遺伝子又は遺伝子産物と比較すると、配列及び／又は機能的特性（すなわち、改変された特性）の修飾を示す、ＮＰＰ１若しくはＮＰＰ３遺伝子又は遺伝子産物を指す。天然発生型変異体を単離することができ、これらは、野生型遺伝子又は遺伝子産物と比較すると、改変した特徴（改変した核酸配列を含む）を有するという事実によって識別される。

【０１８０】

本明細書で使用される場合の「約」は、量、時間的期間、及び同等物などの測定可能な値を指すときに、指定された値からの＋２０％又は＋１０％、より好ましくは＋５％、更により好ましくは＋１％、なおもより好ましくは＋０．１％の変動を包含するように意図されており、そのような変動は、開示される方法を実施するために適切である。

【０１８１】

本明細書で定義されるように、「部分」という用語は、ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドに共有結合又は非共有結合され、かつそれが付着しているタンパク質に所望の特性を付与する能力を有する、化学成分又は生体分子を指す。例えば、部分という用語は、ポリアスパラギン酸若しくはポリグルタミン酸（４～２０個の連続的なａｓｐ又はｇｌｕ残基）などの骨標的化ペプチド、又はＥＮＰＰ１若しくはＥＮＰＰ３ポリペプチドの半減期を延長する分子を指すことができる。部分のいくつかの他の例には、Ｆｃ、アルブミン、トランスフェリン、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ホモ－アミノ酸ポリマー（ＨＡＰ）、プロリン－アラニン－セリンポリマー（ＰＡＳ）、エラスチン様ペプチド（ＥＬＰ）、及びゼラチン様タンパク質（ＧＬＫ）が含まれる。

【０１８２】

本明細書で定義されるように、「対象」、「個体」、又は「患者」という用語は、好ましくは、乳児全身性動脈石灰化（ＧＡＣＩ）、２型常染色体劣性低リン血症性くる病（ＡＲＨＲ２）、乳児特発性動脈石灰化（ＩＩＡＣ）、後縦靭帯骨化症（ＯＰＬＬ）、低リン血症性くる病、変形性関節炎、アテローム性動脈硬化性プラークの石灰化、遺伝型及び非遺伝型の変形性関節炎、強直性脊椎炎、老化に伴って生じる動脈の硬化、末期腎疾患及び早老症から生じるカルシフィラキシスなどの病理学的石灰化及び病理学的骨化をもたらす機能喪失変異などのＮＰＰ１遺伝子の機能喪失変異を保有していないヒトを指す。そのような患者は、健康な対象における正常なレベルの血漿ピロホスファート（ＰＰｉ）を維持するために必要とされるＮＰＰ１タンパク質の量を指す、血清中の正常なレベルのＮＰＰ１を有するであろう。正常なレベルのＰＰｉは、２～３μＭに対応する。

【０１８３】

本明細書で定義されるように、「中膜面積」という語句は、動脈の外弾性板と内弾性板との間の面積である。

【０１８４】

本明細書で定義されるように、「内膜面積」という用語及び当該内膜面積は、当該内弾性板と動脈の内腔との間の面積である。

【０１８５】

本明細書で定義されるように、「外弾性板」という語句は、動脈の中膜の平滑筋のすぐ外側に横たわる弾性結合組織の層を指す。

【０１８６】

本明細書で定義されるように、「内弾性板」という語句は、血管の内膜の最も外側の部分を形成する弾性組織の層を指す。

【０１８７】

本明細書で定義されるように、「内腔」という語句は、血流が生じる動脈、静脈、又は毛細血管の中央腔などの血管の内部を指す。

【０１８８】

本明細書で定義されるように、「手術」という語句は、メス切開又は高周波アブレーション又は冷凍アブレーション又はレーザーアブレーションによって組織損傷をもたらす血管介入を伴う、侵襲的医療処置を指す。

【０１８９】

本明細書で定義されるように、「組織損傷」という語句は、ステント留置又は血管形成術などの経皮的血管介入後に再狭窄をもたらす動脈壁の肥厚及び動脈内腔空間の減少を最終的にもたらす、血管平滑筋の増殖又は増殖及び移動の発生を指す。

【０１９０】

本明細書で定義されるように、語句「ＮＰＰ１が欠乏している」又は「ＥＮＰＰ１欠乏」は、ＮＰＰ１タンパク質の正常な血清レベル又はＮＰＰ１の正常な活性に対するＮＰＰ１タンパク質の量又はＮＰＰ１活性の減少を指し、そのような低減は、病理学的石灰化及び／又は病理学的骨化の疾患若しくは障害をもたらす。そのような病理学的疾患は、ＧＡＣＩ及びＡＲＨＲ２を含むが、これらに限定されない。本明細書で使用される場合のＥＮＰＰ１欠乏は、病理学的石灰化及び／又は病理学的骨化の疾患若しくは障害をもたらさない、ＮＰＰ１タンパク質の量及び／又はＮＰＰ１活性のわずかな低減を指さない。

【０１９１】

本明細書で定義されるように、「血管外傷」という語句は、血管、すなわち、血液を四肢又は器官に運ぶ動脈、又は血液を心臓に戻す静脈の損傷を指す。血管損傷はまた、血管バイパス手術などの侵襲的処置によっても引き起こされ得る。

【０１９２】

本明細書で定義されるように、「偶発的外傷」という語句は、血管が穿刺、断裂、又は切断されたときに生じる物理的な力の行使又は穿通性損傷に起因して、血管が破砕又は伸張されたときに生じる、鈍的損傷による動脈などの血管を指す。鈍的損傷は、ボクシングなどの物理的改変の間に生じ、穿通性損傷は、ナイフなどの鋭利な物体又は弾傷に起因して生じる。外傷又は損傷は、放射線、ウイルス性感染症、免疫複合体の発生、及び高脂血症などの異なる要因によって引き起こされ得る。

【０１９３】

本明細書で定義されるように、「再狭窄」という語句は、狭窄の再発を指す。狭窄は、制限された血流をもたらす、血管の狭小化を指す。再狭窄は通常、狭小化し、閉塞を除去する治療を受けており、後に再狭小化する、動脈又は他の大血管に関連する。再狭窄は、超音波、Ｘ線コンピュータ断層撮影（ＣＴ）、核撮像、光学的撮像若しくは造影画像、又は免疫組織化学的検出のうちの１つ以上を使用することによって一般的に検出される。

【０１９４】

本明細書で定義されるように、「筋内膜増殖」という語句は、個体の動脈壁の内膜で生じる血管平滑筋細胞の増殖を指す。

【０１９５】

本明細書で使用される場合、「ＥＮＰＰ１断片」という用語は、タンパク質形態で、又はそれをコードする核酸の形態で投与される少なくともＥＮＰＰ１触媒ドメインを有する、ＥＮＰＰ１タンパク質の断片若しくは一部、又は完全長ＮＰＰ１の活性部分配列を指す。

【０１９６】

本明細書で使用される場合、「ＥＮＰＰ１薬剤」という用語は、アデノシン三リン酸（ＡＴＰ）の切断により血漿ピロホスファート（Ｐｐｉ）を産生することが可能な少なくとも触媒ドメインを含むＥＮＰＰ１ポリペプチド若しくは融合タンパク質若しくはＥＮＰＰ１断片、又はＡＴＰ若しくはそれをコードするポリヌクレオチドを含むウイルスベクターなどのベクターの酵素切断によりＰＰｉを産生することが可能な少なくとも触媒ドメインを含むＥＮＰＰ１融合タンパク質若しくはＥＮＰＰ１断片をコードするｃＤＮＡ若しくは

ＲＮＡなどのポリヌクレオチドを指す。
【０１９７】
本明細書で使用される場合、「アブレーション」という用語は、身体部分若しくは組織又はその機能の除去又は破壊を指す。アブレーションは、手術、ホルモン、薬物、高周波、熱によって実施され得る。
【０１９８】
本明細書で使用される場合、「筋内膜の増殖を低減又は予防する」という語句は、組織損傷部位での増殖血管平滑筋細胞のレベルを低減し、それによって、動脈壁の肥厚を低減し、動脈の再狭窄の発生を予防するか、又はそのレベルを低減する、投与時の可溶性ＮＰＰ１の能力を指す。
【０１９９】
本明細書で使用される場合、「非外科的組織損傷」という用語は、鈍力又はナイフなどの鋭利な物体の使用を伴う暴行、高所からの落下などの機械的損傷、重機による労働災害、又は自動車事故などの車両による損傷を含むがこれらに限定されない、外傷事象中に組織又は血管に負った損傷を指す。
【０２００】
本明細書で使用される場合、「ステント」という用語は、治癒を助けるか、又は閉塞を緩和するか、又は通路の狭小化を防止するために、血管、管、又は導管の内側に留置された管状支持体を指す。ステントは一般に、金属（例：ステンレス鋼、コバルト合金、ニッケル－チタン合金、マンガン合金、モリブデン合金、白金合金、タングステン合金）又はポリマー（例：シリコーン）から作製される拡張可能なメッシュコイルを含む。
【０２０１】
本明細書で使用される場合、「血管ステント」という用語は、治癒を助けるか、又は閉塞を緩和するか、又は動脈経路の狭小化を防止するために、哺乳動物の動脈又は静脈の内側に留置された管状支持体を指す。
【０２０２】
本明細書で使用される場合、「コーティングされたステント」又は「溶出性ステント」という用語は、埋め込み部位でステント表面（内部又は外部）から徐々に溶出するし、それによって、治療的緩和を提供する、タンパク質、化学化合物、又は核酸などの治療用分子でコーティングされたステントを指す。ＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤などの治療用分子は、金属ステントに直接結合することができ、一部は、展開中の薬物保持及びステント上の均一な分布を確実にするために薬物リザーバーとして作用するマトリックスポリマーに接合される。ステント上にコーティングされたポリマーの種類、組成物、及び設計は、その場での埋め込み後の数週間又は数ヵ月の期間にわたる薬物の持続放出の溶出動態を指図する。コーティング材料は、有機物対無機物、生物分解可能物対非生物分解可能物、及び合成物対自然発生型物質に分類することができる。
【０２０３】
本明細書で使用される場合、「コーティング」という用語は、ステントをコーティングするためのＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤と併せて使用されるポリマー担体を含む組成物を指す。コーティングは、ポリマーマトリックス中に懸濁されたＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤を含むスプレー又は乾燥フィルムの形態で適用され得る。ポリマー担体は、ＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤のためのポリマーマトリックス又は支持体を提供するために十分な量である。ポリマーは、好ましくは、ＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤と非反応性であり、すなわち、２つが混合されたときに化学反応が生じない。
【０２０４】
本明細書で使用される場合、「溶媒」という用語は、その最も広く認識されている定義に従って定義され、担体（ポリマー）及びＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤が、室温又は２０℃～４０℃で完全に又は部分的に溶解して、コーティング組成物を形成することができる、任意の材料を含む。滅菌二重蒸留水は、好ましい溶媒である。
【０２０５】

本明細書で使用される場合、「損傷部位」という用語は、脂質、コレステロール、カルシウム、並びに平滑筋細胞及び血小板などの様々な種類の細胞のうちの１つ以上の蓄積により、血液又は脊髄液の流れが収縮する、血管系内の領域を指す。損傷部位は、心臓カテーテル法を使用することによって一般的に識別される。心臓カテーテル法の間、カテーテルと呼ばれる長くて狭いチューブが、プラスチックのイントロデューサシース（腕又は脚の血管に挿入される短い中空のチューブ）を通して挿入される。カテーテルは、Ｘ線装置の助けにより血管を通して冠動脈に誘導される。造影剤が、カテーテルを通して注射され、造影剤が心臓の腔、弁、及び主要な血管を通過すると、Ｘ線画像（冠動脈造影）が作成される。造影剤のデジタル写真は、冠動脈の狭小化又は閉塞の部位を識別するために使用される。血管内超音波（ＩＶＵＳ）及び心筋血流予備量比（ＦＦＲ）と呼ばれる追加の撮像手順が、血管の壁の詳細な画像を取得するために、いくつかの場合では心臓カテーテル法とともに実施され得る。

【０２０６】

本明細書で使用される場合、「移植部位」は、ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３でコーティングされたステントが血管系に埋め込まれる領域を指す。本発明のコーティングされたステントは、組織損傷部位の中心に、組織損傷部位にすぐ隣接して、又は組織損傷部位の中心から片側２００μｍ以内に留置され得る。

【０２０７】

本明細書で使用される場合、「心筋梗塞」という用語は、動脈の内壁内のプラークの形成に起因して生じ、心臓への血流の低減をもたらし、酸素供給の不足により心筋を損傷する、心筋への永久的な損傷を指す。ＭＩの症状には、左腕から首まで移動する胸痛、息切れ、発汗、悪心、嘔吐、異常な心臓の鼓動、不安、疲労、脱力、ストレス、うつ病、及び他の要因が含まれる。

【０２０８】

本明細書で使用される場合、「鈍力外傷」という用語は、衝撃、損傷、又は物理的攻撃若しくは高速衝撃のいずれかによる、身体部分への物理的外傷を指す。鈍的外傷は、挫傷、擦過傷、裂傷、及び／又は骨折につながり得る。

【０２０９】

本明細書で使用される場合、「非外科的組織損傷」又は「穿通性外傷」という用語は、発射物又はナイフなどの物体が身体の組織に進入し、開放創傷を生じたときに生じる、身体部分の外傷を指す。

【０２１０】

本明細書で使用される場合、「メス切開」という用語は、外科的処置中にメスなどの鋭利な物体を使用して組織に行われた切開を指す。切開は、外科的処置を実施することができるように、下層組織、骨、又は器官を露出させるために身体の組織に行われた切断である。

【０２１１】

本明細書で使用される場合、「末梢動脈疾患」（ＰＡＤ）という用語は、脚、胃、腕、及び頭に供給する末梢動脈の狭小化を指す。（この場合の「末梢」は、心臓から離れた、身体の外側領域内を意味する。）ＰＡＤは、最も一般的には、脚の動脈に影響を及ぼす。ＰＡＤは、一般的に、腕、脚、及び足に至る動脈への血流を狭小化又は遮断する、コレステロール及び脂肪性沈着物（プラーク）の蓄積である、アテローム性動脈硬化症に起因して生じる。細胞への酸素の供給もまた、動脈壁内のプラーク蓄積に起因して制限される。下肢に関与するＰＡＤの最も一般的な症状は、歩行又は階段を上っている間の脚又は腰の筋肉の痙攣、痛み、又は疲労である。末梢動脈疾患を有する患者は、冠動脈疾患、心臓発作又は脳卒中のリスクがより高い。未治療のまま放置すると、ＰＡＤは、壊疽及び切断につながり得る。Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｏｌｌｅｇｅ ｏｆ Ｃａｒｄｉｏｌｏｇｙ／Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｈｅａｒｔ Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎの診療ガイドラインは、無症候性、跛行、重症肢虚血、及び急性肢虚血（ＡＬＩ）の４つのカテゴリーによって、ＰＡＤの提示を定義している。ＰＡＤの重症度を分類するために当技術分野で使用される少なくとも

２つの主要な分類基準、すなわち、Ｆｏｎｔａｉｎｅ分類システム及びＲｕｔｈｅｒｆｏｒｄ分類システムがある（Ｏｖｅｒｖｉｅｗ ｏｆ Ｃｌａｓｓｉｆｉｃａｔｉｏｎ Ｓｙｓｔｅｍｓ ｉｎ Ｐｅｒｉｐｈｅｒａｌ Ａｒｔｅｒｙ Ｄｉｓｅａｓｅ，Ｒｕｌｏｎ Ｌ．Ｈａｒｄｍａｎ，Ｓｅｍｉｎ Ｉｎｔｅｒｖｅｎｔ Ｒａｄｉｏｌ ２０１４；３１：３７８－３８８）

【０２１２】

本明細書で使用される場合、「跛行」という用語は、運動によって再現可能に引き起こされ、休息によって緩和される、下肢、典型的には、ふくらはぎの疲労、不快感、又は痛みを指す。

【０２１３】

本明細書で使用される場合、「重症肢虚血（ＣＬＩ）」という用語は、患者が、慢性虚血性安静時疼痛、夜間臥位疼痛、又は潰瘍若しくは壊疽を含み得る虚血性皮膚病変を経験する状態を指す。

【０２１４】

本明細書で使用される場合、「急性肢虚血（ＡＬＩ）」という用語は、四肢生存率への差し迫った脅威を引き起こす、四肢灌流の突然の減少を有する患者を指す。

【０２１５】

本明細書で使用される場合、「Ｆｏｎｔａｉｎｅ分類システム」という用語は、Ｆｏｎｔａｉｎｅ ｅｔ ａｌ．によって開発された分類システムを指す（Ｆｏｎｔａｉｎｅ Ｒ，Ｋｉｍ Ｍ，Ｋｉｅｎｙ Ｒ．Ｓｕｒｇｉｃａｌ ｔｒｅａｔｍｅｎｔ ｏｆ ｐｅｒｉｐｈｅｒａｌ ｃｉｒｃｕｌａｔｉｏｎ ｄｉｓｏｒｄｅｒｓ［ｉｎ Ｇｅｒｍａｎ］．Ｈｅｌｖ Ｃｈｉｒ Ａｃｔａ １９５４；２１（５－６）：４９９－５３３）。この分類システムは、患者の臨床提示を４つのステージに等級分けする。本システムは、他の診断検査を伴わずに、臨床症状のみに基づき、以下の表に示されるとおりである。

【表１】

グレード	症状
ステージ I の PAD	無症候性、不完全な血管閉塞
ステージ II の PAD	四肢の軽度跛行痛
ステージ IIA の PAD	距離>200m における跛行
ステージ IIB の PAD	距離>200m における跛行
ステージ III の PAD	主に足の安静時疼痛
ステージ IV の PAD	四肢の壊死及び/又は壊疽

【０２１６】

本明細書で使用される場合、「Ｒｕｔｈｅｒｆｏｒｄ分類システム」という用語は、Ｒｕｔｈｅｒｆｏｒｄ ｅｔ ａｌ．によって開発された分類システムを指す（Ｒｕｔｈｅｒｆｏｒｄ ＲＢ，Ｆｌａｎｉｇａｎ ＤＰ，Ｇｕｐｔａ ＳＫ，ｅｔ ａｌ．Ｓｕｇｇｅｓｔｅｄ ｓｔａｎｄａｒｄｓ ｆｏｒ ｒｅｐｏｒｔｓ ｄｅａｌｉｎｇ ｗｉｔｈ ｌｏｗｅｒ ｅｘｔｒｅｍｉｔｙ ｉｓｃｈｅｍｉａ．Ｊ Ｖａｓｃ Ｓｕｒｇ １９８６；４（１）：８０－９４）。Ｒｕｔｈｅｒｆｏｒｄシステムは、ＰＡＤを急性及び慢性肢虚血に分類し、各提示が異なる治療アルゴリズムを必要とすることを強調する。Ｒｕｔｈｅｒｆｏｒｄ分類はまた、患者の臨床症状を、ドップラー、動脈上腕指数（ＡＢＩ）、及びパルス体積記録を含む客観的所見と関連付ける。

【０２１７】

Ｒｕｔｈｅｒｆｏｒｄの慢性肢虚血分類は、トレッドミル試験などの客観的非侵襲性データの追加を伴って、Ｆｏｎｔａｉｎｅの分類に最も類似している。トレッドミルプロトコルは、他の出版物によく記載されている。（Ｈｏｙｅｒ Ｃ，Ｓａｎｄｅｒｍａｎｎ Ｊ，Ｐｅｔｅｒｓｅｎ ＬＪ．Ｔｈｅ ｔｏｅ－ｂｒａｃｈｉａｌ ｉｎｄｅｘ ｉｎ ｔｈｅ ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ｏｆ ｐｅｒｉｐｈｅｒａｌ ａｒｔｅｒｉａｌ ｄｉｓ

ｅａｓｅ．Ｊ Ｖａｓｃ Ｓｕｒｇ ２０１３；５８（１）：２３１－２３８）。運動前及び運動後ＡＢＩの有無別のトレッドミル運動試験は、労作時脚症状を有する患者において跛行を偽跛行と区別することに役立つ。トレッドミル試験を実施することができない患者は、反応性充血を引き起こすために足底屈又は大腿部血圧カフ圧迫を使用して、同様のストレス試験を受けることができる。慢性肢虚血についてのＲｕｔｈｅｒｆｏｒｄの分類が、以下の表に示される。

【表２】

グレード	カテゴリー	臨床的説明	客観的基準
0	0	無症候性-血行動態的に有意な閉塞性疾患なし	正常なトレッドミル又は反応性充血試験
	1	軽度の跛行	トレッドミル運動を完了する。運動後の AP は>50mmHg であるが、安静時値よりも少なくとも 20mmHg 低い。
I	2	中等度の跛行	カテゴリー1~3
	3	重度の跛行	標準的なトレッドミル運動を完了することができず、運動後の AP が <50mmHg である
II	4	虚血性安静時疼痛	安静時 AP<40mmHg、平坦な若しくは辛うじて脈動性の足首又は中足 PVR、TP<30mmHg
III	5	軽度の組織欠損-治癒しない潰瘍、びまん性足虚血を伴う限局性壊疽	安静時 AP<60mmHg、平坦若しくは辛うじて脈動性である足首又は中足 PVR、TP<40mmHg
	6	重度の組織欠損-TM レベルの上方に延在し、もはや機能的な足は救出不可能である	カテゴリー5 と同じ

略語：ＡＰ：足関節血圧、ＰＶＲ：脈容量記録、ＴＭ：足根中足、ＴＰ：足趾血圧。

【０２１８】

本明細書で使用される場合、「足趾血圧」という用語は、腕における血圧と比較した足趾における血圧の測定を指す。

【０２１９】

本明細書で使用される場合、「足関節血圧」という用語は、腕における血圧と比較した下腿における血圧の測定を指す。

【０２２０】

本明細書で使用される場合、「脈用量記録」という用語は、血圧カフ及び手持ち式超音波装置（ドップラー又はトランスデューサーなど）が、腕及び脚における動脈血流についての情報を取得するために使用される、非侵襲的血管検査を指す。本明細書で使用される場合、「ステージＩＩＩの末梢動脈疾患」という用語は、Ｆｏｎｔａｉｎｅ分類システムによって示されるＰＡＤの病期を指す。

【０２２１】

本明細書で使用される場合、「ステージＩＶの末梢動脈疾患」という用語は、Ｆｏｎｔａｉｎｅ分類システムによって分類されるＰＡＤの病期を指す。

【０２２２】

本明細書で使用される場合、「ステージＩＶ、グレードＩＩＩの末梢動脈疾患」という用語は、Ｒｕｔｈｅｒｆｏｒｄ分類システムによって分類されるＰＡＤの病期を指す。

【０２２３】

本明細書で使用される場合、「総大腿動脈疾患」という用語は、ＰＡＤに起因する閉塞

が患者の大腿動脈に生じる病態を指す。

【０２２４】

本明細書で使用される場合、「大腿膝窩疾患」という用語は、患者が大腿膝窩動脈にＰＡＤに起因する閉塞性閉塞を有する病態を指す。

【０２２５】

本明細書で使用される場合、用語「脛骨腓骨疾患」という用語は、患者が、膝の下方、膝窩動脈から前脛骨動脈の起始部より遠位、かつ後脛骨動脈及び腓骨動脈の分岐点より近位にある、脛骨腓骨幹とも称される動脈の区分に、ＰＡＤに起因する閉塞を有する病態を指す。

【０２２６】

本明細書で使用される場合、「手術を必要とする対象」という用語は、ＥＮＰＰ１欠乏ではなく、大腿動脈、大腿膝窩動脈、又は脛骨腓骨動脈などの末梢動脈に動脈閉塞を有する患者を指す。

【０２２７】

本明細書で使用される場合、「手術部位」という用語は、血管外傷又は偶発的外傷のいずれかに起因して組織損傷が生じた動脈の領域を指す。

【０２２８】

本明細書で使用される場合、「血管形成術」という用語は、心臓の周囲の閉塞又は狭小化した動脈を開く医療処置を指す。これは、狭小化又は閉塞した動脈の標準的治療である。

【０２２９】

「低レベルのＰＰｉ」は、対象が、正常なレベルの血漿ピロホスファート（ＰＰｉ）の２％～５％未満の０．１％～０．９９％を有する状態を指す。健康なヒト対象における正常なレベルの血漿ＰＰｉは、１．８～２．６μＭ＋／－０．１μＭの範囲内である（Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ ａｎｄ Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ，Ｖｏｌ．２２，Ｎｏ．８（Ａｕｇｕｓｔ １９７９））

【０２３０】

本明細書で使用される場合、「治療」又は「治療すること」という用語は、患者への可溶性ＮＰＰ１（単独又は別の医薬品と組み合わせた）の適用若しくは投与、又は疾患若しくは障害、疾患若しくは障害の症状、又は疾患若しくは障害を発症する可能性を有する患者からの（例えば、診断又はエクスビボ適用のための）単離された組織若しくは細胞株への治療剤の適用若しくは投与として定義され、疾患若しくは障害、疾患若しくは障害の症状、又は疾患若しくは障害を発症する可能性を治す、治癒する、軽減する、緩和する、改変する、是正する、改善する（ａｍｅｌｉｏｒａｔｅ）、改善する（ｉｍｐｒｏｖｅ）、又はそれに影響を及ぼす目的を伴う。そのような治療は、薬理ゲノミクスの分野から得られた知識に基づいて、特異的に調整又は修正され得る。

【０２３１】

本明細書で使用される場合、「予防する」若しくは「予防」又は「低減する」という用語は、何も生じなかった場合に障害若しくは疾患の発生がないこと、又は障害若しくは疾患の発症が既にあった場合に更なる障害若しくは疾患の発生がないことを意味する。また、障害又は疾患に関連する症状のうちのいくつか又は全てを予防する能力も考慮される。

【０２３２】

本明細書で使用される場合、「有効量」という用語は、そのような量を受けていない対応する対象と比較して、状態、障害、疾患の改善を提供するか、又は状態、障害、若しくは疾患の進行若しくは進展の減少を提供するために十分な薬剤（例えば、ＮＰＰ１融合又はＮＰＰ３融合ポリペプチド）の量を指す。有効量はまた、状態、疾患、又は障害を治療、治癒、予防、又は改善することをもたらし得る。この用語はまた、正常な生理学的機能を強化するのに有効な量もその範囲内に含む。本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」という用語は、アミノ酸残基、関連する天然発生型構造バリアント、及びペプチド結合を介して連結されたその合成非天然発生型類似体から構成されるポリマーを指す。

【０２３３】
本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、天然状態から改変又は除去されたことを意味する。例えば、生きている動物に天然に存在する核酸又はポリペプチドは、「単離されて」いないが、その天然状態の共存物質から部分的又は完全に分離された同じ核酸又はポリペプチドは、「単離されて」いる。単離された核酸又はタンパク質は、実質的に精製された形態で存在することができるか、又は、例えば、宿主細胞などの非天然環境中に存在することができる。
【０２３４】
本明細書で使用される場合、「実質的に精製された」は、他の構成成分を本質的に含まないことを指す。例えば、実質的に精製されたポリペプチドは、通常その天然発生型状態で会合している他の構成成分から分離されているポリペプチドである。非限定的な実施形態には、９５％の純度、９９％の純度、９９．５％の純度、９９．９％の純度、及び１００％の純度が含まれる。
【０２３５】
本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」又は「ポリヌクレオチド」という用語は、少なくとも２個、ある特定の実施形態では、少なくとも８、１５、又は２５個のヌクレオチドの長さの範囲の核酸であるが、最大５０、１００、１０００、若しくは５０００個のヌクレオチドの長さ、又はポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする化合物であり得る。
【０２３６】
本明細書で使用される場合、「薬学的組成物」又は「組成物」という用語は、薬学的に許容される担体との本開示内で有用な少なくとも１つの化合物の混合物を指す。薬学的組成物は、患者への化合物の投与を容易にする。これらに限定されないが、皮下、静脈内、経口、エアロゾル、吸入、直腸、膣、経皮、鼻腔内、頬側、舌下、非経口、髄腔内、胃内、眼、肺、及び局所投与を含む、化合物を投与する複数の技術が、当該技術分野に存在する。
【０２３７】
本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」という用語は、化合物の生物学的活性又は特性を破壊せず、比較的非毒性である、担体又は希釈剤などの材料を指し、すなわち、材料は、望ましくない生物学的効果を引き起こすことなく、又は含まれる組成物の構成成分のうちのいずれか、例えば、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）と有害な様式で相互作用することなく、個体に投与され得る。
【０２３８】
本明細書で使用される場合、「病理学的石灰化」という用語は、軟部組織、分泌物、及び排泄経路におけるカルシウム塩の異常な沈着を指し、それが硬化する原因となる。２つの種類があり、それは、細胞及び組織の恒常性能力を超える、死滅する組織及び死滅した組織で生じる異栄養性石灰化と、カルシウムの細胞外レベルを上昇させた転移性石灰化（高カルシウム血症）である。石灰化には、細胞、並びに基底膜のコラーゲン及び動脈壁の弾性線維などの細胞外マトリックス成分も関与し得る。石灰化しやすい組織のいくつかの例としては、以下が挙げられる：胃粘膜－胃の内部上皮内層、腎臓及び肺、角膜、心臓弁、全身動脈、並びに肺静脈。
【０２３９】
本明細書で使用される場合、「病理学的骨化」という用語は、骨系にない組織、及び通常は骨形成特性を現わさない結合組織において骨が発生する、病理学的状態を指す。骨化は、罹患している組織の性質に応じて３つの種類に分類され、軟骨内骨化は、軟骨内で生じ、かつ軟骨に置き換わる骨化である。膜内骨化は、結合組織で生じ、かつ結合組織に置き換わる骨化である。変形骨化は、通常軟質の身体構造における骨質物質の発生であり、異所性骨化とも呼ばれる。
【０２４０】
本明細書で使用される場合、「石灰化の低減」は、Ｘ線、マイクロＣＴ、及びＭＲＩの

ような非侵襲的方法を使用することにより観察される。９９ｍＴｃ－ピロホスファート（９９ｍＰＹＰ）取り込みを用いる無線撮像を使用することによって、石灰化の低減も推測される。マウスにおける石灰化の存在は、マイクロコンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャン、並びに心臓、大動脈、及び腎臓から採取された組織学的切片により、ヘマトキシリン及びエオジン（Ｈ及びＥ）並びにアリザリンレッドなどの染料を使用して、検死を介して評価され、続いて、Ｂｒａｄｄｏｃｋ ｅｔ ａｌ．（Ｎａｔｕｒｅ Ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ ｖｏｌｕｍｅ ６，Ａｒｔｉｃｌｅ ｎｕｍｂｅｒ：１０００６（２０１５））によって確立されたプロトコルに従って評価される。

【０２４１】

本明細書で使用される場合、「異所性石灰化」という用語は、組織におけるカルシウム塩の病理学的沈着、又は軟部組織における骨成長によって特徴付けられる状態を指す。

【０２４２】

本明細書で使用される場合、「軟部組織の異所性石灰化」という用語は、典型的には、軟部組織の硬化の喪失につながる、軟部組織で生じるリン酸カルシウム、ヒドロキシアパタイト、シュウ酸カルシウム、及びリン酸八カルシウムからなる不適切な生体石灰化を指す。「動脈石灰化」は、動脈の硬化及び／又は狭小化につながる、動脈及び心臓弁に生じる異所性石灰化を指す。動脈の石灰化は、アテローム性プラークの負荷、並びに心筋梗塞のリスクの増加、末梢血管疾患における虚血性エピソードの増加、及び血管形成術後の解離のリスクの増加と相関する。

【０２４３】

本明細書で使用される場合、「静脈石灰化」という用語は、静脈の弾性を低減し、かつ血流を制限し、次いで、血圧及び冠動脈欠損の増加につながり得る、静脈に生じる異所性石灰化を指す。

【０２４４】

本明細書で使用される場合、「血管石灰化」という用語は、血管系におけるミネラルの病理学的沈着を指す。これは、内膜石灰化及び中膜石灰化を含む様々な形態を有するが、心臓の弁にも見出され得る。血管石灰化は、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、ある特定の遺伝状態、及び腎臓疾患、特にＣＫＤと関連している。血管石灰化を有する患者は、有害な心血管事象のリスクがより高い。血管石灰化は、多種多様な患者に影響を与える。特発性乳児動脈石灰化は、新生児の動脈が石灰化する、まれな形態の血管石灰化である。

【０２４５】

本明細書で使用される場合、「脳石灰化」（ＢＣ）という用語は、血管壁及び実質組織におけるカルシウム及び他のミネラルの沈着が生じ、神経細胞死及び神経膠症につながる、非特異的神経病理学を指す。脳石灰化は、しばしば、ダウン症候群、レビー小体病、アルツハイマー病、パーキンソン病、血管性認知症、脳腫瘍、及び様々な内分泌状態を含む、様々な慢性及び急性脳障害に関連し、心臓組織の石灰化は、大動脈組織及び冠動脈組織などの心臓組織におけるカルシウムの沈着物（他のミネラルを含む可能性がある）の蓄積を指す。

【０２４６】

「アデノ随伴ウイルスベクター」、「ＡＡＶベクター」、「アデノ随伴ウイルス」、「ＡＡＶウイルス」、「ＡＡＶビリオン」「ＡＡＶウイルス粒子」及び「ＡＡＶ粒子」という用語は、本明細書で同義的に使用される場合、少なくとも１つのＡＡＶカプシドタンパク質（好ましくは、特定のＡＡＶ血清型の全カプシドタンパク質による）と、カプシド形成された組換えウイルスゲノムとからなるウイルス粒子を指す。粒子は、ヒトＥＮＰＰ１若しくはヒトＥＮＰＰ３又はその機能的等価バリアント）をコードする配列、及びＡＡＶ逆位末端反復に隣接したプロモーターを少なくとも含む転写調節領域を含む異種ポリヌクレオチドを有する組換えウイルスゲノムを含む。粒子は、典型的には、「ＡＡＶベクター粒子」又は「ＡＡＶベクター」と称される。

【０２４７】

本明細書で使用される場合、「ベクター」という用語は、それが連結されている別の核

酸を輸送することができる核酸分子を意味する。いくつかの実施形態では、ベクターは、プラスミド、すなわち、追加のＤＮＡセグメントがライゲーションされ得る円形二重鎖ＤＮＡループである。いくつかの実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターであり、追加のヌクレオチド配列は、ウイルスゲノム内にライゲーションされ得る。いくつかの実施形態では、ベクターは、導入される宿主細胞（例えば、複製の細菌起源を有する細菌ベクター及びエピソーム哺乳動物ベクター）において、自律複製することができる。他の実施形態では、ベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞に導入されると宿主細胞のゲノム内に統合されることによって、宿主ゲノムとともに複製される。更に、ある特定のベクター（発現ベクター）は、それらが作動可能に連結された遺伝子の発現を指示することができる。

【０２４８】

本明細書で使用される場合、「組換え宿主細胞」（又は単に「宿主細胞」）という用語は、本明細書で使用される場合、外因性核酸及び／又は組換えベクターが導入されている細胞を意味する。「組換え宿主細胞」及び「宿主細胞」は、特定の対象細胞だけでなく、そのような細胞の子孫も意味することが理解されるべきである。変異又は環境の影響のいずれかに起因して、ある特定の修飾が後続する世代で生じ得るため、そのような子孫は、実際には親細胞と同一ではない場合があるが、本明細書で使用されるように、依然として「宿主細胞」という用語の範囲内に含まれる。

【０２４９】

本明細書で使用される場合、「組換えウイルスゲノム」という用語は、少なくとも１つの外来性発現カセットポリヌクレオチドが天然発生型ＡＡＶゲノムに挿入されるＡＡＶゲノムを指す。本開示によるＡＡＶのゲノムは、典型的には、シス作用５’及び３’逆位末端反復配列（ＩＴＲ）及び発現カセットを含む。

【０２５０】

本明細書で使用される場合、「発現カセット」という用語は、標的細胞における特定の核酸の転写を可能にする一連の特定の核酸エレメントを有する、組換え又は合成で生成された核酸構築物を指す。本開示によるＡＡＶベクターの組換えウイルスゲノムの発現カセットは、ＥＮＰＰ１若しくはＥＮＰＰ３又はその機能的等価バリアントをコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結された転写調節領域を含む。

【０２５１】

本明細書で使用される場合、「転写調節領域」という用語は、１つ以上の遺伝子の発現を調節することができる核酸断片を指す。本開示による転写制御領域は、プロモーター、及び任意選択的にエンハンサーを含む。

【０２５２】

「プロモーター」という用語は、本明細書で使用される場合、ポリヌクレオチド配列の上流に位置する、１つ以上のポリヌクレオチドの転写を制御する働きをする核酸断片を指し、ＤＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼの結合部位、転写開始部位、並びにこれらに限定されないが、転写因子結合部位、リプレッサー、及び活性化因子タンパク質結合部位を含む任意の他のＤＮＡ配列、並びに当該技術分野で既知のヌクレオチドの任意の他の配列の存在によって構造的に識別され、プロモーターからの転写量を調節するために直接的又は間接的に作用する。誘導性プロモーター、構成的プロモーター、及び組織特異的プロモーターを含む任意の種類のプロモーターが、本開示で使用され得る。

【０２５３】

本明細書で使用される場合、「エンハンサー」という用語は、転写因子が結合して遺伝子転写を増加させるＤＮＡ配列エレメントを指す。エンハンサーの例としては、制限されるものではないが、ＲＳＶエンハンサー、ＣＭＶエンハンサー、ＨＣＲエンハンサーなどが挙げられる。別の実施形態では、エンハンサーは、肝臓特異的エンハンサー、より好ましくは肝臓制御領域エンハンサー（ＨＣＲ）である。

【０２５４】

本明細書で使用される場合、「作動可能に連結された」という用語は、目的のポリヌク

レオチドに関するプロモーター配列の機能的関係及び位置を指す（例えば、プロモーター又はエンハンサーは、配列の転写に影響を与える場合、コード配列に作動可能に連結される）。概して、作動可能に連結されたプロモーターは、目的の配列に連続している。しかしながら、エンハンサーは、その発現を制御するために、目的の配列に連続する必要はない。別の実施形態では、プロモーター、及びＥＮＰＰ１若しくはＥＮＰＰ３、又はその機能的等価バリアントをコードするヌクレオチド配列。

【０２５５】

「有効量」という用語は、非毒性であるが、所望の生物学的結果を提供するために十分な量のＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３をコードするウイルスベクターを指す。その結果は、疾患の兆候、症状、若しくは原因の低減及び／又は軽減、又は生物学的系の任意の他の所望の改変であり得る。

【０２５６】

本明細書で使用される場合、「Ｃａｐタンパク質」という用語は、天然ＡＡＶ　Ｃａｐタンパク質（例えば、ＶＰ１、ＶＰ２、ＶＰ３）の少なくとも１つの機能的活性を有するポリペプチドを指す。Ｃａｐタンパク質の機能的活性の例としては、カプシドの形成を誘導する、一本鎖ＤＮＡの蓄積を促進する、カプシドへのＡＡＶ　ＤＮＡパッケージングを促進する（すなわち、カプシド形成）、細胞受容体に結合する、及びビリオンの宿主細胞への侵入を促進する能力が挙げられる。原則的に、任意のＣａｐタンパク質を本開示の状況で使用することができる。

【０２５７】

本明細書で使用される場合、「カプシド」という用語は、ウイルスゲノムがパッケージングされる構造を指す。カプシドは、タンパク質から作製されたいくつかのオリゴマー構造サブユニットからなる。例えば、ＡＡＶは、３つのカプシドタンパク質：ＶＰ１、ＶＰ２、及びＶＰ３の相互作用によって形成される正二十面体型カプシドを有する。

【０２５８】

本明細書で使用される場合、「Ｒｅｐタンパク質」という用語は、天然ＡＡＶ　Ｒｅｐタンパク質（例えば、Ｒｅｐ４０、５２、６８、７８）の少なくとも１つの機能的活性を有するポリペプチドを指す。Ｒｅｐタンパク質の「機能的活性」は、認識、ＤＮＡ複製のＡＡＶ起源の結合及びニッキング、並びにＤＮＡヘリカーゼ活性を介してＤＮＡの複製を促進することを含む、タンパク質の生理学的機能に関連する任意の活性である。

【０２５９】

本明細書で使用される場合、「アデノ随伴ウイルスＩＴＲ」又は「ＡＡＶ　ＩＴＲ」という用語は、アデノ随伴ウイルスのゲノムのＤＮＡ鎖の両端に存在する逆位末端反復を指す。ＩＴＲ配列は、ＡＡＶゲノムの効率的な増殖に必要とされる。これらの配列の別の特性は、ヘアピンを形成するそれらの能力である。この特性は、第２のＤＮＡ鎖のプリマーゼ非依存性合成を可能にするその自己プライミングに寄与する。これらのＩＴＲ配列を修飾するための手順は、当該技術分野で既知である（Ｂｒｏｗｎ　Ｔ，“Ｇｅｎｅ　Ｃｌｏｎｉｎｇ”，Ｃｈａｐｍａｎ　＆　Ｈａｌｌ，Ｌｏｎｄｏｎ，ＧＢ，１９９５、Ｗａｔｓｏｎ　Ｒ，ｅｔ　ａｌ．，“Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ　ＤＮＡ”，２ｄ　Ｅｄ．Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｂｏｏｋｓ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ＵＳ，１９９２、Ａｌｂｅｒｔｓ　Ｂ，ｅｔ　ａｌ．，“Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｃｅｌｌ”，Ｇａｒｌａｎｄ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ＵＳ，２００８、Ｉｎｎｉｓ　Ｍ，ｅｔ　ａｌ．，Ｅｄｓ．，“ＰＣＲ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ．Ａ　Ｇｕｉｄｅ　ｔｏ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ”，Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ　Ｉｎｃ．，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．，ＵＳ，１９９０、及びＳｃｈｌｅｅｆ　Ｍ，Ｅｄ．，“Ｐｌａｓｍｉｄ　ｆｏｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　ａｎｄ　Ｖａｃｃｉｎａｔｉｏｎ”，Ｗｉｌｅｙ－ＶＣＨ　Ｖｅｒｌａｇ　ＧｍｂＨ，Ｗｅｉｎｈｅｉｍ，Ｄｅｌ．，２００１）。

【０２６０】

「組織特異的」プロモーターという用語は、特定の種類の分化細胞又は組織でのみ活性

である。典型的には、組織特異的プロモーター中の下流遺伝子は、他のどのプロモーターよりも特異的である組織においてはるかに高い程度に活性であるものである。この場合、特異的である組織以外の任意の組織において、プロモーターの活性がほとんど又は実質的にない場合がある。

【０２６１】

本明細書で使用される場合、「誘導性プロモーター」という用語は、例えば、化学誘導剤の適用によって、生理学的又は発生学的に制御されるプロモーターを指す。例えば、それは、テトラサイクリン誘導性プロモーター、ミフェプリストン（ＲＵ－４８６）誘導性プロモーターなどであり得る。

【０２６２】

本明細書で使用される場合、「構成的プロモーター」という用語は、その活性が、生物の全ての細胞において、又はほとんどの発達段階の間に、細胞環境条件をほとんど又は全く考慮せずに、比較的一定のレベルで維持されるプロモーターを指す。別の実施形態では、転写調節領域は、ＥＮＰＰ１の構成的発現を可能にする。構成的プロモーターの例としては、限定されるものでないが、レトロウイルスのラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）ＬＴＲプロモーター（任意選択的にＲＳＶエンハンサーを含む）、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーター（任意選択的にＣＭＶエンハンサーを含む）、ＳＶ４０プロモーター、ジヒドロ葉酸レダクターゼプロモーター、β－アクチンプロモーター、ホスホグリセロールキナーゼ（ＰＧＫ）プロモーター、及びＥＦ１ａプロモーター（Ｂｏｓｈａｒｔ　Ｍ，ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ１９８５；４１：５２１－５３０）。

【０２６３】

本明細書で使用される場合、「ポリアデニル化シグナル」という用語は、ｍＲＮＡの３’末端へのポリアデニンストレッチの結合を媒介する核酸配列に関する。好適なポリアデニル化シグナルには、限定されるものではないが、ＳＶ４０早期ポリアデニル化シグナル、ＳＶ４０後期ポリアデニル化シグナル、ＨＳＶチミジンキナーゼポリアデニル化シグナル、プロタミン遺伝子ポリアデニル化シグナル、アデノウイルス５　ＥＩｂポリアデニル化シグナル、ウシ成長ホルモンポリアデニル化シグナル、ヒトバリアント成長ホルモンポリアデニル化シグナルなどが含まれる。

【０２６４】

本明細書で使用される場合、「シグナルペプチド」という用語は、タンパク質翻訳中に目的の新生タンパク質のアミノ末端で結合されたアミノ酸残基（１０～３０残基の長さの範囲）の配列を指す。シグナルペプチドは、シグナル認識粒子（ＳＲＰ）によって認識され、小胞体での輸送後にシグナルペプチダーゼによって切断される。（Ｌｏｄｉｓｈ　ｅｔ　ａｌ．，２０００，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，４ｔｈ　ｅｄｉｔｉｏｎ）。

【０２６５】

本明細書で使用される場合、「免疫応答」又は「免疫反応」という用語は、侵入（感染）病原性生物における抗原、又は外来性タンパク質の導入若しくは発現に対する宿主の免疫系を指す。免疫応答は、概して、液性かつ局所的であり、Ｂ細胞によって産生される抗体は、抗原－抗体複合体中の抗原と組み合わさって、抗原を不活化又は中和する。ヒトタンパク質をマウスモデル系に注射すると、免疫応答が観察されることが多い。一般的に、マウスモデル系は、外来抗原の導入前に免疫抑制剤を注射して、より良好な生存率を確実にすることにより、免疫寛容になる。

【０２６６】

本明細書で使用される場合、「免疫抑制」という用語は、外来タンパク質、臓器移植、骨髄及び組織移植などの外来抗原に対する免疫寛容を促進するために免疫抑制薬を使用する、宿主免疫系の活性化又は有効性の意図的な低減である。免疫抑制薬の非限定的な例としては、抗ＣＤ４（ＧＫ１．５）抗体、シクロホスファミド、アザチオプリン（イムラン）、ミコフェノール酸モフェチル（セルセプト）、シクロスポリン（ネオーラル、サンディミュン、ゲングラフ）、メトトレキサート（リウマトレックス）、レフルノミド（アラ

バ）、シクロホスファミド（シトキサン）、及びクロラムブシル（ロイケラン）が挙げられる。

【０２６７】

範囲：本開示の全体を通して、本開示の様々な態様が範囲形式で提示され得る。範囲形式の記載は、単に利便性及び簡潔性のためであり、本開示の範囲に対する非柔軟な制限として解釈されるべきではないことが理解されるべきである。したがって、範囲の説明は、その範囲内の全ての可能な部分範囲並びに個々の数値を具体的に開示しているとみなされるべきである。例えば、１～６などの範囲の記述は、１～３、１～４、１～５、２～４、２～６、３～６など、並びにその範囲内の個々の数、例えば、１、２、２．７、３、４、５、５．３、及び６など、具体的に開示された部分範囲を有するとみなされるべきである。これは、範囲の広さに関係なく適用される。

【０２６８】

治療方法

本開示は、対象にｓＮＰＰ１及びｓＮＰＰ３ポリペプチド並びにその融合タンパク質を投与することを含む、ＰＡＤを治療するためのＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３薬剤の投与、及びそのようなポリペプチドをコードする核酸の投与に関する。そのようなポリペプチドの配列には、限定されるものではないが、以下が含まれる。

【０２６９】

配列

配列番号１－ＥＮＰＰ１アミノ酸配列－野生型

【数１－１】

```
Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu Gly
1               5                  10                  15
Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg Gly
            20                  25                  30
Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala Ala
    50                  55                  60
Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Val Leu Ser Leu
65                  70                  75                  80
Val Leu Ser Val Cys Val Leu Thr Thr Ile Leu Gly Cys Ile Phe Gly
                85                  90                  95
Leu Lys Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys Ser Cys Lys Gly Arg Cys
            100                 105                 110
Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg Cys Asp Ala Ala Cys Val Glu
        115                 120                 125
Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln Glu Thr Cys Ile Glu Pro Glu
    130                 135                 140
His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Lys Arg Leu Thr
145                 150                 155                 160
Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp Cys Lys Asp Lys Gly Asp Cys
                165                 170                 175
Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Gly Glu Lys Ser Trp Val Glu
            180                 185                 190
Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro Gln Cys Pro Ala Gly Phe Glu
        195                 200                 205
Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr
    210                 215                 220
Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro Val Ile Ser Lys Leu Lys Lys
```

【数１－２】

```
225                 230                 235                 240
Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg Pro Val Tyr Pro Thr Lys Thr
                245                 250                 255
Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His
            260                 265                 270
Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp Pro Lys Met Asn Ala Ser Phe
        275                 280                 285
Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn Pro Glu Trp Tyr Lys Gly Glu
    290                 295                 300
Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln Gly Leu Lys Ser Gly Thr Phe
305                 310                 315                 320
Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile Asn Gly Ile Phe Pro Asp Ile
                325                 330                 335
Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Leu Ala
            340                 345                 350
Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys Asp Glu Arg Pro His Phe Tyr
        355                 360                 365
Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ser Tyr Gly Pro
    370                 375                 380
Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu Gln Arg Val Asp Gly Met Val
385                 390                 395                 400
Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu Leu Asn Leu His Arg Cys Leu
                405                 410                 415
Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly Met Glu Gln Gly Ser Cys Lys
            420                 425                 430
Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu Gly Asp Val Lys Asn Ile Lys
        435                 440                 445
Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu Arg Pro Ser Asp Val Pro Asp
    450                 455                 460
Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly Ile Ala Arg Asn Leu Ser Cys
465                 470                 475                 480
Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Lys His Phe Leu Pro
                485                 490                 495
Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp Arg Ile Glu Pro Leu Thr Phe
            500                 505                 510
Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala Leu Asn Pro Ser Glu Arg Lys
```

【数１－３】

```
        515                 520                 525
Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser Asp Asn Val Phe Ser Asn Met
    530                 535                 540
Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro Gly Phe Lys His Gly Ile Glu
545                 550                 555                 560
Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu
                565                 570                 575
Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn
            580                 585                 590
His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr Pro Lys His Pro Lys Glu Val
        595                 600                 605
His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr Arg Asn Pro Arg Asp Asn Leu
    610                 615                 620
Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu Pro Ile Glu Asp Phe Gln Thr
625                 630                 635                 640
Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu Lys Ile Ile Lys His Glu Thr
                645                 650                 655
Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Glu Asn Thr Ile Cys
            660                 665                 670
Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser Gly Tyr Ser Gln Asp Ile Leu
        675                 680                 685
Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val Asp Arg Asn Asp Ser Phe Ser
    690                 695                 700
Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr Gln Asp Phe Arg Ile Pro Leu
705                 710                 715                 720
Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr Lys Asn Asn Thr Lys Val Ser
                725                 730                 735
Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu Asn Lys Asn Ser Ser Gly Ile
            740                 745                 750
Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn Ile Val Pro Met Tyr Gln Ser
        755                 760                 765
Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His Asp Thr Leu Leu Arg Lys Tyr
    770                 775                 780
Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Val Phe Asp
785                 790                 795                 800
Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser Leu Glu Asn Leu Arg Gln Lys
```

【数１－４】

```
                805                 810                 815
Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile Leu Ile Pro Thr His Phe Phe
            820                 825                 830
Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr Ser Gln Thr Pro Leu His Cys
        835                 840                 845
Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile Leu Pro His Arg Thr Asp Asn
    850                 855                 860
Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His Asp Ser Ser Trp Val Glu Glu
865                 870                 875                 880
Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile Thr Asp Val Glu His Ile Thr
                885                 890                 895
Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys Glu Pro Val Ser Asp Ile Leu
            900                 905                 910
Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe Ser Gln Glu Asp
        915                 920                 925
```

【０２７０】

配列番号２－アズロシジン－ＥＮＰＰ１－ＦＣ

【数２】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**APSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETC
IEPEHIWTCNKFRCGEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCP
AGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLY
PESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTFFWPGSDVEINGI
FPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRV
DGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPS
DVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNP
SERKYCGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTH
GSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKII
KHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDF
RIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTL
LRKYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQT
PLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSWVEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPV
SDILKLKTHLPTFSQEDLIN**DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV**
DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

単一下線－アズロシジンシグナル配列、二重下線－ＥＮＰＰ１配列の始まり及び終わり、太字残基－Ｆｃ配列、＊＊は、シグナル配列の切断点を示す。

【０２７１】

配列番号３－アズロシジン－ＥＮＰＰ１－Ａｌｂ

【数３】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**APSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETC
IEPEHIWTCNKFRCGEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCP
AGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLY
PESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTFFWPGSDVEINGI
FPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRV
DGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPS
DVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNP
SERKYCGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTH
GSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKII
KHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDF
RIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTL
LRKYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQT
PLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSWVEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPV
SDILKLKTHLPTFSQEDLIN**MKWVTFLLLLFVSGSAFSRGVFRREAHKSEIAHRYNDLGEQHFK**
GLVLIAFSQYLQKCSYDEHAKLVQEVTDFAKTCVADESAANCDKSLHTLFGDKLCAIPNLRENY
GELADCCTKQEPERNECFLQHKDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENPTTFMGHYLHEVARRHPY
FYAPELLYYAEQYNEILTQCCAEADKESCLTPKLDGVKEKALVSSVRQRMKCSSMQKFGERAFK
AWAVARLSQTFPNADFAEITKLATDLTKVNKECCHGDLLECADDRAELAKYMCENQATISSKLQ
TCCDKPLLKKAHCLSEVEHDTMPADLPAIAADFVEDQEVCKNYAEAKDVFLGTFLYEYSRRHPD
YSVSLLLRLAKKYEATLEKCCAEANPPACYGTVLAEFQPLVEEPKNLVKTNCDLYEKLGEYGFQ
NAILVRYTQKAPQVSTPTLVEAARNLGRVGTKCCTLPEDQRLPCVEDYLSAILNRVCLLHEKTP
VSEHVTKCCSGSLVERRPCFSALTVDETYVPKEFKAETFTFHSDICTLPEKEKQIKKQTALAEL
VKHKPKATAEQLKTVMDDFAQFLDTCCKAADKDTCFSTEGPNLVTRCKDALARSWSHPQFEK

単一下線－アズロシジンシグナル配列、二重下線－ＥＮＰＰ１配列の始まり及び終わり、太字残基－アルブミン配列、＊＊は、シグナル配列の切断点を示す。

【０２７２】

配列番号４－アズロシジン－ＥＮＰＰ１

【数４－１】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**APSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETC
IEPEHIWTCNKFRCGEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCP
AGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLY
PESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTFFWPGSDVEINGI
FPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRV

【数４－２】

DGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPS
DVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNP
SERKYCGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTH
GSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKII
KHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDF
RIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTL
LRKYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQT
APSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCNKFRCGEKRLTR
SLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRAEYL
HTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFS
LKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAV
LQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMLMDGLKELNLHRCLN
LILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSCR
EPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFSNMQ
ALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVH
PLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICL
LSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSY
GFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGPVFDF
DYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNS
ESCVHGKHDSSWVEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED

単一下線－アズロシジンシグナル配列、二重下線－ＥＮＰＰ１配列の始まり及び終わり、＊＊は、シグナル配列の切断点を示す。

【０２７３】

配列番号５－ＥＮＰＰ２アミノ酸配列－野生型

【数５－１】

Met	Ala	Arg	Arg	Ser	Ser	Phe	Gln	Ser	Cys	Gln	Ile	Ile	Ser	Leu	Phe
1				5				10					15		
Thr	Phe	Ala	Val	Gly	Val	Asn	Ile	Cys	Leu	Gly	Phe	Thr	Ala	His	Arg
			20					25				30			
Ile	Lys	Arg	Ala	Glu	Gly	Trp	Glu	Glu	Gly	Pro	Pro	Thr	Val	Leu	Ser
		35					40					45			
Asp	Ser	Pro	Trp	Thr	Asn	Ile	Ser	Gly	Ser	Cys	Lys	Gly	Arg	Cys	Phe
	50					55					60				
Glu	Leu	Gln	Glu	Ala	Gly	Pro	Pro	Asp	Cys	Arg	Cys	Asp	Asn	Leu	Cys
65				70					75					80	
Lys	Ser	Tyr	Thr	Ser	Cys	Cys	His	Asp	Phe	Asp	Glu	Leu	Cys	Leu	Lys
				85					90					95	

【数５－２】

```
Thr Ala Arg Gly Trp Glu Cys Thr Lys Asp Arg Cys Gly Glu Val Arg
            100                 105                 110
Asn Glu Glu Asn Ala Cys His Cys Ser Glu Asp Cys Leu Ala Arg Gly
        115                 120                 125
Asp Cys Cys Thr Asn Tyr Gln Val Val Cys Lys Gly Glu Ser His Trp
    130                 135                 140
Val Asp Asp Asp Cys Glu Glu Ile Lys Ala Ala Glu Cys Pro Ala Gly
145                 150                 155                 160
Phe Val Arg Pro Pro Leu Ile Ile Phe Ser Val Asp Gly Phe Arg Ala
                165                 170                 175
Ser Tyr Met Lys Lys Gly Ser Lys Val Met Pro Asn Ile Glu Lys Leu
            180                 185                 190
Arg Ser Cys Gly Thr His Ser Pro Tyr Met Arg Pro Val Tyr Pro Thr
        195                 200                 205
Lys Thr Phe Pro Asn Leu Tyr Thr Leu Ala Thr Gly Leu Tyr Pro Glu
    210                 215                 220
Ser His Gly Ile Val Gly Asn Ser Met Tyr Asp Pro Val Phe Asp Ala
225                 230                 235                 240
Thr Phe His Leu Arg Gly Arg Glu Lys Phe Asn His Arg Trp Trp Gly
                245                 250                 255
Gly Gln Pro Leu Trp Ile Thr Ala Thr Lys Gln Gly Val Lys Ala Gly
            260                 265                 270
Thr Phe Phe Trp Ser Val Val Ile Pro His Glu Arg Arg Ile Leu Thr
        275                 280                 285
Ile Leu Gln Trp Leu Thr Leu Pro Asp His Glu Arg Pro Ser Val Tyr
    290                 295                 300
Ala Phe Tyr Ser Glu Gln Pro Asp Phe Ser Gly His Lys Tyr Gly Pro
305                 310                 315                 320
Phe Gly Pro Glu Met Thr Asn Pro Leu Arg Glu Ile Asp Lys Ile Val
                325                 330                 335
Gly Gln Leu Met Asp Gly Leu Lys Gln Leu Lys Leu His Arg Cys Val
            340                 345                 350
Asn Val Ile Phe Val Gly Asp His Gly Met Glu Asp Val Thr Cys Asp
        355                 360                 365
Arg Thr Glu Phe Leu Ser Asn Tyr Leu Thr Asn Val Asp Asp Ile Thr
    370                 375                 380
```

【数５－３】

```
Leu Val Pro Gly Thr Leu Gly Arg Ile Arg Ser Lys Phe Ser Asn Asn
385                 390                 395                 400
Ala Lys Tyr Asp Pro Lys Ala Ile Ile Ala Asn Leu Thr Cys Lys Lys
                405                 410                 415
Pro Asp Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Lys Gln His Leu Pro Lys Arg
            420                 425                 430
Leu His Tyr Ala Asn Asn Arg Arg Ile Glu Asp Ile His Leu Leu Val
        435                 440                 445
Glu Arg Arg Trp His Val Ala Arg Lys Pro Leu Asp Val Tyr Lys Lys
    450                 455                 460
Pro Ser Gly Lys Cys Phe Phe Gln Gly Asp His Gly Phe Asp Asn Lys
465                 470                 475                 480
Val Asn Ser Met Gln Thr Val Phe Val Gly Tyr Gly Ser Thr Phe Lys
                485                 490                 495
Tyr Lys Thr Lys Val Pro Pro Phe Glu Asn Ile Glu Leu Tyr Asn Val
            500                 505                 510
Met Cys Asp Leu Leu Gly Leu Lys Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His
        515                 520                 525
Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Arg Thr Asn Thr Phe Arg Pro Thr Met
    530                 535                 540
Pro Glu Glu Val Thr Arg Pro Asn Tyr Pro Gly Ile Met Tyr Leu Gln
545                 550                 555                 560
Ser Asp Phe Asp Leu Gly Cys Thr Cys Asp Asp Lys Val Glu Pro Lys
                565                 570                 575
Asn Lys Leu Asp Glu Leu Asn Lys Arg Leu His Thr Lys Gly Ser Thr
            580                 585                 590
Glu Ala Glu Thr Arg Lys Phe Arg Gly Ser Arg Asn Glu Asn Lys Glu
        595                 600                 605
Asn Ile Asn Gly Asn Phe Glu Pro Arg Lys Glu Arg His Leu Leu Tyr
    610                 615                 620
Gly Arg Pro Ala Val Leu Tyr Arg Thr Arg Tyr Asp Ile Leu Tyr His
625                 630                 635                 640
Thr Asp Phe Glu Ser Gly Tyr Ser Glu Ile Phe Leu Met Pro Leu Trp
                645                 650                 655
Thr Ser Tyr Thr Val Ser Lys Gln Ala Glu Val Ser Ser Val Pro Asp
            660                 665                 670
```

【数５－４】

```
His Leu Thr Ser Cys Val Arg Pro Asp Val Arg Val Ser Pro Ser Phe
        675                 680                 685
Ser Gln Asn Cys Leu Ala Tyr Lys Asn Asp Lys Gln Met Ser Tyr Gly
    690                 695                 700
Phe Leu Phe Pro Pro Tyr Leu Ser Ser Ser Pro Glu Ala Lys Tyr Asp
705                 710                 715                 720
Ala Phe Leu Val Thr Asn Met Val Pro Met Tyr Pro Ala Phe Lys Arg
                725                 730                 735
Val Trp Asn Tyr Phe Gln Arg Val Leu Val Lys Lys Tyr Ala Ser Glu
            740                 745                 750
Arg Asn Gly Val Asn Val Ile Ser Gly Pro Ile Phe Asp Tyr Asp Tyr
        755                 760                 765
Asp Gly Leu His Asp Thr Glu Asp Lys Ile Lys Gln Tyr Val Glu Gly
    770                 775                 780
Ser Ser Ile Pro Val Pro Thr His Tyr Tyr Ser Ile Ile Thr Ser Cys
785                 790                 795                 800
Leu Asp Phe Thr Gln Pro Ala Asp Lys Cys Asp Gly Pro Leu Ser Val
                805                 810                 815
Ser Ser Phe Ile Leu Pro His Arg Pro Asp Asn Glu Glu Ser Cys Asn
            820                 825                 830
Ser Ser Glu Asp Glu Ser Lys Trp Val Glu Glu Leu Met Lys Met His
        835                 840                 845
Thr Ala Arg Val Arg Asp Ile Glu His Leu Thr Ser Leu Asp Phe Phe
    850                 855                 860
Arg Lys Thr Ser Arg Ser Tyr Pro Glu Ile Leu Thr Leu Lys Thr Tyr
865                 870                 875                 880
Leu His Thr Tyr Glu Ser Glu Ile
                885
```

【０２７４】

配列番号６－ＥＮＰＰ３の細胞外ドメイン：

【数６－１】

```
Glu Lys Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp Ala Ser Phe Arg
1               5                   10                  15
Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys Asp Arg Gly Asp
            20                  25                  30
Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser Thr Arg Ile Trp
```

【数６－２】

```
        35                  40                  45
Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Thr Arg Leu Glu Ala Ser Leu
    50                  55                  60
Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys Cys Ala Asp
65                  70                  75                  80
Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu Glu Asn Cys
                85                  90                  95
Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp Leu Pro Pro
            100                 105                 110
Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu Tyr Thr
        115                 120                 125
Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr Cys Gly Ile
    130                 135                 140
His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn
145                 150                 155                 160
His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile
                165                 170                 175
Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe Ser Leu Ser
            180                 185                 190
Ser Lys Glu Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly Gln Pro Met Trp
        195                 200                 205
Leu Thr Ala Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr Tyr Phe Trp Pro
    210                 215                 220
Gly Ser Glu Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser Ile Tyr Met Pro
225                 230                 235                 240
Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser Thr Leu Leu Lys
                245                 250                 255
Trp Leu Asp Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe Tyr Thr Met Tyr
            260                 265                 270
Phe Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly Pro Val Ser Ala
        275                 280                 285
Arg Val Ile Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala Phe Gly Met Leu
    290                 295                 300
Met Glu Gly Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys Val Asn Ile Ile
305                 310                 315                 320
Leu Leu Ala Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys Asn Lys Met Glu
```

【数６－３】

```
                325                 330                 335
Tyr Met Thr Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe Tyr Met Tyr Glu
            340                 345                 350
Gly Pro Ala Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro His Asp Phe Phe
        355                 360                 365
Ser Phe Asn Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser Cys Arg Lys Pro
    370                 375                 380
Asp Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu Pro Lys Arg Leu
385                 390                 395                 400
His Tyr Ala Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His Leu Phe Val Asp
                405                 410                 415
Gln Gln Trp Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr Asn Cys Gly Gly
            420                 425                 430
Gly Asn His Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met Glu Ala Ile Phe
        435                 440                 445
Leu Ala His Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu Val Glu Pro Phe
    450                 455                 460
Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Arg Ile Gln
465                 470                 475                 480
Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys
                485                 490                 495
Val Pro Phe Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val Ser Lys Phe Ser
            500                 505                 510
Val Cys Gly Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser Leu Asp Cys Phe
        515                 520                 525
Cys Pro His Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln Val Asn Gln Met
    530                 535                 540
Leu Asn Leu Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val Lys Val Asn Leu
545                 550                 555                 560
Pro Phe Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val Asp His Cys Leu
                565                 570                 575
Leu Tyr His Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys Ala Met Arg Met
            580                 585                 590
Pro Met Trp Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly Asp Thr Ser Pro
        595                 600                 605
Leu Pro Pro Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp Val Arg Val Pro
```

【数６－４】

```
    610                 615                 620
Pro Ser Glu Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala Asp Lys Asn Ile
625                 630                 635                 640
Thr His Gly Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg Thr Ser Asp Ser
                645                 650                 655
Gln Tyr Asp Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro Met Tyr Glu Glu
            660                 665                 670
Phe Arg Lys Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu Leu Ile Lys His
        675                 680                 685
Ala Thr Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Ile Phe Asp
    690                 695                 700
Tyr Asn Tyr Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr Lys His
705                 710                 715                 720
Leu Ala Asn Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val Val Leu
                725                 730                 735
Thr Ser Cys Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn Cys Pro Gly Trp
            740                 745                 750
Leu Asp Val Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro Thr Asn Val Glu
        755                 760                 765
Ser Cys Pro Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val Glu Glu Arg Phe
    770                 775                 780
Thr Ala His Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu Leu Thr Gly Leu
785                 790                 795                 800
Asp Phe Tyr Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu Ile Leu Gln Leu
                805                 810                 815
Lys Thr Tyr Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile
            820                 825
```

【０２７５】

配列番号７－ＮＰＰ３アミノ酸配列：

【数７－１】

```
Met Glu Ser Thr Leu Thr Leu Ala Thr Glu Gln Pro Val Lys Lys Asn
1               5                   10                  15
Thr Leu Lys Lys Tyr Lys Ile Ala Cys Ile Val Leu Leu Ala Leu Leu
            20                  25                  30
Val Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys Leu
        35                  40                  45
```

【数７－２】

```
Glu Lys Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp Ala Ser Phe Arg
    50                  55                  60
Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys Asp Arg Gly Asp
65                  70                  75                  80
Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser Thr Arg Ile Trp
                85                  90                  95
Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Thr Arg Leu Glu Ala Ser Leu
            100                 105                 110
Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys Cys Ala Asp
        115                 120                 125
Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu Glu Asn Cys
    130                 135                 140
Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp Leu Pro Pro
145                 150                 155                 160
Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu Tyr Thr
                165                 170                 175
Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr Cys Gly Ile
            180                 185                 190
His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn
        195                 200                 205
His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile
    210                 215                 220
Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe Ser Leu Ser
225                 230                 235                 240
Ser Lys Glu Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly Gln Pro Met Trp
                245                 250                 255
Leu Thr Ala Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr Tyr Phe Trp Pro
            260                 265                 270
Gly Ser Glu Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser Ile Tyr Met Pro
        275                 280                 285
Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser Thr Leu Leu Lys
    290                 295                 300
Trp Leu Asp Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe Tyr Thr Met Tyr
305                 310                 315                 320
Phe Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly Pro Val Ser Ala
                325                 330                 335
```

【数７－３】

```
Arg Val Ile Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala Phe Gly Met Leu
            340                 345                 350
Met Glu Gly Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys Val Asn Ile Ile
        355                 360                 365
Leu Leu Ala Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys Asn Lys Met Glu
    370                 375                 380
Tyr Met Thr Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe Tyr Met Tyr Glu
385                 390                 395                 400
Gly Pro Ala Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro His Asp Phe Phe
                405                 410                 415
Ser Phe Asn Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser Cys Arg Lys Pro
            420                 425                 430
Asp Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu Pro Lys Arg Leu
        435                 440                 445
His Tyr Ala Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His Leu Phe Val Asp
    450                 455                 460
Gln Gln Trp Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr Asn Cys Gly Gly
465                 470                 475                 480
Gly Asn His Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met Glu Ala Ile Phe
                485                 490                 495
Leu Ala His Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu Val Glu Pro Phe
            500                 505                 510
Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Arg Ile Gln
        515                 520                 525
Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys
    530                 535                 540
Val Pro Phe Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val Ser Lys Phe Ser
545                 550                 555                 560
Val Cys Gly Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser Leu Asp Cys Phe
                565                 570                 575
Cys Pro His Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln Val Asn Gln Met
            580                 585                 590
Leu Asn Leu Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val Lys Val Asn Leu
        595                 600                 605
Pro Phe Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val Asp His Cys Leu
    610                 615                 620
```

【数７－４】

```
Leu Tyr His Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys Ala Met Arg Met
625                 630                 635                 640
Pro Met Trp Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly Asp Thr Ser Pro
                645                 650                 655
Leu Pro Pro Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp Val Arg Val Pro
            660                 665                 670
Pro Ser Glu Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala Asp Lys Asn Ile
        675                 680                 685
Thr His Gly Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg Thr Ser Asp Ser
    690                 695                 700
Gln Tyr Asp Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro Met Tyr Glu Glu
705                 710                 715                 720
Phe Arg Lys Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu Leu Ile Lys His
                725                 730                 735
Ala Thr Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Ile Phe Asp
            740                 745                 750
Tyr Asn Tyr Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr Lys His
        755                 760                 765
Leu Ala Asn Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val Val Leu
    770                 775                 780
Thr Ser Cys Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn Cys Pro Gly Trp
785                 790                 795                 800
Leu Asp Val Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro Thr Asn Val Glu
                805                 810                 815
Ser Cys Pro Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val Glu Glu Arg Phe
            820                 825                 830
Thr Ala His Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu Leu Thr Gly Leu
        835                 840                 845
Asp Phe Tyr Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu Ile Leu Gln Leu
    850                 855                 860
Lys Thr Tyr Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile
865                 870                 875
```

【０２７６】

配列番号８－アズロシジン－ＥＮＰＰ３－ＦＣ

【数８－１】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**AKQGSCRKKCFDASFRGLENCRCDVACKDRGDCCWDF
EDTCVESTRIWMCNKFRCGETRLEASLCSCSDDCLQRKDCCADYKSVCQGETSWLEENCDTAQQ

【数８－２】

SQCPEGFDLPPVILFSMDGFRAEYLYTWDTLMPNINKLKTCGIHSKYMRAMYPTKTFPNHYTIV
TGLYPESHGIIDNNMYDVNLNKNFSLSSKEQNNPAWWHGQPMNLTAMYQGLKAATYFWPGSEVA
INGSFPSIYMPYNGSVPFEERISTLLKWLDLPKAERPRFYTMYFEEPDSSGHAGGPVSARVIKA
LQVVDHAFGMLMEGLKQRNLHNCVNIILLADHGMDQTYCNKMEYMTDYFPRINFFYMYEGPAPR
IRAHNIPHDFFSFNSEEIVRNLSCRKPDQHFKPYLTPDLPKRLHYAKNVRIDKVHLFVDQQWLA
VRSKSNTNCGGGNHGYNNEFRSMEAIFLAHGPSFKEKTEVEPFENIEVYNLMCDLLRIQPAPNN
GTHGSLNHLLKVPFYEPSHAEEVSKFSVCGFANPLPTESLDCFCPHLQNSTQLEQVNQMLNLTQ
EEITATVKVNLPFGRPRVLQKNVDHCLLYHREYVSGFGKAMRMPMWSSYTVPQLGDTSPLPPTV
PDCLRADVRVPPSESQKCSFYLADKNITHGFLYPPASNRTSDSQYDALITSNLVPMYEEFRKMW
DYFHSVLLIKHATERNGVNVVSGPIFDYNYDGHFDAPDEITKHLANTDVPIPTHYFVVLTSCKN
KSHTPENCPGWLDVLPFIIPHRPTNVESCPEGKPEALWVEERFTAHIARVRDVELLTGLDFYQD
KVQPVSEILQLKTYLPTFETTI**DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV**
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

単一下線－アズロシジンシグナル配列、二重下線－ＥＮＰＰ３配列の始まり及び終わり、太字残基－Ｆｃ配列、＊＊は、シグナル配列の切断点を示す。

【０２７７】

配列番号９－アズロシジン－ＥＮＰＰ３－アルブミン

【数９－１】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**AKQGSCRKKCFDASFRGLENCRCDVACKDRGDCCWDF
EDTCVESTRIWMCNKFRCGETRLEASLCSCSDDCLQRKDCCADYKSVCQGETSWLEENCDTAQQ
SQCPEGFDLPPVILFSMDGFRAEYLYTWDTLMPNINKLKTCGIHSKYMRAMYPTKTFPNHYTIV
TGLYPESHGIIDNNMYDVNLNKNFSLSSKEQNNPAWWHGQPMNLTAMYQGLKAATYFWPGSEVA
INGSFPSIYMPYNGSVPFEERISTLLKWLDLPKAERPRFYTMYFEEPDSSGHAGGPVSARVIKA
LQVVDHAFGMLMEGLKQRNLHNCVNIILLADHGMDQTYCNKMEYMTDYFPRINFFYMYEGPAPR
IRAHNIPHDFFSFNSEEIVRNLSCRKPDQHFKPYLTPDLPKRLHYAKNVRIDKVHLFVDQQWLA
VRSKSNTNCGGGNHGYNNEFRSMEAIFLAHGPSFKEKTEVEPFENIEVYNLMCDLLRIQPAPNN
GTHGSLNHLLKVPFYEPSHAEEVSKFSVCGFANPLPTESLDCFCPHLQNSTQLEQVNQMLNLTQ
EEITATVKVNLPFGRPRVLQKNVDHCLLYHREYVSGFGKAMRMPMWSSYTVPQLGDTSPLPPTV
PDCLRADVRVPPSESQKCSFYLADKNITHGFLYPPASNRTSDSQYDALITSNLVPMYEEFRKMW
DYFHSVLLIKHATERNGVNVVSGPIFDYNYDGHFDAPDEITKHLANTDVPIPTHYFVVLTSCKN
KSHTPENCPGWLDVLPFIIPHRPTNVESCPEGKPEALWVEERFTAHIARVRDVELLTGLDFYQD
KVQPVSEILQLKTYLPTFETTI**MKWVTFLLLLFVSGSAFSRGVFRREAHKSEIAHRYNDLGEQH**
FKGLVLIAFSQYLQKCSYDEHAKLVQEVTDFAKTCVADESAANCDKSLHTLFGDKLCAIPNLRE
NYGELADCCTKQEPERNECFLQHKDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENPTTFMGHYLHEVARRH
PYFYAPELLYYAEQYNEILTQCCAEADKESCLTPKLDGVKEKALVSSVRQRMKCSSMQKFGERA

【数９－２】

FKAWAVARLSQTFPNADFAEITKLATDLTKVNKECCHGDLLECADDRAELAKYMCENQATISSK
LQTCCDKPLLKKAHCLSEVEHDTMPADLPAIAADFVEDQEVCKNYAEAKDVFLGTFLYEYSRRH
PDYSVSLLLRLAKKYEATLEKCCAEANPPACYGTVLAEFQPLVEEPKNLVKTNCDLYEKLGEYG
FQNAILVRYTQKAPQVSTPTLVEAARNLGRVGTKCCTLPEDQRLPCVEDYLSAILNRVCLLHEK
TPVSEHVTKCCSGSLVERRPCFSALTVDETYVPKEFKAETFTFHSDICTLPEKEKQIKKQTALA
ELVKHKPKATAEQLKTVMDDFAQFLDTCCKAADKDTCFSTEGPNLVTRCKDALARSWSHPQFEK

単一下線－アズロシジンシグナル配列、二重下線－ＥＮＰＰ３配列の始まり及び終わり、太字残基－アルブミン配列、＊＊は、シグナル配列の切断点を示す。

【０２７８】

配列番号１０－アズロシジン－ＥＮＰＰ３

【数１０】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**AKQGSCRKKCFDASFRGLENCRCDVACKDRGDCCWDF
EDTCVESTRIWMCNKFRCGETRLEASLCSCSDDCLQRKDCCADYKSVCQGETSWLEENCDTAQQ
SQCPEGFDLPPVILFSMDGFRAEYLYTWDTLMPNINKLKTCGIHSKYMRAMYPTKTFPNHYTIV
TGLYPESHGIIDNNMYDVNLNKNFSLSSKEQNNPAWWHGQPMNLTAMYQGLKAATYFWPGSEVA
INGSFPSIYMPYNGSVPFEERISTLLKWLDLPKAERPRFYTMYFEEPDSSGHAGGPVSARVIKA
LQVVDHAFGMLMEGLKQRNLHNCVNIILLADHGMDQTYCNKMEYMTDYFPRINFFYMYEGPAPR
IRAHNIPHDFFSFNSEEIVRNLSCRKPDQHFKPYLTPDLPKRLHYAKNVRIDKVHLFVDQQWLA
VRSKSNTNCGGGNHGYNNEFRSMEAIFLAHGPSFKEKTEVEPFENIEVYNLMCDLLRIQPAPNN
GTHGSLNHLLKVPFYEPSHAEEVSKFSVCGFANPLPTESLDCFCPHLQNSTQLEQVNQMLNLTQ
EEITATVKVNLPFGRPRVLQKNVDHCLLYHREYVSGFGKAMRMPMWSSYTVPQLGDTSPLPPTV
PDCLRADVRVPPSESQKCSFYLADKNITHGFLYPPASNRTSDSQYDALITSNLVPMYEEFRKMW
DYFHSVLLIKHATERNGVNVVSGPIFDYNYDGHFDAPDEITKHLANTDVPIPTHYFVVLTSCKN
KSHTPENCPGWLDVLPFIIPHRPTNVESCPEGKPEALWVEERFTAHIARVRDVELLTGLDFYQD
KVQPVSEILQLKTYLPTFETTI

単一下線－アズロシジンシグナル配列、二重下線－ＥＮＰＰ３配列の始まり及び終わり、＊＊は、シグナル配列の切断点を示す。

【０２７９】

配列番号１１－ＥＮＰＰ４アミノ酸配列－野生型

【数１１－１】

Met	Lys	Leu	Leu	Val	Ile	Leu	Leu	Phe	Ser	Gly	Leu	Ile	Thr	Gly	Phe
1				5				10						15	
Arg	Ser	Asp	Ser	Ser	Ser	Ser	Leu	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Leu	Val	Ser
			20				25					30			
Phe	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Asp	Tyr	Leu	Lys	Asn	Tyr	Glu	Phe	Pro	His
		35				40					45				

【数１１－２】

```
Leu Gln Asn Phe Ile Lys Glu Gly Val Leu Val Glu His Val Lys Asn
    50                  55                  60
Val Phe Ile Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly
65                  70                  75                  80
Leu Tyr Glu Glu Ser His Gly Ile Val Ala Asn Ser Met Tyr Asp Ala
                85                  90                  95
Val Thr Lys Lys His Phe Ser Asp Ser Asn Asp Lys Asp Pro Phe Trp
            100                 105                 110
Trp Asn Glu Ala Val Pro Ile Trp Val Thr Asn Gln Leu Gln Glu Asn
        115                 120                 125
Arg Ser Ser Ala Ala Ala Met Trp Pro Gly Thr Asp Val Pro Ile His
    130                 135                 140
Asp Thr Ile Ser Ser Tyr Phe Met Asn Tyr Asn Ser Ser Val Ser Phe
145                 150                 155                 160
Glu Glu Arg Leu Asn Asn Ile Thr Met Trp Leu Asn Asn Ser Asn Pro
                165                 170                 175
Pro Val Thr Phe Ala Thr Leu Tyr Trp Glu Glu Pro Asp Ala Ser Gly
            180                 185                 190
His Lys Tyr Gly Pro Glu Asp Lys Glu Asn Met Ser Arg Val Leu Lys
        195                 200                 205
Lys Ile Asp Asp Leu Ile Gly Asp Leu Val Gln Arg Leu Lys Met Leu
    210                 215                 220
Gly Leu Trp Glu Asn Leu Asn Val Ile Ile Thr Ser Asp His Gly Met
225                 230                 235                 240
Thr Gln Cys Ser Gln Asp Arg Leu Ile Asn Leu Asp Ser Cys Ile Asp
                245                 250                 255
His Ser Tyr Tyr Thr Leu Ile Asp Leu Ser Pro Val Ala Ala Ile Leu
            260                 265                 270
Pro Lys Ile Asn Arg Thr Glu Val Tyr Asn Lys Leu Lys Asn Cys Ser
        275                 280                 285
Pro His Met Asn Val Tyr Leu Lys Glu Asp Ile Pro Asn Arg Phe Tyr
    290                 295                 300
Tyr Gln His Asn Asp Arg Ile Gln Pro Ile Ile Leu Val Ala Asp Glu
305                 310                 315                 320
Gly Trp Thr Ile Val Leu Asn Glu Ser Ser Gln Lys Leu Gly Asp His
                325                 330                 335
```

【数１１－３】

```
Gly Tyr Asp Asn Ser Leu Pro Ser Met His Pro Phe Leu Ala Ala His
            340                 345                 350
Gly Pro Ala Phe His Lys Gly Tyr Lys His Ser Thr Ile Asn Ile Val
        355                 360                 365
Asp Ile Tyr Pro Met Met Cys His Ile Leu Gly Leu Lys Pro His Pro
    370                 375                 380
Asn Asn Gly Thr Phe Gly His Thr Lys Cys Leu Leu Val Asp Gln Trp
385                 390                 395                 400
Cys Ile Asn Leu Pro Glu Ala Ile Ala Ile Val Ile Gly Ser Leu Leu
                405                 410                 415
Val Leu Thr Met Leu Thr Cys Leu Ile Ile Ile Met Gln Asn Arg Leu
            420                 425                 430
Ser Val Pro Arg Pro Phe Ser Arg Leu Gln Leu Gln Glu Asp Asp Asp
        435                 440                 445
Asp Pro Leu Ile Gly
    450
```

【０２８０】

配列番号１２－ＥＮＰＰ５１アミノ酸配列

【数１２－１】

```
Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu Ser
1               5                   10                  15
Leu Ser Thr Thr Phe Ser Leu Gln**Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys
            20                  25                  30
Ser Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Ser Asn Cys Arg Cys
        35                  40                  45
Asp Ala Ala Cys Val Ser Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Phe Gln Glu
    50                  55                  60
Thr Cys Val Glu Pro Thr His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys
65                  70                  75                  80
Gly Glu Lys Arg Leu Ser Arg Phe Val Cys Ser Cys Ala Asp Asp Cys
                85                  90                  95
Lys Thr His Asn Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Asp
            100                 105                 110
Lys Lys Ser Trp Val Glu Glu Thr Cys Glu Ser Ile Asp Thr Pro Glu
        115                 120                 125
Cys Pro Ala Glu Phe Glu Ser Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu Asp
    130                 135                 140
```

【数１２－２】

```
Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro Val
145                 150                 155                 160
Ile Ser Lys Leu Lys Asn Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg Pro
                165                 170                 175
Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly
            180                 185                 190
Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp Pro
        195                 200                 205
Lys Met Asn Ala Ser Phe Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn Pro
    210                 215                 220
Leu Trp Tyr Lys Gly Gln Pro Ile Trp Val Thr Ala Asn His Gln Glu
225                 230                 235                 240
Val Lys Ser Gly Thr Tyr Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile Asp
                245                 250                 255
Gly Ile Leu Pro Asp Ile Tyr Lys Val Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe
            260                 265                 270
Glu Glu Arg Ile Leu Ala Val Leu Glu Trp Leu Gln Leu Pro Ser His
        275                 280                 285
Glu Arg Pro His Phe Tyr Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser Ser
    290                 295                 300
Gly His Ser His Gly Pro Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu Gln
305                 310                 315                 320
Lys Val Asp Arg Leu Val Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Asp Leu
                325                 330                 335
Gly Leu Asp Lys Cys Leu Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly Met
            340                 345                 350
Glu Gln Gly Ser Cys Lys Lys Tyr Val Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu Gly
        355                 360                 365
Asp Val Asn Asn Val Lys Val Val Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu Arg
    370                 375                 380
Pro Thr Asp Val Pro Glu Thr Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Ala Leu
385                 390                 395                 400
Ala Lys Asn Leu Ser Cys Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Arg Pro Tyr
                405                 410                 415
Leu Lys Pro Phe Leu Pro Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp Arg
            420                 425                 430
```

【数１２－３】

```
Ile Glu Pro Leu Thr Phe Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala Leu
        435                 440                 445
Asn Pro Ser Glu Arg Lys Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser Asp
    450                 455                 460
Asn Leu Phe Ser Asn Met Gln Ala Leu Phe Ile Gly Tyr Gly Pro Ala
465                 470                 475                 480
Phe Lys His Gly Ala Glu Val Asp Ser Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr
                485                 490                 495
Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Gly Leu Ile Pro Ala Pro Asn Asn Gly
            500                 505                 510
Ser His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Lys Pro Ile Tyr Asn Pro
        515                 520                 525
Ser His Pro Lys Glu Glu Gly Phe Leu Ser Gln Cys Pro Ile Lys Ser
    530                 535                 540
Thr Ser Asn Asp Leu Gly Cys Thr Cys Asp Pro Trp Ile Val Pro Ile
545                 550                 555                 560
Lys Asp Phe Glu Lys Gln Leu Asn Leu Thr Thr Glu Asp Val Asp Asp
                565                 570                 575
Ile Tyr His Met Thr Val Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Ile Leu Leu Lys
            580                 585                 590
Gln His Arg Val Cys Leu Leu Gln Gln Gln Gln Phe Leu Thr Gly Tyr
        595                 600                 605
Ser Leu Asp Leu Leu Met Pro Leu Trp Ala Ser Tyr Thr Phe Leu Ser
    610                 615                 620
Asn Asp Gln Phe Ser Arg Asp Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr Gln Asp
625                 630                 635                 640
Leu Arg Ile Pro Leu Ser Pro Val His Lys Cys Ser Tyr Tyr Lys Ser
                645                 650                 655
Asn Ser Lys Leu Ser Tyr Gly Phe Leu Thr Pro Pro Arg Leu Asn Arg
            660                 665                 670
Val Ser Asn His Ile Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Ser Asn Ile Val
        675                 680                 685
Pro Met Tyr Gln Ser Phe Gln Val Ile Trp His Tyr Leu His Asp Thr
    690                 695                 700
Leu Leu Gln Arg Tyr Ala His Glu Arg Asn Gly Ile Asn Val Val Ser
705                 710                 715                 720
```

【数１２－４】

```
Gly Pro Val Phe Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Tyr Asp Ser Leu Glu
                725                 730                 735
Ile Leu Lys Gln Asn Ser Arg Val Ile Arg Ser Gln Glu Ile Leu Ile
            740                 745                 750
Pro Thr His Phe Phe Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Gln Leu Ser Glu
        755                 760                 765
Thr Pro Leu Glu Cys Ser Ala Leu Glu Ser Ser Ala Tyr Ile Leu Pro
    770                 775                 780
His Arg Pro Asp Asn Ile Glu Ser Cys Thr His Gly Lys Arg Glu Ser
785                 790                 795                 800
Ser Trp Val Glu Glu Leu Leu Thr Leu His Arg Ala Arg Val Thr Asp
                805                 810                 815
Val Glu Leu Ile Thr Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Asp Arg Gln Glu Ser
            820                 825                 830
Val Ser Glu Leu Leu Arg Leu Lys Thr His Leu Pro Ile Phe Ser Gln
        835                 840                 845
Glu Asp
    850
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ１の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置

【０２８１】

配列番号１３－ＥＮＰＰ５１－ＡＬＢアミノ酸配列：

【数１３－１】

```
Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu Ser
1               5                   10                  15
Leu Ser Thr Thr Phe Ser Leu Gln**Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys
            20                  25                  30
Ser Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Ser Asn Cys Arg Cys
        35                  40                  45
Asp Ala Ala Cys Val Ser Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Phe Gln Glu
    50                  55                  60
Thr Cys Val Glu Pro Thr His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys
65                  70                  75                  80
Gly Glu Lys Arg Leu Ser Arg Phe Val Cys Ser Cys Ala Asp Asp Cys
                85                  90                  95
Lys Thr His Asn Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Asp
```

【数１３－２】

```
            100                 105                 110
Lys Lys Ser Trp Val Glu Glu Thr Cys Glu Ser Ile Asp Thr Pro Glu
        115                 120                 125
Cys Pro Ala Glu Phe Glu Ser Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu Asp
    130                 135                 140
Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro Val
145                 150                 155                 160
Ile Ser Lys Leu Lys Asn Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg Pro
                165                 170                 175
Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly
            180                 185                 190
Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp Pro
        195                 200                 205
Lys Met Asn Ala Ser Phe Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn Pro
    210                 215                 220
Leu Trp Tyr Lys Gly Gln Pro Ile Trp Val Thr Ala Asn His Gln Glu
225                 230                 235                 240
Val Lys Ser Gly Thr Tyr Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile Asp
                245                 250                 255
Gly Ile Leu Pro Asp Ile Tyr Lys Val Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe
            260                 265                 270
Glu Glu Arg Ile Leu Ala Val Leu Glu Trp Leu Gln Leu Pro Ser His
        275                 280                 285
Glu Arg Pro His Phe Tyr Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser Ser
    290                 295                 300
Gly His Ser His Gly Pro Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu Gln
305                 310                 315                 320
Lys Val Asp Arg Leu Val Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Asp Leu
                325                 330                 335
Gly Leu Asp Lys Cys Leu Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly Met
            340                 345                 350
Glu Gln Gly Ser Cys Lys Lys Tyr Val Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu Gly
        355                 360                 365
Asp Val Asn Asn Val Lys Val Val Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu Arg
    370                 375                 380
Pro Thr Asp Val Pro Glu Thr Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Ala Leu
```

【数１３－３】

385 390 395 400
Ala Lys Asn Leu Ser Cys Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Arg Pro Tyr
405 410 415
Leu Lys Pro Phe Leu Pro Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp Arg
420 425 430
Ile Glu Pro Leu Thr Phe Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala Leu
435 440 445
Asn Pro Ser Glu Arg Lys Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser Asp
450 455 460
Asn Leu Phe Ser Asn Met Gln Ala Leu Phe Ile Gly Tyr Gly Pro Ala
465 470 475 480
Phe Lys His Gly Ala Glu Val Asp Ser Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr
485 490 495
Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Gly Leu Ile Pro Ala Pro Asn Asn Gly
500 505 510
Ser His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Lys Pro Ile Tyr Asn Pro
515 520 525
Ser His Pro Lys Glu Glu Gly Phe Leu Ser Gln Cys Pro Ile Lys Ser
530 535 540
Thr Ser Asn Asp Leu Gly Cys Thr Cys Asp Pro Trp Ile Val Pro Ile
545 550 555 560
Lys Asp Phe Glu Lys Gln Leu Asn Leu Thr Thr Glu Asp Val Asp Asp
565 570 575
Ile Tyr His Met Thr Val Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Ile Leu Leu Lys
580 585 590
Gln His Arg Val Cys Leu Leu Gln Gln Gln Gln Phe Leu Thr Gly Tyr
595 600 605
Ser Leu Asp Leu Leu Met Pro Leu Trp Ala Ser Tyr Thr Phe Leu Ser
610 615 620
Asn Asp Gln Phe Ser Arg Asp Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr Gln Asp
625 630 635 640
Leu Arg Ile Pro Leu Ser Pro Val His Lys Cys Ser Tyr Tyr Lys Ser
645 650 655
Asn Ser Lys Leu Ser Tyr Gly Phe Leu Thr Pro Pro Arg Leu Asn Arg
660 665 670
Val Ser Asn His Ile Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Ser Asn Ile Val

【数１３－４】

```
        675                 680                 685
Pro Met Tyr Gln Ser Phe Gln Val Ile Trp His Tyr Leu His Asp Thr
    690                 695                 700
Leu Leu Gln Arg Tyr Ala His Glu Arg Asn Gly Ile Asn Val Val Ser
705                 710                 715                 720
Gly Pro Val Phe Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Tyr Asp Ser Leu Glu
                725                 730                 735
Ile Leu Lys Gln Asn Ser Arg Val Ile Arg Ser Gln Glu Ile Leu Ile
            740                 745                 750
Pro Thr His Phe Phe Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Gln Leu Ser Glu
        755                 760                 765
Thr Pro Leu Glu Cys Ser Ala Leu Glu Ser Ser Ala Tyr Ile Leu Pro
    770                 775                 780
His Arg Pro Asp Asn Ile Glu Ser Cys Thr His Gly Lys Arg Glu Ser
785                 790                 795                 800
Ser Trp Val Glu Glu Leu Leu Thr Leu His Arg Ala Arg Val Thr Asp
                805                 810                 815
Val Glu Leu Ile Thr Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Asp Arg Gln Glu Ser
            820                 825                 830
Val Ser Glu Leu Leu Arg Leu Lys Thr His Leu Pro Ile Phe Ser Gln
        835                 840                 845
Glu Asp Gly Gly Ser Gly Gly Ser Met Lys Trp Val Thr Phe Leu Leu
    850                 855                 860
Leu Leu Phe Val Ser Gly Ser Ala Phe Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg
865                 870                 875                 880
Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu
                885                 890                 895
Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln
            900                 905                 910
Lys Cys Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys Leu Val Gln Glu Val Thr Asp
        915                 920                 925
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys
    930                 935                 940
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Ala Ile Pro Asn Leu
945                 950                 955                 960
Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys Cys Thr Lys Gln Glu Pro
```

【数１３－５】

```
                965                 970                 975
Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Ser Leu
            980                 985                 990
Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala  Glu Ala Met Cys Thr  Ser Phe
Lys
        995                 1000                1005
Glu Asn  Pro Thr Thr Phe Met  Gly His Tyr Leu His  Glu Val Ala
    1010                1015                1020
Arg Arg  His Pro Tyr Phe Tyr  Ala Pro Glu Leu Leu  Tyr Tyr Ala
    1025                1030                1035
Glu Gln  Tyr Asn Glu Ile Leu  Thr Gln Cys Cys Ala  Glu Ala Asp
    1040                1045                1050
Lys Glu  Ser Cys Leu Thr Pro  Lys Leu Asp Gly Val  Lys Glu Lys
    1055                1060                1065
Ala Leu  Val Ser Ser Val Arg  Gln Arg Met Lys Cys  Ser Ser Met
    1070                1075                1080
Gln Lys  Phe Gly Glu Arg Ala  Phe Lys Ala Trp Ala  Val Ala Arg
    1085                1090                1095
Leu Ser  Gln Thr Phe Pro Asn  Ala Asp Phe Ala Glu  Ile Thr Lys
    1100                1105                1110
Leu Ala  Thr Asp Leu Thr Lys  Val Asn Lys Glu Cys  Cys His Gly
    1115                1120                1125
Asp Leu  Leu Glu Cys Ala Asp  Asp Arg Ala Glu Leu  Ala Lys Tyr
    1130                1135                1140
Met Cys  Glu Asn Gln Ala Thr  Ile Ser Ser Lys Leu  Gln Thr Cys
    1145                1150                1155
Cys Asp  Lys Pro Leu Leu Lys  Lys Ala His Cys Leu  Ser Glu Val
    1160                1165                1170
Glu His  Asp Thr Met Pro Ala  Asp Leu Pro Ala Ile  Ala Ala Asp
    1175                1180                1185
Phe Val  Glu Asp Gln Glu Val  Cys Lys Asn Tyr Ala  Glu Ala Lys
    1190                1195                1200
Asp Val  Phe Leu Gly Thr Phe  Leu Tyr Glu Tyr Ser  Arg Arg His
    1205                1210                1215
Pro Asp  Tyr Ser Val Ser Leu  Leu Leu Arg Leu Ala  Lys Lys Tyr
    1220                1225                1230
```

【数１３－６】

Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Glu Ala Asn Pro Pro Ala
1235 1240 1245
Cys Tyr Gly Thr Val Leu Ala Glu Phe Gln Pro Leu Val Glu Glu
1250 1255 1260
Pro Lys Asn Leu Val Lys Thr Asn Cys Asp Leu Tyr Glu Lys Leu
1265 1270 1275
Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Ile Leu Val Arg Tyr Thr Gln
1280 1285 1290
Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Ala Ala Arg
1295 1300 1305
Asn Leu Gly Arg Val Gly Thr Lys Cys Cys Thr Leu Pro Glu Asp
1310 1315 1320
Gln Arg Leu Pro Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ser Ala Ile Leu Asn
1325 1330 1335
Arg Val Cys Leu Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu His Val
1340 1345 1350
Thr Lys Cys Cys Ser Gly Ser Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys Phe
1355
Ser Ala Leu Thr Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys
1370 1375 1380
Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ser Asp Ile Cys Thr Leu Pro Glu
1385 1390 1395
Lys Glu Lys Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val
1400 1405 1410
Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Ala Glu Gln Leu Lys Thr Val Met
1415 1420 1425
Asp Asp Phe Ala Gln Phe Leu Asp Thr Cys Cys Lys Ala Ala Asp
1430 1435 1440
Lys Asp Thr Cys Phe Ser Thr Glu Gly Pro Asn Leu Val Thr Arg
1445 1450 1455
Cys Lys Asp Ala Leu Ala Arg Ser Trp Ser His Pro Gln Phe Glu
1460 1465 1470
Lys

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ１の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【０２８２】

配列番号１４－ＥＮＰＰ５－ＮＰＰ３－Ｆｃ配列

【数１４－１】

```
Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu Ser
1               5                  10                  15
Leu Ser Thr Thr Phe Ser**Lys Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe
            20                  25                  30
Asp Ala Ser Phe Arg Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys
        35                  40                  45
Lys Asp Arg Gly Asp Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu
    50                  55                  60
Ser Thr Arg Ile Trp Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg Leu
65                  70                  75                  80
Glu Ala Ser Leu Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp
                85                  90                  95
Cys Cys Ala Asp Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu
            100                 105                 110
Glu Glu Asn Cys Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe
        115                 120                 125
Asp Leu Pro Pro Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu
    130                 135                 140
Tyr Leu Tyr Thr Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys
145                 150                 155                 160
Thr Cys Gly Ile His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys
                165                 170                 175
Thr Phe Pro Asn His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser
            180                 185                 190
His Gly Ile Ile Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn
        195                 200                 205
Phe Ser Leu Ser Ser Lys Glu Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly
    210                 215                 220
Gln Pro Met Trp Leu Thr Ala Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr
225                 230                 235                 240
Tyr Phe Trp Pro Gly Ser Glu Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser
                245                 250                 255
Ile Tyr Met Pro Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser
            260                 265                 270
```

【数１４－２】

```
Thr Leu Leu Lys Trp Leu Asp Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe
        275                 280                 285
Tyr Thr Met Tyr Phe Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly
    290                 295                 300
Pro Val Ser Ala Arg Val Ile Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala
305                 310                 315                 320
Phe Gly Met Leu Met Glu Gly Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys
                325                 330                 335
Val Asn Ile Ile Leu Leu Ala Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys
            340                 345                 350
Asn Lys Met Glu Tyr Met Thr Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe
        355                 360                 365
Tyr Met Tyr Glu Gly Pro Ala Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro
    370                 375                 380
His Asp Phe Phe Ser Phe Asn Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser
385                 390                 395                 400
Cys Arg Lys Pro Asp Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu
                405                 410                 415
Pro Lys Arg Leu His Tyr Ala Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His
            420                 425                 430
Leu Phe Val Asp Gln Gln Trp Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr
        435                 440                 445
Asn Cys Gly Gly Gly Asn His Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met
    450                 455                 460
Glu Ala Ile Phe Leu Ala His Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu
465                 470                 475                 480
Val Glu Pro Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu
                485                 490                 495
Leu Arg Ile Gln Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn
            500                 505                 510
His Leu Leu Lys Val Pro Phe Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val
        515                 520                 525
Ser Lys Phe Ser Val Cys Gly Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser
    530                 535                 540
Leu Asp Cys Phe Cys Pro His Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln
545                 550                 555                 560
```

【数１４－３】

```
Val Asn Gln Met Leu Asn Leu Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val
                565                 570                 575
Lys Val Asn Leu Pro Phe Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val
            580                 585                 590
Asp His Cys Leu Leu Tyr His Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys
        595                 600                 605
Ala Met Arg Met Pro Met Trp Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly
    610                 615                 620
Asp Thr Ser Pro Leu Pro Pro Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp
625                 630                 635                 640
Val Arg Val Pro Pro Ser Glu Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala
                645                 650                 655
Asp Lys Asn Ile Thr His Gly Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg
            660                 665                 670
Thr Ser Asp Ser Gln Tyr Asp Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro
        675                 680                 685
Met Tyr Glu Glu Phe Arg Lys Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu
    690                 695                 700
Leu Ile Lys His Ala Thr Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly
705                 710                 715                 720
Pro Ile Phe Asp Tyr Asn Tyr Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu
                725                 730                 735
Ile Thr Lys His Leu Ala Asn Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr
            740                 745                 750
Phe Val Val Leu Thr Ser Cys Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn
        755                 760                 765
Cys Pro Gly Trp Leu Asp Val Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro
    770                 775                 780
Thr Asn Val Glu Ser Cys Pro Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val
785                 790                 795                 800
Glu Glu Arg Phe Thr Ala His Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu
                805                 810                 815
Leu Thr Gly Leu Asp Phe Tyr Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu
            820                 825                 830
Ile Leu Gln Leu Lys Thr Tyr Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile Asp
        835                 840                 845
```

【数１４－４】

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
850 855 860
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
865 870 875 880
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
885 890 895
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
900 905 910
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
915 920 925
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
930 935 940
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
945 950 955 960
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
965 970 975
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
980 985 990
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
995 1000 1005
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
1010 1015 1020
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
1025 1030 1035
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
1040 1045 1050
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
1055 1060 1065
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
1070

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ３３の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【０２８３】

配列番号１５－ＥＮＰＰ５－ＮＰＰ３－アルブミン配列

【数１５－１】

```
Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu Ser
1               5                  10                  15
Leu Ser Thr Thr Phe Ser**Lys Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe
            20                  25                  30
Asp Ala Ser Phe Arg Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys
        35                  40                  45
Lys Asp Arg Gly Asp Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu
    50                  55                  60
Ser Thr Arg Ile Trp Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg Leu
65                  70                  75                  80
Glu Ala Ser Leu Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp
                85                  90                  95
Cys Cys Ala Asp Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu
            100                 105                 110
Glu Glu Asn Cys Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe
        115                 120                 125
Asp Leu Pro Pro Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu
    130                 135                 140
Tyr Leu Tyr Thr Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys
145                 150                 155                 160
Thr Cys Gly Ile His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys
                165                 170                 175
Thr Phe Pro Asn His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser
            180                 185                 190
His Gly Ile Ile Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn
        195                 200                 205
Phe Ser Leu Ser Ser Lys Glu Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly
    210                 215                 220
Gln Pro Met Trp Leu Thr Ala Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr
225                 230                 235                 240
Tyr Phe Trp Pro Gly Ser Glu Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser
                245                 250                 255
Ile Tyr Met Pro Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser
            260                 265                 270
Thr Leu Leu Lys Trp Leu Asp Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe
        275                 280                 285
```

【数１５－２】

```
Tyr Thr Met Tyr Phe Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly
    290                 295                 300
Pro Val Ser Ala Arg Val Ile Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala
305                 310                 315                 320
Phe Gly Met Leu Met Glu Gly Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys
                325                 330                 335
Val Asn Ile Ile Leu Leu Ala Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys
            340                 345                 350
Asn Lys Met Glu Tyr Met Thr Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe
        355                 360                 365
Tyr Met Tyr Glu Gly Pro Ala Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro
    370                 375                 380
His Asp Phe Phe Ser Phe Asn Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser
385                 390                 395                 400
Cys Arg Lys Pro Asp Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu
                405                 410                 415
Pro Lys Arg Leu His Tyr Ala Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His
            420                 425                 430
Leu Phe Val Asp Gln Gln Trp Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr
        435                 440                 445
Asn Cys Gly Gly Gly Asn His Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met
    450                 455                 460
Glu Ala Ile Phe Leu Ala His Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu
465                 470                 475                 480
Val Glu Pro Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu
                485                 490                 495
Leu Arg Ile Gln Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn
            500                 505                 510
His Leu Leu Lys Val Pro Phe Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val
        515                 520                 525
Ser Lys Phe Ser Val Cys Gly Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser
    530                 535                 540
Leu Asp Cys Phe Cys Pro His Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln
545                 550                 555                 560
Val Asn Gln Met Leu Asn Leu Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val
                565                 570                 575
```

【数１５－３】

Lys Val Asn Leu Pro Phe Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val
580 585 590
Asp His Cys Leu Leu Tyr His Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys
595 600 605
Ala Met Arg Met Pro Met Trp Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly
610 615 620
Asp Thr Ser Pro Leu Pro Pro Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp
625 630 635 640
Val Arg Val Pro Pro Ser Glu Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala
645 650 655
Asp Lys Asn Ile Thr His Gly Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg
660 665 670
Thr Ser Asp Ser Gln Tyr Asp Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro
675 680 685
Met Tyr Glu Glu Phe Arg Lys Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu
690 695 700
Leu Ile Lys His Ala Thr Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly
705 710 715 720
Pro Ile Phe Asp Tyr Asn Tyr Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu
725 730 735
Ile Thr Lys His Leu Ala Asn Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr
740 745 750
Phe Val Val Leu Thr Ser Cys Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn
755 760 765
Cys Pro Gly Trp Leu Asp Val Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro
770 775 780
Thr Asn Val Glu Ser Cys Pro Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val
785 790 795 800
Glu Glu Arg Phe Thr Ala His Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu
805 810 815
Leu Thr Gly Leu Asp Phe Tyr Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu
820 825 830
Ile Leu Gln Leu Lys Thr Tyr Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile **Gly**
835 840 845
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Lys Trp
850 855 860

【数１５－４】

```
Val Thr Phe Leu Leu Leu Leu Phe Val Ser Gly Ser Ala Phe Ser Arg
865                 870                 875                 880
Gly Val Phe Arg Arg Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg Tyr
                885                 890                 895
Asn Asp Leu Gly Glu Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe
            900                 905                 910
Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Cys Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys Leu Val
        915                 920                 925
Gln Glu Val Thr Asp Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala
    930                 935                 940
Ala Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys
945                 950                 955                 960
Ala Ile Pro Asn Leu Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys Cys
                965                 970                 975
Thr Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp
            980                 985                 990
Asp Asn Pro Ser Leu Pro Pro Phe  Glu Arg Pro Glu Ala  Glu Ala
Met
        995                 1000                1005
Cys Thr  Ser Phe Lys Glu Asn  Pro Thr Thr Phe Met  Gly His Tyr
    1010                1015                1020
Leu His  Glu Val Ala Arg Arg  His Pro Tyr Phe Tyr  Ala Pro Glu
    1025                1030                1035
Leu Leu  Tyr Tyr Ala Glu Gln  Tyr Asn Glu Ile Leu  Thr Gln Cys
    1040                1045                1050
Cys Ala  Glu Ala Asp Lys Glu  Ser Cys Leu Thr Pro  Lys Leu Asp
    1055                1060                1065
Gly Val  Lys Glu Lys Ala Leu  Val Ser Ser Val Arg  Gln Arg Met
    1070                1075                1080
Lys Cys  Ser Ser Met Gln Lys  Phe Gly Glu Arg Ala  Phe Lys Ala
    1085                1090                1095
Trp Ala  Val Ala Arg Leu Ser  Gln Thr Phe Pro Asn  Ala Asp Phe
    1100                1105                1110
Ala Glu  Ile Thr Lys Leu Ala  Thr Asp Leu Thr Lys  Val Asn Lys
    1115                1120                1125
Glu Cys  Cys His Gly Asp Leu  Leu Glu Cys Ala Asp  Asp Arg Ala
```

【数１５－５】

```
    1130                1135                1140
Glu Leu  Ala Lys Tyr Met Cys  Glu Asn Gln Ala Thr  Ile Ser Ser
    1145                1150                1155
Lys Leu  Gln Thr Cys Cys Asp  Lys Pro Leu Leu Lys  Lys Ala His
    1160                1165                1170
Cys Leu  Ser Glu Val Glu His  Asp Thr Met Pro Ala  Asp Leu Pro
    1175                1180                1185
Ala Ile  Ala Ala Asp Phe Val  Glu Asp Gln Glu Val  Cys Lys Asn
    1190                1195                1200
Tyr Ala  Glu Ala Lys Asp Val  Phe Leu Gly Thr Phe  Leu Tyr Glu
    1205                1210                1215
Tyr Ser  Arg Arg His Pro Asp  Tyr Ser Val Ser Leu  Leu Leu Arg
    1220                1225                1230
Leu Ala  Lys Lys Tyr Glu Ala  Thr Leu Glu Lys Cys  Cys Ala Glu
    1235                1240                1245
Ala Asn  Pro Pro Ala Cys Tyr  Gly Thr Val Leu Ala  Glu Phe Gln
    1250                1255                1260
Pro Leu  Val Glu Glu Pro Lys  Asn Leu Val Lys Thr  Asn Cys Asp
    1265                1270                1275
Leu Tyr  Glu Lys Leu Gly Glu  Tyr Gly Phe Gln Asn  Ala Ile Leu
    1280                1285                1290
Val Arg  Tyr Thr Gln Lys Ala  Pro Gln Val Ser Thr  Pro Thr Leu
    1295                1300                1305
Val Glu  Ala Ala Arg Asn Leu  Gly Arg Val Gly Thr  Lys Cys Cys
    1310                1315                1320
Thr Leu  Pro Glu Asp Gln Arg  Leu Pro Cys Val Glu  Asp Tyr Leu
    1325                1330                1335
Ser Ala  Ile Leu Asn Arg Val  Cys Leu Leu His Glu  Lys Thr Pro
    1340                1345                1350
Val Ser  Glu His Val Thr Lys  Cys Cys Ser Gly Ser  Leu Val Glu
    1355                1360                1365
Arg Arg  Pro Cys Phe Ser Ala  Leu Thr Val Asp Glu  Thr Tyr Val
    1370                1375                1380
Pro Lys  Glu Phe Lys Ala Glu  Thr Phe Thr Phe His  Ser Asp Ile
    1385                1390                1395
Cys Thr  Leu Pro Glu Lys Glu  Lys Gln Ile Lys Lys  Gln Thr Ala
```

【数１５－６】

```
    1400                1405                1410
Leu Ala  Glu Leu Val Lys His  Lys Pro Lys Ala Thr  Ala Glu Gln
    1415                1420                1425
Leu Lys  Thr Val Met Asp Asp  Phe Ala Gln Phe Leu  Asp Thr Cys
    1430                1435                1440
Cys Lys  Ala Ala Asp Lys Asp  Thr Cys Phe Ser Thr  Glu Gly Pro
    1445                1450                1455
Asn Leu  Val Thr Arg Cys Lys  Asp Ala Leu Ala
    1460                1465
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ３の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【０２８４】

配列番号１６－ＥＮＰＰ５タンパク質輸出シグナル配列

【数１６】

```
Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu Ser
1               5                   10                  15
Leu Ser Thr Thr Phe Ser Xaa
            20
```

【０２８５】

配列番号１７－ＥＮＰＰ５１－Ｆｃ

【数１７－１】

```
Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu Ser
1               5                   10                  15
Leu Ser Thr Thr Phe Ser**Gly Leu Lys Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val
            20                  25                  30
Lys Ser Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg
        35                  40                  45
Cys Asp Ala Ala Cys Val Glu Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln
    50                  55                  60
Glu Thr Cys Ile Glu Pro Glu His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg
65                  70                  75                  80
Cys Gly Glu Lys Arg Leu Thr Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp
                85                  90                  95
Cys Lys Asp Lys Gly Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln
            100                 105                 110
Gly Glu Lys Ser Trp Val Glu Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro
        115                 120                 125
Gln Cys Pro Ala Gly Phe Glu Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu
```

【数１７－２】

```
    130                 135                 140
Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro
145                 150                 155                 160
Val Ile Ser Lys Leu Lys Lys Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg
                165                 170                 175
Pro Val Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr
            180                 185                 190
Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp
        195                 200                 205
Pro Lys Met Asn Ala Ser Phe Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn
    210                 215                 220
Pro Glu Trp Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln
225                 230                 235                 240
Gly Leu Lys Ser Gly Thr Phe Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile
                245                 250                 255
Asn Gly Ile Phe Pro Asp Ile Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro
            260                 265                 270
Phe Glu Glu Arg Ile Leu Ala Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys
        275                 280                 285
Asp Glu Arg Pro His Phe Tyr Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser
    290                 295                 300
Ser Gly His Ser Tyr Gly Pro Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu
305                 310                 315                 320
Gln Arg Val Asp Gly Met Val Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu
                325                 330                 335
Leu Asn Leu His Arg Cys Leu Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly
            340                 345                 350
Met Glu Gln Gly Ser Cys Lys Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu
        355                 360                 365
Gly Asp Val Lys Asn Ile Lys Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu
    370                 375                 380
Arg Pro Ser Asp Val Pro Asp Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly
385                 390                 395                 400
Ile Ala Arg Asn Leu Ser Cys Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro
                405                 410                 415
Tyr Leu Lys His Phe Leu Pro Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp
```

【数１７－３】

```
            420                 425                 430
Arg Ile Glu Pro Leu Thr Phe Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala
        435                 440                 445
Leu Asn Pro Ser Glu Arg Lys Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser
    450                 455                 460
Asp Asn Val Phe Ser Asn Met Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro
465                 470                 475                 480
Gly Phe Lys His Gly Ile Glu Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val
                485                 490                 495
Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn
            500                 505                 510
Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr
        515                 520                 525
Pro Lys His Pro Lys Glu Val His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr
    530                 535                 540
Arg Asn Pro Arg Asp Asn Leu Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu
545                 550                 555                 560
Pro Ile Glu Asp Phe Gln Thr Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu
                565                 570                 575
Lys Ile Ile Lys His Glu Thr Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu
            580                 585                 590
Gln Lys Glu Asn Thr Ile Cys Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser
        595                 600                 605
Gly Tyr Ser Gln Asp Ile Leu Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val
    610                 615                 620
Asp Arg Asn Asp Ser Phe Ser Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr
625                 630                 635                 640
Gln Asp Phe Arg Ile Pro Leu Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr
                645                 650                 655
Lys Asn Asn Thr Lys Val Ser Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu
            660                 665                 670
Asn Lys Asn Ser Ser Gly Ile Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn
        675                 680                 685
Ile Val Pro Met Tyr Gln Ser Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His
    690                 695                 700
Asp Thr Leu Leu Arg Lys Tyr Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val
```

【数１７－４】

705 710 715 720
Val Ser Gly Pro Val Phe Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser
725 730 735
Leu Glu Asn Leu Arg Gln Lys Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile
740 745 750
Leu Ile Pro Thr His Phe Phe Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr
755 760 765
Ser Gln Thr Pro Leu His Cys Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile
770 775 780
Leu Pro His Arg Thr Asp Asn Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His
785 790 795 800
Asp Ser Ser Trp Val Glu Glu Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile
805 810 815
Thr Asp Val Glu His Ile Thr Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys
820 825 830
Glu Pro Val Ser Asp Ile Leu Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe
835 840 845
Ser Gln Glu Asp **Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro**
850 855 860
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
865 870 875 880
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
885 890 895
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
900 905 910
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
915 920 925
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
930 935 940
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
945 950 955 960
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
965 970 975
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
980 985 990

【数１７－５】

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
995 1000 1005
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
1010 1015 1020
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
1025 1030 1035
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
1040 1045 1050
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
1055 1060 1065
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
1070 1075

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ３の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、Ｆｃ配列を示す

【０２８６】

配列番号１８－ＥＮＰＰ７１－Ｆｃアミノ酸配列

【数１８－１】

Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15
Ala Pro Gly Ala Gly Ala**Gly Leu Lys Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val
20 25 30
Lys Ser Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg
35 40 45
Cys Asp Ala Ala Cys Val Glu Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln
50 55 60
Glu Thr Cys Ile Glu Pro Glu His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg
65 70 75 80
Cys Gly Glu Lys Arg Leu Thr Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp
85 90 95
Cys Lys Asp Lys Gly Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln
100 105 110
Gly Glu Lys Ser Trp Val Glu Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro
115 120 125
Gln Cys Pro Ala Gly Phe Glu Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu
130 135 140
Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro

【数１８－２】

```
145                 150                 155                 160
Val Ile Ser Lys Leu Lys Lys Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg
                165                 170                 175
Pro Val Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr
            180                 185                 190
Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp
        195                 200                 205
Pro Lys Met Asn Ala Ser Phe Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn
    210                 215                 220
Pro Glu Trp Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln
225                 230                 235                 240
Gly Leu Lys Ser Gly Thr Phe Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile
                245                 250                 255
Asn Gly Ile Phe Pro Asp Ile Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro
            260                 265                 270
Phe Glu Glu Arg Ile Leu Ala Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys
        275                 280                 285
Asp Glu Arg Pro His Phe Tyr Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser
    290                 295                 300
Ser Gly His Ser Tyr Gly Pro Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu
305                 310                 315                 320
Gln Arg Val Asp Gly Met Val Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu
                325                 330                 335
Leu Asn Leu His Arg Cys Leu Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly
            340                 345                 350
Met Glu Gln Gly Ser Cys Lys Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu
        355                 360                 365
Gly Asp Val Lys Asn Ile Lys Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu
    370                 375                 380
Arg Pro Ser Asp Val Pro Asp Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly
385                 390                 395                 400
Ile Ala Arg Asn Leu Ser Cys Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro
                405                 410                 415
Tyr Leu Lys His Phe Leu Pro Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp
            420                 425                 430
Arg Ile Glu Pro Leu Thr Phe Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala
```

【数１８－３】

```
        435                 440                 445
Leu Asn Pro Ser Glu Arg Lys Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser
    450                 455                 460
Asp Asn Val Phe Ser Asn Met Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro
465                 470                 475                 480
Gly Phe Lys His Gly Ile Glu Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val
                485                 490                 495
Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn
            500                 505                 510
Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr
        515                 520                 525
Pro Lys His Pro Lys Glu Val His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr
    530                 535                 540
Arg Asn Pro Arg Asp Asn Leu Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu
545                 550                 555                 560
Pro Ile Glu Asp Phe Gln Thr Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu
                565                 570                 575
Lys Ile Ile Lys His Glu Thr Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu
            580                 585                 590
Gln Lys Glu Asn Thr Ile Cys Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser
        595                 600                 605
Gly Tyr Ser Gln Asp Ile Leu Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val
    610                 615                 620
Asp Arg Asn Asp Ser Phe Ser Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr
625                 630                 635                 640
Gln Asp Phe Arg Ile Pro Leu Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr
                645                 650                 655
Lys Asn Asn Thr Lys Val Ser Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu
            660                 665                 670
Asn Lys Asn Ser Ser Gly Ile Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn
        675                 680                 685
Ile Val Pro Met Tyr Gln Ser Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His
    690                 695                 700
Asp Thr Leu Leu Arg Lys Tyr Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val
705                 710                 715                 720
Val Ser Gly Pro Val Phe Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser
```

【数１８－４】

```
                725                 730                 735
Leu Glu Asn Leu Arg Gln Lys Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile
            740                 745                 750
Leu Ile Pro Thr His Phe Phe Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr
        755                 760                 765
Ser Gln Thr Pro Leu His Cys Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile
    770                 775                 780
Leu Pro His Arg Thr Asp Asn Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His
785                 790                 795                 800
Asp Ser Ser Trp Val Glu Glu Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile
                805                 810                 815
Thr Asp Val Glu His Ile Thr Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys
            820                 825                 830
Glu Pro Val Ser Asp Ile Leu Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe
        835                 840                 845
Ser Gln Glu Asp Leu Ile Asn Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
    850                 855                 860
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
865                 870                 875                 880
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
                885                 890                 895
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
            900                 905                 910
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
        915                 920                 925
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
    930                 935                 940
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
945                 950                 955                 960
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
                965                 970                 975
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
            980                 985                 990
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  Thr Cys Leu Val Lys  Gly Phe
Tyr
        995                 1000                1005
```

【数１８－５】

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
1010 1015 1020
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
1025 1030 1035
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
1040 1045 1050
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
1055 1060 1065
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
1070 1075 1080

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ１の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、Ｆｃ配列を示す

【０２８７】

配列番号１９－ＥＮＰＰ７１（ＮＰＰ１　Ｎ末端ＧＬＫを欠く）アミノ酸配列：

【数１９－１】

Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15
Ala Pro Gly Ala Gly Ala**Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys Ser Cys
20 25 30
Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg Cys Asp Ala
35 40 45
Ala Cys Val Glu Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln Glu Thr Cys
50 55 60
Ile Glu Pro Glu His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu
65 70 75 80
Lys Arg Leu Thr Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp Cys Lys Asp
85 90 95
Lys Gly Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Gly Glu Lys
100 105 110
Ser Trp Val Glu Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro Gln Cys Pro
115 120 125
Ala Gly Phe Glu Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Phe
130 135 140
Arg Ala Glu Tyr Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro Val Ile Ser
145 150 155 160
Lys Leu Lys Lys Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg Pro Val Tyr
165 170 175

【数１９－２】

```
Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly Leu Tyr
            180                 185                 190
Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp Pro Lys Met
        195                 200                 205
Asn Ala Ser Phe Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn Pro Glu Trp
    210                 215                 220
Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln Gly Leu Lys
225                 230                 235                 240
Ser Gly Thr Phe Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile Asn Gly Ile
                245                 250                 255
Phe Pro Asp Ile Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu
            260                 265                 270
Arg Ile Leu Ala Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys Asp Glu Arg
        275                 280                 285
Pro His Phe Tyr Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His
    290                 295                 300
Ser Tyr Gly Pro Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu Gln Arg Val
305                 310                 315                 320
Asp Gly Met Val Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu Leu Asn Leu
                325                 330                 335
His Arg Cys Leu Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly Met Glu Gln
            340                 345                 350
Gly Ser Cys Lys Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu Gly Asp Val
        355                 360                 365
Lys Asn Ile Lys Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu Arg Pro Ser
    370                 375                 380
Asp Val Pro Asp Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly Ile Ala Arg
385                 390                 395                 400
Asn Leu Ser Cys Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Lys
                405                 410                 415
His Phe Leu Pro Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp Arg Ile Glu
            420                 425                 430
Pro Leu Thr Phe Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala Leu Asn Pro
        435                 440                 445
Ser Glu Arg Lys Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser Asp Asn Val
    450                 455                 460
```

【数１９－３】

```
Phe Ser Asn Met Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro Gly Phe Lys
465                 470                 475                 480
His Gly Ile Glu Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu
                485                 490                 495
Met Cys Asp Leu Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His
            500                 505                 510
Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr Pro Lys His
        515                 520                 525
Pro Lys Glu Val His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr Arg Asn Pro
    530                 535                 540
Arg Asp Asn Leu Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu Pro Ile Glu
545                 550                 555                 560
Asp Phe Gln Thr Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu Lys Ile Ile
                565                 570                 575
Lys His Glu Thr Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Glu
            580                 585                 590
Asn Thr Ile Cys Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser Gly Tyr Ser
        595                 600                 605
Gln Asp Ile Leu Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val Asp Arg Asn
    610                 615                 620
Asp Ser Phe Ser Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr Gln Asp Phe
625                 630                 635                 640
Arg Ile Pro Leu Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr Lys Asn Asn
                645                 650                 655
Thr Lys Val Ser Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu Asn Lys Asn
            660                 665                 670
Ser Ser Gly Ile Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn Ile Val Pro
        675                 680                 685
Met Tyr Gln Ser Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His Asp Thr Leu
    690                 695                 700
Leu Arg Lys Tyr Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly
705                 710                 715                 720
Pro Val Phe Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser Leu Glu Asn
                725                 730                 735
Leu Arg Gln Lys Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile Leu Ile Pro
            740                 745                 750
```

【数１９－４】

Thr His Phe Phe Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr Ser Gln Thr
755 760 765
Pro Leu His Cys Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile Leu Pro His
770 775 780
Arg Thr Asp Asn Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His Asp Ser Ser
785 790 795 800
Trp Val Glu Glu Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile Thr Asp Val
805 810 815
Glu His Ile Thr Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys Glu Pro Val
820 825 830
Ser Asp Ile Leu Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe Ser Gln Glu
835 840 845
Asp

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ３の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置

【０２８８】

配列番号２０－ＥＮＰＰ７１（ＮＰＰ１　Ｎ末端ＧＬＫを欠く）Ｆｃアミノ酸配列：

【数２０－１】

Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15
Ala Pro Gly Ala Gly Ala**Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys Ser Cys
20 25 30
Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg Cys Asp Ala
35 40 45
Ala Cys Val Glu Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln Glu Thr Cys
50 55 60
Ile Glu Pro Glu His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu
65 70 75 80
Lys Arg Leu Thr Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp Cys Lys Asp
85 90 95
Lys Gly Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Gly Glu Lys
100 105 110
Ser Trp Val Glu Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro Gln Cys Pro
115 120 125
Ala Gly Phe Glu Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Phe
130 135 140
Arg Ala Glu Tyr Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro Val Ile Ser

【数２０－２】

```
145                 150                 155                 160
Lys Leu Lys Lys Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg Pro Val Tyr
                165                 170                 175
Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly Leu Tyr
            180                 185                 190
Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp Pro Lys Met
        195                 200                 205
Asn Ala Ser Phe Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn Pro Glu Trp
    210                 215                 220
Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln Gly Leu Lys
225                 230                 235                 240
Ser Gly Thr Phe Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile Asn Gly Ile
                245                 250                 255
Phe Pro Asp Ile Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu
            260                 265                 270
Arg Ile Leu Ala Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys Asp Glu Arg
        275                 280                 285
Pro His Phe Tyr Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His
    290                 295                 300
Ser Tyr Gly Pro Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu Gln Arg Val
305                 310                 315                 320
Asp Gly Met Val Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu Leu Asn Leu
                325                 330                 335
His Arg Cys Leu Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly Met Glu Gln
            340                 345                 350
Gly Ser Cys Lys Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu Gly Asp Val
        355                 360                 365
Lys Asn Ile Lys Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu Arg Pro Ser
    370                 375                 380
Asp Val Pro Asp Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly Ile Ala Arg
385                 390                 395                 400
Asn Leu Ser Cys Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Lys
                405                 410                 415
His Phe Leu Pro Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp Arg Ile Glu
            420                 425                 430
Pro Leu Thr Phe Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala Leu Asn Pro
```

【数２０－３】

```
        435                 440                 445
Ser Glu Arg Lys Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser Asp Asn Val
    450                 455                 460
Phe Ser Asn Met Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro Gly Phe Lys
465                 470                 475                 480
His Gly Ile Glu Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu
                485                 490                 495
Met Cys Asp Leu Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His
            500                 505                 510
Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr Pro Lys His
        515                 520                 525
Pro Lys Glu Val His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr Arg Asn Pro
    530                 535                 540
Arg Asp Asn Leu Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu Pro Ile Glu
545                 550                 555                 560
Asp Phe Gln Thr Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu Lys Ile Ile
                565                 570                 575
Lys His Glu Thr Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Glu
            580                 585                 590
Asn Thr Ile Cys Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser Gly Tyr Ser
        595                 600                 605
Gln Asp Ile Leu Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val Asp Arg Asn
    610                 615                 620
Asp Ser Phe Ser Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr Gln Asp Phe
625                 630                 635                 640
Arg Ile Pro Leu Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr Lys Asn Asn
                645                 650                 655
Thr Lys Val Ser Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu Asn Lys Asn
            660                 665                 670
Ser Ser Gly Ile Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn Ile Val Pro
        675                 680                 685
Met Tyr Gln Ser Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His Asp Thr Leu
    690                 695                 700
Leu Arg Lys Tyr Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly
705                 710                 715                 720
Pro Val Phe Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser Leu Glu Asn
```

【数２０－４】

```
                725                 730                 735
Leu Arg Gln Lys Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile Leu Ile Pro
            740                 745                 750
Thr His Phe Phe Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr Ser Gln Thr
        755                 760                 765
Pro Leu His Cys Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile Leu Pro His
    770                 775                 780
Arg Thr Asp Asn Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His Asp Ser Ser
785                 790                 795                 800
Trp Val Glu Glu Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile Thr Asp Val
                805                 810                 815
Glu His Ile Thr Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys Glu Pro Val
            820                 825                 830
Ser Asp Ile Leu Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe Ser Gln Glu
        835                 840                 845
Asp Leu Ile Asn Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
    850                 855                 860
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
865                 870                 875                 880
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
                885                 890                 895
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
            900                 905                 910
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
        915                 920                 925
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
    930                 935                 940
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
945                 950                 955                 960
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
                965                 970                 975
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
            980                 985                 990
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  Val Lys Gly Phe Tyr  Pro Ser
Asp
        995                 1000                1005
```

【数２０－５】

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
1010 1015 1020
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
1025 1030 1035
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
1040 1045 1050
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
1055 1060 1065
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
1070 1075

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ１の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、Ｆｃ配列を示す

【０２８９】

配列番号２１－ＥＮＰＰ７１（ＮＰＰ１　Ｎ末端ＧＬＫを欠く）－ＡＬＢアミノ酸配列

【数２１－１】

Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15
Ala Pro Gly Ala Gly Ala**Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys Ser Cys
20 25 30
Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg Cys Asp Ala
35 40 45
Ala Cys Val Glu Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln Glu Thr Cys
50 55 60
Ile Glu Pro Glu His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu
65 70 75 80
Lys Arg Leu Thr Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp Cys Lys Asp
85 90 95
Lys Gly Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Gly Glu Lys
100 105 110
Ser Trp Val Glu Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro Gln Cys Pro
115 120 125
Ala Gly Phe Glu Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Phe
130 135 140
Arg Ala Glu Tyr Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro Val Ile Ser
145 150 155 160
Lys Leu Lys Lys Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg Pro Val Tyr
165 170 175

【数２１－２】

```
Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly Leu Tyr
            180                 185                 190
Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp Pro Lys Met
        195                 200                 205
Asn Ala Ser Phe Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn Pro Glu Trp
    210                 215                 220
Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln Gly Leu Lys
225                 230                 235                 240
Ser Gly Thr Phe Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile Asn Gly Ile
                245                 250                 255
Phe Pro Asp Ile Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu
            260                 265                 270
Arg Ile Leu Ala Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys Asp Glu Arg
        275                 280                 285
Pro His Phe Tyr Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His
    290                 295                 300
Ser Tyr Gly Pro Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu Gln Arg Val
305                 310                 315                 320
Asp Gly Met Val Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu Leu Asn Leu
                325                 330                 335
His Arg Cys Leu Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly Met Glu Gln
            340                 345                 350
Gly Ser Cys Lys Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu Gly Asp Val
        355                 360                 365
Lys Asn Ile Lys Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu Arg Pro Ser
    370                 375                 380
Asp Val Pro Asp Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly Ile Ala Arg
385                 390                 395                 400
Asn Leu Ser Cys Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Lys
                405                 410                 415
His Phe Leu Pro Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp Arg Ile Glu
            420                 425                 430
Pro Leu Thr Phe Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala Leu Asn Pro
        435                 440                 445
Ser Glu Arg Lys Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser Asp Asn Val
    450                 455                 460
```

【数２１－３】

```
Phe Ser Asn Met Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro Gly Phe Lys
465                 470                 475                 480
His Gly Ile Glu Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu
                485                 490                 495
Met Cys Asp Leu Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His
            500                 505                 510
Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr Pro Lys His
        515                 520                 525
Pro Lys Glu Val His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr Arg Asn Pro
    530                 535                 540
Arg Asp Asn Leu Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu Pro Ile Glu
545                 550                 555                 560
Asp Phe Gln Thr Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu Lys Ile Ile
                565                 570                 575
Lys His Glu Thr Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Glu
            580                 585                 590
Asn Thr Ile Cys Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser Gly Tyr Ser
        595                 600                 605
Gln Asp Ile Leu Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val Asp Arg Asn
    610                 615                 620
Asp Ser Phe Ser Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr Gln Asp Phe
625                 630                 635                 640
Arg Ile Pro Leu Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr Lys Asn Asn
                645                 650                 655
Thr Lys Val Ser Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu Asn Lys Asn
            660                 665                 670
Ser Ser Gly Ile Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn Ile Val Pro
        675                 680                 685
Met Tyr Gln Ser Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His Asp Thr Leu
    690                 695                 700
Leu Arg Lys Tyr Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly
705                 710                 715                 720
Pro Val Phe Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser Leu Glu Asn
                725                 730                 735
Leu Arg Gln Lys Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile Leu Ile Pro
            740                 745                 750
```

【数２１－４】

Thr His Phe Phe Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr Ser Gln Thr
755 760 765
Pro Leu His Cys Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile Leu Pro His
770 775 780
Arg Thr Asp Asn Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His Asp Ser Ser
785 790 795 800
Trp Val Glu Glu Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile Thr Asp Val
805 810 815
Glu His Ile Thr Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys Glu Pro Val
820 825 830
Ser Asp Ile Leu Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe Ser Gln Glu
835 840 845
Asp Arg Ser Gly Ser Gly Gly Ser **Met Lys Trp Val Thr Phe Leu Leu**
850 855 860
Leu Leu Phe Val Ser Gly Ser Ala Phe Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg
865 870 875 880
Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu
885 890 895
Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln
900 905 910
Lys Cys Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys Leu Val Gln Glu Val Thr Asp
915 920 925
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys
930 935 940
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Ala Ile Pro Asn Leu
945 950 955 960
Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys Cys Thr Lys Gln Glu Pro
965 970 975
Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Ser Leu
980 985 990
Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala Glu Ala Met Cys Thr Ser Phe Lys
995 1000 1005
Glu Asn Pro Thr Thr Phe Met Gly His Tyr Leu His Glu Val Ala
1010 1015 1020
Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Tyr Tyr Ala

【数２１－５】

```
    1025                1030                1035
Glu Gln  Tyr Asn Glu Ile Leu  Thr Gln Cys Cys Ala  Glu Ala Asp
    1040                1045                1050
Lys Glu  Ser Cys Leu Thr Pro  Lys Leu Asp Gly Val  Lys Glu Lys
    1055                1060                1065
Ala Leu  Val Ser Ser Val Arg  Gln Arg Met Lys Cys  Ser Ser Met
    1070                1075                1080
Gln Lys  Phe Gly Glu Arg Ala  Phe Lys Ala Trp Ala  Val Ala Arg
    1085                1090                1095
Leu Ser  Gln Thr Phe Pro Asn  Ala Asp Phe Ala Glu  Ile Thr Lys
    1100                1105                1110
Leu Ala  Thr Asp Leu Thr Lys  Val Asn Lys Glu Cys  Cys His Gly
    1115                1120                1125
Asp Leu  Leu Glu Cys Ala Asp  Asp Arg Ala Glu Leu  Ala Lys Tyr
    1130                1135                1140
Met Cys  Glu Asn Gln Ala Thr  Ile Ser Ser Lys Leu  Gln Thr Cys
    1145                1150                1155
Cys Asp  Lys Pro Leu Leu Lys  Lys Ala His Cys Leu  Ser Glu Val
    1160                1165                1170
Glu His  Asp Thr Met Pro Ala  Asp Leu Pro Ala Ile  Ala Ala Asp
    1175                1180                1185
Phe Val  Glu Asp Gln Glu Val  Cys Lys Asn Tyr Ala  Glu Ala Lys
    1190                1195                1200
Asp Val  Phe Leu Gly Thr Phe  Leu Tyr Glu Tyr Ser  Arg Arg His
    1205                1210                1215
Pro Asp  Tyr Ser Val Ser Leu  Leu Leu Arg Leu Ala  Lys Lys Tyr
    1220                1225                1230
Glu Ala  Thr Leu Glu Lys Cys  Cys Ala Glu Ala Asn  Pro Pro Ala
    1235                1240                1245
Cys Tyr  Gly Thr Val Leu Ala  Glu Phe Gln Pro Leu  Val Glu Glu
    1250                1255                1260
Pro Lys  Asn Leu Val Lys Thr  Asn Cys Asp Leu Tyr  Glu Lys Leu
    1265                1270                1275
Gly Glu  Tyr Gly Phe Gln Asn  Ala Ile Leu Val Arg  Tyr Thr Gln
    1280                1285                1290
Lys Ala  Pro Gln Val Ser Thr  Pro Thr Leu Val Glu  Ala Ala Arg
```

【数２１－６】

```
    1295                1300                1305
Asn Leu  Gly Arg Val Gly Thr  Lys Cys Cys Thr Leu  Pro Glu Asp
    1310                1315                1320
Gln Arg  Leu Pro Cys Val Glu  Asp Tyr Leu Ser Ala  Ile Leu Asn
    1325                1330                1335
Arg Val  Cys Leu Leu His Glu  Lys Thr Pro Val Ser  Glu His Val
    1340                1345                1350
Thr Lys  Cys Cys Ser Gly Ser  Leu Val Glu Arg Arg  Pro Cys Phe
    1355                1360                1365
Ser Ala  Leu Thr Val Asp Glu  Thr Tyr Val Pro Lys  Glu Phe Lys
    1370                1375                1380
Ala Glu  Thr Phe Thr Phe His  Ser Asp Ile Cys Thr  Leu Pro Glu
    1385                1390                1395
Lys Glu  Lys Gln Ile Lys Lys  Gln Thr Ala Leu Ala  Glu Leu Val
    1400                1405                1410
Lys His  Lys Pro Lys Ala Thr  Ala Glu Gln Leu Lys  Thr Val Met
    1415                1420                1425
Asp Asp  Phe Ala Gln Phe Leu  Asp Thr Cys Cys Lys  Ala Ala Asp
    1430                1435                1440
Lys Asp  Thr Cys Phe Ser Thr  Glu Gly Pro Asn Leu  Val Thr Arg
    1445                1450                1455
Cys Lys  Asp Ala Leu Ala Arg  Ser Trp Ser His Pro  Gln Phe Glu
    1460                1465                1470
Lys
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ１の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【０２９０】

配列番号２２－ＥＮＰＰ７－ＮＰＰ３－Ｆｃ配列：

【数２２－１】

```
Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1               5                  10                  15
Ala Pro Gly Ala**Lys Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp Ala
            20                  25                  30
Ser Phe Arg Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys Asp
        35                  40                  45
Arg Gly Asp Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser Thr
    50                  55                  60
```

【数２２－２】

```
Arg Ile Trp Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg Leu Glu Ala
65                  70                  75                  80
Ser Leu Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys Cys
                85                  90                  95
Ala Asp Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu Glu
            100                 105                 110
Asn Cys Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp Leu
        115                 120                 125
Pro Pro Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu
    130                 135                 140
Tyr Thr Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr Cys
145                 150                 155                 160
Gly Ile His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe
                165                 170                 175
Pro Asn His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly
            180                 185                 190
Ile Ile Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe Ser
        195                 200                 205
Leu Ser Ser Lys Glu Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly Gln Pro
    210                 215                 220
Met Trp Leu Thr Ala Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr Tyr Phe
225                 230                 235                 240
Trp Pro Gly Ser Glu Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser Ile Tyr
                245                 250                 255
Met Pro Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser Thr Leu
            260                 265                 270
Leu Lys Trp Leu Asp Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe Tyr Thr
        275                 280                 285
Met Tyr Phe Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly Pro Val
    290                 295                 300
Ser Ala Arg Val Ile Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala Phe Gly
305                 310                 315                 320
Met Leu Met Glu Gly Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys Val Asn
                325                 330                 335
Ile Ile Leu Leu Ala Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys Asn Lys
            340                 345                 350
```

【数２２－３】

```
Met Glu Tyr Met Thr Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe Tyr Met
        355                 360                 365
Tyr Glu Gly Pro Ala Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro His Asp
    370                 375                 380
Phe Phe Ser Phe Asn Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser Cys Arg
385                 390                 395                 400
Lys Pro Asp Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu Pro Lys
                405                 410                 415
Arg Leu His Tyr Ala Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His Leu Phe
            420                 425                 430
Val Asp Gln Gln Trp Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr Asn Cys
        435                 440                 445
Gly Gly Gly Asn His Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met Glu Ala
    450                 455                 460
Ile Phe Leu Ala His Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu Val Glu
465                 470                 475                 480
Pro Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Arg
                485                 490                 495
Ile Gln Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu
            500                 505                 510
Leu Lys Val Pro Phe Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val Ser Lys
        515                 520                 525
Phe Ser Val Cys Gly Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser Leu Asp
    530                 535                 540
Cys Phe Cys Pro His Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln Val Asn
545                 550                 555                 560
Gln Met Leu Asn Leu Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val Lys Val
                565                 570                 575
Asn Leu Pro Phe Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val Asp His
            580                 585                 590
Cys Leu Leu Tyr His Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys Ala Met
        595                 600                 605
Arg Met Pro Met Trp Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly Asp Thr
    610                 615                 620
Ser Pro Leu Pro Pro Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp Val Arg
625                 630                 635                 640
```

【数２２－４】

Val Pro Pro Ser Glu Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala Asp Lys
645 650 655
Asn Ile Thr His Gly Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg Thr Ser
660 665 670
Asp Ser Gln Tyr Asp Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro Met Tyr
675 680 685
Glu Glu Phe Arg Lys Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu Leu Ile
690 695 700
Lys His Ala Thr Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Ile
705 710 715 720
Phe Asp Tyr Asn Tyr Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr
725 730 735
Lys His Leu Ala Asn Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val
740 745 750
Val Leu Thr Ser Cys Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn Cys Pro
755 760 765
Gly Trp Leu Asp Val Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro Thr Asn
770 775 780
Val Glu Ser Cys Pro Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val Glu Glu
785 790 795 800
Arg Phe Thr Ala His Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu Leu Thr
805 810 815
Gly Leu Asp Phe Tyr Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu Ile Leu
820 825 830
Gln Leu Lys Thr Tyr Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile **Asp Lys Thr**
835 840 845
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
850 855 860
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
865 870 875 880
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
885 890 895
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
900 905 910
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
915 920 925

【数２２－５】

```
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
    930                 935                 940
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
945                 950                 955                 960
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
                965                 970                 975
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
            980                 985                 990
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  Asp Ile Ala Val Glu  Trp Glu Ser
        995                 1000                1005
Asn Gly  Gln Pro Glu Asn Asn  Tyr Lys Thr Thr Pro  Pro Val Leu
    1010                1015                1020
Asp Ser  Asp Gly Ser Phe Phe  Leu Tyr Ser Lys Leu  Thr Val Asp
    1025                1030                1035
Lys Ser  Arg Trp Gln Gln Gly  Asn Val Phe Ser Cys  Ser Val Met
    1040                1045                1050
His Glu  Ala Leu His Asn His  Tyr Thr Gln Lys Ser  Leu Ser Leu
    1055                1060                1065
Ser Pro  Gly Lys
    1070
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ３の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、Ｆｃ配列を示す

【０２９１】

配列番号２３－ＥＮＰＰ７１－アルブミン

【数２３－１】

```
Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1               5                   10                  15
Ala Pro Gly Ala Gly Leu Lys**Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys Ser
            20                  25                  30
Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg Cys Asp
        35                  40                  45
Ala Ala Cys Val Glu Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln Glu Thr
    50                  55                  60
Cys Ile Glu Pro Glu His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly
65                  70                  75                  80
Glu Lys Arg Leu Thr Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp Cys Lys
                85                  90                  95
```

【数２３－２】

```
Asp Lys Gly Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Gly Glu
            100                 105                 110
Lys Ser Trp Val Glu Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro Gln Cys
        115                 120                 125
Pro Ala Gly Phe Glu Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly
    130                 135                 140
Phe Arg Ala Glu Tyr Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro Val Ile
145                 150                 155                 160
Ser Lys Leu Lys Lys Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg Pro Val
                165                 170                 175
Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly Leu
            180                 185                 190
Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp Pro Lys
        195                 200                 205
Met Asn Ala Ser Phe Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn Pro Glu
    210                 215                 220
Trp Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln Gly Leu
225                 230                 235                 240
Lys Ser Gly Thr Phe Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile Asn Gly
                245                 250                 255
Ile Phe Pro Asp Ile Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu
            260                 265                 270
Glu Arg Ile Leu Ala Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys Asp Glu
        275                 280                 285
Arg Pro His Phe Tyr Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly
    290                 295                 300
His Ser Tyr Gly Pro Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu Gln Arg
305                 310                 315                 320
Val Asp Gly Met Val Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu Leu Asn
                325                 330                 335
Leu His Arg Cys Leu Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly Met Glu
            340                 345                 350
Gln Gly Ser Cys Lys Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu Gly Asp
        355                 360                 365
Val Lys Asn Ile Lys Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu Arg Pro
    370                 375                 380
```

【数２３－３】

```
Ser Asp Val Pro Asp Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly Ile Ala
385                 390                 395                 400
Arg Asn Leu Ser Cys Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu
                405                 410                 415
Lys His Phe Leu Pro Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp Arg Ile
            420                 425                 430
Glu Pro Leu Thr Phe Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala Leu Asn
        435                 440                 445
Pro Ser Glu Arg Lys Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser Asp Asn
    450                 455                 460
Val Phe Ser Asn Met Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro Gly Phe
465                 470                 475                 480
Lys His Gly Ile Glu Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn
                485                 490                 495
Leu Met Cys Asp Leu Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr
            500                 505                 510
His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr Pro Lys
        515                 520                 525
His Pro Lys Glu Val His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr Arg Asn
    530                 535                 540
Pro Arg Asp Asn Leu Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu Pro Ile
545                 550                 555                 560
Glu Asp Phe Gln Thr Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu Lys Ile
                565                 570                 575
Ile Lys His Glu Thr Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys
            580                 585                 590
Glu Asn Thr Ile Cys Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser Gly Tyr
        595                 600                 605
Ser Gln Asp Ile Leu Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val Asp Arg
    610                 615                 620
Asn Asp Ser Phe Ser Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr Gln Asp
625                 630                 635                 640
Phe Arg Ile Pro Leu Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr Lys Asn
                645                 650                 655
Asn Thr Lys Val Ser Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu Asn Lys
            660                 665                 670
```

【数２３－４】

Asn Ser Ser Gly Ile Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn Ile Val
675 680 685
Pro Met Tyr Gln Ser Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His Asp Thr
690 695 700
Leu Leu Arg Lys Tyr Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser
705 710 715 720
Gly Pro Val Phe Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser Leu Glu
725 730 735
Asn Leu Arg Gln Lys Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile Leu Ile
740 745 750
Pro Thr His Phe Phe Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr Ser Gln
755 760 765
Thr Pro Leu His Cys Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile Leu Pro
770 775 780
His Arg Thr Asp Asn Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His Asp Ser
785 790 795 800
Ser Trp Val Glu Glu Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile Thr Asp
805 810 815
Val Glu His Ile Thr Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys Glu Pro
820 825 830
Val Ser Asp Ile Leu Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe Ser Gln
835 840 845
Glu Asp Gly Gly Ser Gly Gly Ser **Met Lys Trp Val Thr Phe Leu Leu**
850 855 860
Leu Leu Phe Val Ser Gly Ser Ala Phe Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg
865 870 875 880
Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu
885 890 895
Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln
900 905 910
Lys Cys Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys Leu Val Gln Glu Val Thr Asp
915 920 925
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys
930 935 940
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Ala Ile Pro Asn Leu
945 950 955 960

【数２３－５】

Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys Cys Thr Lys Gln Glu Pro
965 970 975
Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Ser Leu
980 985 990
Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala Glu Ala Met Cys Thr Ser Phe
Lys
995 1000 1005
Glu Asn Pro Thr Thr Phe Met Gly His Tyr Leu His Glu Val Ala
1010 1015 1020
Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Tyr Tyr Ala
1025 1030 1035
Glu Gln Tyr Asn Glu Ile Leu Thr Gln Cys Cys Ala Glu Ala Asp
1040 1045 1050
Lys Glu Ser Cys Leu Thr Pro Lys Leu Asp Gly Val Lys Glu Lys
1055 1060 1065
Ala Leu Val Ser Ser Val Arg Gln Arg Met Lys Cys Ser Ser Met
1070 1075 1080
Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg
1085 1090 1095
Leu Ser Gln Thr Phe Pro Asn Ala Asp Phe Ala Glu Ile Thr Lys
1100 1105 1110
Leu Ala Thr Asp Leu Thr Lys Val Asn Lys Glu Cys Cys His Gly
1115 1120 1125
Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Glu Leu Ala Lys Tyr
1130 1135 1140
Met Cys Glu Asn Gln Ala Thr Ile Ser Ser Lys Leu Gln Thr Cys
1145 1150 1155
Cys Asp Lys Pro Leu Leu Lys Lys Ala His Cys Leu Ser Glu Val
1160 1165 1170
Glu His Asp Thr Met Pro Ala Asp Leu Pro Ala Ile Ala Ala Asp
1175 1180 1185
Phe Val Glu Asp Gln Glu Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys
1190 1195 1200
Asp Val Phe Leu Gly Thr Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His
1205 1210 1215
Pro Asp Tyr Ser Val Ser Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Lys Tyr

【数２３－６】

```
    1220                1225                1230
Glu Ala  Thr Leu Glu Lys Cys  Cys Ala Glu Ala Asn  Pro Pro Ala
    1235                1240                1245
Cys Tyr  Gly Thr Val Leu Ala  Glu Phe Gln Pro Leu  Val Glu Glu
    1250                1255                1260
Pro Lys  Asn Leu Val Lys Thr  Asn Cys Asp Leu Tyr  Glu Lys Leu
    1265                1270                1275
Gly Glu  Tyr Gly Phe Gln Asn  Ala Ile Leu Val Arg  Tyr Thr Gln
    1280                1285                1290
Lys Ala  Pro Gln Val Ser Thr  Pro Thr Leu Val Glu  Ala Ala Arg
    1295                1300                1305
Asn Leu  Gly Arg Val Gly Thr  Lys Cys Cys Thr Leu  Pro Glu Asp
    1310                1315                1320
Gln Arg  Leu Pro Cys Val Glu  Asp Tyr Leu Ser Ala  Ile Leu Asn
    1325                1330                1335
Arg Val  Cys Leu Leu His Glu  Lys Thr Pro Val Ser  Glu His Val
    1340                1345                1350
Thr Lys  Cys Cys Ser Gly Ser  Leu Val Glu Arg Arg  Pro Cys Phe
    1355                1360                1365
Ser Ala  Leu Thr Val Asp Glu  Thr Tyr Val Pro Lys  Glu Phe Lys
    1370                1375                1380
Ala Glu  Thr Phe Thr Phe His  Ser Asp Ile Cys Thr  Leu
    1385                1390                1395
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ３の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、Ｆｃ配列を示す

【０２９２】

配列番号２４－ＥＮＰＰ７－ＮＰＰ３－アルブミン

【数２４－１】

```
Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1               5                  10                  15
Ala Pro Gly Ala**Lys Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp Ala
            20                  25                  30
Ser Phe Arg Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys Asp
        35                  40                  45
Arg Gly Asp Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser Thr
    50                  55                  60
Arg Ile Trp Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg Leu Glu Ala
```

【数２４－２】

```
65                  70                  75                  80
Ser Leu Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys Cys
                85                  90                  95
Ala Asp Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu Glu
            100                 105                 110
Asn Cys Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp Leu
        115                 120                 125
Pro Pro Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu
    130                 135                 140
Tyr Thr Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr Cys
145                 150                 155                 160
Gly Ile His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe
                165                 170                 175
Pro Asn His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly
            180                 185                 190
Ile Ile Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe Ser
        195                 200                 205
Leu Ser Ser Lys Glu Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly Gln Pro
    210                 215                 220
Met Trp Leu Thr Ala Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr Tyr Phe
225                 230                 235                 240
Trp Pro Gly Ser Glu Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser Ile Tyr
                245                 250                 255
Met Pro Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser Thr Leu
            260                 265                 270
Leu Lys Trp Leu Asp Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe Tyr Thr
        275                 280                 285
Met Tyr Phe Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly Pro Val
    290                 295                 300
Ser Ala Arg Val Ile Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala Phe Gly
305                 310                 315                 320
Met Leu Met Glu Gly Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys Val Asn
                325                 330                 335
Ile Ile Leu Leu Ala Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys Asn Lys
            340                 345                 350
Met Glu Tyr Met Thr Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe Tyr Met
```

【数２４－３】

```
        355                 360                 365
Tyr Glu Gly Pro Ala Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro His Asp
    370                 375                 380
Phe Phe Ser Phe Asn Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser Cys Arg
385                 390                 395                 400
Lys Pro Asp Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu Pro Lys
                405                 410                 415
Arg Leu His Tyr Ala Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His Leu Phe
            420                 425                 430
Val Asp Gln Gln Trp Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr Asn Cys
        435                 440                 445
Gly Gly Gly Asn His Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met Glu Ala
    450                 455                 460
Ile Phe Leu Ala His Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu Val Glu
465                 470                 475                 480
Pro Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Arg
                485                 490                 495
Ile Gln Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu
            500                 505                 510
Leu Lys Val Pro Phe Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val Ser Lys
        515                 520                 525
Phe Ser Val Cys Gly Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser Leu Asp
    530                 535                 540
Cys Phe Cys Pro His Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln Val Asn
545                 550                 555                 560
Gln Met Leu Asn Leu Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val Lys Val
                565                 570                 575
Asn Leu Pro Phe Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val Asp His
            580                 585                 590
Cys Leu Leu Tyr His Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys Ala Met
        595                 600                 605
Arg Met Pro Met Trp Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly Asp Thr
    610                 615                 620
Ser Pro Leu Pro Pro Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp Val Arg
625                 630                 635                 640
Val Pro Pro Ser Glu Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala Asp Lys
```

【数２４－４】

645 650 655
Asn Ile Thr His Gly Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg Thr Ser
660 665 670
Asp Ser Gln Tyr Asp Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro Met Tyr
675 680 685
Glu Glu Phe Arg Lys Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu Leu Ile
690 695 700
Lys His Ala Thr Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Ile
705 710 715 720
Phe Asp Tyr Asn Tyr Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr
725 730 735
Lys His Leu Ala Asn Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val
740 745 750
Val Leu Thr Ser Cys Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn Cys Pro
755 760 765
Gly Trp Leu Asp Val Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro Thr Asn
770 775 780
Val Glu Ser Cys Pro Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val Glu Glu
785 790 795 800
Arg Phe Thr Ala His Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu Leu Thr
805 810 815
Gly Leu Asp Phe Tyr Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu Ile Leu
820 825 830
Gln Leu Lys Thr Tyr Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile Gly Gly Gly
835 840 845
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser **Met Lys Trp Val Thr**
850 855 860
Phe Leu Leu Leu Leu Phe Val Ser Gly Ser Ala Phe Ser Arg Gly Val
865 870 875 880
Phe Arg Arg Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg Tyr Asn Asp
885 890 895
Leu Gly Glu Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe Ser Gln
900 905 910
Tyr Leu Gln Lys Cys Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys Leu Val Gln Glu
915 920 925
Val Thr Asp Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Ala Asn

【数２４－５】

```
    930                 935                 940
Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Ala Ile
945                 950                 955                 960
Pro Asn Leu Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys Cys Thr Lys
                965                 970                 975
Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
            980                 985                 990
Pro Ser Leu Pro Pro Phe Glu Arg  Pro Glu Ala Glu Ala  Met Cys Thr
        995                 1000                1005
Ser Phe  Lys Glu Asn Pro Thr  Thr Phe Met Gly His  Tyr Leu His
    1010                1015                1020
Glu Val  Ala Arg Arg His Pro  Tyr Phe Tyr Ala Pro  Glu Leu Leu
    1025                1030                1035
Tyr Tyr  Ala Glu Gln Tyr Asn  Glu Ile Leu Thr Gln  Cys Cys Ala
    1040                1045                1050
Glu Ala  Asp Lys Glu Ser Cys  Leu Thr Pro Lys Leu  Asp Gly Val
    1055                1060                1065
Lys Glu  Lys Ala Leu Val Ser  Ser Val Arg Gln Arg  Met Lys Cys
    1070                1075                1080
Ser Ser  Met Gln Lys Phe Gly  Glu Arg Ala Phe Lys  Ala Trp Ala
    1085                1090                1095
Val Ala  Arg Leu Ser Gln Thr  Phe Pro Asn Ala Asp  Phe Ala Glu
    1100                1105                1110
Ile Thr  Lys Leu Ala Thr Asp  Leu Thr Lys Val Asn  Lys Glu Cys
    1115                1120                1125
Cys His  Gly Asp Leu Leu Glu  Cys Ala Asp Asp Arg  Ala Glu Leu
    1130                1135                1140
Ala Lys  Tyr Met Cys Glu Asn  Gln Ala Thr Ile Ser  Ser Lys Leu
    1145                1150                1155
Gln Thr  Cys Cys Asp Lys Pro  Leu Leu Lys Lys Ala  His Cys Leu
    1160                1165                1170
Ser Glu  Val Glu His Asp Thr  Met Pro Ala Asp Leu  Pro Ala Ile
    1175                1180                1185
Ala Ala  Asp Phe Val Glu Asp  Gln Glu Val Cys Lys  Asn Tyr Ala
    1190                1195                1200
Glu Ala  Lys Asp Val Phe Leu  Gly Thr Phe Leu Tyr  Glu Tyr Ser
```

【数２４－６】

```
    1205                1210                1215
Arg Arg  His Pro Asp Tyr Ser  Val Ser Leu Leu Leu  Arg Leu Ala
    1220                1225                1230
Lys Lys  Tyr Glu Ala Thr Leu  Glu Lys Cys Cys Ala  Glu Ala Asn
    1235                1240                1245
Pro Pro  Ala Cys Tyr Gly Thr  Val Leu Ala Glu Phe  Gln Pro Leu
    1250                1255                1260
Val Glu  Glu Pro Lys Asn Leu  Val Lys Thr Asn Cys  Asp Leu Tyr
    1265                1270                1275
Glu Lys  Leu Gly Glu Tyr Gly  Phe Gln Asn Ala Ile  Leu Val Arg
    1280                1285                1290
Tyr Thr  Gln Lys Ala Pro Gln  Val Ser Thr Pro Thr  Leu Val Glu
    1295                1300                1305
Ala Ala  Arg Asn Leu Gly Arg  Val Gly Thr Lys Cys  Cys Thr Leu
    1310                1315                1320
Pro Glu  Asp Gln Arg Leu Pro  Cys Val Glu Asp Tyr  Leu Ser Ala
    1325                1330                1335
Ile Leu  Asn Arg Val Cys Leu  Leu His Glu Lys Thr  Pro Val Ser
    1340                1345                1350
Glu His  Val Thr Lys Cys Cys  Ser Gly Ser Leu Val  Glu Arg Arg
    1355                1360                1365
Pro Cys  Phe Ser Ala Leu Thr  Val Asp Glu Thr Tyr  Val Pro Lys
    1370                1375                1380
Glu Phe  Lys Ala Glu Thr Phe  Thr Phe His Ser Asp  Ile Cys Thr
    1385                1390                1395
Leu Pro  Glu Lys Glu Lys Gln  Ile Lys Lys Gln Thr  Ala Leu Ala
    1400                1405                1410
Glu Leu  Val Lys His Lys Pro  Lys Ala Thr Ala Glu  Gln Leu Lys
    1415                1420                1425
Thr Val  Met Asp Asp Phe Ala  Gln Phe Leu Asp Thr  Cys Cys Lys
    1430                1435                1440
Ala Ala  Asp Lys Asp Thr Cys  Phe Ser Thr Glu Gly  Pro Asn Leu
    1445                1450                1455
Val Thr  Arg Cys Lys Asp Ala  Leu Ala
    1460                1465
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ３の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【０２９３】

配列番号２５－ＥＮＰＰ７－ＥＮＰＰ３－アルブミン

【数２５－１】

Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15
Ala Pro Gly Ala**Lys Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp Ala
20 25 30
Ser Phe Arg Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys Asp
35 40 45
Arg Gly Asp Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser Thr
50 55 60
Arg Ile Trp Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg Leu Glu Ala
65 70 75 80
Ser Leu Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys Cys
85 90 95
Ala Asp Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu Glu
100 105 110
Asn Cys Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp Leu
115 120 125
Pro Pro Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu
130 135 140
Tyr Thr Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr Cys
145 150 155 160
Gly Ile His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe
165 170 175
Pro Asn His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly
180 185 190
Ile Ile Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe Ser
195 200 205
Leu Ser Ser Lys Glu Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly Gln Pro
210 215 220
Met Trp Leu Thr Ala Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr Tyr Phe
225 230 235 240
Trp Pro Gly Ser Glu Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser Ile Tyr
245 250 255
Met Pro Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser Thr Leu

【数２５－２】

```
            260                 265                 270
Leu Lys Trp Leu Asp Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe Tyr Thr
        275                 280                 285
Met Tyr Phe Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly Pro Val
    290                 295                 300
Ser Ala Arg Val Ile Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala Phe Gly
305                 310                 315                 320
Met Leu Met Glu Gly Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys Val Asn
                325                 330                 335
Ile Ile Leu Leu Ala Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys Asn Lys
            340                 345                 350
Met Glu Tyr Met Thr Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe Tyr Met
        355                 360                 365
Tyr Glu Gly Pro Ala Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro His Asp
    370                 375                 380
Phe Phe Ser Phe Asn Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser Cys Arg
385                 390                 395                 400
Lys Pro Asp Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu Pro Lys
                405                 410                 415
Arg Leu His Tyr Ala Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His Leu Phe
            420                 425                 430
Val Asp Gln Gln Trp Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr Asn Cys
        435                 440                 445
Gly Gly Gly Asn His Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met Glu Ala
    450                 455                 460
Ile Phe Leu Ala His Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu Val Glu
465                 470                 475                 480
Pro Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Arg
                485                 490                 495
Ile Gln Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu
            500                 505                 510
Leu Lys Val Pro Phe Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val Ser Lys
        515                 520                 525
Phe Ser Val Cys Gly Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser Leu Asp
    530                 535                 540
Cys Phe Cys Pro His Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln Val Asn
```

【数２５－３】

545 550 555 560
Gln Met Leu Asn Leu Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val Lys Val
565 570 575
Asn Leu Pro Phe Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val Asp His
580 585 590
Cys Leu Leu Tyr His Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys Ala Met
595 600 605
Arg Met Pro Met Trp Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly Asp Thr
610 615 620
Ser Pro Leu Pro Pro Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp Val Arg
625 630 635 640
Val Pro Pro Ser Glu Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala Asp Lys
645 650 655
Asn Ile Thr His Gly Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg Thr Ser
660 665 670
Asp Ser Gln Tyr Asp Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro Met Tyr
675 680 685
Glu Glu Phe Arg Lys Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu Leu Ile
690 695 700
Lys His Ala Thr Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Ile
705 710 715 720
Phe Asp Tyr Asn Tyr Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr
725 730 735
Lys His Leu Ala Asn Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val
740 745 750
Val Leu Thr Ser Cys Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn Cys Pro
755 760 765
Gly Trp Leu Asp Val Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro Thr Asn
770 775 780
Val Glu Ser Cys Pro Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val Glu Glu
785 790 795 800
Arg Phe Thr Ala His Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu Leu Thr
805 810 815
Gly Leu Asp Phe Tyr Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu Ile Leu
820 825 830
Gln Leu Lys Thr Tyr Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile Asp Lys Thr

【数２５－４】

```
        835                 840                 845
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
    850                 855                 860
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
865                 870                 875                 880
Thr Pro Glu Val Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                885                 890                 895
Gly Gly Ser Met Lys Trp Val Thr Phe Leu Leu Leu Leu Phe Val Ser
            900                 905                 910
Gly Ser Ala Phe Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Glu Ala His Lys Ser
        915                 920                 925
Glu Ile Ala His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu Gln His Phe Lys Gly
    930                 935                 940
Leu Val Leu Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Cys Ser Tyr Asp
945                 950                 955                 960
Glu His Ala Lys Leu Val Gln Glu Val Thr Asp Phe Ala Lys Thr Cys
                965                 970                 975
Val Ala Asp Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu
            980                 985                 990
Phe Gly Asp Lys Leu Cys Ala Ile  Pro Asn Leu Arg Glu  Asn Tyr Gly
        995                 1000                1005
Glu Leu  Ala Asp Cys Cys Thr  Lys Gln Glu Pro Glu  Arg Asn Glu
    1010                1015                1020
Cys Phe  Leu Gln His Lys Asp  Asp Asn Pro Ser Leu  Pro Pro Phe
    1025                1030                1035
Glu Arg  Pro Glu Ala Glu Ala  Met Cys Thr Ser Phe  Lys Glu Asn
    1040                1045                1050
Pro Thr  Thr Phe Met Gly His  Tyr Leu His Glu Val  Ala Arg Arg
    1055                1060                1065
His Pro  Tyr Phe Tyr Ala Pro  Glu Leu Leu Tyr Tyr  Ala Glu Gln
    1070                1075                1080
Tyr Asn  Glu Ile Leu Thr Gln  Cys Cys Ala Glu Ala  Asp Lys Glu
    1085                1090                1095
Ser Cys  Leu Thr Pro Lys Leu  Asp Gly Val Lys Glu  Lys Ala Leu
    1100                1105                1110
Val Ser  Ser Val Arg Gln Arg  Met Lys Cys Ser Ser  Met Gln Lys
```

【数２５－５】

```
    1115                1120                1125
Phe Gly  Glu Arg Ala Phe Lys  Ala Trp Ala Val Ala  Arg Leu Ser
    1130                1135                1140
Gln Thr  Phe Pro Asn Ala Asp  Phe Ala Glu Ile Thr  Lys Leu Ala
    1145                1150                1155
Thr Asp  Leu Thr Lys Val Asn  Lys Glu Cys Cys His  Gly Asp Leu
    1160                1165                1170
Leu Glu  Cys Ala Asp Asp Arg  Ala Glu Leu Ala Lys  Tyr Met Cys
    1175                1180                1185
Glu Asn  Gln Ala Thr Ile Ser  Ser Lys Leu Gln Thr  Cys Cys Asp
    1190                1195                1200
Lys Pro  Leu Leu Lys Lys Ala  His Cys Leu Ser Glu  Val Glu His
    1205                1210                1215
Asp Thr  Met Pro Ala Asp Leu  Pro Ala Ile Ala Ala  Asp Phe Val
    1220                1225                1230
Glu Asp  Gln Glu Val Cys Lys  Asn Tyr Ala Glu Ala  Lys Asp Val
    1235                1240                1245
Phe Leu  Gly Thr Phe Leu Tyr  Glu Tyr Ser Arg Arg  His Pro Asp
    1250                1255                1260
Tyr Ser  Val Ser Leu Leu Leu  Arg Leu Ala Lys Lys  Tyr Glu Ala
    1265                1270                1275
Thr Leu  Glu Lys Cys Cys Ala  Glu Ala Asn Pro Pro  Ala Cys Tyr
    1280                1285                1290
Gly Thr  Val Leu Ala Glu Phe  Gln Pro Leu Val Glu  Glu Pro Lys
    1295                1300                1305
Asn Leu  Val Lys Thr Asn Cys  Asp Leu Tyr Glu Lys  Leu Gly Glu
    1310                1315                1320
Tyr Gly  Phe Gln Asn Ala Ile  Leu Val Arg Tyr Thr  Gln Lys Ala
    1325                1330                1335
Pro Gln  Val Ser Thr Pro Thr  Leu Val Glu Ala Ala  Arg Asn Leu
    1340                1345                1350
Gly Arg  Val Gly Thr Lys Cys  Cys Thr Leu Pro Glu  Asp Gln Arg
    1355                1360                1365
Leu Pro  Cys Val Glu Asp Tyr  Leu Ser Ala Ile Leu  Asn Arg Val
    1370                1375                1380
Cys Leu  Leu His Glu Lys Thr  Pro Val Ser Glu His  Val Thr Lys
```

【数２５－６】

```
    1385                1390                1395
Cys Cys  Ser Gly Ser Leu Val  Glu Arg Arg Pro Cys  Phe Ser Ala
    1400                1405                1410
Leu Thr  Val Asp Glu Thr Tyr  Val Pro Lys Glu Phe  Lys Ala Glu
    1415                1420                1425
Thr Phe  Thr Phe His Ser Asp  Ile Cys Thr Leu Pro  Glu Lys Glu
    1430                1435                1440
Lys Gln  Ile Lys Lys Gln Thr  Ala Leu Ala Glu Leu  Val Lys His
    1445                1450                1455
Lys Pro  Lys Ala Thr Ala Glu  Gln Leu Lys Thr Val  Met Asp Asp
    1460                1465                1470
Phe Ala  Gln Phe Leu Asp Thr  Cys Cys Lys Ala Ala  Asp Lys Asp
    1475                1480                1485
Thr Cys  Phe Ser Thr Glu Gly  Pro Asn Leu Val Thr  Arg Cys Lys
    1490                1495                1500
Asp Ala  Leu Ala
    1505
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ３の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【０２９４】

配列番号２６－ＥＮＰＰ７１アミノ酸配列

【数２６－１】

```
Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1               5                  10                  15
Ala Pro Gly Ala Gly Ala**Gly Leu Lys Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val
            20                  25                  30
Lys Ser Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg
        35                  40                  45
Cys Asp Ala Ala Cys Val Glu Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln
    50                  55                  60
Glu Thr Cys Ile Glu Pro Glu His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg
65                  70                  75                  80
Cys Gly Glu Lys Arg Leu Thr Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp
                85                  90                  95
Cys Lys Asp Lys Gly Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln
            100                 105                 110
Gly Glu Lys Ser Trp Val Glu Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro
```

【数２６－２】

```
        115                 120                 125
Gln Cys Pro Ala Gly Phe Glu Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu
    130                 135                 140
Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro
145                 150                 155                 160
Val Ile Ser Lys Leu Lys Lys Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg
                165                 170                 175
Pro Val Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr
            180                 185                 190
Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp
        195                 200                 205
Pro Lys Met Asn Ala Ser Phe Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn
    210                 215                 220
Pro Glu Trp Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln
225                 230                 235                 240
Gly Leu Lys Ser Gly Thr Phe Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile
                245                 250                 255
Asn Gly Ile Phe Pro Asp Ile Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro
            260                 265                 270
Phe Glu Glu Arg Ile Leu Ala Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys
        275                 280                 285
Asp Glu Arg Pro His Phe Tyr Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser
    290                 295                 300
Ser Gly His Ser Tyr Gly Pro Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu
305                 310                 315                 320
Gln Arg Val Asp Gly Met Val Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu
                325                 330                 335
Leu Asn Leu His Arg Cys Leu Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly
            340                 345                 350
Met Glu Gln Gly Ser Cys Lys Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu
        355                 360                 365
Gly Asp Val Lys Asn Ile Lys Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu
    370                 375                 380
Arg Pro Ser Asp Val Pro Asp Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly
385                 390                 395                 400
Ile Ala Arg Asn Leu Ser Cys Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro
```

【数２６－３】

```
                405                 410                 415
Tyr Leu Lys His Phe Leu Pro Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp
            420                 425                 430
Arg Ile Glu Pro Leu Thr Phe Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala
        435                 440                 445
Leu Asn Pro Ser Glu Arg Lys Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser
    450                 455                 460
Asp Asn Val Phe Ser Asn Met Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro
465                 470                 475                 480
Gly Phe Lys His Gly Ile Glu Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val
                485                 490                 495
Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn
            500                 505                 510
Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr
        515                 520                 525
Pro Lys His Pro Lys Glu Val His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr
    530                 535                 540
Arg Asn Pro Arg Asp Asn Leu Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu
545                 550                 555                 560
Pro Ile Glu Asp Phe Gln Thr Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu
                565                 570                 575
Lys Ile Ile Lys His Glu Thr Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu
            580                 585                 590
Gln Lys Glu Asn Thr Ile Cys Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser
        595                 600                 605
Gly Tyr Ser Gln Asp Ile Leu Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val
    610                 615                 620
Asp Arg Asn Asp Ser Phe Ser Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr
625                 630                 635                 640
Gln Asp Phe Arg Ile Pro Leu Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr
                645                 650                 655
Lys Asn Asn Thr Lys Val Ser Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu
            660                 665                 670
Asn Lys Asn Ser Ser Gly Ile Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn
        675                 680                 685
Ile Val Pro Met Tyr Gln Ser Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His
```

【数２６－４】

```
    690                 695                 700
Asp Thr Leu Leu Arg Lys Tyr Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val
705                 710                 715                 720
Val Ser Gly Pro Val Phe Asp Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser
                725                 730                 735
Leu Glu Asn Leu Arg Gln Lys Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile
            740                 745                 750
Leu Ile Pro Thr His Phe Phe Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr
        755                 760                 765
Ser Gln Thr Pro Leu His Cys Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile
    770                 775                 780
Leu Pro His Arg Thr Asp Asn Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His
785                 790                 795                 800
Asp Ser Ser Trp Val Glu Glu Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile
                805                 810                 815
Thr Asp Val Glu His Ile Thr Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys
            820                 825                 830
Glu Pro Val Ser Asp Ile Leu Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe
        835                 840                 845
Ser Gln Glu Asp
    850
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ１の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置

【０２９５】

配列番号２７－ＥＮＰＰ１２１アミノ酸配列

【数２７－１】

```
Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu Gly
1               5                  10                  15
Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg Gly
            20                  25                  30
Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala Ala
    50                  55                  60
Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Ile Ile Ser Leu
65                  70                  75                  80
```

【数２７－２】

```
Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly**Phe Thr Ala Gly
                85                  90                  95
Leu Lys Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys Ser Cys Lys Gly Arg Cys
            100                 105                 110
Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg Cys Asp Ala Ala Cys Val Glu
        115                 120                 125
Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln Glu Thr Cys Ile Glu Pro Glu
    130                 135                 140
His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Lys Arg Leu Thr
145                 150                 155                 160
Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp Cys Lys Asp Lys Gly Asp Cys
                165                 170                 175
Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Gly Glu Lys Ser Trp Val Glu
            180                 185                 190
Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro Gln Cys Pro Ala Gly Phe Glu
        195                 200                 205
Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr
    210                 215                 220
Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro Val Ile Ser Lys Leu Lys Lys
225                 230                 235                 240
Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg Pro Val Tyr Pro Thr Lys Thr
                245                 250                 255
Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His
            260                 265                 270
Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp Pro Lys Met Asn Ala Ser Phe
        275                 280                 285
Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn Pro Glu Trp Tyr Lys Gly Glu
    290                 295                 300
Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln Gly Leu Lys Ser Gly Thr Phe
305                 310                 315                 320
Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile Asn Gly Ile Phe Pro Asp Ile
                325                 330                 335
Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Leu Ala
            340                 345                 350
Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys Asp Glu Arg Pro His Phe Tyr
        355                 360                 365
```

【数２７－３】

```
Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ser Tyr Gly Pro
    370                 375                 380
Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu Gln Arg Val Asp Gly Met Val
385                 390                 395                 400
Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu Leu Asn Leu His Arg Cys Leu
                405                 410                 415
Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly Met Glu Gln Gly Ser Cys Lys
            420                 425                 430
Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu Gly Asp Val Lys Asn Ile Lys
        435                 440                 445
Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu Arg Pro Ser Asp Val Pro Asp
    450                 455                 460
Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly Ile Ala Arg Asn Leu Ser Cys
465                 470                 475                 480
Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Lys His Phe Leu Pro
                485                 490                 495
Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp Arg Ile Glu Pro Leu Thr Phe
            500                 505                 510
Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala Leu Asn Pro Ser Glu Arg Lys
        515                 520                 525
Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser Asp Asn Val Phe Ser Asn Met
    530                 535                 540
Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro Gly Phe Lys His Gly Ile Glu
545                 550                 555                 560
Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu
                565                 570                 575
Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn
            580                 585                 590
His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr Pro Lys His Pro Lys Glu Val
        595                 600                 605
His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr Arg Asn Pro Arg Asp Asn Leu
    610                 615                 620
Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu Pro Ile Glu Asp Phe Gln Thr
625                 630                 635                 640
Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu Lys Ile Ile Lys His Glu Thr
                645                 650                 655
```

【数２７－４】

```
Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Glu Asn Thr Ile Cys
            660                 665                 670
Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser Gly Tyr Ser Gln Asp Ile Leu
        675                 680                 685
Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val Asp Arg Asn Asp Ser Phe Ser
    690                 695                 700
Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr Gln Asp Phe Arg Ile Pro Leu
705                 710                 715                 720
Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr Lys Asn Asn Thr Lys Val Ser
                725                 730                 735
Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu Asn Lys Asn Ser Ser Gly Ile
            740                 745                 750
Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn Ile Val Pro Met Tyr Gln Ser
        755                 760                 765
Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His Asp Thr Leu Leu Arg Lys Tyr
    770                 775                 780
Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Val Phe Asp
785                 790                 795                 800
Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser Leu Glu Asn Leu Arg Gln Lys
                805                 810                 815
Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile Leu Ile Pro Thr His Phe Phe
            820                 825                 830
Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr Ser Gln Thr Pro Leu His Cys
        835                 840                 845
Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile Leu Pro His Arg Thr Asp Asn
    850                 855                 860
Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His Asp Ser Ser Trp Val Glu Glu
865                 870                 875                 880
Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile Thr Asp Val Glu His Ile Thr
                885                 890                 895
Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys Glu Pro Val Ser Asp Ile Leu
            900                 905                 910
Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe Ser Gln Glu Asp
        915                 920                 925
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ１の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置

【０２９６】

配列番号２８－ＥＮＰＰ１２１－Ｆｃアミノ酸配列

【数２８－１】

```
Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu Gly
1               5                  10                  15
Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg Gly
            20                  25                  30
Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala Ala
    50                  55                  60
Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Ile Ile Ser Leu
65                  70                  75                  80
Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly**Phe Thr Ala Gly
                85                  90                  95
Leu Lys Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys Ser Cys Lys Gly Arg Cys
            100                 105                 110
Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg Cys Asp Ala Ala Cys Val Glu
        115                 120                 125
Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln Glu Thr Cys Ile Glu Pro Glu
    130                 135                 140
His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Lys Arg Leu Thr
145                 150                 155                 160
Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp Cys Lys Asp Lys Gly Asp Cys
                165                 170                 175
Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Gly Glu Lys Ser Trp Val Glu
            180                 185                 190
Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro Gln Cys Pro Ala Gly Phe Glu
        195                 200                 205
Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr
    210                 215                 220
Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro Val Ile Ser Lys Leu Lys Lys
225                 230                 235                 240
Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg Pro Val Tyr Pro Thr Lys Thr
                245                 250                 255
Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His
```

【数２８－２】

```
            260                 265                 270
Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp Pro Lys Met Asn Ala Ser Phe
        275                 280                 285
Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn Pro Glu Trp Tyr Lys Gly Glu
    290                 295                 300
Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln Gly Leu Lys Ser Gly Thr Phe
305                 310                 315                 320
Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile Asn Gly Ile Phe Pro Asp Ile
                325                 330                 335
Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Leu Ala
            340                 345                 350
Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys Asp Glu Arg Pro His Phe Tyr
        355                 360                 365
Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ser Tyr Gly Pro
    370                 375                 380
Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu Gln Arg Val Asp Gly Met Val
385                 390                 395                 400
Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu Leu Asn Leu His Arg Cys Leu
                405                 410                 415
Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly Met Glu Gln Gly Ser Cys Lys
            420                 425                 430
Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu Gly Asp Val Lys Asn Ile Lys
        435                 440                 445
Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu Arg Pro Ser Asp Val Pro Asp
    450                 455                 460
Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly Ile Ala Arg Asn Leu Ser Cys
465                 470                 475                 480
Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Lys His Phe Leu Pro
                485                 490                 495
Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp Arg Ile Glu Pro Leu Thr Phe
            500                 505                 510
Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala Leu Asn Pro Ser Glu Arg Lys
        515                 520                 525
Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser Asp Asn Val Phe Ser Asn Met
    530                 535                 540
Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro Gly Phe Lys His Gly Ile Glu
```

【数２８－３】

```
545                 550                 555                 560
Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu
                565                 570                 575
Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn
            580                 585                 590
His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr Pro Lys His Pro Lys Glu Val
        595                 600                 605
His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr Arg Asn Pro Arg Asp Asn Leu
    610                 615                 620
Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu Pro Ile Glu Asp Phe Gln Thr
625                 630                 635                 640
Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu Lys Ile Ile Lys His Glu Thr
                645                 650                 655
Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Glu Asn Thr Ile Cys
            660                 665                 670
Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser Gly Tyr Ser Gln Asp Ile Leu
        675                 680                 685
Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val Asp Arg Asn Asp Ser Phe Ser
    690                 695                 700
Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr Gln Asp Phe Arg Ile Pro Leu
705                 710                 715                 720
Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr Lys Asn Asn Thr Lys Val Ser
                725                 730                 735
Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu Asn Lys Asn Ser Ser Gly Ile
            740                 745                 750
Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn Ile Val Pro Met Tyr Gln Ser
        755                 760                 765
Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His Asp Thr Leu Leu Arg Lys Tyr
    770                 775                 780
Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Val Phe Asp
785                 790                 795                 800
Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser Leu Glu Asn Leu Arg Gln Lys
                805                 810                 815
Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile Leu Ile Pro Thr His Phe Phe
            820                 825                 830
Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr Ser Gln Thr Pro Leu His Cys
```

【数２８－４】

```
        835                 840                 845
Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile Leu Pro His Arg Thr Asp Asn
    850                 855                 860
Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His Asp Ser Ser Trp Val Glu Glu
865                 870                 875                 880
Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile Thr Asp Val Glu His Ile Thr
                885                 890                 895
Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys Glu Pro Val Ser Asp Ile Leu
            900                 905                 910
Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe Ser Gln Glu Asp Leu Ile Asn
        915                 920                 925
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
    930                 935                 940
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
945                 950                 955                 960
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
                965                 970                 975
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
            980                 985                 990
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  Glu Glu Gln Tyr Asn  Ser Thr Tyr
        995                 1000                1005
Arg Val  Val Ser Val Leu Thr  Val Leu His Gln Asp  Trp Leu Asn
    1010                1015                1020
Gly Lys  Glu Tyr Lys Cys Lys  Val Ser Asn Lys Ala  Leu Pro Ala
    1025                1030                1035
Pro Ile  Glu Lys Thr Ile Ser  Lys Ala Lys Gly Gln  Pro Arg Glu
    1040                1045                1050
Pro Gln  Val Tyr Thr Leu Pro  Pro Ser Arg Glu Glu  Met Thr Lys
    1055                1060                1065
Asn Gln  Val Ser Leu Thr Cys  Leu Val Lys Gly Phe  Tyr Pro Ser
    1070                1075                1080
Asp Ile  Ala Val Glu Trp Glu  Ser Asn Gly Gln Pro  Glu Asn Asn
    1085                1090                1095
Tyr Lys  Thr Thr Pro Pro Val  Leu Asp Ser Asp Gly  Ser Phe Phe
    1100                1105                1110
Leu Tyr  Ser Lys Leu Thr Val  Asp Lys Ser Arg Trp  Gln Gln Gly
```

【数２８－５】

```
    1115                1120                1125
Asn Val  Phe Ser Cys Ser Val  Met His Glu Ala Leu  His Asn His
    1130                1135                1140
Tyr Thr  Gln Lys Ser Leu Ser  Leu Ser Pro Gly Lys
    1145                1150                1155
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ１の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、Ｆｃ配列を示す

【０２９７】

配列番号２９－ＥＮＰＰ１２１－ＡＬＢアミノ酸配列：

【数２９－１】

```
Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu Gly
1               5                  10                  15
Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg Gly
            20                  25                  30
Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala Ala
    50                  55                  60
Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Ile Ile Ser Leu
65                  70                  75                  80
Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly**Phe Thr Ala Gly
                85                  90                  95
Leu Lys Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys Ser Cys Lys Gly Arg Cys
            100                 105                 110
Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg Cys Asp Ala Ala Cys Val Glu
        115                 120                 125
Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln Glu Thr Cys Ile Glu Pro Glu
    130                 135                 140
His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Lys Arg Leu Thr
145                 150                 155                 160
Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp Cys Lys Asp Lys Gly Asp Cys
                165                 170                 175
Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Gly Glu Lys Ser Trp Val Glu
            180                 185                 190
Glu Pro Cys Glu Ser Ile Asn Glu Pro Gln Cys Pro Ala Gly Phe Glu
        195                 200                 205
Thr Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr
```

【数２９－２】

```
    210                 215                 220
Leu His Thr Trp Gly Gly Leu Leu Pro Val Ile Ser Lys Leu Lys Lys
225                 230                 235                 240
Cys Gly Thr Tyr Thr Lys Asn Met Arg Pro Val Tyr Pro Thr Lys Thr
                245                 250                 255
Phe Pro Asn His Tyr Ser Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His
            260                 265                 270
Gly Ile Ile Asp Asn Lys Met Tyr Asp Pro Lys Met Asn Ala Ser Phe
        275                 280                 285
Ser Leu Lys Ser Lys Glu Lys Phe Asn Pro Glu Trp Tyr Lys Gly Glu
    290                 295                 300
Pro Ile Trp Val Thr Ala Lys Tyr Gln Gly Leu Lys Ser Gly Thr Phe
305                 310                 315                 320
Phe Trp Pro Gly Ser Asp Val Glu Ile Asn Gly Ile Phe Pro Asp Ile
                325                 330                 335
Tyr Lys Met Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Leu Ala
            340                 345                 350
Val Leu Gln Trp Leu Gln Leu Pro Lys Asp Glu Arg Pro His Phe Tyr
        355                 360                 365
Thr Leu Tyr Leu Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ser Tyr Gly Pro
    370                 375                 380
Val Ser Ser Glu Val Ile Lys Ala Leu Gln Arg Val Asp Gly Met Val
385                 390                 395                 400
Gly Met Leu Met Asp Gly Leu Lys Glu Leu Asn Leu His Arg Cys Leu
                405                 410                 415
Asn Leu Ile Leu Ile Ser Asp His Gly Met Glu Gln Gly Ser Cys Lys
            420                 425                 430
Lys Tyr Ile Tyr Leu Asn Lys Tyr Leu Gly Asp Val Lys Asn Ile Lys
        435                 440                 445
Val Ile Tyr Gly Pro Ala Ala Arg Leu Arg Pro Ser Asp Val Pro Asp
    450                 455                 460
Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu Gly Ile Ala Arg Asn Leu Ser Cys
465                 470                 475                 480
Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Lys His Phe Leu Pro
                485                 490                 495
Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser Asp Arg Ile Glu Pro Leu Thr Phe
```

【数２９－３】

```
            500                 505                 510
Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu Ala Leu Asn Pro Ser Glu Arg Lys
        515                 520                 525
Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly Ser Asp Asn Val Phe Ser Asn Met
    530                 535                 540
Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly Pro Gly Phe Lys His Gly Ile Glu
545                 550                 555                 560
Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu
                565                 570                 575
Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn
            580                 585                 590
His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr Thr Pro Lys His Pro Lys Glu Val
        595                 600                 605
His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe Thr Arg Asn Pro Arg Asp Asn Leu
    610                 615                 620
Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile Leu Pro Ile Glu Asp Phe Gln Thr
625                 630                 635                 640
Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu Glu Lys Ile Ile Lys His Glu Thr
                645                 650                 655
Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Glu Asn Thr Ile Cys
            660                 665                 670
Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met Ser Gly Tyr Ser Gln Asp Ile Leu
        675                 680                 685
Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr Val Asp Arg Asn Asp Ser Phe Ser
    690                 695                 700
Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu Tyr Gln Asp Phe Arg Ile Pro Leu
705                 710                 715                 720
Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe Tyr Lys Asn Asn Thr Lys Val Ser
                725                 730                 735
Tyr Gly Phe Leu Ser Pro Pro Gln Leu Asn Lys Asn Ser Ser Gly Ile
            740                 745                 750
Tyr Ser Glu Ala Leu Leu Thr Thr Asn Ile Val Pro Met Tyr Gln Ser
        755                 760                 765
Phe Gln Val Ile Trp Arg Tyr Phe His Asp Thr Leu Leu Arg Lys Tyr
    770                 775                 780
Ala Glu Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Val Phe Asp
```

【数２９－４】

785 790 795 800
Phe Asp Tyr Asp Gly Arg Cys Asp Ser Leu Glu Asn Leu Arg Gln Lys
805 810 815
Arg Arg Val Ile Arg Asn Gln Glu Ile Leu Ile Pro Thr His Phe Phe
820 825 830
Ile Val Leu Thr Ser Cys Lys Asp Thr Ser Gln Thr Pro Leu His Cys
835 840 845
Glu Asn Leu Asp Thr Leu Ala Phe Ile Leu Pro His Arg Thr Asp Asn
850 855 860
Ser Glu Ser Cys Val His Gly Lys His Asp Ser Ser Trp Val Glu Glu
865 870 875 880
Leu Leu Met Leu His Arg Ala Arg Ile Thr Asp Val Glu His Ile Thr
885 890 895
Gly Leu Ser Phe Tyr Gln Gln Arg Lys Glu Pro Val Ser Asp Ile Leu
900 905 910
Lys Leu Lys Thr His Leu Pro Thr Phe Ser Gln Glu Asp Arg Ser Gly
915 920 925
Ser Gly Gly Ser **Met Lys Trp Val Thr Phe Leu Leu Leu Leu Phe Val**
930 935 940
Ser Gly Ser Ala Phe Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Glu Ala His Lys
945 950 955 960
Ser Glu Ile Ala His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu Gln His Phe Lys
965 970 975
Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Cys Ser Tyr
980 985 990
Asp Glu His Ala Lys Leu Val Gln Glu Val Thr Asp Phe Ala Lys Thr
995 1000 1005
Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys Ser Leu His
1010 1015 1020
Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Ala Ile Pro Asn Leu Arg Glu
1025 1030 1035
Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys Cys Thr Lys Gln Glu Pro Glu
1040 1045 1050
Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Ser Leu
1055 1060 1065
Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala Glu Ala Met Cys Thr Ser Phe

【数２９－５】

```
    1070                1075                1080
Lys Glu  Asn Pro Thr Thr Phe  Met Gly His Tyr Leu  His Glu Val
    1085                1090                1095
Ala Arg  Arg His Pro Tyr Phe  Tyr Ala Pro Glu Leu  Leu Tyr Tyr
    1100                1105                1110
Ala Glu  Gln Tyr Asn Glu Ile  Leu Thr Gln Cys Cys  Ala Glu Ala
    1115                1120                1125
Asp Lys  Glu Ser Cys Leu Thr  Pro Lys Leu Asp Gly  Val Lys Glu
    1130                1135                1140
Lys Ala  Leu Val Ser Ser Val  Arg Gln Arg Met Lys  Cys Ser Ser
    1145                1150                1155
Met Gln  Lys Phe Gly Glu Arg  Ala Phe Lys Ala Trp  Ala Val Ala
    1160                1165                1170
Arg Leu  Ser Gln Thr Phe Pro  Asn Ala Asp Phe Ala  Glu Ile Thr
    1175                1180                1185
Lys Leu  Ala Thr Asp Leu Thr  Lys Val Asn Lys Glu  Cys Cys His
    1190                1195                1200
Gly Asp  Leu Leu Glu Cys Ala  Asp Asp Arg Ala Glu  Leu Ala Lys
    1205                1210                1215
Tyr Met  Cys Glu Asn Gln Ala  Thr Ile Ser Ser Lys  Leu Gln Thr
    1220                1225                1230
Cys Cys  Asp Lys Pro Leu Leu  Lys Lys Ala His Cys  Leu Ser Glu
    1235                1240                1245
Val Glu  His Asp Thr Met Pro  Ala Asp Leu Pro Ala  Ile Ala Ala
    1250                1255                1260
Asp Phe  Val Glu Asp Gln Glu  Val Cys Lys Asn Tyr  Ala Glu Ala
    1265                1270                1275
Lys Asp  Val Phe Leu Gly Thr  Phe Leu Tyr Glu Tyr  Ser Arg Arg
    1280                1285                1290
His Pro  Asp Tyr Ser Val Ser  Leu Leu Leu Arg Leu  Ala Lys Lys
    1295                1300                1305
Tyr Glu  Ala Thr Leu Glu Lys  Cys Cys Ala Glu Ala  Asn Pro Pro
    1310                1315                1320
Ala Cys  Tyr Gly Thr Val Leu  Ala Glu Phe Gln Pro  Leu Val Glu
    1325                1330                1335
Glu Pro  Lys Asn Leu Val Lys  Thr Asn Cys Asp Leu  Tyr Glu Lys
```

【数２９－６】

```
    1340                1345                1350
Leu Gly  Glu Tyr Gly Phe Gln  Asn Ala Ile Leu Val  Arg Tyr Thr
    1355                1360                1365
Gln Lys  Ala Pro Gln Val Ser  Thr Pro Thr Leu Val  Glu Ala Ala
    1370                1375                1380
Arg Asn  Leu Gly Arg Val Gly  Thr Lys Cys Cys Thr  Leu Pro Glu
    1385                1390                1395
Asp Gln  Arg Leu Pro Cys Val  Glu Asp Tyr Leu Ser  Ala Ile Leu
    1400                1405                1410
Asn Arg  Val Cys Leu Leu His  Glu Lys Thr Pro Val  Ser Glu His
    1415                1420                1425
Val Thr  Lys Cys Cys Ser Gly  Ser Leu Val Glu Arg  Arg Pro Cys
    1430                1435                1440
Phe Ser  Ala Leu Thr Val Asp  Glu Thr Tyr Val Pro  Lys Glu Phe
    1445                1450                1455
Lys Ala  Glu Thr Phe Thr Phe  His Ser Asp Ile Cys  Thr Leu Pro
    1460                1465                1470
Glu Lys  Glu Lys Gln Ile Lys  Lys Gln Thr Ala Leu  Ala Glu Leu
    1475                1480                1485
Val Lys  His Lys Pro Lys Ala  Thr Ala Glu Gln Leu  Lys Thr Val
    1490                1495                1500
Met Asp  Asp Phe Ala Gln Phe  Leu Asp Thr Cys Cys  Lys Ala Ala
    1505                1510                1515
Asp Lys  Asp Thr Cys Phe Ser  Thr Glu Gly Pro Asn  Leu Val Thr
    1520                1525                1530
Arg Cys  Lys Asp Ala Leu Ala  Arg Ser Trp Ser His  Pro Gln Phe
    1535                1540                1545
Glu Lys
    1550
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ１の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【０２９８】

配列番号３０－ＥＮＰＰ１２１－ＮＰＰ３－Ｆｃ配列

【数３０－１】

```
Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu Gly
1               5                  10                  15
```

【数３０－２】

```
Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg Gly
            20                  25                  30
Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala Ala
    50                  55                  60
Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Ile Ile Ser Leu
65                  70                  75                  80
Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly Phe Thr Ala**Lys
                85                  90                  95
Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp Ala Ser Phe Arg Gly Leu
            100                 105                 110
Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys Asp Arg Gly Asp Cys Cys
        115                 120                 125
Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser Thr Arg Ile Trp Met Cys
    130                 135                 140
Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg Leu Glu Ala Ser Leu Cys Ser Cys
145                 150                 155                 160
Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys Cys Ala Asp Tyr Lys Ser
                165                 170                 175
Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu Glu Asn Cys Asp Thr Ala
            180                 185                 190
Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp Leu Pro Pro Val Ile Leu
        195                 200                 205
Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu Tyr Thr Trp Asp Thr
    210                 215                 220
Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr Cys Gly Ile His Ser Lys
225                 230                 235                 240
Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Thr
                245                 250                 255
Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Asn
            260                 265                 270
Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe Ser Leu Ser Ser Lys Glu
        275                 280                 285
Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly Gln Pro Met Trp Leu Thr Ala
    290                 295                 300
```

【数３０－３】

```
Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr Tyr Phe Trp Pro Gly Ser Glu
305                 310                 315                 320
Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser Ile Tyr Met Pro Tyr Asn Gly
                325                 330                 335
Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser Thr Leu Leu Lys Trp Leu Asp
            340                 345                 350
Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe Tyr Thr Met Tyr Phe Glu Glu
        355                 360                 365
Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly Pro Val Ser Ala Arg Val Ile
    370                 375                 380
Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala Phe Gly Met Leu Met Glu Gly
385                 390                 395                 400
Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys Val Asn Ile Ile Leu Leu Ala
                405                 410                 415
Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys Asn Lys Met Glu Tyr Met Thr
            420                 425                 430
Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe Tyr Met Tyr Glu Gly Pro Ala
        435                 440                 445
Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro His Asp Phe Phe Ser Phe Asn
    450                 455                 460
Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser Cys Arg Lys Pro Asp Gln His
465                 470                 475                 480
Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu Pro Lys Arg Leu His Tyr Ala
                485                 490                 495
Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His Leu Phe Val Asp Gln Gln Trp
            500                 505                 510
Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr Asn Cys Gly Gly Gly Asn His
        515                 520                 525
Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met Glu Ala Ile Phe Leu Ala His
    530                 535                 540
Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu Val Glu Pro Phe Glu Asn Ile
545                 550                 555                 560
Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Arg Ile Gln Pro Ala Pro
                565                 570                 575
Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Val Pro Phe
            580                 585                 590
```

【数３０－４】

```
Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val Ser Lys Phe Ser Val Cys Gly
        595                 600                 605
Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser Leu Asp Cys Phe Cys Pro His
    610                 615                 620
Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln Val Asn Gln Met Leu Asn Leu
625                 630                 635                 640
Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val Lys Val Asn Leu Pro Phe Gly
                645                 650                 655
Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val Asp His Cys Leu Leu Tyr His
            660                 665                 670
Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys Ala Met Arg Met Pro Met Trp
        675                 680                 685
Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly Asp Thr Ser Pro Leu Pro Pro
    690                 695                 700
Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp Val Arg Val Pro Pro Ser Glu
705                 710                 715                 720
Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala Asp Lys Asn Ile Thr His Gly
              725                 730                 735
Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg Thr Ser Asp Ser Gln Tyr Asp
            740                 745                 750
Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro Met Tyr Glu Glu Phe Arg Lys
        755                 760                 765
Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu Leu Ile Lys His Ala Thr Glu
    770                 775                 780
Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Ile Phe Asp Tyr Asn Tyr
785                 790                 795                 800
Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr Lys His Leu Ala Asn
                805                 810                 815
Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val Val Leu Thr Ser Cys
            820                 825                 830
Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn Cys Pro Gly Trp Leu Asp Val
        835                 840                 845
Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro Thr Asn Val Glu Ser Cys Pro
    850                 855                 860
Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val Glu Glu Arg Phe Thr Ala His
865                 870                 875                 880
```

【数３０－５】

Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu Leu Thr Gly Leu Asp Phe Tyr
885 890 895
Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu Ile Leu Gln Leu Lys Thr Tyr
900 905 910
Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile **Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro**
915 920 925
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
930 935 940
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
945 950 955 960
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
965 970 975
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
980 985 990
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
995 1000 1005
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
1010 1015 1020
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
1025 1030 1035
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
1040 1045 1050
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
1055 1060 1065
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
1070 1075 1080
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
1085 1090 1095
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
1100 1105 1110
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
1115 1120 1125
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
1130 1135 1140
Ser Pro Gly Lys
1145

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ１の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、Ｆｃ配列を示す

【０２９９】

配列番号３１－ＥＮＰＰ１２１－ＮＰＰ３－アルブミン配列

【数３１－１】

```
Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu Gly
1               5                  10                  15
Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg Gly
            20                  25                  30
Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala Ala
    50                  55                  60
Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Ile Ile Ser Leu
65                  70                  75                  80
Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly Phe Thr Ala**Lys
                85                  90                  95
Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp Ala Ser Phe Arg Gly Leu
            100                 105                 110
Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys Asp Arg Gly Asp Cys Cys
        115                 120                 125
Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser Thr Arg Ile Trp Met Cys
    130                 135                 140
Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg Leu Glu Ala Ser Leu Cys Ser Cys
145                 150                 155                 160
Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys Cys Ala Asp Tyr Lys Ser
                165                 170                 175
Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu Glu Asn Cys Asp Thr Ala
            180                 185                 190
Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp Leu Pro Pro Val Ile Leu
        195                 200                 205
Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu Tyr Thr Trp Asp Thr
    210                 215                 220
Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr Cys Gly Ile His Ser Lys
225                 230                 235                 240
Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn His Tyr Thr
```

【数３１－２】

```
                245                 250                 255
Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile Asp Asn Asn
            260                 265                 270
Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe Ser Leu Ser Ser Lys Glu
        275                 280                 285
Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly Gln Pro Met Trp Leu Thr Ala
    290                 295                 300
Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr Tyr Phe Trp Pro Gly Ser Glu
305                 310                 315                 320
Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser Ile Tyr Met Pro Tyr Asn Gly
                325                 330                 335
Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser Thr Leu Leu Lys Trp Leu Asp
            340                 345                 350
Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe Tyr Thr Met Tyr Phe Glu Glu
        355                 360                 365
Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly Pro Val Ser Ala Arg Val Ile
    370                 375                 380
Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala Phe Gly Met Leu Met Glu Gly
385                 390                 395                 400
Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys Val Asn Ile Ile Leu Leu Ala
                405                 410                 415
Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys Asn Lys Met Glu Tyr Met Thr
            420                 425                 430
Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe Tyr Met Tyr Glu Gly Pro Ala
        435                 440                 445
Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro His Asp Phe Phe Ser Phe Asn
    450                 455                 460
Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser Cys Arg Lys Pro Asp Gln His
465                 470                 475                 480
Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu Pro Lys Arg Leu His Tyr Ala
                485                 490                 495
Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His Leu Phe Val Asp Gln Gln Trp
            500                 505                 510
Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr Asn Cys Gly Gly Gly Asn His
        515                 520                 525
Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met Glu Ala Ile Phe Leu Ala His
```

【数３１－３】

```
    530                 535                 540
Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu Val Glu Pro Phe Glu Asn Ile
545                 550                 555                 560
Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Arg Ile Gln Pro Ala Pro
                565                 570                 575
Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Val Pro Phe
            580                 585                 590
Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val Ser Lys Phe Ser Val Cys Gly
        595                 600                 605
Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser Leu Asp Cys Phe Cys Pro His
    610                 615                 620
Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln Val Asn Gln Met Leu Asn Leu
625                 630                 635                 640
Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val Lys Val Asn Leu Pro Phe Gly
                645                 650                 655
Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val Asp His Cys Leu Leu Tyr His
            660                 665                 670
Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys Ala Met Arg Met Pro Met Trp
        675                 680                 685
Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly Asp Thr Ser Pro Leu Pro Pro
    690                 695                 700
Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp Val Arg Val Pro Pro Ser Glu
705                 710                 715                 720
Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala Asp Lys Asn Ile Thr His Gly
                725                 730                 735
Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg Thr Ser Asp Ser Gln Tyr Asp
            740                 745                 750
Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro Met Tyr Glu Glu Phe Arg Lys
        755                 760                 765
Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu Leu Ile Lys His Ala Thr Glu
    770                 775                 780
Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Ile Phe Asp Tyr Asn Tyr
785                 790                 795                 800
Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr Lys His Leu Ala Asn
                805                 810                 815
Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val Val Leu Thr Ser Cys
```

【数３１－４】

```
            820                 825                 830
Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn Cys Pro Gly Trp Leu Asp Val
        835                 840                 845
Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro Thr Asn Val Glu Ser Cys Pro
    850                 855                 860
Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val Glu Glu Arg Phe Thr Ala His
865                 870                 875                 880
Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu Leu Thr Gly Leu Asp Phe Tyr
                885                 890                 895
Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu Ile Leu Gln Leu Lys Thr Tyr
            900                 905                 910
Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        915                 920                 925
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Lys Trp Val Thr Phe Leu Leu Leu Leu
    930                 935                 940
Phe Val Ser Gly Ser Ala Phe Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Glu Ala
945                 950                 955                 960
His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu Gln His
                965                 970                 975
Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Cys
            980                 985                 990
Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys Leu  Val Gln Glu Val Thr  Asp Phe Ala
        995                 1000                1005
Lys Thr  Cys Val Ala Asp Glu  Ser Ala Ala Asn Cys  Asp Lys Ser
    1010                1015                1020
Leu His  Thr Leu Phe Gly Asp  Lys Leu Cys Ala Ile  Pro Asn Leu
    1025                1030                1035
Arg Glu  Asn Tyr Gly Glu Leu  Ala Asp Cys Cys Thr  Lys Gln Glu
    1040                1045                1050
Pro Glu  Arg Asn Glu Cys Phe  Leu Gln His Lys Asp  Asp Asn Pro
    1055                1060                1065
Ser Leu  Pro Pro Phe Glu Arg  Pro Glu Ala Glu Ala  Met Cys Thr
    1070                1075                1080
Ser Phe  Lys Glu Asn Pro Thr  Thr Phe Met Gly His  Tyr Leu His
    1085                1090                1095
Glu Val  Ala Arg Arg His Pro  Tyr Phe Tyr Ala Pro  Glu Leu Leu
```

【数３１－５】

```
    1100                1105                1110
Tyr Tyr  Ala Glu Gln Tyr Asn  Glu Ile Leu Thr Gln  Cys Cys Ala
    1115                1120                1125
Glu Ala  Asp Lys Glu Ser Cys  Leu Thr Pro Lys Leu  Asp Gly Val
    1130                1135                1140
Lys Glu  Lys Ala Leu Val Ser  Ser Val Arg Gln Arg  Met Lys Cys
    1145                1150                1155
Ser Ser  Met Gln Lys Phe Gly  Glu Arg Ala Phe Lys  Ala Trp Ala
    1160                1165                1170
Val Ala  Arg Leu Ser Gln Thr  Phe Pro Asn Ala Asp  Phe Ala Glu
    1175                1180                1185
Ile Thr  Lys Leu Ala Thr Asp  Leu Thr Lys Val Asn  Lys Glu Cys
    1190                1195                1200
Cys His  Gly Asp Leu Leu Glu  Cys Ala Asp Asp Arg  Ala Glu Leu
    1205                1210                1215
Ala Lys  Tyr Met Cys Glu Asn  Gln Ala Thr Ile Ser  Ser Lys Leu
    1220                1225                1230
Gln Thr  Cys Cys Asp Lys Pro  Leu Leu Lys Lys Ala  His Cys Leu
    1235                1240                1245
Ser Glu  Val Glu His Asp Thr  Met Pro Ala Asp Leu  Pro Ala Ile
    1250                1255                1260
Ala Ala  Asp Phe Val Glu Asp  Gln Glu Val Cys Lys  Asn Tyr Ala
    1265                1270                1275
Glu Ala  Lys Asp Val Phe Leu  Gly Thr Phe Leu Tyr  Glu Tyr Ser
    1280                1285                1290
Arg Arg  His Pro Asp Tyr Ser  Val Ser Leu Leu Leu  Arg Leu Ala
    1295                1300                1305
Lys Lys  Tyr Glu Ala Thr Leu  Glu Lys Cys Cys Ala  Glu Ala Asn
    1310                1315                1320
Pro Pro  Ala Cys Tyr Gly Thr  Val Leu Ala Glu Phe  Gln Pro Leu
    1325                1330                1335
Val Glu  Glu Pro Lys Asn Leu  Val Lys Thr Asn Cys  Asp Leu Tyr
    1340                1345                1350
Glu Lys  Leu Gly Glu Tyr Gly  Phe Gln Asn Ala Ile  Leu Val Arg
    1355                1360                1365
Tyr Thr  Gln Lys Ala Pro Gln  Val Ser Thr Pro Thr  Leu Val Glu
```

【数３１－６】

```
    1370                1375                1380
Ala Ala  Arg Asn Leu Gly Arg  Val Gly Thr Lys Cys  Cys Thr Leu
    1385                1390                1395
Pro Glu  Asp Gln Arg Leu Pro  Cys Val Glu Asp Tyr  Leu Ser Ala
    1400                1405                1410
Ile Leu  Asn Arg Val Cys Leu  Leu His Glu Lys Thr  Pro Val Ser
    1415                1420                1425
Glu His  Val Thr Lys Cys Cys  Ser Gly Ser Leu Val  Glu Arg Arg
    1430                1435                1440
Pro Cys  Phe Ser Ala Leu Thr  Val Asp Glu Thr Tyr  Val Pro Lys
    1445                1450                1455
Glu Phe  Lys Ala Glu Thr Phe  Thr Phe His Ser Asp  Ile Cys Thr
    1460                1465                1470
Leu Pro  Glu Lys Glu Lys Gln  Ile Lys Lys Gln Thr  Ala Leu Ala
    1475                1480                1485
Glu Leu  Val Lys His Lys Pro  Lys Ala Thr Ala Glu  Gln Leu Lys
    1490                1495                1500
Thr Val  Met Asp Asp Phe Ala  Gln Phe Leu Asp Thr  Cys Cys Lys
    1505                1510                1515
Ala Ala  Asp Lys Asp Thr Cys  Phe Ser Thr Glu Gly  Pro Asn Leu
    1520                1525                1530
Val Thr  Arg Cys Lys Asp Ala  Leu Ala
    1535                1540
```

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：ＮＰＰ３の始まり及び終わり、＊＊＝シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【０３００】

配列番号３２－ＥＮＰＰ１２１ＧＬＫタンパク質輸出シグナル配列

【数３２－１】

```
Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu Gly
1               5                  10                  15
Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg Gly
            20                  25                  30
Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala Ala
    50                  55                  60
Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Ile Ile Ser Leu
```

【数３２－２】

65 70 75 80
Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly Phe Thr Ala Gly
85 90 95
Leu Lys

【０３０１】
配列番号３３－アルブミン配列
【数３３－１】

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met
1 5 10 15
Lys Trp Val Thr Phe Leu Leu Leu Leu Phe Val Ser Gly Ser Ala Phe
20 25 30
Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala His
35 40 45
Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile
50 55 60
Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Cys Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys
65 70 75 80
Leu Val Gln Glu Val Thr Asp Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu
85 90 95
Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
100 105 110
Leu Cys Ala Ile Pro Asn Leu Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp
115 120 125
Cys Cys Thr Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His
130 135 140
Lys Asp Asp Asn Pro Ser Leu Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala Glu
145 150 155 160
Ala Met Cys Thr Ser Phe Lys Glu Asn Pro Thr Thr Phe Met Gly His
165 170 175
Tyr Leu His Glu Val Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu
180 185 190
Leu Leu Tyr Tyr Ala Glu Gln Tyr Asn Glu Ile Leu Thr Gln Cys Cys
195 200 205
Ala Glu Ala Asp Lys Glu Ser Cys Leu Thr Pro Lys Leu Asp Gly Val
210 215 220
Lys Glu Lys Ala Leu Val Ser Ser Val Arg Gln Arg Met Lys Cys Ser
225 230 235 240

【数３３－２】

```
Ser Met Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala
                245                 250                 255
Arg Leu Ser Gln Thr Phe Pro Asn Ala Asp Phe Ala Glu Ile Thr Lys
            260                 265                 270
Leu Ala Thr Asp Leu Thr Lys Val Asn Lys Glu Cys Cys His Gly Asp
        275                 280                 285
Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Glu Leu Ala Lys Tyr Met Cys
    290                 295                 300
Glu Asn Gln Ala Thr Ile Ser Ser Lys Leu Gln Thr Cys Cys Asp Lys
305                 310                 315                 320
Pro Leu Leu Lys Lys Ala His Cys Leu Ser Glu Val Glu His Asp Thr
                325                 330                 335
Met Pro Ala Asp Leu Pro Ala Ile Ala Ala Asp Phe Val Glu Asp Gln
            340                 345                 350
Glu Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Thr
        355                 360                 365
Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Ser Leu
    370                 375                 380
Leu Leu Arg Leu Ala Lys Lys Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys Cys
385                 390                 395                 400
Ala Glu Ala Asn Pro Pro Ala Cys Tyr Gly Thr Val Leu Ala Glu Phe
                405                 410                 415
Gln Pro Leu Val Glu Glu Pro Lys Asn Leu Val Lys Thr Asn Cys Asp
            420                 425                 430
Leu Tyr Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Ile Leu Val
        435                 440                 445
Arg Tyr Thr Gln Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
    450                 455                 460
Ala Ala Arg Asn Leu Gly Arg Val Gly Thr Lys Cys Cys Thr Leu Pro
465                 470                 475                 480
Glu Asp Gln Arg Leu Pro Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ser Ala Ile Leu
                485                 490                 495
Asn Arg Val Cys Leu Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu His Val
            500                 505                 510
Thr Lys Cys Cys Ser Gly Ser Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys Phe Ser
        515                 520                 525
```

【数３３－３】

```
Ala Leu Thr Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys Ala Glu
    530                 535                 540
Thr Phe Thr Phe His Ser Asp Ile Cys Thr Leu Pro Glu Lys Glu Lys
545                 550                 555                 560
Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys Pro
                565                 570                 575
Lys Ala Thr Ala Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Asp Asp Phe Ala Gln
            580                 585                 590
Phe Leu Asp Thr Cys Cys Lys Ala Ala Asp Lys Asp Thr Cys Phe Ser
        595                 600                 605
Thr Glu Gly Pro Asn Leu Val Thr Arg Cys Lys Asp Ala Leu Ala
    610                 615                 620
```

【０３０２】

配列番号３４－ヒトＩｇＧ　Ｆｃドメイン、Ｆｃ

【数３４－１】

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1               5                   10                  15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
```

【数３４－２】

```
                165                 170                 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220
Pro Gly Lys
225
```

【０３０３】

配列番号３５－アルブミン配列

【数３５－１】

```
Met Lys Trp Val Thr Phe Leu Leu Leu Leu Phe Val Ser Gly Ser Ala
1               5                   10                  15
Phe Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala
            20                  25                  30
His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu
        35                  40                  45
Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Cys Ser Tyr Asp Glu His Ala
    50                  55                  60
Lys Leu Val Gln Glu Val Thr Asp Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
65                  70                  75                  80
Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
                85                  90                  95
Lys Leu Cys Ala Ile Pro Asn Leu Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala
            100                 105                 110
Asp Cys Cys Thr Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
        115                 120                 125
His Lys Asp Asp Asn Pro Ser Leu Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala
    130                 135                 140
Glu Ala Met Cys Thr Ser Phe Lys Glu Asn Pro Thr Thr Phe Met Gly
145                 150                 155                 160
His Tyr Leu His Glu Val Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
                165                 170                 175
Glu Leu Leu Tyr Tyr Ala Glu Gln Tyr Asn Glu Ile Leu Thr Gln Cys
            180                 185                 190
```

【数３５－２】

```
Cys Ala Glu Ala Asp Lys Glu Ser Cys Leu Thr Pro Lys Leu Asp Gly
        195                 200                 205
Val Lys Glu Lys Ala Leu Val Ser Ser Val Arg Gln Arg Met Lys Cys
    210                 215                 220
Ser Ser Met Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
225                 230                 235                 240
Ala Arg Leu Ser Gln Thr Phe Pro Asn Ala Asp Phe Ala Glu Ile Thr
                245                 250                 255
Lys Leu Ala Thr Asp Leu Thr Lys Val Asn Lys Glu Cys Cys His Gly
            260                 265                 270
Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Glu Leu Ala Lys Tyr Met
        275                 280                 285
Cys Glu Asn Gln Ala Thr Ile Ser Ser Lys Leu Gln Thr Cys Cys Asp
    290                 295                 300
Lys Pro Leu Leu Lys Lys Ala His Cys Leu Ser Glu Val Glu His Asp
305                 310                 315                 320
Thr Met Pro Ala Asp Leu Pro Ala Ile Ala Ala Asp Phe Val Glu Asp
                325                 330                 335
Gln Glu Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
            340                 345                 350
Thr Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Ser
        355                 360                 365
Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Lys Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys
    370                 375                 380
Cys Ala Glu Ala Asn Pro Pro Ala Cys Tyr Gly Thr Val Leu Ala Glu
385                 390                 395                 400
Phe Gln Pro Leu Val Glu Glu Pro Lys Asn Leu Val Lys Thr Asn Cys
                405                 410                 415
Asp Leu Tyr Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Ile Leu
            420                 425                 430
Val Arg Tyr Thr Gln Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
        435                 440                 445
Glu Ala Ala Arg Asn Leu Gly Arg Val Gly Thr Lys Cys Cys Thr Leu
    450                 455                 460
Pro Glu Asp Gln Arg Leu Pro Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ser Ala Ile
465                 470                 475                 480
```

【数３５－３】

```
Leu Asn Arg Val Cys Leu Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu His
                485                 490                 495
Val Thr Lys Cys Cys Ser Gly Ser Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys Phe
            500                 505                 510
Ser Ala Leu Thr Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys Ala
        515                 520                 525
Glu Thr Phe Thr Phe His Ser Asp Ile Cys Thr Leu Pro Glu Lys Glu
    530                 535                 540
Lys Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys
545                 550                 555                 560
Pro Lys Ala Thr Ala Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Asp Asp Phe Ala
                565                 570                 575
Gln Phe Leu Asp Thr Cys Cys Lys Ala Ala Asp Lys Asp Thr Cys Phe
            580                 585                 590
Ser Thr Glu Gly Pro Asn Leu Val Thr Arg Cys Lys Asp Ala Leu Ala
        595                 600                 605
Arg Ser Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
    610                 615
```

【０３０４】

配列番号３６－ＥＮＰＰ２シグナルペプチド

【数３６】

```
Leu Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly
1               5                   10                  15
Phe Thr Ala
```

【０３０５】

配列番号３７－シグナル配列ＥＮＰＰ７

【数３７】

```
Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1               5                   10                  15
Ala Pro Gly Ala
            20
```

【０３０６】

配列番号３８－シグナル配列ＥＮＰＰ７

【数３８】

Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15
Ala Pro Gly Ala Gly Ala
20

【０３０７】
配列番号３９－シグナル配列ＥＮＰＰ１－２－１
【数３９】

Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu Gly
1 5 10 15
Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg Gly
20 25 30
Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala Ser
35 40 45
Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala Ala
50 55 60
Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Ile Ile Ser Leu
65 70 75 80
Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly Phe Thr
Ala
85 90 95

【０３０８】
配列番号４０－ｅｘＥＮＰＰ３
【数４０】

Leu Leu Val Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg
1 5 10 15
Lys

【０３０９】
配列番号４１－シグナル配列ＥＮＰＰ５：
【数４１】

Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu Ser
1 5 10 15
Leu Ser Thr Thr Phe Ser
20

【０３１０】
配列番号４２－シグナル配列－アズロシジン
【数４２】

Met Thr Arg Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu Ala Gly Leu Leu Ala Ser
Ser Arg Ala

【０３１１】
配列番号４３－リンカー
【数４３】

Asp Ser Ser

【０３１２】
配列番号４４－リンカー
【数４４】

Glu Ser Ser

【０３１３】
配列番号４５－リンカー
【数４５】

Arg Gln Gln

【０３１４】
配列番号４６－リンカー
【数４６】

Lys Arg

【０３１５】
配列番号４７－リンカー
【数４７】

$(Arg)_m$; m=0-15

【０３１６】
配列番号４８－リンカー
【数４８】

Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg
Phe Gly

【０３１７】
配列番号４９－リンカー
【数４９】

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Pro Arg Gly Asp Thr

1 5 10

【０３１８】

配列番号５０－リンカー
【数５０】

Ala Pro Trp His Leu Ser Ser Gln Tyr Ser Arg Thr
1 5 10

【０３１９】
配列番号５１－リンカー
【数５１】

Ser Thr Leu Pro Ile Pro His Glu Phe Ser Arg Glu
1 5 10

【０３２０】
配列番号５２－リンカー
【数５２】

Val Thr Lys His Leu Asn Gln Ile Ser Gln Ser Tyr
1 5 10

【０３２１】
配列番号５３－リンカー
【数５３】

$(Glu)_m$; m=1-15

【０３２２】
配列番号５４－リンカー
【数５４】

Leu Ile Asn

【０３２３】
配列番号５５－リンカー
【数５５】

Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

【０３２４】
配列番号５６－リンカー
【数５６】

Arg Ser Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

【０３２５】
配列番号５７－リンカー
【数５７】

(Asp)$_m$; m=1-15

1

【０３２６】
配列番号５８－リンカー
【数５８】

Leu Val Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5 10 15

【０３２７】
配列番号５９－リンカー
【数５９】

Val Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5 10 15

【０３２８】
配列番号６０－リンカー
【数６０】

Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5 10

【０３２９】
配列番号６１－リンカー
【数６１】

Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5 10

【０３３０】
配列番号６２－リンカー
【数６２】

Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5 10

【０３３１】
配列番号６３－リンカー

【数６３】

Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5 10

【０３３２】

配列番号６４－リンカー

【数６４】

Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5 10

【０３３３】

配列番号６５－リンカー

【数６５】

Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5

【０３３４】

配列番号６６－リンカー

【数６６】

Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5

【０３３５】

配列番号６７－リンカー

【数６７】

Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5

【０３３６】

配列番号６８－リンカー

【数６８】

Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1 5

【０３３７】

配列番号６９－リンカー

【数６９】

Leu Gly Leu Arg Lys

1 5

【０３３８】
配列番号７０－リンカー
【数７０】

Gly Leu Arg Lys

1

【０３３９】
配列番号７１－リンカー
【数７１】

Leu Arg Lys

1

【０３４０】
配列番号７２－リンカー
【数７２】

Arg Lys

1

【０３４１】
配列番号７３－リンカー
【数７３】

$(Lys)_m$; m=0-15

1

【０３４２】
配列番号７４－リンカー
【数７４】

D_m; m=1-15

【０３４３】
配列番号７５－リンカー
【数７５】

$(GGGGS)_n$; n=1-10

【０３４４】

配列番号７６－ＥＮＰＰ３ヌクレオチド配列

【数７６－１】

```
atggaatcta cgttgacttt agcaacggaa caacctgtta agaagaacac tcttaagaaa       60
tataaaatag cttgcattgt tcttcttgct ttgctggtga tcatgtcact tggattaggc      120
ctggggcttg gactcaggaa actggaaaag caaggcagct gcaggaagaa gtgctttgat      180
gcatcattta gaggactgga gaactgccgg tgtgatgtgg catgtaaaga ccgaggtgat      240
tgctgctggg attttgaaga cacctgtgtg gaatcaactc gaatatggat gtgcaataaa      300
tttcgttgtg gagagaccag attagaggcc agcctttgct cttgttcaga tgactgtttg      360
cagaggaaag attgctgtgc tgactataag agtgtttgcc aaggagaaac ctcatggctg      420
gaagaaaact gtgacacagc ccagcagtct cagtgcccag aagggtttga cctgccacca      480
gttatcttgt tttctatgga tggatttaga gctgaatatt tatacacatg ggatacttta      540
atgccaaata tcaataaact gaaaacatgt ggaattcatt caaaatacat gagagctatg      600
tatcctacca aaaccttccc aaatcattac accattgtca cgggcttgta tccagagtca      660
catggcatca ttgacaataa tatgtatgat gtaaatctca acaagaattt ttcactttct      720
tcaaaggaac aaaataatcc agcctggtgg catgggcaac caatgtggct gacagcaatg      780
tatcaaggtt taaaagccgc tacctacttt tggcccggat cagaagtggc tataaatggc      840
tcctttcctt ccatatacat gccttacaac ggaagtgtcc catttgaaga gaggatttct      900
acactgttaa aatggctgga cctgcccaaa gctgaaagac ccaggtttta taccatgtat      960
tttgaagaac ctgattcctc tggacatgca ggtggaccag tcagtgccag agtaattaaa     1020
gccttacagg tagtagatca tgcttttggg atgttgatgg aaggcctgaa gcagcggaat     1080
ttgcacaact gtgtcaatat catccttctg gctgaccatg gaatggacca gacttattgt     1140
```

【数７６－２】

aacaagatgg aatacatgac tgattatttt cccagaataa acttcttcta catgtacgaa 1200
gggcctgccc cccgcatccg agctcataat atacctcatg actttttttag ttttaattct 1260
gaggaaattg ttagaaacct cagttgccga aaacctgatc agcatttcaa gccctatttg 1320
actcctgatt tgccaaagcg actgcactat gccaagaacg tcagaatcga caaagttcat 1380
ctctttgtgg atcaacagtg gctggctgtt aggagtaaat caaatacaaa ttgtggagga 1440
ggcaaccatg gttataacaa tgagtttagg agcatggagg ctatctttct ggcacatgga 1500
cccagtttta aagagaagac tgaagttgaa ccatttgaaa atattgaagt ctataaccta 1560
atgtgtgatc ttctacgcat tcaaccagca ccaaacaatg gaacccatgg tagtttaaac 1620
catcttctga aggtgccttt ttatgagcca tcccatgcag aggaggtgtc aaagttttct 1680
gtttgtggct ttgctaatcc attgcccaca gagtctcttg actgtttctg ccctcaccta 1740
caaaatagta ctcagctgga acaagtgaat cagatgctaa atctcaccca agaagaaata 1800
acagcaacag tgaaagtaaa tttgccattt gggaggccta gggtactgca gaagaacgtg 1860
gaccactgtc tcctttacca cagggaatat gtcagtggat ttggaaaagc tatgaggatg 1920
cccatgtgga gttcatacac agtcccccag ttgggagaca catcgcctct gcctcccact 1980
gtcccagact gtctgcgggc tgatgtcagg gttcctcctt ctgagagcca aaaatgttcc 2040
ttctatttag cagacaagaa tatcacccac ggcttcctct atcctcctgc cagcaataga 2100
acatcagata gccaatatga tgctttaatt actagcaatt tggtacctat gtatgaagaa 2160
ttcagaaaaa tgtgggacta cttccacagt gttcttctta taaaacatgc cacagaaaga 2220
aatggagtaa atgtggttag tggaccaata tttgattata attatgatgg ccattttgat 2280
gctccagatg aaattaccaa acatttagcc aacactgatg ttcccatccc aacacactac 2340
tttgtggtgc tgaccagttg taaaaacaag agccacacac cggaaaactg ccctgggtgg 2400
ctggatgtcc tacccttttat catccctcac cgacctacca acgtggagag ctgtcctgaa 2460
ggtaaaccag aagctctttg ggttgaagaa agatttacag ctcacattgc ccgggtccgt 2520
gatgtagaac ttctcactgg gcttgacttc tatcaggata aagtgcagcc tgtctctgaa 2580
attttgcaac taaagacata tttaccaaca tttgaaacca ctatt 2625

【０３４５】

配列番号７７－ＥＮＰＰ１ヌクレオチド配列：

【数７７－１】

atggaacggg acggctgtgc cggcggagga tcaagaggcg gagaaggcgg cagagcccct 60
agagaaggac ctgccggcaa cggcagagac agaggcagat ctcatgccgc cgaagcccct 120
ggcgatcctc aggctgctgc ttctctgctg gcccccatgg atgtgggcga ggaacctctg 180
gaaaaggccg ccagagccag aaccgccaag gaccccaaca cctacaaggt gctgagcctg 240
gtgctgtccg tgtgcgtgct gaccaccatc ctgggctgca tcttcggcct gaagcccagc 300
tgcgccaaag aagtgaagtc ctgcaagggc cggtgcttcg agcggacctt cggcaactgc 360
agatgcgacg ccgcctgtgt ggaactgggc aactgctgcc tggactacca ggaaacctgc 420
atcgagcccg agcacatctg gacctgcaac aagttcagat gcggcgagaa gcggctgacc 480

【数７７－２】

agatccctgt gtgcctgcag cgacgactgc aaggacaagg gcgactgctg catcaactac 540
agcagcgtgt gccagggcga gaagtcctgg gtggaagaac cctgcgagag catcaacgag 600
ccccagtgcc ctgccggctt cgagacacct cctaccctgc tgttcagcct ggacggcttt 660
cgggccgagt acctgcacac atggggaggc ctgctgcccg tgatcagcaa gctgaagaag 720
tgcggcacct acaccaagaa catgcggccc gtgtacccca ccaagacctt ccccaaccac 780
tactccatcg tgaccggcct gtaccccgag agccacggca tcatcgacaa caagatgtac 840
gaccccaaga tgaacgccag cttcagcctg aagtccaaag agaagttcaa ccccgagtgg 900
tataagggcg agcccatctg ggtcaccgcc aagtaccagg gcctgaaaag cggcacattc 960
ttttggcccg gcagcgacgt ggaaatcaac ggcatcttcc ccgacatcta taagatgtac 1020
aacggcagcg tgcccttcga ggaacggatc ctggctgtgc tgcagtggct gcagctgccc 1080
aaggatgagc ggccccactt ctacaccctg tacctggaag aacctgacag cagcggccac 1140
agctacggcc ctgtgtccag cgaagtgatc aaggccctgc agcgggtgga cggcatggtg 1200
ggaatgctga tggacggcct gaaagagctg aacctgcaca gatgcctgaa cctgatcctg 1260
atcagcgacc acggcatgga acagggatcc tgcaagaagt acatctacct gaacaagtac 1320
ctgggcgacg tgaagaacat caaagtgatc tacggcccag ccgccagact gaggcctagc 1380
gacgtgcccg acaagtacta cagcttcaac tacgagggaa tcgcccggaa cctgagctgc 1440
agagagccca accagcactt caagccctac ctgaagcact tcctgcccaa gcggctgcac 1500
ttcgccaaga gcgacagaat cgagcccctg accttctacc tggaccccca gtggcagctg 1560
gccctgaatc ccagcgagag aaagtactgc ggcagcggct tccacggctc cgacaacgtg 1620
ttcagcaaca tgcaggccct gttcgtgggc tacggacccg gctttaagca cggcatcgag 1680
gccgacacct tcgagaacat cgaggtgtac aatctgatgt gcgacctgct gaatctgacc 1740
cctgccccca acaatggcac ccacggcagc ctgaaccatc tgctgaagaa ccccgtgtac 1800
acccctaagc accccaaaga ggtgcacccc ctggtgcagt gcccccttcac cagaaacccc 1860
agagacaacc tgggctgtag ctgcaacccc agcatcctgc ccatcgagga cttccagacc 1920
cagttcaacc tgaccgtggc cgaggaaaag atcatcaagc acgagacact gccctacggc 1980
agaccccggg tgctgcagaa agagaacacc atctgcctgc tgagccagca ccagttcatg 2040
agcggctact cccaggacat cctgatgccc ctgtggacca gctacaccgt ggaccggaac 2100
gacagcttct ccaccgagga tttcagcaac tgcctgtacc aggatttccg gatccccctg 2160
agccccgtgc acaagtgcag cttctacaag aacaacacca aggtgtccta cggcttcctg 2220
agccctcccc agctgaacaa gaacagctcc ggcatctaca gcgaggccct gctgactacc 2280
aacatcgtgc ccatgtacca gagcttccaa gtgatctggc ggtacttcca cgacaccctg 2340
ctgcggaagt acgccgaaga acggaacggc gtgaacgtgg tgtccggccc agtgttcgac 2400
ttcgactacg acggcagatg tgacagcctg gaaaatctgc ggcagaaaag aagagtgatc 2460
cggaaccagg aaattctgat ccctacccac ttctttatcg tgctgacaag ctgcaaggat 2520
accagccaga ccccccctgca ctgcgagaac ctggataccc tggccttcat cctgcctcac 2580
cggaccgaca acagcgagag ctgtgtgcac ggcaagcacg acagctcttg ggtggaagaa 2640

【数７７－３】

ctgctgatgc tgcaccgggc cagaatcacc gatgtggaac acatcaccgg cctgagcttt 2700
taccagcagc ggaaagaacc cgtgtccgat atcctgaagc tgaaaaccca tctgcccacc 2760
ttcagccagg aagat 2775

【０３４６】

配列番号７８－アズロシジン－ＥＮＰＰ１－ＦＣヌクレオチド配列

【数７８－１】

ggtaccgccacc**atg**acaagactgacagtgctggctctgctggccggactgttggcctcttcta
gagct**gct**ccttcctgcgccaaagaagtgaagtcctgcaagggcagatgcttcgagcggacctt
cggcaactgtagatgtgacgccgcttgcgtggaactgggcaactgctgcctggactaccaagag
acatgcatcgagcccgagcacatctggacctgcaacaagttcagatgcggcgagaagcggctga
ccagatctctgtgcgcctgctctgacgactgcaaggacaagggcgactgctgcatcaactactc
ctctgtgtgccagggcgagaagtcctgggttgaagaaccctgcgagtccatcaacgagcctcag
tgtcctgccggcttcgagacacctcctactctgctgttctccctggatggcttcagagccgagt
acctgcatacttggggaggcctgctgccagtgatctccaagctgaagaagtgcggcacctacac
caagaacatgaggcctgtgtaccctaccaagacattccccaaccactactccatcgtgaccggc
ctgtatcctgagagccacggcatcatcgacaacaagatgtacgaccccaagatgaacgcctcct
tcagcctgaagtccaaagagaagttcaaccccgagtggtataagggcgagcctatctgggtcac
cgctaagtaccagggactgaagtctggcaccttcttttggcctggctccgacgtggaaatcaac
ggcatcttccccgacatctataagatgtacaacggctccgtgcctttcgaggaacgcattctgg
ctgttctgcagtggctgcagctgcctaaggatgagaggcctcacttctacaccctgtacctgga
agaacctgactcctccggccactcttatggccctgtgtcctctgaagtgatcaaggccctgcag
cgagtggacggaatggtcggaatgctgatggacggcctgaaagagctgaacctgcacagatgcc
tgaacctgatcctgatctccgaccacggcatggaacaggggagctgcaagaagtacatctacct
gaacaagtacctgggcgacgtgaagaacatcaaagtgatctacggcccagccgccagactgagg
ccttctgatgtgcctgacaagtactactccttcaactacgagggaatcgcccggaacctgtcct
gcagagagcctaaccagcacttcaagccctacctgaagcactttctgcctaagcggctgcactt
cgccaagtctgacagaatcgagcccctgaccttctatctggaccctcagtggcagctggccctg
aatcctagcgagagaaagtactgtggctccggcttccacggctccgacaacgtgttctctaata
tgcaggccctgttcgtcggctacggccctggctttaaacacggcatcgaggccgacaccttcga
gaacatcgaggtgtacaatctgatgtgtgacctgctgaatctgacccctgctcctaacaacggc
acccacggatctctgaaccatctgctgaagaatcccgtgtacacccctaagcaccccaaagagg
ttcaccctctggtccagtgtcctttcaccagaaatcctcgggacaacctgggctgctcttgcaa
cccttctatcctgcctatcgaggactttcagacccagttcaacctgaccgtggccgaggaaaag
atcatcaagcacgagacactgccctacggcagacctagagtgctgcagaaagagaacaccatct
gcctgctgtcccagcaccagttcatgtccggctactcccaggacatcctgatgcctctgtggac
ctcctacaccgtggaccggaacgatagcttctccaccgaggacttcagcaactgcctgtaccag

【数７８－２】

gatttcagaatccctctgagccccgtgcacaagtgcagcttctacaagaacaacaccaaggtgt
cctacggcttcctgtctcctccacagctgaacaagaactccagcggcatctactctgaggccct
gctgaccaccaacatcgtgcccatgtaccagtccttccaagtgatctggcggtacttccacgac
accctgctgaggaagtacgccgaagaaagaaacggcgtgaacgtggtgtctggccccgtgttcg
acttcgactacgacggcagatgcgactctctggaaaacctgcggcagaaaagacgagtgatccg
gaatcaagagatcctgattcctacacacttctttatcgtgctgaccagctgcaaggatacctct
cagacccctctgcactgcgagaatctggacaccctggccttcattctgcctcacagaaccgaca
actccgagtcctgtgtgcacggcaagcacgactcctcttgggtcgaagaactgctgatgctgca
ccgggccagaatcaccgatgtggaacacatcaccggcctgagcttctaccagcagcggaaagaa
cctgtgtccgatatcctgaagctgaaaacccatctgccaaccttcagccaagaggacctgatca
acgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgctcggaggcccctctgtgtt
cctgtttccacctaagccaaaggacacactgatgatctctcggaccccctgaagtgacctgcgtg
gtggtggatgtgtctcacgaagatcccgaagtcaagttcaattggtacgtggacggcgtggaag
tgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaactccacctacagagtggtgtccgt
gctgactgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaagtgtccaacaag
gctctgcccgctcctatcgaaaagaccatctccaaggctaagggccagcctcgggaacctcagg
tttacaccctgcctccatctcgggaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggt
caagggcttctaccttccgatatcgccgtggaatgggagtccaatggccagcctgagaacaac
tacaagacaacccctcctgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtactctaagctgacag
tggacaagtcccggtggcagcaaggcaatgtgttttcctgctctgtgatgcacgaggccctcca
caatcactacacccagaagtccctgtctctgtcccctggcaaa**tgatag**ctcgag

凡例－太字＝開始／終止コドン、下線＝シグナルペプチドのヌクレオチド配列。

【０３４７】

配列番号７９－アズロシジン－ＥＮＰＰ３－ＦＣヌクレオチド配列

【数７９－１】

atgaccagactgaccgtgctggccctgctggccggcctgctggccagcagcagagccgccaagc
agggcagctgcagaaagaagtgcttcgacgccagcttcagaggcctggagaactgcagatgcga
cgtggcctgcaaggacagaggcgactgctgctgggacttcgaggacacctgcgtggagagcacc
agaatctggatgtgcaacaagttcagatgcggcgagaccagactggaggccagcctgtgcagct
gcagcgacgactgcctgcagagaaaggactgctgcgccgactacaagagcgtgtgccagggcga
gaccagctggctggaggagaactgcgacaccgcccagcagagccagtgccccgagggcttcgac
ctgcccccgtgatcctgttcagcatggacggcttcagagccgagtacctgtacacctgggaca
ccctgatgcccaacatcaacaagctgaagacctgcggcatccacagcaagtacatgagagccat
gtaccccaccaagaccttccccaaccactacaccatcgtgaccggcctgtaccccgagagccac
ggcatcatcgacaacaacatgtacgacgtgaacctgaacaagaacttcagcctgagcagcaagg
agcagaacaaccccgcctggtggcacggccagcccatgaacctgaccgccatgtaccagggcct

【数７９－２】

gaaggccgccacctacttctggcccggcagcgaggtggccatcaacggcagcttccccagcatc
tacatgccctacaacggcagcgtgcccttcgaggagagaatcagcaccctgctgaagtggctgg
acctgcccaaggccgagagacccagattctacaccatgtacttcgaggagcccgacagcagcgg
ccacgccggcggccccgtgagcgccagagtgatcaaggccctgcaggtggtggaccacgccttc
ggcatgctgatggagggcctgaagcagagaaacctgcacaactgcgtgaacatcatcctgctgg
ccgaccacggcatggaccagacctactgcaacaagatggagtacatgaccgactacttccccag
aatcaacttcttctacatgtacgagggccccgcccccagaatcagagcccacaacatcccccac
gacttcttcagcttcaacagcgaggagatcgtgagaaacctgagctgcagaaagcccgaccagc
acttcaagccctacctgacccccgacctgcccaagagactgcactacgccaagaacgtgagaat
cgacaaggtgcacctgttcgtggaccagcagtggctggccgtgagaagcaagagcaacaccaac
tgcggcggcggcaaccacggctacaacaacgagttcagaagcatggaggccatcttcctggccc
acggccccagcttcaaggagaagaccgaggtggagcccttcgagaacatcgaggtgtacaacct
gatgtgcgacctgctgagaatccagcccgcccccaacaacggcacccacggcagcctgaaccac
ctgctgaaggtgcccttctacgagcccagccacgccgaggaggtgagcaagttcagcgtgtgcg
gcttcgccaacccccctgcccaccgagagcctggactgcttctgcccccacctgcagaacagcac
ccagctggagcaggtgaaccagatgctgaacctgacccaggaggagatcaccgccaccgtgaag
gtgaacctgcccttcggcagacccagagtgctgcagaagaacgtggaccactgcctgctgtacc
acagagagtacgtgagcggcttcggcaaggccatgagaatgcccatgtggagcagctacaccgt
gccccagctgggcgacaccagcccccctgccccccaccgtgcccgactgcctgagagccgacgtg
agagtgccccccagcgagagccagaagtgcagcttctacctggccgacaagaacatcacccacg
gcttcctgtacccccccgccagcaacagaaccagcgacagccagtacgacgccctgatcaccag
caacctggtgcccatgtacgaggagttcagaaagatgtgggactacttccacagcgtgctgctg
atcaagcacgccaccgagagaaacggcgtgaacgtggtgagcggccccatcttcgactacaact
acgacggccacttcgacgcccccgacgagatcaccaagcacctggccaacaccgacgtgcccat
ccccacccactacttcgtggtgctgaccagctgcaagaacaagagccacacccccgagaactgc
cccggctggctggacgtgctgcccttcatcatcccccacagacccaccaacgtggagagctgcc
ccgagggcaagcccgaggccctgtgggtggaggagagattcaccgcccacatcgccagagtgag
agacgtggagctgctgaccggcctggacttctaccaggacaaggtgcagcccgtgagcgagatc
ctgcagctgaagacctacctgcccaccttcgagaccaccatcgacaagacccacacctgccccc
cctgccccgcccccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctgttcccccccaagcccaagga
caccctgatgatcagcagaaccccccgaggtgacctgcgtggtggtggacgtgagccacgaggac
cccgaggtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacaacgccaagaccaagcccca
gagaggagcagtacaacagcacctacagagtggtgagcgtgctgaccgtgctgcaccaggactg
gctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtgagcaacaaggccctgcccgcccccatcgagaag
accatcagcaaggccaagggccagcccagagagccccaggtgtacaccctgcccccccagcagag
aggagatgaccaagaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaagggcttctaccccagcgacat

【数７９－３】

cgccgtggagtgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccacccccccgtgctg
gacagcgacggcagcttcttcctgtacagcaagctgaccgtggacaagagcagatggcagcagg
gcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagagcct
gagcctgagccccggcaag

【０３４８】

ＥＮＰＰ１及びＥＮＰＰ３融合ポリペプチドのクローニング及び発現

ＥＮＰＰ１、又はＥＮＰＰ１ポリペプチドは、参照によりその全体で本明細書に組み込まれる、ＵＳ２０１５／０３５９８５８Ａｌに記載されるように調製される。ＥＮＰＰ１は、別個の膜内ドメインを有する細胞表面に局在化された膜貫通タンパク質である。ＥＮＰＰ１を可溶性細胞外タンパク質として発現させるために、ＥＮＰＰ１の膜貫通ドメインを、ＥＮＰＰ２の膜貫通ドメイン、又はアズロシジンなどのシグナルペプチド配列と交換してもよく、それはバキュロウイルス培養物の細胞外液中に可溶性の組換えＥＮＰＰ１の蓄積をもたらす。イムノグロブリンカッパ及びラムダ軽鎖タンパク質のシグナル配列などであるがこれに限定されない、分泌のためにＥＮＰＰ１の細胞外ドメインを標的とするための任意の他の既知のタンパク質のシグナル配列が使用され得る。更に、本開示は、本明細書に記載されるポリペプチドに限定されると解釈されるべきではないが、ＥＮＰＰ１細胞外ドメインの任意の酵素的に活性な切断を含むポリペプチドも含む。

【０３４９】

ＥＮＰＰ１は、膜貫通ドメインを省略することによって可溶性にされる。ヒトＥＮＰＰ１（配列番号１）は、その膜貫通領域（例えば、残基７７～９８）を、ヒトＥＮＰＰ２（ＮＣＢＩアクセッションＮＰ　００１１２４３３　５、例えば、残基１２～３０）又はアズロシジンシグナル配列（配列番号４２）の対応するサブドメインで置き換えることによって、可溶性の組換えタンパク質を発現するように修飾された。

【０３５０】

修飾されたＥＮＰＰ１配列は、ＴＥＶプロテアーゼ切断部位、続いて、Ｃ末端９－ＦｌＩＳタグを保有する修飾ｐＦａｓｔｂａｃ　ＦＩＴベクターにクローニングされ、昆虫細胞においてクローニング及び発現され、両方のタンパク質は、以前に記載されたようにバキュロウイルス系で発現され（Ａｌｂｒｉｇｈｔ，ｅｔ　ａｌ．，２０１２，Ｂｌｏｏｄ　１２０：４４３２－４４４０、Ｓａｕｎｄｅｒｓ，ｅｔ　ａｌ．，２０１１，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．１８：９９４－１００４、Ｓａｕｎｄｅｒｓ，ｅｔ　ａｌ．，２００８，Ｍｏｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｔｈｅｒ．７：３３５２－３３６２）、細胞外液中に可溶性の組換えタンパク質の蓄積をもたらす。

【０３５１】

ＥＮＰＰ３は、細胞表面へ乏しく輸出される。可溶性ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、ＥＮＰＰ３のシグナル配列を、他のＥＮＰＰ若しくはアズロシジンの天然シグナル配列又は好適なシグナル配列と置き換えることによって構築される。ＥＮＰＰ３融合構築物のいくつかの例は、ＷＯ２０１７／０８７９３６に開示されている。可溶性ＥＮＰＰ３構築物は、これらに限定されないが、ＥＮＰＰ７及び／又はＥＮＰＰ５などの他のＥＮＰＰ酵素のシグナル輸出シグナル配列を使用することによって調製される。可溶性ＥＮＰＰ３構築物は、ＥＮＰＰ１及びＥＮＰＰ２のシグナル配列の組み合わせ（以下、「ＥＮＰＰ１－２－１」又は「ＥＮＰＰ１２１」）からなるシグナル配列を使用して調製される。イムノグロブリンカッパ及びラムダ軽鎖タンパク質のシグナル配列などであるがこれに限定されない、分泌のためにＥＮＰＰ３の細胞外ドメインを標的とするための任意の他の既知のタンパク質のシグナル配列が使用され得る。更に、本開示は、本明細書に記載される構築物に限定されると解釈されるべきではないが、ＥＮＰＰ３細胞外ドメインの任意の酵素的に活性な切断を含む構築物も含む。

【０３５２】

ある特定の実施形態では、ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、可溶性である。いくつかの実施形態では、本開示のポリペプチドは、ＥＮＰＰ３膜貫通ドメインを欠くＥＮＰＰ３ポリペプチドを含む。別の実施形態では、本開示のポリペプチドは、ＥＮＰＰ３ポリペプチドを含み、ＥＮＰＰ３膜貫通ドメインは、除去され、非限定的な例として、ＥＮＰＰ２、ＥＮＰＰＳ、若しくはＥＮＰＰ７又はアズロシジンシグナル配列などの別のポリペプチドの膜貫通ドメインで置き換えられている。

【０３５３】

いくつかの実施形態では、本開示のポリペプチドは、ＩｇＧ　Ｆｃドメインを含む。あ

る特定の実施形態では、本開示のポリペプチドは、アルブミンドメインを含む。他の実施形態では、アルブミンドメインは、ＥＮＰＰ３ポリペプチドのＣ末端領域に位置する。更に他の実施形態では、ＩｇＧ　Ｆｃドメインは、ＥＮＰＰ３ポリペプチドのＣ末端領域に位置する。更に他の実施形態では、ＩｇＧ　Ｆｃドメイン又はアルブミンドメインの存在は、半減期、可溶性を改善し、免疫原性を低減し、ＥＮＰＰ３ポリペプチドの活性を増加させる。

【０３５４】

ある特定の実施形態では、本開示のポリペプチドは、ＥＮＰＰ３ポリペプチドの前駆体の分泌をもたらすシグナルペプチドを含み、これは、ＥＮＰＰ３ポリペプチドをもたらすタンパク質分解プロセシングを経る。他の実施形態では、シグナルペプチドは、ＥＮＰＰ２、ＥＮＰＰ５、及びＥＮＰＰ７のシグナルペプチドからなる群から選択される。更に他の実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号３６～４２からなる群から選択される。

【０３５５】

ある特定の実施形態では、ＩｇＧ　Ｆｃドメイン又はアルブミンドメインは、リンカー領域によってＥＮＰＰ３ポリペプチドのＣ末端領域に接続される。他の実施形態では、リンカーは、配列番号４３～７５から選択され、ｎは、１～２０の範囲の整数である。

【０３５６】

ＥＮＰＰ１及びＥＮＰＰ３融合ポリペプチドの産生及び精製

インビトロ使用のための可溶性の組換えＥＮＰＰ１ポリペプチドを産生するために、ＥＮＰＰ１（ヒトＮＰＰ１（ＮＣＢＩアクセッションＮＰ＿００６１９９））の細胞外ドメインをコードするポリヌクレオチドは、ＩｇＧのＦｃドメインに融合され（「ＥＮＰＰ１－Ｆｃ」と称される）、安定したＣＨＯ細胞株で発現された。いくつかの実施形態では、ＮＣＢＩアクセッションＮＰ＿００６１９９の残基９６～９２５をコードするＥＮＰＰ１ポリヌクレオチドは、Ｆｃドメインに融合され、ＥＮＰＰ１ポリペプチドを生成した。

【０３５７】

代替的に、ＥＮＰＰ１ポリペプチドはまた、好適なベクターを使用して、ＨＥＫ２９３細胞、バキュロウイルス昆虫細胞系、又はＣＨＯ細胞若しくは酵母ピキア発現系から発現され得る。ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、接着細胞又は懸濁細胞のいずれかで産生され得る。好ましくは、ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、ＣＨＯ細胞で発現される。安定した細胞株を確立するために、ＥＮＰＰ１構築物をコードする核酸配列は、大規模なタンパク質産生のための適切なベクターにクローニングされる。

【０３５８】

ＥＮＰＰ３は、ＣＨＯ又はＨＥＫ２９３哺乳動物細胞のいずれかに安定したトランスフェクションを確立することによって産生される。ＥＮＰＰ３をコードするＥＮＰＰ３ポリヌクレオチド（ヒトＮＰＰ３（ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ：Ｏ１４６３８．２）は、ＩｇＧのＦｃドメインに融合され（「ＥＮＰＰ３－Ｆｃ」と称される）、安定したＣＨＯ細胞株で発現された。いくつかの実施形態では、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ：Ｏ１４６３８．２の残基４９～８７５をコードするＥＮＰＰ３ポリヌクレオチドは、Ｆｃドメインに融合されて、ＥＮＰＰ３ポリペプチドを生成した。ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、接着又は懸濁細胞のいずれかで産生され得る。安定した細胞株を確立するために、大規模なタンパク質産生のための適切なベクターへの本開示のＮＰＰ３融合ポリペプチドをコードする核酸配列。市販の供給源から入手可能な様々なこれらのベクターがあり、それらのうちのいずれかを使用することができる。ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、その内容が参照によりその全体で本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１７／０８７９３６で確立されたプロトコルに従って産生される。ＥＮＰＰ１ポリペプチドは、その内容が参照によりその全体で本明細書に組み込まれる、Ａｌｂｒｉｇｈｔ，ｅｔ　ａｌ，２０１５，Ｎａｔ　Ｃｏｍｍｕｎ．６：１０００６で確立されたプロトコルに従って産生される。

【０３５９】

ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３の所望のポリペプチド構築物を含む好適なプラスミドは、エ

レクトロポレーション又はリポフェクタミンなどの確立された技術を使用して、発現プラスミドに安定的にトランスフェクトされ得、細胞は、抗生物質選択下で増殖されて、安定的にトランスフェクトされた細胞に対して強化することができる。次いで、単一の安定的にトランスフェクトされた細胞のクローンが確立され、所望の融合タンパク質の高発現クローンについてスクリーニングされる。ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチド発現のための単一細胞クローンのスクリーニングは、以前に記載される合成酵素基質ｐＮＰ－ＴＭＰを使用して、９６ウェルプレートでハイスループット様式で達成され得る（Ｓａｕｎｄｅｒｓ，ｅｔ ａｌ，２００８，Ｍｏｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐ．７（１０）：３３５２－６２、Ａｌｂｒｉｇｈｔ，ｅｔ ａｌ，２０１５，Ｎａｔ Ｃｏｍｍｕｎ．６：１００００６）。

【０３６０】

スクリーニングを介してＥＮＰＰ３又はＥＮＰＰ１ポリペプチドの高発現クローンが同定されると、ＥＮＰＰ１について以前に記載される振盪フラスコ又はバイオリアクターにおいてタンパク質産生を達成することができる（Ａｌｂｒｉｇｈｔ，ｅｔ ａｌ，２０１５，Ｎａｔ Ｃｏｍｍｕｎ．６：１００００６）。ＥＮＰＰ３又はＥＮＰＰ１ポリペプチドの精製は、当該技術分野で既知の標準的な精製技術の組み合わせを使用して達成することができる。これらの技術は、当該技術分野で周知であり、カラムクロマトグラフィー、超遠心分離、濾過、及び沈殿などの技術から選択される。カラムクロマトグラフィー精製は、プロテインＡ及びプロテインＧ樹脂などのアフィニティクロマトグラフィー、ニッケル又は銅などの金属アフィニティ樹脂、疎水性交換クロマトグラフィー、並びにＣ８－Ｃ１４樹脂を使用する逆相高圧クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）を使用して達成される。Ｑ－セファロース（アニオン交換）及びＳＰ－セファロース（カチオン交換）、青色セファロース樹脂及び青色セファデックス樹脂、並びにヒドロキシアパタイト樹脂などの市販の樹脂を使用するアニオン及びカチオン交換クロマトグラフィーなどのイオン交換も採用され得る。当該技術分野で既知であるように、市販のＳ－７５及びＳ２００ Ｓｕｐｅｒｄｅｘ樹脂を使用するサイズ排除クロマトグラフィーも採用され得る。タンパク質を可溶化して、上述のクロマトグラフィーステップ用の選択培地を提供するために使用される緩衝液は、当該技術分野の実践者及びタンパク質化学の科学に既知の標準的な生物学的緩衝液である。

【０３６１】

調製に使用される緩衝液のいくつかの例としては、クエン酸塩、リン酸塩、酢酸塩、トリス（ヒドロキシメミル）アミノメタン、生理食塩水緩衝液、グリシン－ＨＣＬ緩衝液、カコジル酸緩衝液、及びバルビタールナトリウム緩衝液が挙げられ、これらは当該技術分野で周知である。単一の精製ステップの後、単一の技術、又は組み合わせの一連の技術、及び適切な緩衝系を用いて、クマシー染色されたポリアクリルアミドゲル上で、ＥＮＰＰ３及び粗出発物質を並行して精製した。次いで、ＥＮＰＰ３タンパク質は、加えて、上述の追加の技術及び／又はクロマトグラフィーステップを使用して精製され、適切なｐＨに調整された約９９％の純度などの実質的により高い純度に到達することができ、記載されるＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドを、粗物質から９９％を超える純度まで精製することができる。

【０３６２】

精製後、ＥＮＰＰ１－Ｆｃ又はＥＮＰＰ３－Ｆｃを、５～７ｍｇ／ｍｌに濃縮されたＺｎ２＋及びＭｇ２＋（ＰＢＳｐｌｕｓ）を補充したＰＢＳに透析し、－８０℃で２００～５００μｌのアリコート中で凍結した。アリコートを、使用直前に解凍し、溶液の比活性を、ＰＢＳｐｌｕｓ中で希釈することによって３１．２５ａｕ／ｍｌ（又は調製物に応じて約０．７ｍｇ／ｍｌ）に調整した。

【０３６３】

投与量及び投与方法

別の実施形態では、ｈｓＮＰＰ１又はｈｓＮＰＰ３は、それぞれ、約１．０ｍｇ／ｋｇ～約５．０ｍｇ／ｋｇのＮＰＰ１又は約１．０ｍｇ／ｋｇ～約５．０ｍｇ／ｋｇのＮＰＰ

３を含む１つ以上の用量で投与される。別の実施形態では、ｈｓＮＰＰ１又はｈｓＮＰＰ３は、約１．０ｍｇ／ｋｇ～約１０．０ｍｇ／ｋｇのＮＰＰ１又は約１．０ｍｇ／ｋｇ～約１０．０ｍｇ／ｋｇのＮＰＰ３を含む１つ以上の用量で投与される。

【０３６４】

ｈｓＮＰＰ１又はｈｓＮＰＰ３の用量間の期間は、少なくとも２日であり、例えば、少なくとも３日、少なくとも１週間、２週間、又は１ヵ月とより長くてもよい。一実施形態では、投与は、毎週、隔週、又は毎月である。

【０３６５】

組換えｈｓＮＰＰ１又はｈｓＮＰＰ３は、静脈内、皮下、又は腹腔内など、任意の好適な方法で投与され得る。

【０３６６】

組換えｈｓＮＰＰ１又はｈｓＮＰＰ３は、１つ以上の追加の治療剤と組み合わせて投与され得る。例示的な治療剤としては、ビスホスホネート、スタチン、フィブレート、ナイアシン、アスピリン、クロピドグレル、及びワーファリンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３６７】

いくつかの実施形態では、組換えｈｓＮＰＰ１又はｈｓＮＰＰ３及び追加の治療剤は、別々に投与され、同時に又は逐次的に投与される。いくつかの実施形態では、組換えｈｓＮＰＰ１又はｈｓＮＰＰ３は、追加の治療剤の投与の前に投与される。いくつかの実施形態では、組換えｈｓＮＰＰ１又はｈｓＮＰＰ３は、追加の治療剤の投与の後に投与される。他の実施形態では、組換えｈｓＮＰＰ１又はｈｓＮＰＰ３及び追加の治療剤は、一緒に投与される。

【０３６８】

核酸投与及び治療法

ＥＮＰＰ１及びＥＮＰＰ３のインビボ発現のためのウイルスベクター

本開示内で有用なポリペプチドをコードする核酸は、本明細書で企図される疾患又は障害の治療のための遺伝子療法プロトコルで使用され得る。ポリペプチドをコードする改善された構築物は、目的の疾患又は障害を治療又は予防するために、適切な遺伝子療法ベクターに挿入され、患者に投与され得る。

【０３６９】

ウイルスベクターなどのベクターは、先行技術において、多種多様な異なる標的細胞に遺伝子を導入するために使用されてきた。典型的には、ベクターは、所望のポリペプチド（例えば、受容体）の発現から有用な治療又は予防効果を提供するために十分な割合の細胞で形質転換が行われ得るように、標的細胞に曝露される。トランスフェクトされた核酸は、標的細胞の各々のゲノムに永久的に組み込まれ、長く続く効果を提供し得るか、又は代替的に、治療は、周期的に繰り返される必要あり得る。ある特定の実施形態では、（ウイルス）ベクターは、本開示のポリペプチドをコードする遺伝物質をインビボで肝細胞にトランスフェクトする。

【０３７０】

様々なベクター、ウイルスベクター及びプラスミドベクターの両方が当該技術分野で既知である（例えば、米国特許第５，２５２，４７９号及びＷＯ９３／０７２８２を参照されたい）。特に、ＳＶ４０、ワクシニアウイルス、ＨＳＶ及びＥＢＶを含むヘルペスウイルス、並びにレトロウイルスなどのパポバウイルスを含む、遺伝子導入ベクターとしていくつかのウイルスが使用されてきた。先行技術における多くの遺伝子療法プロトコルは、無効化されたネズミレトロウイルスを採用してきた。最近発行されたいくつかの特許は、遺伝子療法を行うための方法及び組成物を対象とする（例えば、米国特許第６，１６８，９１６号、同第６，１３５，９７６号、同第５，９６５，５４１号、及び同第６，１２９，７０５号を参照されたい）。前述の特許の各々は、参照によりその全体で本明細書に組み込まれる。したがって、ＮＰＰ１又はＮＰＰ３配列を含むポリヌクレオチドなどの遺伝物質は、ＶＳＭＣ増殖を治療するために哺乳動物に導入され得る。

【０３７１】
ある特定の修飾ウイルスは、哺乳動物への投与後、ウイルスが細胞に感染し、コードされたタンパク質を発現するため、コード配列を担持するためのベクターとしてしばしば使用される。本開示による有用な修飾ウイルスは、例えば、以下：パルボウイルス、ピコルナウイルス、仮性狂犬病ウイルス、Ａ型、Ｂ型、又はＣ型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、パポバウイルス（ポリオーマ及びＳＶ４０など）又はヘルペスウイルス（エプスタイン－バーウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス、帯状疱疹及び単純ヘルペスウイルス１型及び２型）、ＲＮＡウイルス、又はモロニーマウス白血病ウイルス若しくはレンチウイルスなどのレトロウイルス（すなわち、ヒト免疫不全ウイルス、ネコ免疫不全ウイルス、ウマ感染性貧血ウイルスなど）を含むウイルスに由来する。本開示による有用なＤＮＡウイルスには、以下がある：アデノ随伴ウイルスアデノウイルス、アルファウイルス、及びレンチウイルス。
【０３７２】
ウイルスベクターは、一般的に注射により投与され、最も頻繁には、静脈内で（ＩＶによって）身体に直接、又は特定の組織に直接投与され、そこでは個々の細胞によって取り込まれる。代替的に、ウイルスベクターは、エクスビボでウイルスベクターを患者の細胞の試料と接触させることによって投与されてもよく、それによってウイルスベクターが細胞を感染させることを可能にし、次いでベクターを含む細胞が患者に戻される。ウイルスベクターが送達されると、コード配列が発現され、機能性タンパク質がもたらされる。概して、ウイルスベクターによる細胞の感染及び形質導入は、ウイルスカプシドの標的細胞表面上の受容体との相互作用、エンドサイトーシスによる内在化、エンドサイトーシス／プロテアソーム区画を通した細胞内輸送、エンドソーム脱出、核輸入、ビリオン脱殻、並びに組換えコード配列対象の転写及び発現につながるウイルスＤＮＡ二重鎖変換という一連の連続的な事象によって生じる。（Ｃｏｌｅｌｌａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ Ｔｈｅｒ Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｃｌｉｎ Ｄｅｖ．２０１７ Ｄｅｃ １；８：８７－１０４．）。
【０３７３】
本開示によるアデノ随伴ウイルスベクター
ＡＡＶは、パルボウイルス科のデパノウイルス属に属するウイルスを指す。ＡＡＶゲノムは、約４．７キロベースの長さであり、ポジティブ又はネガティブセンスのいずれかであり得る直鎖一本鎖デオキシリボ核酸（ｓｓＤＮＡ）からなる。ゲノムは、ＤＮＡ鎖の両端に逆位末端反復（ＩＴＲ）、並びに２つのオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）：ｒｅｐ及びｃａｐを含む。ｒｅｐフレームは、ＡＡＶライフサイクルに必要な非構造複製（Ｒｅｐ）タンパク質をコードする４つの重複遺伝子から作製されている。ｃａｐフレームは、構造ＶＰカプシドタンパク質：ＶＰ１、ＶＰ２、及びＶＰ３の重複ヌクレオチド配列を含み、それらは一緒に相互作用して、正二十面体型カプシドを形成する。
【０３７４】
末端１４５ヌクレオチドは、自己相補的であり、Ｔ字形状のヘアピンを形成する、エネルギー的に安定した分子内二本鎖が形成され得るように組織化される。これらのヘアピン構造は、ウイルスＤＮＡ複製の起源として機能し、細胞ＤＮＡポリメラーゼ複合体のプライマーとしての役目を果たす。哺乳動物細胞における野生型ＡＡＶ感染に続いて、ｒｅｐ遺伝子（すなわち、Ｒｅｐ７８及びＲｅｐ５２）は、それぞれ、Ｐ５プロモーター及びＰ１９プロモーターから発現され、両方のＲｅｐタンパク質は、ウイルスゲノムの複製において機能を有する。ｒｅｐ ＯＲＦにおけるスプライシング事象は、実際には４つのＲｅｐタンパク質（すなわち、Ｒｅｐ７８、Ｒｅｐ６８、Ｒｅｐ５２、及びＲｅｐ４０）の発現をもたらす。しかしながら、哺乳動物細胞におけるＲｅｐ７８及びＲｅｐ５２タンパク質をコードする非スプライシングｍＲＮＡは、ＡＡＶベクター産生に十分であることが示されている。また、昆虫細胞では、Ｒｅｐ７８及びＲｅｐ５２タンパク質はＡＡＶベクター生産に十分である。
【０３７５】
ＡＡＶは、ヘルパー依存性ウイルスであり、すなわち、機能的に完全なＡＡＶビリオン

を形成するために、ヘルパーウイルス（例えば、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、又はワクシニアウイルス）との同時感染を必要とする。ヘルパーウイルスとの同時感染がない場合、ＡＡＶは、ウイルスゲノムが宿主細胞染色体に挿入されるか、又はエピソーム形態で存在するが、感染性ビリオンは産生されない潜伏状態を確立する。ヘルパーウイルスによるその後の感染は、統合されたゲノムを「救済する」ものであり、ウイルスカプシドに複製及びパッケージングされることを可能にし、それによって感染性ビリオンを再構成する。ＡＡＶは、異なる種由来の細胞に感染し得るが、ヘルパーウイルスは、宿主細胞と同じ種でなければならない。したがって、例えば、ヒトＡＡＶは、イヌアデノウイルスに同時感染したイヌ細胞において複製される。

【０３７６】

異種核酸配列を含む感染性組換えＡＡＶ（ｒＡＡＶ）を産生するために、好適な宿主細胞株は、異種核酸配列を含むがＡＡＶヘルパー機能遺伝子であるｒｅｐ及びｃａｐを欠いているＡＡＶベクターでトランスフェクトされ得る。次いで、ＡＡＶヘルパー機能遺伝子は、別個のベクター上に提供され得る。また、複製コンピテントヘルパーウイルス（アデノウイルス、ヘルペスウイルス、又はワクシニアなど）を提供するのではなく、ＡＡＶ産生に必要なヘルパーウイルス遺伝子（すなわち、アクセサリー機能遺伝子）のみがベクター上に提供され得る。

【０３７７】

集合的に、ＡＡＶヘルパー機能遺伝子（すなわち、ｒｅｐ及びｃａｐ）及びアクセサリー機能遺伝子は、１つ以上のベクター上に提供され得る。ヘルパー及びアクセサリー機能遺伝子産物は、次いで、宿主細胞中で発現され、そこで異種核酸配列を含むｒＡＡＶベクター上でトランスに作用する。次いで、異種核酸配列を含むｒＡＡＶベクターは、野生型（ｗｔ）ＡＡＶゲノムであるかのように複製及びパッケージングされ、組換えビリオンを形成する。患者の細胞が、得られたｒＡＡＶビリオンに感染すると、異種核酸配列が患者の細胞に侵入し、発現される。

【０３７８】

患者の細胞は、ｒｅｐ及びｃａｐ遺伝子、並びにアクセサリー機能遺伝子を欠いているため、ｒＡＡＶは、それらのゲノムを更に複製及びパッケージングすることができない。更に、５つのｒｅｐ及びｃａｐ遺伝子源がなければ、ｗｔＡＡＶは、患者の細胞内に形成されることができない。

【０３７９】

ＡＡＶベクターは、典型的にはｒｅｐ及びｃａｐフレームを欠いている。そのようなＡＡＶベクターは、ｒｅｐ及びｃａｐ遺伝子産物（すなわち、ＡＡＶ　Ｒｅｐ及びＣａｐタンパク質）をコード及び発現するベクターでトランスフェクトされている宿主細胞中に存在する場合、複製及び感染性ウイルス粒子中にパッケージングされてもよく、宿主細胞は、アデノウイルスオープンリーディングフレームＥ４ｏｒｆ６からタンパク質をコード及び発現するベクターでトランスフェクトされている。

【０３８０】

哺乳動物の細胞への目的のタンパク質の送達は、まず、目的のタンパク質をコードするＤＮＡを含むＡＡＶベクターを生成し、次いで、ベクターを哺乳動物に投与することによって達成される。したがって、本開示は、目的のポリペプチドをコードするＤＮＡを含むＡＡＶベクターを含むと解釈されるべきである。本開示を持ち合わせると、この／これらのポリペプチドをコードするＤＮＡを含むＡＡＶベクターの生成は、当業者に明らかとなるであろう。

【０３８１】

一実施形態では、本開示は、哺乳動物ＥＮＰＰ１又は哺乳動物ＥＮＰＰ３をコードする配列を含むアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）発現ベクターに関し、哺乳動物に投与すると、ベクターは、細胞内のＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３前駆体を発現し、前駆体は、そのカルボキシ末端でＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３のアミノ末端に融合されたアズロシジンシグナルペプチドを含む。ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３前駆体は、ＩｇＧ　Ｆｃ領域又はヒトアルブミ

ンなどの安定化ドメインを含み得る。細胞から前駆体が分泌されると、シグナルペプチドは、切断され、酵素的に活性な可溶性哺乳動物ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３は、細胞外に提供される。

【０３８２】

ＡＡＶ発現ベクターは、アズロシジンシグナルペプチド配列及びエクトヌクレオチドピロホスファターゼ／ホスホジエステラーゼ（ＥＮＰＰ１）ポリペプチド配列を含むポリペプチドをコードする組換え核酸配列に作動可能に連結された転写調節領域を含むヌクレオチド配列に作動可能に連結された転写調節領域を含む、発現カセットを含み得る。

【０３８３】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、プロモーター及びエンハンサー、コザック配列ＧＣＣＡＣＣＡＴＧＧ、哺乳動物ＮＰＰ１タンパク質をコードするヌクレオチド配列又は哺乳動物ＮＰＰ３タンパク質をコードするヌクレオチド配列、他の好適な調節エレメント、並びにポリアデニル化シグナルを含む。

【０３８４】

いくつかの実施形態では、本開示によるＡＡＶベクターのＡＡＶ組換えゲノムは、ｒｅｐオープンリーディングフレーム及び／又はｃａｐオープンリーディングフレームを欠く。

【０３８５】

本開示によるＡＡＶベクターは、任意の血清型に由来するカプシドを含む。一般に、ＡＡＶ血清型は、アミノ酸及び核酸レベルで顕著な相同性のゲノム配列を有し、同一の遺伝的機能のセットを提供し、実質的に同一の機序を介して複製及びアセンブリする。特に、本開示のＡＡＶは、ＡＡＶ（ＡＡＶ１）、ＡＡＶ２、ＡＡＶ３（タイプ３Ａ及び３Ｂを含む）、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶ１１、トリＡＡＶ、ウシＡＡＶ、イヌＡＡＶ、ウマＡＡＶ、又はヒツジＡＡＶの血清型１に属し得る。

【０３８６】

異なるＡＡＶ血清型のゲノムの配列の例は、文献又はＧｅｎＢａｎｋなどの公開データベースで見出され得る。例えば、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＮＣ＿００１４０１．２（ＡＡＶ２）、ＮＣ＿００１８２９．１（ＡＡＶ４）、ＮＣ＿００６１５２．１（ＡＡＶ５）、ＡＦ０２８７０４．１（ＡＡＶ６）、ＮＣ＿００６２６０．１（ＡＡＶ７）、ＮＣ＿００６２６１．１（ＡＡＶ８）、ＡＸ７５３２５０．１（ＡＡＶ９）、及びＡＸ７５３３６２．１（ＡＡＶ１０）。

【０３８７】

いくつかの実施形態では、本開示によるアデノ関連ウイルスベクターは、ＡＡＶ２、ＡＡＶ５、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、及びＡＡＶｒｈ１０血清型からなる群から選択される血清型に由来するカプシドを含む。別の実施形態では、ＡＡＶの血清型は、ＡＡＶ８である。ウイルスベクターがカプシドタンパク質をコードする配列を含む場合、これらは、ＡＡＶを１つ若しくは複数の特定の細胞型に配向するために、又は標的ベクターの細胞への送達の効率を増加させるために、又はＡＡＶの精製若しくは検出を促進するために、又は宿主応答を低減するために、外因性配列を含むように修飾され得る。

【０３８８】

ある特定の実施形態では、本開示のｒＡＡＶベクターは、いくつかの必須ＤＮＡエレメントを含む。ある特定の実施形態では、これらのＤＮＡエレメントは、ＡＡＶ　ＩＴＲ配列の少なくとも２つのコピー、プロモーター／エンハンサーエレメント、転写終結シグナル、目的のタンパク質をコードするＤＮＡに隣接する任意の必要な５’若しくは３’非翻訳領域、又はその生物学的に活性な断片を含む。本開示のｒＡＡＶベクターはまた、目的のタンパク質のイントロンの一部を含み得る。また、任意選択的に、本開示のｒＡＡＶベクターは、目的の変異ポリペプチドをコードするＤＮＡを含む。

【０３８９】

ある特定の実施形態では、ベクターは、多くの異なる細胞型において異種遺伝子の発現

を高レベルに駆動することができる無差別的なプロモーターを含む、プロモーター／調節配列を含む。そのようなプロモーターには、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）即時早期プロモーター／エンハンサー配列、ラウス肉腫ウイルスプロモーター／エンハンサー配列などが含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、本開示のｒＡＡＶベクター中のプロモーター／調節配列は、ＣＭＶ即時早期プロモーター／エンハンサーである。しかしながら、異種遺伝子の発現を駆動するために使用されるプロモーター配列は、例えば、これらに限定されないが、ステロイド誘導性プロモーターを含む誘導性プロモーターであり得るか、又はこれらに限定されないが、筋組織特異的である骨格ａ－アクチンプロモーター及び筋クレアチンキナーゼプロモーター／エンハンサーなどの組織特異的プロモーターであり得る。

【０３９０】

ある特定の実施形態では、本開示のｒＡＡＶベクターは、転写終結シグナルを含む。任意の転写終結シグナルが、本開示のベクターに含まれ得る一方で、ある特定の実施形態では、転写終結シグナルは、ＳＶ４０転写終結シグナルである。

【０３９１】

ある特定の実施形態では、本開示のｒＡＡＶベクターは、目的のポリペプチドをコードする単離されたＤＮＡ５、又は目的のポリペプチドの生物学的に活性な断片を含む。本開示は、既知又は未知のいずれかの目的のポリペプチドの任意の哺乳動物配列を含むと解釈されるべきである。したがって、本開示は、ポリペプチドがヒトポリペプチドと実質的に同様の様式で機能する、ヒト以外の哺乳動物由来の遺伝子を含むと解釈されるべきである。好ましくは、目的のポリペプチドをコードする遺伝子を含むヌクレオチド配列は、目的のポリペプチドをコードする遺伝子に対して、約５０％相同、より好ましくは約７０％相同、更により好ましくは約８０％相同、及び最も好ましくは約９０％相同である。

【０３９２】

更に、本開示は、野生型タンパク質配列の天然発生型バリアント又は組換え由来変異体を含むと解釈されるべきであり、そのバリアント又は変異体は、それによりコードされるポリペプチドを、本開示の遺伝子療法方法において完全長ポリペプチドとして治療的に有効であるか、又は完全長ポリペプチドよりも更に治療的に有効であるようにさせる。

【０３９３】

本開示はまた、ポリペプチドの生物活性を保持するバリアントをコードするＤＮＡを含むと解釈されるべきである。そのようなバリアントには、組換えＤＮＡ技術を使用して修飾された、又は修飾され得るタンパク質又はポリペプチドが含まれ、その結果、タンパク質又はポリペプチドは、本明細書に記載される方法における使用のためのその適合性を強化する追加の特性、例えば、これらに限定されないが、血漿中のタンパク質に対する安定性の強化及びタンパク質の比活性の強化をもたらすバリアントを有する。類似体は、保存的アミノ酸配列の違いによって、又は配列に影響を与えない修飾によって、又はその両方によって、天然発生型タンパク質又はペプチドとは異なり得る。例えば、保存的アミノ酸変化がなされてもよく、それらはタンパク質又はペプチドの一次配列を改変するが、通常、その機能を改変しない。

【０３９４】

本開示は、実験的実施例に例示される特定のｒＡＡＶベクターに限定されず、むしろ、本開示は、ＡＡＶ－１、ＡＡＶ－３、ＡＡＶ－４、及びＡＡＶ－６などに基づくベクターを含むがこれに限定されない、任意の好適なＡＡＶベクターを含むと解釈されるべきである。また、本開示には、治療効果を提供するために有効な量で、疾患又は障害を有する哺乳動物を治療する方法も含まれる。

【０３９５】

方法は、目的のポリペプチドをコードするｒＡＡＶベクターを哺乳動物に投与することを含む。好ましくは、哺乳動物は、ヒトである。典型的には、単回注射で投与されるウイルスベクターゲノム／哺乳動物の数は、約１×１０８～約５×１０１６の範囲である。好ましくは、単回注射で投与されるウイルスベクターゲノム／哺乳動物の数は、約ｌ×１０

１０～約ｌ×１０１５であり、より好ましくは、単回注射で投与されるウイルスベクターゲノム／哺乳動物の数は、約５×１０１０～約５×１０１５であり、最も好ましくは、単回注射で哺乳動物に投与されるウイルスベクターゲノムの数は、約５×１０１０～約５×１０１４である。

【０３９６】

本開示の方法が、複数部位の同時注射、又は数時間（例えば、約１時間未満～約２時間又は約３時間）の期間にわたる異なる部位への注射を含む数回の複数部位の注射を含む場合、投与されるウイルスベクターゲノムの総数は、同一であってもよく、又はその分数若しくはその倍数、１５～単一部位注射法に列挙されるものであってもよい。

【０３９７】

単一部位注射における本開示のｒＡＡＶベクターの投与について、ある特定の実施形態では、ウイルスを含む組成物は、対象の器官（これらに限定されないが、対象の肝臓など）に直接注射される。

【０３９８】

哺乳動物への投与について、ｒＡＡＶベクターは、薬学的に許容される担体、例えば、ＨＥＰＥＳ緩衝生理食塩水に約７．８のｐＨで懸濁されてもよい。他の有用な薬学的に許容される担体には、これらに限定されないが、グリセロール、水、生理食塩水、エタノール、並びに有機酸のリン酸塩及び塩などの他の薬学的に許容される塩溶液が含まれる。これら及び他の薬学的に許容される担体の例は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１９９１，Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｃｏ．，Ｎｅｗ　Ｊｅｒｓｅｙ）に記載されている。本開示のｒＡＡＶベクターはまた、キットの形態で提供されてもよく、キットは、例えば、乾燥塩製剤中のベクターの凍結乾燥調製物と、ベクター／塩組成物の懸濁液用の滅菌水と、ベクターの懸濁液及び哺乳動物へのその投与の説明書とを含む。

【０３９９】

その内容が参照によりそれらの全体で本明細書に組み込まれる、公開された出願、ＵＳ２０１７／０２９０９２６－Ｓｍｉｔｈ　ｅｔ　ａｌ．は、ＡＡＶベクターが生成、送達、及び投与されるプロセスを詳細に説明している。

【０４００】

ＥＮＰＰ１及びＥＮＰＰ３ポリペプチドのＲＮＡベースのインビボ発現

本開示は、本明細書に記載される組換え二本鎖ＲＮＡ分子（ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドをコードするｄｓＲＮＡの産生及び送達のための組成物及び方法を提供する。二本鎖ＲＮＡ粒子（ｄｓＲＰ）は、カプシド又はコートタンパク質に封入されたｄｓＲＮＡ分子を含み得る。ｄｓＲＮＡ分子は、ウイルスゲノム、又は野生型ウイルスゲノムに由来し得るゲノムの一部であり得る。ＲＮＡ分子は、ＲＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼ（ＲＤＲＰ）及びカプシド又はコートタンパク質の少なくとも一部を形成するポリタンパク質をコードし得る。ＲＮＡ分子はまた、宿主細胞の細胞構成成分によって翻訳されるＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドをコードするＲＮＡサブ配列を含み得る。ｄｓＲＰが宿主細胞にトランスフェクトされると、サブ配列は、宿主細胞の細胞機構によって翻訳されて、ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドを産生することができる。

【０４０１】

別の態様では、本開示は、宿主細胞中でタンパク質産物を産生する方法を提供する。方法は、組換え二本鎖ＲＮＡ分子（ｄｓＲＮＡ）及びカプシド又はコートタンパク質を有するｄｓＲＰで宿主細胞をトランスフェクトすることを含む。ＲＮＡ分子は、カプシド又はコートタンパク質の少なくとも一部を形成するＲＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼ及びポリタンパク質をコードすることができ、ｄｓＲＰは、宿主細胞内で複製することができる。ＲＮＡ分子は、宿主細胞の細胞構成成分によって翻訳されるＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドをコードする少なくとも１つのＲＮＡサブ配列を有する。

【０４０２】

別の態様では、本開示は、宿主細胞によって翻訳可能なＲＮＡ分子を提供する。ＲＮＡ

分子は、本明細書に記載されるＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドをコードする任意のＲＮＡ分子であり得る。一実施形態では、ＲＮＡ分子は、ｄｓＲＰのカプシド又はコートタンパク質の少なくとも一部を形成するＲＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼ及びポリタンパク質をコードし、任意選択的に、追加のタンパク質産物をコードするＲＮＡの少なくとも１つのサブ配列を有することができる。

【０４０３】

ｄｓＲＰの産生

本開示のｄｓＲＰはまた、本開示のｄｓＲＰをコードするか、又はｄｓＲＰの遺伝子をコードするプラスミド又は他のＤＮＡ分子を宿主細胞に提示することによっても産生され得る。次いで、ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドなどの所望のタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含むプラスミド又はＤＮＡ分子は、宿主細胞にトランスフェクトされ、宿主細胞は、本開示のｄｓＲＰの産生を開始する。ｄｓＲＰはまた、ｄｓＲＰの遺伝子をコードするＲＮＡ分子を宿主細胞に提示することによって、宿主細胞中で産生され得る。ＲＮＡ分子は、（＋）鎖ＲＮＡであり得る。

【０４０４】

本開示のｄｓＲＰが宿主細胞（又は本開示のｄｓＲＰの遺伝子をコードするプラスミド、又はｄｓＲＰの遺伝子をコードするＲＮＡ分子）に提示されると、ｄｓＲＰは、宿主細胞の細胞構成成分を使用して宿主細胞内で産生される。したがって、本開示のｄｓＲＰは、宿主細胞内で自立しており、宿主細胞内で増殖する。宿主細胞は、例えば、真核細胞、哺乳動物細胞、真菌細胞、細菌細胞、昆虫細胞、又は酵母細胞などの任意の好適な宿主細胞であり得る。宿主細胞は、本開示の組換えｄｓＲＮＡ分子、又は本開示のｄｓＲＰをコードするＤＮＡ分子が宿主細胞に提示され、宿主細胞によって取り込まれた後、組換えｄｓＲＰを増殖させることができる。

【０４０５】

ｄｓＲＮＡウイルス又はｄｓＲＰを産生する方法

本開示はまた、本開示のｄｓＲＰを産生する方法を提供する。二本鎖又は一本鎖ＲＮＡ分子又はＤＮＡ分子は、宿主細胞に提示され得る。宿主細胞中のｄｓＲＮＡ分子の増幅は、多くの種類の宿主細胞（例えば、酵母）に既に存在する天然の産生及びアセンブリプロセスを利用する。したがって、本開示は、宿主細胞に、本開示の一本鎖又は二本鎖ＲＮＡ又はＤＮＡ分子を提示することによって適用することができ、これは宿主細胞によって取り込まれ、宿主細胞の細胞構成成分を使用して、ＲＮＡサブ配列によってコードされる組換えｄｓＲＰ及びタンパク質又はペプチドを産生するために利用される。本開示はまた、ＲＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼをコードする１つ以上の配列、ｄｓＲＰのカプシド又はコートタンパク質の少なくとも一部を形成するポリタンパク質、及び本明細書に開示されるようなＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドなどの目的のタンパク質をコードするサブ配列を含む、直鎖又は円形のＤＮＡ分子（例えば、プラスミド又はベクター）を宿主細胞に提供することによって適用することができる。

【０４０６】

本開示のｄｓＲＮＡ又はｓｓＲＮＡ分子の提示は、例えば、本開示のＲＮＡ分子を、宿主細胞に、例えば、「ネイキッド」又は非修飾一本鎖若しくは二本鎖ＲＮＡとして直接提示することによって、任意の好適な方法で行われ得る。ＲＮＡ分子は、例えば、エレクトロポレーション、リン酸カルシウムへの宿主細胞の曝露、又は細胞膜と融合し、内部にウイルス配列を堆積させるリポソームの産生など、任意の好適な方法によって、酵母、細菌、又は哺乳動物宿主細胞にトランスフェクト（又は形質転換）され得る。それは、キラーウイルス又は異種ｄｓＲＮＡからの宿主細胞へのｄｓＲＮＡの直接導入の特定の機序によっても行われ得る。このステップは、赤色蛍光タンパク質（ＲＦＰ）などのレポーター系を使用して、又は宿主細胞ゲノム内の特定の構成的遺伝子転写物を標的化することによって最適化され得る。これは、明白な表現型を有する標的を使用することによって、又は定量的逆転写酵素ＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ）によってモニタリングすることによって行われ得る。

【０４０７】
いくつかの実施形態では、本開示のＲＮＡ分子をコードするＤＮＡ分子（例えば、プラスミド又は他のベクター）は、宿主細胞に導入される。ＤＮＡ分子は、本開示のｄｓＲＰのＲＮＡ分子をコードする配列を含み得る。ＤＮＡ分子は、ｄｓＲＰのゲノム全体、又はその一部をコードすることができる。ＤＮＡ分子は、追加の（異種）タンパク質産物を産生するＲＮＡの少なくとも１つのサブ配列を更にコードすることができる。ＤＮＡ配列はまた、ｇａｇタンパク質又はｇａｇ－ｐｏｌタンパク質、並びに任意の必要な若しくは望ましいプロモーター、又は分子の発現及び目的を支持する他の配列をコードすることができる。ＤＮＡ分子は、直鎖ＤＮＡ、円形ＤＮＡ、プラスミド、酵母人工染色体であり得るか、又は特定の用途に好都合な別の形態を取ってもよい。

【０４０８】
一実施形態では、ＤＮＡ分子は、コンカタマー及びヘアピン構造を産生するためのＴ７末端を更に含むことができ、したがって宿主細胞中のウイルス又はｄｓＲＰ配列の増殖を可能にする。ＤＮＡ分子は、宿主細胞にトランスフェクト又は形質転換され、次いで、宿主細胞機構を使用して転写され、したがって少なくとも１つのＲＮＡのサブ配列を有するｄｓＲＮＡ分子を宿主細胞に提供することができる。次いで、宿主細胞は、コードされた所望のＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドを産生することができる。ｄｓＲＮＡは、宿主細胞の代謝プロセス及び機構を使用して、野生型ウイルスと同じ様式でパッケージングされ得る。ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドはまた、宿主細胞の代謝プロセス及び細胞構成成分を使用して産生される。

【０４０９】
その内容が参照によりその全体で本明細書に組み込まれる、Ｂｒｏｗｎ　ｅｔ　ａｌ．による特許ＵＳ１０２６６８３４は、ポリペプチドをコードするｄｓＲＮＡ粒子が生成、送達、及び投与されるプロセスを詳細に説明している。

【０４１０】
ＥＮＰＰ１でコーティングされたステント及びＥＮＰＰ３でコーティングされたステント
ステントは、典型的には、内腔を含む体の部分が適切に機能し得るように、体の様々な部分に見出される開いた内腔（例えば、体の開口部）を維持するために使用される細長い構造である。ステントは、動脈が部分的に、及び時には完全に、脂質、コレステロール、カルシウム、並びに平滑筋細胞及び血小板などの様々な種類の細胞を含み得る物質で閉塞される血管系の疾患であるアテローム性動脈硬化症の治療にしばしば使用される。

【０４１１】
体内の任意の内腔内に配置されるステントは、必ずしも部分的又は完全な再狭窄を予防するとは限らない場合がある。特に、ステントは、経皮的血管形成術（ＰＴＡ）後の動脈の再狭小化を必ずしも予防するわけではない。いくつかの場合では、動脈又は静脈におけるステント自体の導入及び存在は、例えば、ステント留置後の更なる手術を必要とする内皮と呼ばれる、動脈の内部の亀裂などの外傷又は組織損傷の領域を作り出し得る。

【０４１２】
そのような外傷又は組織損傷は、内皮によって通常動脈内腔から分離される血管平滑筋細胞の動脈内腔への移動を誘発し、そこでそれらは増殖して、数日又は数週間で動脈を閉塞し得る細胞の塊を作り出すと考えられる。ＰＴＡ後に見られることがある、そのような再閉塞は、再狭窄の一例である。ＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤などの治療剤でステントをコーティングすることは、血管平滑筋細胞増殖を予防及び／又は低減し、それに応じて再狭窄の発生を低減するか、又は再狭窄を治療することが予期される。

【０４１３】
いくつかの実施形態では、患者は、以前の埋め込まれた非溶出性ステントの存在に起因して、手術を必要とし、かつ／又は組織損傷を有する。

【０４１４】
いくつかの実施形態では、患者は、ＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤以外の治療剤を

溶出する、以前に埋め込まれた溶出性ステントの存在に起因して、手術を必要とし、かつ／又は組織損傷を有する。

【０４１５】

いくつかの実施形態では、組織損傷を引き起こした以前のステントは除去され、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされたステントで置き換えられる。

【０４１６】

いくつかの実施形態では、組織損傷を引き起こした以前のステントは除去され、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされたステントで置き換えられる。

【０４１７】

いくつかの実施形態では、組織損傷を引き起こした以前のステントは除去されず、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされたステントは、以前のステントに隣接して埋め込まれる。

【０４１８】

いくつかの実施形態では、組織損傷を引き起こした以前のステントは除去されず、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされたステントは、以前のステントに隣接して埋め込まれる。

【０４１９】

ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３でコーティングされたステントは、典型的には、支柱又は相互接続されたフィラメントから作製された中空の円筒形構造である。通常、ステントは、カテーテルに圧縮状態でそれらを取り付けて、ステントの使用部位に体を通して誘導することによって、体内でのそれらの使用部位に埋め込まれる。血管ステントは、血管を開通し、血流の改善を提供するために、血管において頻繁に使用される。ステントは、所望の部位に位置付けられると、内腔の壁を支持することによって、内腔を開いたままにすることができるサイズに拡張され得る。血管ステントは、収縮されてその直径を縮小させることができ、その結果、ステントを患者の動脈又は静脈を通して誘導して、展開部位に到達することができる。ステントは、典型的には、拡張バルーンによって拡張するためにバルーンの外側に連結されるか、又はステントを収縮状態で維持するワイヤー若しくはスリーブなどの拘束具の除去時に自己拡張するかのいずれかである。

【０４２０】

血管ステントは、閉塞した動脈壁を支持するために必要な強度を提供するために、しばしば金属で作製される。好ましい金属のうちの２つは、ニッケル及びチタンのニチノール合金、並びにステンレス鋼である。ステントの製造に使用され得る他の材料は、セラミック、ポリマー、及びプラスチックである。ポリマーは、官能基を有していないポリマーであり得る。代替的に、ポリマーは、官能基を有するものであり得るが、ＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤と反応性のものは存在しない。ポリマーは、生分解性ポリマーを含んでもよい。例えば、ポリマーは、ポリヒドロキシ酸、ポリ無水物、ポリホスファゼン、ポリアルキレンオキサレート、生分解性ポリアミド、ポリオルトエステル、ポリホスホエステル、ポリオルトカーボネート、及びそれらのブレンド又はコポリマーからなる群から選択されるポリマーを含み得る。ポリマーはまた、単独で、又は生分解性ポリマーと組み合わせて、生体安定性ポリマーを含み得る。例えば、ポリマーは、ポリウレタン、シリコーン、ポリアクリレート、ポリエステル、ポリアルキレンオキシド、ポリアルコール、ポリオレフィン、ポリ塩化ビニル、セルロース及びその誘導体、フッ素化ポリマー、生体安定性ポリアミド、並びにそのブレンド又はコポリマーからなる群から選択されるポリマーを含み得る。

【０４２１】

薬剤分布パターンに対する異なるステント設計の効果は、実験的研究で精査されており、また臨床試験でも試験されている（Ｈｗａｎｇ ＣＷ，Ｗｕ Ｄ，Ｅｄｅｌｍａｎ ＥＲ．２００１．Ｐｈｙｓｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｔｒａｎｓｐｏｒｔ ｆｏｒｃｅｓ ｇｏｖｅｒｎ ｄｒｕｇ ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ ｆｏｒ ｓｔｅｎｔ－ｂａｓｅｄ ｄｅｌｉｖｅｒｙ．Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｏｎ，１０４：６００－５、及びＴａｋｅｂａｙａｓｈｉ Ｈ，Ｍｉｎｔｚ ＧＳ，Ｃａｒｌｉｅｒ ＳＧ，ｅｔ ａｌ．２００４．Ｎｏｎｕｎｉｆｏｒｍ ｓｔｒｕｔ ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ ｃｏｒｒｅｌａｔｅｓ ｗｉ

th more neointimal hyperplasia after Sirolimus-eluting stent implantation. Circulation, 110：3430-4）。これまで多数のステント設計が開発されてきたが、多細胞設計のみが現在最も一般的に使用されており、それらは「クローズドセル」及び「オープンセル」構造に分類され得る（Rogers CDK. 2002. Drug-eluting stents：role of stent design, delivery vehicle, and drug selection. Rev Cardiovasc Med, 3（Suppl 5）：S10-15.）。クローズドセルステントは、湾曲した血管セグメント内に展開された場合、均一なセル拡張及び一定のセル間隔を有し、それはより均一な薬物分布をもたらす（Rogers 2002）。オープンセルステントは、湾曲したセグメントにおける内湾曲と外湾曲との間の表面カバレッジのより大きな変化を有するが、より均一でない薬物分布という対価を払って、湾曲した表面により良好な適合をもたらす（Rogers 2002）。現在のステントの大多数は、クローズドセル設計を使用している。薬剤送達のための最適なステント設計は、適合性、放射状の支持、及び複雑な冠動脈病変に到達するための柔軟性を維持しながら、大きなステント表面積、小さなセルギャップ、及び展開後の最小限の支柱の変形を有する。異なる幾何学的ステント構造のいくつかの例は、Paisal et al.（Muhammad Sufyan Amir Paisal et al 2017 IOP Conf. Ser.：Mater. Sci. Eng. 165 012003）に記載されている。

【0422】

ENPP1でコーティングされたステント又はENPP3でコーティングされたステントは、それぞれ有効量のENPP1薬剤又はENPP3薬剤を含むコーティング組成物を適用することによって調製される。コーティング組成物は、好ましくは、プラークの再増殖を阻害するか、又は再狭窄を阻害するか、又は血管平滑細胞増殖を予防するために治療的に有効であるのに十分な量のENPP1薬剤又はENPP3薬剤を含む。

【0423】

一実施形態では、コーティング組成物は、コーティング組成物の総重量に基づいて、約1重量%～約50重量%のENPP1ポリペプチドを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約5重量%～約30重量%のENPP1ポリペプチドを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約10重量%～約20重量%のENPP1ポリペプチドを含む。

【0424】

一実施形態では、コーティング組成物は、コーティング組成物の総重量に基づいて、約1重量%～約50重量%のENPP3ポリペプチドを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約5重量%～約30重量%のENPP3ポリペプチドを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約10重量%～約20重量%のENPP3ポリペプチドを含む。

【0425】

一実施形態では、コーティング組成物は、約1μg／ml～約10mg／mlのENPP1ポリペプチドを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約100μg／ml～5mg／mlのENPP1ポリペプチドを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約500μg／ml～約2mg／mlのENPP1ポリペプチドを含む。

【0426】

関連する実施形態では、コーティング組成物のENPP1ポリペプチドは、ENPP1-Fcである。

【0427】

関連する実施形態では、コーティング組成物のENPP1ポリペプチドは、ENPP1-アルブミンである。

【0428】

一実施形態では、コーティング組成物は、約1μg／ml～約10mg／mlのENP

ＰＰ３ポリペプチドを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約１００μｇ／ｍｌ～５ｍｇ／ｍｌのＥＮＰＰ３ポリペプチドを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約５００μｇ／ｍｌ～約２ｍｇ／ｍｌのＥＮＰＰ３ポリペプチドを含む。

【０４２９】

関連する実施形態では、コーティング組成物のＥＮＰＰ３ポリペプチドは、ＥＮＰＰ３－Ｆｃである。

【０４３０】

関連する実施形態では、コーティング組成物のＥＮＰＰ３ポリペプチドは、ＥＮＰＰ３－アルブミンである。

【０４３１】

一実施形態では、コーティング組成物は、約１ｎｇ／μｌ～約１０００μｇ／μｌのＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約１００ｎｇ／μｌ～１０μｇ／μｌのＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約５０ｎｇ／μｌ～約５μｇ／μｌのＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡを含む。

【０４３２】

一実施形態では、コーティング組成物は、約１ｎｇ／μｌ～約１０００μｇ／μｌのＥＮＰＰ１－Ｆｃ　ｍＲＮＡを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約１００ｎｇ／μｌ～１０μｇ／μｌのＥＮＰＰ１－Ｆｃ　ｍＲＮＡを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約５０ｎｇ／μｌ～約５μｇ／μｌのＥＮＰＰ１－Ｆｃ　ｍＲＮＡを含む。

【０４３３】

一実施形態では、コーティング組成物は、約１ｎｇ／μｌ～約１０００μｇ／μｌのＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約１００ｎｇ／μｌ～１０μｇ／μｌのＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約５０ｎｇ／μｌ～約５μｇ／μｌのＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡを含む。

【０４３４】

一実施形態では、コーティング組成物は、約１ｎｇ／μｌ～約１０００μｇ／μｌのＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約１００ｎｇ／μｌ～５μｇ／μｌのＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約５００ｎｇ／μｌ～約２μｇ／μｌのＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡを含む。

【０４３５】

一実施形態では、コーティング組成物は、約１ｎｇ／μｌ～約１０００μｇ／μｌのＥＮＰＰ３－Ｆｃ　ｍＲＮＡを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約１００ｎｇ／μｌ～５μｇ／μｌのＥＮＰＰ３－Ｆｃ　ｍＲＮＡを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約５００ｎｇ／μｌ～約２μｇ／μｌのＥＮＰＰ３－Ｆｃ　ｍＲＮＡを含む。

【０４３６】

一実施形態では、コーティング組成物は、約１ｎｇ／μｌ～約１０００μｇ／μｌのＥＮＰＰ３－アルブミンｍＲＮＡを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約１００ｎｇ／μｌ～５μｇ／μｌのＥＮＰＰ３－アルブミンｍＲＮＡを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約５００ｎｇ／μｌ～約２μｇ／μｌのＥＮＰＰ３－アルブミンｍＲＮＡを含む。

【０４３７】

ステントは、生分解性又は生体安定性ポリマーなどの物質でコーティングされて、ステントの生体適合性を改善し、患者におけるアレルギー性又は他の免疫応答を引き起こす可能性を低くすることができる。コーティング物質はまた、ステントの強度に付加し得る。いくつかの既知のコーティング物質には、有機酸、それらの誘導体、及び生分解性又は生体安定性のいずれかである合成ポリマーが含まれる。生体安定性コーティング物質は、体内で分解せず、生分解性コーティング物質は、体内で分解し得る。

【０４３８】
コーティング組成物は、コーティングプロセスにおいて、ＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤などの治療用分子がステント表面に接着することを確実にし、また、ステント留置部位で治療剤を体内に溶出することを容易にすることを助ける有効量の担体を含む。担体は、液体担体又は固体担体であり得る。コーティング組成物は、代替的に、固体担体中に１つより多くの固体化合物を含み得る。コーティング組成物は、液体担体及び固体担体の両方を更に含み得る。また更なる態様では、コーティング組成物は、担体中に１つより多くの種類の非ポリマー又はポリマー化合物を含んでもよく、固体又は液体担体中にポリマー材料及び非ポリマー材料の両方を更に含んでもよい。
【０４３９】
別の実施形態では、２つ以上の種類の生分解性化合物（ポリマー又は非ポリマー）は、一緒にブレンドされ、コーティング組成物で使用するための液体担体を得ることができる。生分解性化合物は、それらが一緒に混合されて、例えば、均質な溶液、混合物、又は懸濁液を形成する前に、液体であり得る。代替的に、生分解性化合物のうちのいくつかは、それらが他の液体生分解性化合物と混合される前に、固体であり得る。固体生分解性化合物は、好ましくは、それらが液体生分解性化合物と混合されると溶解し、異なる生分解性化合物を含む液体担体組成物をもたらす。
【０４４０】
別の実施形態では、コーティング組成物の生分解性担体構成成分は、生物学的に活性な構成成分及びコーティング組成物に含まれる任意の他の構成成分と混合されると溶解する、固体である。
【０４４１】
担体は、ポリマー担体であり得る。いくつかのポリマー担体は、合成ポリマーである。リザーバーマトリックスとして機能する合成ポリマーの例としては、これらに限定されないが、ポリ－ｎ－ブチルメタクリレート、ポリエチレン－ビニルアセテート、ポリ（ラクチド－コ－Σ－カプロラクトン）コポリマー、フィブリン、セルロース、ホスホリルコリンが挙げられる。いくつかの溶出性ステントは、治療用分子を担持したナノ空洞を含む、３００μｍの多孔質セラミック層を含む。薬物溶出性ステント、ステント構造、及びステント設計の例は、Ｄｒｕｇ－Ｅｌｕｔｉｎｇ Ｓｔｅｎｔ：Ａ Ｒｅｖｉｅｗ ａｎｄ Ｕｐｄａｔｅ，Ｖａｓｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｒｉｓｋ Ｍａｎａｇ．２００５ Ｄｅｃ；１（４）：２６３－２７６及びＭｏｄｅｒｎ Ｓｔｅｎｔｓ：Ｗｈｅｒｅ Ａｒｅ Ｗｅ Ｇｏｉｎｇ？，Ｒａｍｂａｍ Ｍａｉｍｏｎｉｄｅｓ Ｍｅｄ Ｊ．２０２０ Ａｐｒ；１１（２）：ｅ００１７に見出され得る。
【０４４２】
コーティング組成物中の担体は、生分解性又は生体安定性のいずれかであってもよい。生分解性ポリマーは、合成生分解性縫合糸にしばしば使用される。これらのポリマーには、ポリヒドロキシ酸が含まれる。本発明での使用に好適なポリヒドロキシ酸には、ポリ－Ｌ－乳酸、ポリ－ＤＬ－乳酸、ポリグリコール酸、ラクチドのホモポリマー及びコポリマーを含むポリラクチド（Ｄ－、Ｌ－乳酸及びメソ乳酸など、乳酸の全ての立体異性体から作製されたラクチドを含む）、ポリラクトン、ポリカプロラクトン、ポリグリコリド、ポリパラジオキサノン、ポリ１，４－ジオキセパン－２－オン、ポリ１，５－ジオキセパン－２－オン、ポリ６，６－ジメチル－１，４－ジオキサン－２－オン、ポリヒドロキシバレレート、ポリヒドロキシブチレート、ポリトリメチレンカーボネートポリマー、並びに前述のブレンドが含まれる。
【０４４３】
本発明での使用に好適なポリラクトンには、ポリ（ｅ－カプロラクトン）などのポリカプロラクトン、ポリ（ｄ－バレロラクトン）などのポリバレロラクトン、及びポリ（ブチロラクトン）などのポリブチロラクトンが含まれる。使用され得る他の生分解性ポリマーは、ポリ無水物、ポリホスファゼン、生分解性ポリアミド、例えばポリリジン及びポリアスパラギン酸などの合成ポリペプチド、ポリアルキレンオキサレート、ポリオルトエステ

ル、ポリホスホエステル、並びにポリオルトカーボネートである。列挙されたポリマーのうちのいずれかのコポリマー及びブレンドを使用してもよい。括弧の存在又は不在を除いて同一であるポリマーの名前は、同じポリマーを表す。

【０４４４】

本発明での使用に好適な生体安定性ポリマーには、これらに限定されないが、ポリウレタン、シリコーン、例えば、ポリジメチルシロキサン及びポリブチルメタクリレートなどのポリアルキルシロキサン、ポリ（エチレンテレフタレート）などのポリエステル、ポリエチレンオキシド又はポリエチレングリコールなどのポリアルキレンオキシド、ポリビニルアルコール及びポリエチレングリコールなどのポリアルコール、ポリ－５エチレンなどのポリオレフィン、ポリプロピレン、ポリ（エチレン－プロピレン）ゴム及び天然ゴム、ポリ塩化ビニル、セルロース及びレーヨンなどの修飾セルロース誘導体、レーヨン－トリアセテート、セルロースアセテート、セルロースアセテートブチレート、セロファン、ニトロセルロース、セルロースプロピオネート、カルボキシメチルセルロース及びヒドロキシアルキルセルロースなどのセルロースエーテル、ポリテトラフルオロエチレン（テフロン）などのフッ素化ポリマー、並びにナイロン６６及びポリカプロラクタムなどの生体安定性ポリアミドが含まれる。グルタルアルデヒド固定ウシ心膜などの固定動物組織も使用され得る。ポリエステル及びポリアミドは、生分解性又は生体安定性のいずれかであり得る。エステル及びアミド結合は、加水分解の影響を受けやすく、これは生分解に寄与し得る。

【０４４５】

いくつかの場合では、コーティング組成物は、有効量の非ポリマー担体を更に含む。非ポリマー担体は、脂肪酸、生体適合性オイル、又はワックスのうちの１つ以上を含み得る。非ポリマー生分解性担体の例としては、液体オレイン酸、ビタミンＥ、ピーナッツ油、及び綿実油が挙げられるが、これらは疎水性及び生体適合性の両方である液体である。いくつかの場合では、非ポリマー又はポリマー担体は、室温及び体温で液体であり得る。いくつかの場合では、非ポリマー又はポリマー担体は、室温及び体温で固体、又は室温で固体及び体温で液体であり得る。

【０４４６】

別の実施形態では、ポリマー溶液は、フィルムに形成され、フィルムは、次いで、ステントに適用される。フィルムを形成する様々な従来的な方法のいずれかを使用することができる。例えば、ポリマー、ＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤、及び溶媒は、好ましくは、溶液中に混合され、次いで、溶液が乾燥されて溶媒を除去した後にコーティングフィルムが形成されるように、滑らかで平坦な表面に注がれる。次いで、フィルムは、その上で使用されるステントに適合するように切断され得る。次いで、フィルムは、ラッピングなどによって、ステントの外面上に取り付けられてもよい。

【０４４７】

別の実施形態では、コーティングされたステントは、ステントの支柱上に均一な厚さのコーティングをもたらす、ＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤などの治療剤を含む液体担体でステントを噴霧することによって調製される。別の実施形態では、ステントは、溶液がステントの支柱を完全にコーティングするように、担体及び治療剤を含むコーティング溶液中でディップコーテイング又は浸漬され得る。代替的に、ステントは、塗料ブラシなどを用いて、担体及び治療剤を含むコーティング溶液で塗装され得る。これらのコーティング適用の各々では、ステントの外面及び内面の両方の全体がコーティングされることが好ましいが、いくつかの実施形態では、いずれか又は両方の表面の一部分のみがコーティングされ得る。

【０４４８】

上で議論されるように、コーティング組成物は、生物活性構成成分及び生分解性担体構成成分を含む。好ましくは、コーティング組成物は、０．１重量％～１００重量％の生物学的に活性な構成成分、及び１重量％～９９重量％の生分解性担体構成成分を含む。より好ましくは、コーティング組成物は、０．１重量％～５０重量％の生物学的に活性な構成

成分、及び５０重量％～９９．９重量％の生分解性担体構成成分を含む。コーティング組成物は、単に生物活性構成成分及び担体構成成分を一緒に混合して、混合物、例えば、溶液又は懸濁液を形成することを含む、様々な方法で調製することができる。代替的に、生物活性構成成分及び担体構成成分は、一緒に好適な溶媒中で混合され、コーティングは、ステントに適用され、溶媒は、除去される。好ましくは、コーティング組成物は、その拡張状態でステントに適用される。

【０４４９】

ステントに加えて、本明細書に開示される本発明の態様に従ってコーティングされ得る他の医療機器の例には、カテーテル、心臓弁、ペースメーカーリード、弁形成リング、及び他の医療移植片が挙げられる。他の特定の実施形態では、コーティングされた血管形成バルーン及び他のコーティングされた医療機器はまた、本明細書に開示されるコーティング組成物のうちの１つを含み得る。しかしながら、ステントが好ましい。コーティング組成物は、例えば、コーティング組成物をステント上に噴霧することによって、コーティング組成物中にステントを浸漬することによって、又はコーティング組成物でステントを塗布することによって、任意の数の方法で、ステント（又は他の医療機器）に適用され得る。好ましくは、ステントは、十分な量のコーティング組成物が適用されて、拡張されたステントの表面全体をコーティングするように、その拡張された（すなわち、拡大された直径）形態でコーティングされる。ステントがコーティング組成物中に浸漬されると、過剰なコーティング組成物を塗料ブラシで払い落とすことによってなど、ステントの表面上の過剰なコーティング組成物が除去され得る。これらのコーティング適用の各々では、好ましくは、ステントの外面及び内面の両方がコーティングされる。

【０４５０】

本明細書に記載されるコーティング組成物は、好ましくは、ステントが身体に導入された後、少なくとも数日間、数週間、より好ましくは数ヵ月間、部分的に、又は実質的な部分において、ステント上に留まり、それによって、ＥＮＰＰ１薬剤又はＥＮＰＰ３薬剤などの治療剤を血流中にゆっくりと放出する。

【０４５１】

薬学的組成物及び製剤

本開示は、本明細書に記載される方法内の本開示のポリペプチドを含む薬学的組成物を提供する。そのような薬学的組成物は、対象への投与に好適な形態であるか、又は薬学的組成物は、１つ以上の薬学的に許容される担体、１つ以上の追加の成分、若しくはこれらのいくつかの組み合わせを更に含み得る。薬学的組成物の様々な構成成分は、当該技術分野で周知であるように、生理学的に許容されるカチオン又はアニオンとの組み合わせなどで、生理学的に許容される塩の形態で存在し得る。

【０４５２】

一実施形態では、本開示の方法を実施するのに有用な薬学的組成物は、１ｎｇ／ｋｇ／日～１００ｍｇ／ｋｇ／日の用量を送達するために投与され得る。他の実施形態では、本開示を実施するのに有用な薬学的組成物は、１ｎｇ／ｋｇ／日～５００ｍｇ／ｋｇ／日の用量を送達するために投与され得る。

【０４５３】

本開示の薬学的組成物中の活性成分、薬学的に許容される担体、及び任意の追加の成分の相対量は、治療される対象の同一性、サイズ、及び状態に応じて、及び更に組成物が投与される経路に応じて異なる。一例として、組成物は、約０．１％～約１００％（ｗ／ｗ）の活性成分を含み得る。

【０４５４】

本開示の方法に有用な薬学的組成物は、吸入、経口、直腸、膣、非経口、局所、経皮、肺、鼻腔内、頬側、眼、髄腔内、静脈内、又は別の投与経路に対して好適に開発され得る。他の企図される製剤には、投影されたナノ粒子、リポソーム調製物、活性成分を含む再封鎖赤血球、及び免疫学的に基づく製剤が含まれる。投与経路は、当業者にとって容易に明らかであり、治療されている疾患の種類及び重症度、獣医又は治療されているヒト患者

の種類及び年齢などを含む、任意の数の要因に依存する。

【０４５５】

本明細書に記載される薬学的組成物の製剤は、薬理学の分野で既知であるか又は今後開発される任意の方法によって調製され得る。概して、そのような調製方法は、活性成分を担体又は１つ以上の他の副成分と組み合わせ、次いで、必要であるか又は望ましい場合、所望の単回又は複数回用量ユニットに生成物を成形又はパッケージングするステップを含む。

【０４５６】

本明細書で使用される場合、「単位用量」は、所定量の活性成分を含む薬学的組成物の個別の量である。活性成分の量は、概して、対象に投与されるであろう活性成分の投与量、又は例えば、そのような投与量の２分の１若しくは３分の１などのそのような投与量の便宜的な分数に等しい。単位剤形は、単回１日用量又は複数回１日用量（例えば、１日当たり約１～４回以上）のうちの１つのためのものであり得る。複数回１日用量が使用される場合、単位剤形は、各用量に対して同一であるか、又は異なり得る。

【０４５７】

投与レジメンは、有効量を構成するものに影響を与え得る。例えば、いくつかの分割された投与量、並びに時差投与量は、毎日若しくは逐次的に投与されてもよく、又は用量は、連続的に注入されてもよく、又はボーラス注射であってもよい。更に、治療製剤の投与量は、治療的又は予防的状況の緊急性によって示されるように、比例的に増加又は減少され得る。ある特定の実施形態では、対象への本開示の化合物の投与は、対象の血漿ＰＰｉを、哺乳動物における正常レベルのＰＰｉが１～３μＭである正常に近いレベルまで上昇させる。「正常に近い」とは、０～１．２μＭ又は正常より０～４０％下回る若しくは上回る、３０ｎＭ～０．９μＭ又は正常より１～３０％　１５下回る若しくは上回る、０～０．６μＭ又は正常より０～２０％下回る若しくは上回る、又は０～０．３μＭ又は正常より０～１０％下回る若しくは上回ることを意味する。

【０４５８】

ヒトなどの哺乳動物などの患者への本開示の組成物の投与は、既知の手順を使用して、患者の疾患又は障害を治療するために有効な用量で、及び期間にわたって実施され得る。治療効果を達成するために必要な有効量の治療用化合物は、採用される特定の化合物の活性、投与の時間、化合物の排泄速度、治療の期間、化合物と組み合わせて使用される他の薬物、化合物、及び材料、治療されている患者の疾患又は障害の状態、年齢、性別、体重、状態、一般健康、及び既往歴、並びに医学分野で周知の同様の要因などの要因に従って変化し得る。投与量レジメンは、最適な治療応答を提供するように調整されてもよい。投与量は、治療用化合物の生物学的活性に基づいて決定され、これは次に、治療用化合物曲線の半減期及び血漿時間下面積に依存する。本開示によるポリペプチドは、正常（１～３μＭ）レベルに近いか、又は正常レベルより上回る（３０～５０％より高い）のＰＰｉのいずれかである、連続的なレベルの血漿ＰＰｉを達成するために、２日毎、又は４日毎、又は毎週、又は毎月の適切な時間間隔で投与される。本開示のポリペプチドの治療投与量はまた、半減期又は治療用ポリペプチドが体外に排出される速度に基づいて決定されてもよい。本開示によるポリペプチドは、ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３ポリペプチドの酵素活性の一定レベルを達成するために、２日毎、又は４日毎、毎週、又は毎月のいずれかの適切な時間間隔で投与される。

【０４５９】

例えば、いくつかの分割された用量は、毎日投与されてもよく、又は用量は、治療状況の緊急性によって示されるように比例的に低減されてもよい。本開示の治療用化合物の有効用量範囲の非限定的な例は、１日当たり約０．０１及び５０ｍｇ／体重ｋｇである。ある特定の実施形態では、本開示の治療用化合物の有効用量範囲は、約５０ｎｇ～５００ｎｇ／体重ｋｇ、好ましくは１００ｎｇ～３００ｎｇ／体重ｋｇである。当業者であれば、関連する要因を研究し、過度の実験をすることなく、治療用化合物の有効量に関する決定を行うことができるであろう。

【０４６０】
化合物は、１日数回の頻度で患者に投与されることができ、又は１日１回、１週間に１回、２週間に１回、１ヵ月に１回、若しくは更にはより少ない頻度など、例えば数ヵ月に１回又は１年に１回以下など、より少ない頻度で投与され得る。非限定的な例では、１日当たりに投与される化合物の量は、毎日、隔日、２日毎、３日毎、４日毎、又は５日毎に投与され得る。例えば、隔日投与では、１日当たり５ｍｇの用量を月曜日に開始し、水曜日に第１の後続の１日当たり５ｍｇの用量、金曜日に第２の後続の１日当たり５ｍｇの用量、などとしてもよい。用量の頻度は、当業者にとって容易に明らかであり、これらに限定されないが、治療されている疾患の種類及び重症度、並びに患者の種類及び年齢などの任意の数の要因に依存する。本開示の薬学的組成物中の活性成分の実際の投与量レベルは、患者に毒性であることなく、特定の患者、組成物、及び投与様式について望ましい治療応答を達成するために有効な活性成分の量を得るために変化させられてもよい。

【０４６１】
当該技術分野における通常の技術を有する医師、例えば、内科医は、必要とされる薬学的組成物の有効量を容易に決定し、処方してもよい。例えば、内科医又は獣医は、所望の治療効果を達成するために必要とされるレベルよりも低いレベルで、薬学的組成物に採用される本開示の化合物の用量を開始し、所望の効果が達成されるまで投与量を徐々に増加させることができる。

【０４６２】
ある特定の実施形態では、本開示の組成物は、１日当たり１回～５回又はそれ以上の範囲の投与量で患者に投与される。他の実施形態では、本開示の組成物は、これらに限定されないが、１日１回、２日毎に１回、３日毎に１回～週に１回、及び２週間毎に１回を含む投与量の範囲で患者に投与される。本開示の様々な併用組成物の投与頻度は、これらに限定されないが、年齢、治療される疾患又は障害、性別、全体的な健康、及び他の要因を含む多くの要因に応じて、対象によって変化する。したがって、本開示は、任意の特定の投与量レジームに限定されると解釈されるべきではなく、任意の患者に投与される正確な投与量及び組成物は、患者に関する他の全ての要因を考慮して、主治医によって決定される。

【０４６３】
ある特定の実施形態では、本開示は、単独で、又は第２の薬学的剤と組み合わせて、本開示の化合物の治療有効量の化合物を保持する容器、並びに患者の疾患又は障害の１つ以上の症状を治療、予防、又は低減するために化合物を使用するための説明書を含む、パッケージングされた薬学的組成物を対象とする。

【０４６４】
投与経路
本開示の組成物のうちのいずれかの投与経路には、吸入、経口、鼻腔、直腸、非経口、舌下、経皮、経粘膜（例えば、舌下、舌、（経）頬側、（経）尿道、膣（例えば、経膣及び膣周囲）、（経）鼻、及び（経）直腸）、膀胱内、肺内、十二指腸内、胃内、髄腔内、皮下、筋肉内、皮内、動脈内、静脈内、気管支内、吸入、及び局所投与が含まれる。

【０４６５】
好適な組成物及び剤形としては、例えば、錠剤、カプセル、カプレット、ピル、ゲルキャップ、トローチ、分散液、懸濁液、溶液、シロップ、顆粒、ビーズ、経皮パッチ、ゲル、粉末、ペレット、泥膏、ロゼンジ、クリーム、ペースト、膏薬、ローション、ディスク、坐剤、鼻又は経口投与のための液体スプレー、吸入のための乾燥粉末又はエアロゾル製剤、及び膀胱内投与のための製剤などが挙げられる。本開示で有用となる製剤及び組成物は、本明細書に記載される特定の製剤及び組成物に限定されない。

【０４６６】
薬学的組成物の「非経口投与」は、対象の組織の物理的侵害によって特徴付けられる投与及び組織における侵害を通した薬学的組成物の投与の任意の投与経路を含む。したがって、非経口投与は、これらに限定されないが、組成物の注射による、外科手術切開を通し

た組成物の適用による、組織膜透過型非外科的創傷を通した組成物の適用などによる、薬学的組成物の投与を含む。特に、非経口投与は、これらに限定されないが、皮下、静脈内、腹腔内、筋肉内、胸骨内注射、及び腎透析注入技術を含むことが企図される。

【実施例】

【０４６７】

本開示は、以下の実施例によって更に例示される。実施例は、例示のみを目的としており、いかなる様式でも本開示を制限するものとして意図されることも、そのように解釈されるべきでもない。

【０４６８】

実施例１：ステント内再狭窄モデルにおけるＥＮＰＰ１－Ｆｃ融合タンパク質の有効性

ＥＮＰＰ１－Ｆｃ融合タンパク質の有効性を、末梢血管損傷の大型動物モデル、特に、国産（ヨークシャー）ブタの末梢血管系におけるステント内再狭窄病変で評価した。ＥＮＰＰ１－Ｆｃ融合タンパク質の治療効果を、ヨークシャーブタの前もって損傷及びステント留置された末梢動脈における血管形成術後の狭窄を阻害する能力に関して評価した。

【０４６９】

４つの末梢動脈部位を、各動物において新生内膜応答の誘導のために作成し、１つの部位を、４つの動脈（両側深及び浅大腿動脈）のそれぞれで選択した。

【０４７０】

全ての標的部位が、ステント内再狭窄モデルを作成するために０日目に、ＥＮＰＰ１－Ｆｃ又はビヒクルのみの対照の最初の用量の１０日前、及び反復損傷の１４日前に損傷された。治療部位及び正しいサイズのバルーン及びステントを選択するために、定量的血管造影（ＱＶＡ）を使用して、４つの末梢動脈部位をマッピングした。損傷は、標的の１３０％過剰伸張において標準的な血管形成術バルーンカテーテルを用いた動脈の過剰伸張によって作成され、３回の膨張が実施された。損傷の直後に、ベアメタルステントを展開した。末梢ステントは、自己拡張可能であり、約１２０％過剰伸張を標的とした。

【０４７１】

ＥＮＰＰ１－Ｆｃ治療は、１０日目に開始して全身的に生じ、終了まで４日毎に皮下投与された。１４日目に、全ての血管を血管造影及び光干渉断層撮影（ＯＣＴ）によって評価した。次いで、前もって損傷及びステント留置された動脈部位は、元の事前ステント損傷が行われたのと同じ圧力／直径における標準的な血管形成術バルーンカテーテルの単一の膨張による、動脈の過剰伸張からなる再損傷事象を受けた（基準参照直径の１３０％）。再損傷介入後、最終的な処置後の血管造影及びＯＣＴが、選択的末梢部位について記録した。

【０４７２】

１４日目の再損傷事象から４週間後、動脈は、血管造影及び血管内撮像（ＯＣＴ）による反復撮像を受けた。治療された末梢区分を外植し、１０％中性緩衝ホルマリン中に保存した。

【０４７３】

図１に示されるように、血管造影は、ビヒクル対照を与えられた動物における１４日目の血管の形態に対して４２日目に深動脈の顕著な狭小化を明らかにした。対照的に、ＥＮＰＰ１－Ｆｃで治療された動物では、深動脈形態の可視的な変化が１４日目～４２日目にほとんど観察されなかった。同様に、ＯＣＴによって測定されると、顕著な内膜肥厚が、ビヒクル対照で治療された動物における１４日目の血管の形態に対して４２日目に深動脈内で観察された。対照的に、ＥＮＰＰ１－Ｆｃで治療された動物の深動脈では、可視的な内膜肥厚が１４日目～４２日目にほとんど観察されなかった（図２）。

【０４７４】

表１及び表２（以下）は、治療群別に全ての深動脈における平均ＯＣＴ値を要約する。

【表３】

表１.

	14日目の再損傷、深動脈				
	内腔面積 (mm^2)	ステント面積(mm^2)	新生内膜厚(mm)	新生内膜面積(mm^2)	狭窄の面積%
ENPP1-Fc	12.10±1.09	14.59±1.24	0.19±0.04	2.49±0.52	17±3
対照	10.82±1.06	13.60±0.82	0.23±0.04	2.78±0.40	21±4

表２.

	42日目の終了、深動脈				
	内腔面積 (mm^2)	ステント面積(mm^2)	新生内膜厚(mm)	新生内膜面積(mm^2)	狭窄の面積%
ENPP1-Fc	12.95±0.70	16.47±0.89	0.27±0.08	3.52±1.07	21±5
対照	9.51±2.24	14.60±1.40	0.45±0.16	5.10±1.34	35±11

【０４７５】

表に記載されるように、ＥＮＰＰ１－Ｆｃで治療された動物の深動脈は、ビヒクル対照群と比較して４２日目により大きい内腔面積を有していた。ステント面積は、両群間で類似していた。新生内膜厚及び新生内膜面積も、ビヒクル対照動物に対してＥＮＰＰ１－Ｆｃで治療された動物では４２日目に低減した。加えて、ＥＮＰＰ１－Ｆｃで治療された動物は、ビヒクル対照群と比較して、顕著により低い狭窄の面積％を有していた（図３を参照）。これらのデータは、ＥＮＰＰ１ポリペプチドが、とりわけ、末梢動脈の損傷及び／又は末梢動脈への損傷に関連する内膜の肥厚を阻害するために有用であることを示す。

【０４７６】

実施例２：ステント内再狭窄モデルにおけるＥＮＰＰ３－Ｆｃ融合タンパク質の有効性

ＥＮＰＰ３－Ｆｃ融合タンパク質の有効性が、末梢血管損傷の大型動物モデル、特に、国産（ヨークシャー）ブタの末梢血管系におけるステント内再狭窄病変で評価される。ＥＮＰＰ３－Ｆｃ融合タンパク質の治療効果が、ヨークシャーブタの前もって損傷及びステント留置された末梢動脈における血管形成術後の狭窄を阻害する能力に関して評価される。

【０４７７】

４つの末梢動脈部位が、実施例１に記載されるように、各動物における新生内膜応答の誘導のために作成される。全ての標的部位が、ステント内再狭窄モデルを作成するために０日目に、ＥＮＰＰ３－Ｆｃ又はビヒクルのみの対照の最初の用量の１０日前、及び反復損傷の１４日前に損傷された。４つの末梢動脈部位は、治療部位及び正しいサイズのバルーン及びステントを選択するために、定量的血管造影（ＱＶＡ）を使用してマッピングされる。損傷は、標的の１３０％過剰伸張において標準的な血管形成術バルーンカテーテルを用いた動脈の過剰伸張によって作成され、３回の膨張が実施される。損傷の直後に、ベアメタルステントが展開される。末梢ステントは、自己拡張可能であり、約１２０％過剰伸張を標的とする。

【０４７８】

ＥＮＰＰ３－Ｆｃ治療は、１０日目に開始して全身的に開始され、終了まで４日毎に皮下投与される。１４日目に、全ての血管が、血管造影及び光干渉断層撮影（ＯＣＴ）によって評価される。次いで、前もって損傷及びステント留置された動脈部位は、元の事前ステント損傷と同じ圧力／直径における標準的な血管形成術バルーンカテーテルの単一の膨張による、動脈の過剰伸張からなる再損傷事象を受ける（基準参照直径の１３０％）。再損傷介入後、最終的な処置後の血管造影及びＯＣＴが、選択的末梢部位について記録され

る。
【０４７９】
１４日目の再損傷事象から４週間後、動脈は、血管造影及び血管内撮像（ＯＣＴ）による反復撮像を受けた。治療された末梢区分は、外植され、１０％中性緩衝ホルマリン中に保存される。
【０４８０】
いずれか１つの理論に拘束されるものではないが、ＥＮＰＰ３－Ｆｃで治療された動物は、ビヒクル対照群と比較して、狭窄のより低い面積％を呈するであろうことが予期される。ＥＮＰＰ３ポリペプチドは、とりわけ、末梢動脈の損傷及び／又は末梢動脈への損傷に関連する内膜の肥厚を阻害するために有用であろうことが予期される。
【０４８１】
実施例３－アテローム性動脈硬化性血管の治療のためのＥＮＰＰ１溶出性のコーティングされたステント。
この実施例では、末梢動脈における新生内膜形成及び炎症を阻害し、それによって、血栓及び／又は血管閉塞を低減する、ＥＮＰＰ１ポリペプチド（ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミン）でコーティングされたステントの能力である。
【０４８２】
いずれか１つの理論に拘束されるものではないが、埋め込まれたステントの部位でＥＮＰＰ１ポリペプチド（ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミン）の過剰発現を誘導することは、ステント埋め込み後に、（ｉ）血小板活性化の減少、（ｉｉ）再狭窄及び炎症反応の低減、並びに（ｉｉｉ）ＶＳＭＣ増殖の減少のうちの１つ以上をもたらすであろうことが予期される。この治療法は、内皮細胞へのＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡ）の送達に基づいており、これは、次いで、ｍＲＮＡ翻訳後にステント埋め込み部位でＥＮＰＰ１タンパク質を発現する。
【０４８３】
ＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡの産生
ＥＮＰＰ１　ＤＮＡテンプレートを含むｐｃＤＮＡ　３．３プラスミド（Ｅｕｒｏｆｉｎｓ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　ＧｍｂＨ、Ｅｂｅｒｓｂｅｒｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ）は、製造業者の指示に従ってＨｏｔＳｔａｒ　ＨｉＦｉｄｅｌｉｔｙポリメラーゼキット（Ｑｉａｇｅｎ、Ｈｉｌｄｅｎ，Ｇｅｒｍａｎｙ）を使用して増幅する。ＰＣＲ産物（ＰＣＲサイクラー：Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ、Ｗｅｓｓｅｌｉｎｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ）を、Ｑｉａｑｕｉｃｋ　ＰＣＲ精製キット（Ｑｉａｇｅｎ）で精製する。インビトロ転写ｍＲＮＡを、製造業者の指示に従って、ＭＥＧＡｓｃｒｉｐｔ１　Ｔ７キット（Ａｍｂｉｏｎ、Ｇｌａｓｇｏｗ，Ｓｃｏｔｌａｎｄ）を用いて生成する。
【０４８４】
ｍＲＮＡを修飾するために、それぞれ、ＵＴＰ及びＣＴＰに置換される、３’－０－Ｍｅｍ７　Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’）Ｇ　ＲＮＡキャップ構造類似体（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ、Ｆｒａｎｋｆｕｒｔ，Ｇｅｒｍａｎｙ）、並びにシュードウリジン－５’－三リン酸及び５－メチルシチジン－５’－三リン酸（ＴｒｉＬｉｎｋ　Ｂｉｏｔｅｃｈ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ，ＵＳＡ）を反応物に添加する。ＲＮａｓｅ阻害については、１μｌのＲＮａｓｅ阻害剤（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｗａｌｔｈａｍ）を反応物毎に添加する。次いで、インビトロ転写ｍＲＮＡを、ＲＮｅａｓｙキット（Ｑｉａｇｅｎ）で精製する。精製されたｍＲＮＡを、Ａｎｔａｒｃｔｉｃ　Ｐｈｏｓｐｈａｔａｓｅキット（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ）を使用して脱リン酸化し、ＲＮｅａｓｙキット（Ｑｉａｇｅｎ）で再び精製する。同じ手順を繰り返し、ｅＧＦＰ　ＤＮＡを使用して、強化緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡを生成する。（Ａｖｃｉ－Ａｄａｌｉ　Ｍ，Ｂｅｈｒｉｎｇ　Ａ，Ｋｅｌｌｅｒ　Ｔ，Ｋｒａｊｅｗｓｋｉ　Ｓ，Ｓｃｈｌｅｎｓａｋ　Ｃ，Ｗｅｎｄｅｌ　ＨＰ（２０１４），Ｏｐｔｉｍｉｚｅｄ　ｃｏｎｄｉｔｉｏｎｓ　ｆｏｒ　ｓｕｃｃｅｓｓｆｕｌ　ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ　ｏｆ

ｈｕｍａｎ ｅｎｄｏｔｈｅｌｉａｌ ｃｅｌｌｓ ｗｉｔｈ ｉｎ ｖｉｔｒｏ ｓｙｎｔｈｅｓｉｚｅｄ ａｎｄ ｍｏｄｉｆｉｅｄ ｍＲＮＡ ｆｏｒ ｉｎｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｅｎｇ ８：８）。

【０４８５】

生成されたＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡの機能性は、トランスフェクトされたＨＥＫ２９３細胞によるＡＴＰの加水分解後の遊離ホスフェートを測定することによって検証される。ＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡでトランスフェクトされたＨＥＫ２９３細胞を、振盪プラットフォーム（Ｐｏｌｙｍａｘ １０４０、Ｈｅｉｄｏｌｐｈ、Ｓｃｈｗａｂａｃｈ，Ｇｅｒｍａｎｙ）上で、３７℃で１０分間、２０μＭのＡＴＰ（ｍｏＬａｂ、Ｌａｎｇｅｎｆｅｌｄ，Ｇｅｒｍａｎｙ）又は対照としてＰＢＳとともにインキュベートする。ＡＴＰ基質は、ＥＮＰＰ１の存在下で経時的に分解し、酵素産物ＡＭＰの蓄積を伴う。ＡＴＰ基質の様々な濃度を使用して、ＥＮＰＰ１の初期速度の速度は、ＡＴＰの存在下で導出され、データは、酵素速度定数を導出するために曲線に適合される。

【０４８６】

ステントコーティング

インビボでＥＮＰＰ１ｍＲＮＡの局所送達及び内皮細胞のトランスフェクションを可能にする、生物活性ステントコーティングを開発するために、生成されたＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡを、最初にサーマノックスプラスチックスライド上にコーティングする。したがって、ステントコーティングを、サーマノックスプラスチックスライド（Ｎｕｎｃ、Ｔｈｅｒｍｏ ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、ＵＳＡ）を使用してシミュレートする。最初に、ウェル当たり１００．０００個のＨＥＫ２９３細胞を、１２ウェルプレート上に播種する。

【０４８７】

２４時間後、２μｌのリポフェクタミン並びに１０μｇのＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡを、５０μｌのＯｐｔｉ－ＭＥＭと混合し、室温で２０分間インキュベートする。一方で、ポリ乳酸－コ－グリコール酸（ＰＬＧＡ）（Ｅｖｏｎｉｋｓ、Ｄａｒｍｓｔａｄｔ）ストック溶液（２０ｍｇ／ｍｌ）から１０μｌを、９９０μｌの酢酸エチル（最終濃度２００μｇ／ｍｌ）中に希釈する。次いで、２００μｌのＰＬＧＡ溶液を、トランスフェクション複合体と混合する。

【０４８８】

サーマノックススライドを、室温で、段階的なアプローチで、溶液でコーティングする。ｅＧＦＰ ｍＲＮＡ及び滅菌水を対照として使用する。乾燥スライドが細胞に下に伏せて播種される前に、ＨＥＫ２９３細胞に新しい培地を供給する。細胞を、スライドとともに３７℃及び５％CO_2で２４時間、４８時間、及び７２時間インキュベートし、次いで、ＦＡＣＳｃａｎサイトメーターを使用して分析する。

【０４８９】

ＨＥＫ２９３細胞のＥＮＰＰ１の発現を、フローサイトメトリーを使用して測定する。ＥＮＰＰ１でコーティングされたサーモノックススライド曝露細胞及び対照細胞を、抗ＥＮＰＰ１－フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）抗体で染色する。ＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡ／ＰＬＧＡでカバーされたサーマノックススライドとのインキュベーション後のＨＥＫ２９３細胞のフローサイトメトリー分析は、ＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡがＰＬＧＡコーティングから放出されることを示すことが予期され、それによってＥＮＰＰ１発現の増加が、スライドへの曝露の２４時間後、４８時間後、及び７２時間後に検出可能であると予期される。

【０４９０】

対照ＨＥＫ２９３細胞（リポフェクタミンのみでコーティングされたサーモノックススライドに曝露された）と比較して、０．５～１μｇのＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡは、曝露の２４時間後でさえも、ＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡでコーティングされたサーモノックススライドに曝露されたＨＥＫ細胞において、ＥＮＰＰ１タンパク質発現の増加を誘導するために十分であると予期される。

【０４９１】

いずれか１つの理論に拘束されるものではないが、ステント埋め込み部位で発現されるＥＮＰＰ１は、末梢動脈において内膜の増殖を予防し、血小板閉塞を低減することが予期されることが、本明細書で提案される。

【０４９２】

実施例４－アテローム性動脈硬化性血管の治療のためのＥＮＰＰ１でコーティングされたステントの調製及び埋め込み

この実施例では、若齢ブタ動物モデルを、ＥＮＰＰ１でコーティングされたステントを埋め込むために使用し、新生内膜形成、再狭窄、及び炎症を阻害するためのＥＮＰＰ１でコーティングされたステントの有効性を決定する。ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされたステントを調製し、次いで、末梢動脈に埋め込む。４つの末梢動脈部位を、各動物において新生内膜応答の誘導のために作成し、１つの部位を、実施例１に記載されるように、４つの動脈（両側深及び浅大腿動脈）のそれぞれで選択した。

【０４９３】

ＥＮＰＰ１でコーティングされたステントの調製

いずれのステントも、ＥＮＰＰ１薬剤でコーティングされることに適している。使用のためのステントを販売する商業的供給源の一般的な例としては、Ａｂｂｏｔ、Ｂｏｓｔｏｎ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｍｅｄｔｒｏｎｉｃ、Ａｌｖｉｍｅｄｉｃａ、Ｌｅｐｕ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｃｏｒｄｉｓ、Ｂａｌｔｏｎ、又はＢｉｏｔｒｏｎｉｋが挙げられる。末梢動脈ステントは、長さがより短く（１２～１８ｍｍ）、５～８ｍｍの直径範囲を伴い、一般的に腸骨動脈及び大腿動脈内の留置に使用される。Ｈｅｎｒｙらは、末梢動脈に利用可能な異なる種類のステントの長さ及び直径について詳細に説明している（Ｈｅｎｒｙ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｘ Ｈｅａｒｔ Ｉｎｓｔ Ｊ．２０００；２７（２）：１１９－１２６）。

【０４９４】

例えば、ベアメタルステントなどのプレーンステントは、ＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡを含むポリマーフィルムをステントの内側に配置することによって、又はＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ１ポリペプチドを含むポリマー若しくは非ポリマー溶液をステント表面上に噴霧することによって、ＥＮＰＰ１でコーティングされた溶出性ステントに変換され得る。

【０４９５】

ＥＮＰＰ１ポリマーフィルムのいくつかの例を以下に示し、ＥＮＰＰ１ポリマーフィルムをステントの内側に配置して、ＥＮＰＰ１でコーティングされた溶出性ステントを作成することができる。任意選択的に、ビタミンＥ、ビタミンＥアセテート、ビタミンＥスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油などの非ポリマー担体を溶液に添加し、ポリマーフィルム中のＥＮＰＰ１薬剤の安定性を改善することができる

【０４９６】

（ａ）ＥＮＰＰ１薬剤コーティング組成物（Ａ）－１０ｍｇのＰＣＬ（ポリカプロラクトン）ポリマー及び１００μｇのＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡ）を、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解させる。溶液をガラスプレート上に注ぎ、溶媒を１２～２４時間蒸発させる。溶媒のほぼ完全な除去の後、ＥＮＰＰ１を装填したＰＣＬフィルムをガラスプレートから除去し、１．５ｃｍ×１．５ｃｍのサイズに切断し、次いで、これをステントのサイズに合うように更に切り揃える。次いで、ポリマーフィルムを含むＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡ）を、ステンレスステント上に取り付ける。５０μｇのベクターＤＮＡを使用することによって、ＥＮＰＰ１ポリペプチド（ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミン）を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

【０４９７】

（ｂ）ＥＮＰＰ１薬剤コーティング組成物（Ｂ）－１０ｍｇのＥＶＡ（エチレン－酢酸

ビニル）ポリマー及び１００μｇのＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡ）を、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解させる。溶液をガラスプレート上に注ぎ、溶媒を１２～２４時間蒸発させる。溶媒のほぼ完全な除去の後、ＥＮＰＰ１－ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡ）を装填したＥＶＡフィルムをガラスプレートから除去し、１．５ｃｍ×１．５ｃｍのサイズに切断する。次いで、ポリマーフィルムを含むＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡ）を、ステンレスステント上に取り付ける。５０μｇのベクターＤＮＡを使用することによって、ＥＮＰＰ１ポリペプチド（ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミン）を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

【０４９８】

噴霧溶液を含むＥＮＰＰ１のいくつかの例を以下に示し、噴霧溶液をステント上に適用して、ＥＮＰＰ１でコーティングされた溶出性ステントを作成することができる。任意選択的に、ビタミンＥ、ビタミンＥアセテート、ビタミンＥスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油などの非ポリマー担体を噴霧溶液に添加し、ＥＮＰＰ１薬剤の安定性を改善することができる。

【０４９９】

（ｃ）ＥＮＰＰ１薬剤コーティング組成物（Ｃ）－１０ｍｇのＰＣＬ（ポリカプロラクトン）ポリマー及び１００μｇのＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡを、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解させる。ＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡ）を含む１００μｌのポリマーＰＣＬ溶液を、半自動ネブライザー装置を使用してステント（６ｍｍ×２０ｍｍ）上に噴霧する。ネブライザー噴霧システムは、制御された速度でステントの長さを回転及び横断する手段を提供する。装置の横断コンポーネントは、霧状化ポリカプロラクトン溶液を１分当たり３ｍｌの速度でステントに適用するガラスネブライザーシステムを含んでいた。適用されると、ポリマーコーティングは、６０℃の加熱空気を約５秒間適用することによって「再流動」される。ポリマーの再流動プロセスは、ステント表面へのより良好な接着を提供する。５０μｇのベクターＤＮＡを使用することによって、ＥＮＰＰ１ポリペプチド（ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミン）を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

【０５００】

（ｄ）ＥＮＰＰ１薬剤コーティング組成物（Ｄ）－未硬化２部シリコーンゴムの１％溶液を、トリクロロエチレン中に溶解させ、次いで、（Ｃ）で上に記載されるようにネブライザースプレーシステムを使用してステント上に噴霧する。コーティングされたステントを室温で１５分間乾燥させ、トリクロロエチレンを蒸発させる。シリコーンを含むコーティングされたステントを、シリコーンコーティングを架橋するために、真空オーブン内で４時間の期間にわたって加熱する。コーティングされたステントをオーブンから取り出し、１時間の期間にわたって冷却させる。１００μｇのＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡを、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解させる。噴霧溶液を含む１００μ１のＥＮＰＰ１の体積を、各ステントのシリコーンコーティングに滴下方法で適用する。架橋シリコーンは、溶液を吸収し、溶媒は、その後、シリコーン内に閉じ込められたＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミンｍＲＮＡ）を残して室温で蒸発する。５０μｇのベクターＤＮＡを使用することによって、ＥＮＰＰ１ポリペプチド（ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミン）を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。溶媒は、その後、シリコーン内に閉じ込められたＥＮＰＰ１コードベクターを残して、室温で蒸発する。

【０５０１】

（ｅ）ＥＮＰＰ１薬剤コーティング組成物（Ｅ）－１０ｍｇのＰＣＬ（ポリカプロラク

トン）ポリマー及びＥＮＰＰ１ポリペプチド（ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミンのうちのいずれか１つ）を、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解させ、１０ｍｇ／ｍｌのＥＮＰＰ１ポリペプチド濃度に到達する。ＥＮＰＰ１ポリペプチド（１０ｍｇ／ｍｌ）を含む１００μｌのポリマーＰＣＬ溶液を、（Ｃ）に記載されるようにステント上に噴霧する。

【０５０２】

（ｆ）ＥＮＰＰ１薬剤コーティング組成物（Ｆ）－シリコーンを含むコーティングされたステントを、（ｄ）で議論されるように調製する。コーティングされたステントをオーブンから取り出し、１時間の期間にわたって冷却させる。ＥＮＰＰ１ポリペプチド（ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ１－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ１－アルブミン）を、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解させ、１０ｍｇ／ｍｌのＥＮＰＰ１ポリペプチド濃度に到達する。噴霧溶液（１０ｍｇ／ｍｌ）を含む１００μｌのＥＮＰＰ１の体積を、各ステントのシリコーンコーティングに滴下方法で適用する。架橋シリコーンは、溶液を吸収し、溶媒は、その後、シリコーン内に閉じ込められたＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡを残して室温で蒸発する。

【０５０３】

動物モデル

２５～３５ｋｇの重量を有する３０匹の４～５ヵ月齢の若齢ブタを、商業的供給源から調達する。３０個のステンレス鋼通気孔を、Ａｂｂｏｔ、Ｂｏｓｔｏｎ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｍｅｄｔｒｏｎｉｃ、Ａｌｖｉｍｅｄｉｃａ、Ｌｅｐｕ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｃｏｒｄｉｓ、Ｂａｌｔｏｎ、又はＢｉｏｔｒｏｎｉｋなどの１つ以上の商業的供給源から入手する。こうして入手した３０本のステンレス鋼ステントを、コーティングについて上記に示されるプロトコルに従って、ＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡでコーティングする。対照セットとして使用するために、Ａｂｂｏｔｔから３０本のベアメタルステント（ＢＭＳ）を入手する。次いで、ＥＮＰＰ１でコーティングされたステントを、エチレンオキシドを使用して滅菌し、圧縮し、バルーン血管形成術カテーテル上に取り付ける。次いで、標準的なバルーン血管形成術技術を使用して、これを動脈内の部位に展開する。同じことが、ベアメタルステントを使用して対照セットに行われる。

【０５０４】

全ての標的部位が、ステント内再狭窄モデルを作成するために０日目に損傷される。４つの末梢動脈部位が、実施例に記載されるように、定量的血管造影（ＱＶＡ）を使用してマッピングされる。損傷は、実施例１に記載されるように作成される。

【０５０５】

ステントは、無作為に割り当てられ、ブタ当たり１つのコーティングされたステントで３０匹のブタの末梢（両側深及び浅大腿）動脈（動脈当たり１ステント）内に留置される。次いで、ブタは、１日当たり１００ｍｇのアスピリンで維持される。１４日目に、全ての血管が、血管造影及び光干渉断層撮影（ＯＣＴ）によって評価される。次いで、前もって損傷及びステント留置された動脈部位は、元の事前ステント損傷が行われたのと同じ圧力／直径における標準的な血管形成術バルーンカテーテルの単一の膨張による、動脈の過剰伸張からなる再損傷事象を受けた（基準参照直径の１３０％）。再損傷介入後、最終的な処置後の血管造影及びＯＣＴが、選択的末梢部位について記録される。１４日目の再損傷事象から４週間後、動脈は、血管造影及び血管内撮像（ＯＣＴ）による反復撮像を受けた。治療された末梢区分は、外植され、１０％中性緩衝ホルマリン中に保存される。

【０５０６】

内腔面積、ステント面積、新生内膜厚、新生内膜面積、及び狭窄の％が、ＥＮＰＰ１でコーティングされたステントを用いたブタ、及びベアメタルステントを用いたブタについて計算される。ＥＮＰＰ１－Ｆｃでコーティングされたステントで治療された動物の深動脈は、ベアメタルステントで治療されたビヒクル対照群と比較して、より大きい内腔面積を有するであろうことが予期される。ステント面積は、両群間で類似することが予期される。新生内膜厚及び新生内膜面積は、ベアメタルステントを用いたビヒクル対照動物と比較して、ＥＮＰＰ１－Ｆｃでコーティングされたステントで治療された動物では低減され

ることが期待される。加えて、ＥＮＰＰ１－Ｆｃで治療された動物は、ビヒクル対照群と比較して、著しく低い狭窄の面積％を有することが予期される。

【０５０７】

したがって、ＥＮＰＰ１でコーティングされたステントを使用することによるＥＮＰＰ１薬剤のインサイチュ投与は、末梢動脈における損傷部位での筋内膜増殖及び／又は再狭窄を予防し、効果的に治療することが予期される。

【０５０８】

実施例５－アテローム性動脈硬化性血管の治療のためのＥＮＰＰ３でコーティングされたステントの調製及び埋め込み

この実施例では、若齢ブタ動物モデルを、ＥＮＰＰ３でコーティングされたステントを埋め込むために使用し、新生内膜形成、再狭窄、及び炎症を阻害するためのＥＮＰＰ３でコーティングされたステントの有効性を決定する。ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされたステントを調製し、次いで、末梢動脈に埋め込む。４つの末梢動脈部位を、各動物において新生内膜応答の誘導のために作成し、１つの部位を、実施例１に記載されるように、４つの動脈（両側深及び浅大腿動脈）のそれぞれで選択した。

【０５０９】

ＥＮＰＰ３でコーティングされたステントの調製

いずれのステントも、ＥＮＰＰ３薬剤でコーティングされることに適している。使用のためのステントを販売する市販の供給源の一般的な例としては、Ａｂｂｏｔ、Ｂｏｓｔｏｎ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｍｅｄｔｒｏｎｉｃ、Ａｌｖｉｍｅｄｉｃａ、Ｌｅｐｕ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｃｏｒｄｉｓ、Ｂａｌｔｏｎ、又はＢｉｏｔｒｏｎｉｋが挙げられる。末梢動脈ステントは、長さがより短く（１２～１８ｍｍ）、５～８ｍｍの直径範囲を伴い、一般的に腸骨動脈及び大腿動脈内の留置に使用される。Ｈｅｎｒｙらは、末梢動脈に利用可能な異なる種類のステントの長さ及び直径について詳細に説明している（Ｈｅｎｒｙ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｘ Ｈｅａｒｔ Ｉｎｓｔ Ｊ．２０００；２７（２）：１１９－１２６）。

【０５１０】

例えば、ベアメタルステントなどのプレーンステントは、ＥＮＰＰ３ ｍＲＮＡを含むポリマーフィルムをステントの内側に配置することによって、又はＥＮＰＰ３ ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ３ポリペプチドを含むポリマー若しくは非ポリマー溶液をステント表面上に噴霧することによって、ＥＮＰＰ３でコーティングされた溶出性ステントに変換され得る。

【０５１１】

ＥＮＰＰ３ポリマーフィルムのいくつかの例を以下に示し、ＥＮＰＰ３ポリマーフィルムをステントの内側に配置して、ＥＮＰＰ３でコーティングされた溶出性ステントを作成することができる。任意選択的に、ビタミンＥ、ビタミンＥアセテート、ビタミンＥスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油などの非ポリマー担体を溶液に添加し、ポリマーフィルム中のＥＮＰＰ１薬剤の安定性を改善することができる

【０５１２】

（ｇ）ＥＮＰＰ３薬剤コーティング組成物（Ａ）－１０ｍｇのＰＣＬ（ポリカプロラクトン）ポリマー及び１００μｇのＥＮＰＰ１ ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミンｍＲＮＡ）を、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解させる。溶液をガラスプレート上に注ぎ、溶媒を１２～２４時間蒸発させる。溶媒のほぼ完全な除去の後、ＥＮＰＰ３を装填したＰＣＬフィルムをガラスプレートから除去し、１．５ｃｍ×１．５ｃｍのサイズに切断し、次いで、これをステントのサイズに合うように更に切り揃える。次いで、ポリマーフィルムを含むＥＮＰＰ３ ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミンｍＲＮＡ）を、ステンレスステント上に取り付ける。５０μｇのベクターＤＮＡを使用することによって、ＥＮＰＰ１ポリペプチド（ＥＮＰＰ３又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミン）を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができ

る。

【０５１３】

（ｈ）ＥＮＰＰ３薬剤コーティング組成物（Ｂ）－１０ｍｇのＥＶＡ（エチレン－酢酸ビニル）ポリマー及び１００μｇのＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミンｍＲＮＡ）を、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解させる。溶液をガラスプレート上に注ぎ、溶媒を１２～２４時間蒸発させる。溶媒のほぼ完全な除去の後、ＥＮＰＰ３－ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミンｍＲＮＡ）を装填したＥＶＡフィルムをガラスプレートから除去し、１．５ｃｍ×１．５ｃｍのサイズに切断した。次いで、ポリマーフィルムを含むＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミンｍＲＮＡ）を、ステンレスステント上に取り付ける。５０μｇのベクターＤＮＡを使用することによって、ＥＮＰＰ３ポリペプチド（ＥＮＰＰ３又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミン）を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

【０５１４】

噴霧溶液を含むＥＮＰＰ３のいくつかの例を以下に示し、噴霧溶液をステントに適用して、ＥＮＰＰ３でコーティングされた溶出性ステントを作成することができる。任意選択的に、ビタミンＥ、ビタミンＥアセテート、ビタミンＥスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油などの非ポリマー担体を噴霧溶液に添加し、ＥＮＰＰ３薬剤の安定性を改善することができる。

【０５１５】

（ｉ）ＥＮＰＰ３薬剤コーティング組成物（Ｃ）－１０ｍｇのＰＣＬ（ポリカプロラクトン）ポリマー及び１００μｇのＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡを、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解させる。ＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミンｍＲＮＡ）を含む１００μｌのポリマーＰＣＬ溶液を、半自動ネブライザー装置を使用してステント（６ｍｍ×２０ｍｍ）上に噴霧する。ネブライザー噴霧システムは、制御された速度でステントの長さを回転及び横断する手段を提供する。装置の横断コンポーネントは、霧状化ポリカプロラクトン溶液を１分当たり３ｍｌの速度でステントに適用するガラスネブライザーシステムを含んでいた。適用されると、ポリマーコーティングは、６０℃の加熱空気を約５秒間適用することによって「再流動」される。ポリマーの再流動プロセスは、ステント表面へのより良好な接着を提供する。５０μｇのベクターＤＮＡを使用することによって、ＥＮＰＰ３ポリペプチド（ＥＮＰＰ３又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミン）を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

【０５１６】

（ｊ）ＥＮＰＰ３薬剤コーティング組成物（Ｄ）－未硬化２部シリコーンゴムの１％溶液を、トリクロロエチレン中に溶解させ、次いで、（Ｃ）で上に記載されるようにネブライザースプレーシステムを使用してステント上に噴霧する。コーティングされたステントを室温で１５分間乾燥させ、トリクロロエチレンを蒸発させる。シリコーンを含むコーティングされたステントを、シリコーンコーティングを架橋するために、真空オーブン内で４時間の期間にわたって加熱する。コーティングされたステントをオーブンから取り出し、１時間の期間にわたって冷却させる。１００μｇのＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡを、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解させる。噴霧溶液を含む１００μ１のＥＮＰＰ３の体積を、各ステントのシリコンコーティングに滴下方法で適用する。架橋シリコーンは、溶液を吸収し、溶媒は、その後、シリコーン内に閉じ込められたＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡ（又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ　ｍＲＮＡ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミンｍＲＮＡ）を残して室温で蒸発する。５０μｇのベクターＤＮＡを使用することによって、ＥＮＰＰ３ポリペプチド（ＥＮＰＰ３又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミン）を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。溶媒は、その後、シリコーン内に閉じ込められたＥＮＰＰ３コードベクターを残して、室温で蒸

発する。

【０５１７】

（ｋ）ＥＮＰＰ３薬剤コーティング組成物（Ｅ）－１０ｍｇのＰＣＬ（ポリカプロラクトン）ポリマー及びＥＮＰＰ３ポリペプチド（ＥＮＰＰ３又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ若しくはＥＮＰＰ３－アルブミンのうちのいずれか１つ）を、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解させ、１０ｍｇ／ｍｌのＥＮＰＰ３ポリペプチド濃度に到達する。ＥＮＰＰ３ポリペプチド（１０ｍｇ／ｍｌ）を含む１００μｌのポリマーＰＣＬ溶液を、（Ｃ）に記載されるようにステント上に噴霧する。

【０５１８】

（ｌ）ＥＮＰＰ３薬剤コーティング組成物（Ｆ）－シリコーンを含むコーティングされたステントを、（ｄ）で議論されるように調製する。コーティングされたステントをオーブンから取り出し、１時間の期間にわたって冷却させる。ＥＮＰＰ３ポリペプチド（ＥＮＰＰ３又はＥＮＰＰ３－Ｆｃ又若しくはＥＮＰＰ３－アルブミン）を、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解させ、１０ｍｇ／ｍｌのＥＮＰＰ３ポリペプチド濃度に到達する。噴霧溶液（１０ｍｇ／ｍｌ）を含む１００μｌのＥＮＰＰ３の体積を、各ステントのシリコーンコーティングに滴下方法で適用する。架橋シリコーンは、溶液を吸収し、溶媒は、その後、シリコーン内に閉じ込められたＥＮＰＰ３　ｍＲＮＡを残して室温で蒸発する。

【０５１９】

動物モデル

２５～３５ｋｇの重量を有する３０匹の４～５ヵ月齢の若齢ブタを、商業的供給源から調達する。３０個のステンレス鋼通気孔を、Ａｂｂｏｔ、Ｂｏｓｔｏｎ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｍｅｄｔｒｏｎｉｃ、Ａｌｖｉｍｅｄｉｃａ、Ｌｅｐｕ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｃｏｒｄｉｓ、Ｂａｌｔｏｎ、又はＢｉｏｔｒｏｎｉｋなどの１つ以上の商業的供給源から得る。こうして入手した３０本のステンレス鋼ステントを、コーティングについて上記に示されるプロトコルに従って、ＥＮＰＰ１　ｍＲＮＡでコーティングする。対照セットとして使用するために、Ａｂｂｏｔｔから３０本のベアメタルステント（ＢＭＳ）を入手する。次いで、ＥＮＰＰ３でコーティングされたステントを、エチレンオキシドを使用して滅菌し、圧縮し、バルーン血管形成術カテーテル上に取り付ける。次いで、標準的なバルーン血管形成術技術を使用して、動脈内の部位に展開する。同じことが、ベアメタルステントを使用して対照セットに行われる。

【０５２０】

全ての標的部位が、ステント内再狭窄モデルを作成するために０日目に損傷される。４つの末梢動脈部位が、実施例に記載されるように、定量的血管造影（ＱＶＡ）を使用してマッピングされる。損傷は、実施例１に記載されるように作成される。

【０５２１】

ステントは、無作為に割り当てられ、ブタ当たり１つのコーティングされたステントで３０匹のブタの末梢（両側深及び浅大腿）動脈（動脈当たり１ステント）内に留置される。次いで、ブタは、１日当たり１００ｍｇのアスピリンで維持される。１４日目に、全ての血管が、血管造影及び光干渉断層撮影（ＯＣＴ）によって評価される。次いで、前もって損傷及びステント留置された動脈部位は、元の事前ステント損傷が行われたのと同じ圧力／直径における標準的な血管形成術バルーンカテーテルの単一の膨張による、動脈の過剰伸張からなる再損傷事象を受けた（基準参照直径の１３０％）。再損傷介入後、最終的な処置後の血管造影及びＯＣＴが、選択的末梢部位について記録される。１４日目の再損傷事象から４週間後、動脈は、血管造影及び血管内撮像（ＯＣＴ）による反復撮像を受けた。治療された末梢区分は、外植され、１０％中性緩衝ホルマリン中に保存される。

【０５２２】

内腔面積、ステント面積、新生内膜厚、新生内膜面積、及び狭窄の％が、ＥＮＰＰ３でコーティングされたステントを用いたブタ、及びベアメタルステントを用いたブタについて計算される。ＥＮＰＰ３－Ｆｃでコーティングされたステントで治療された動物の深動脈は、ベアメタルステントで治療されたビヒクル対照群と比較して、より大きい内腔面積

を有するであろうことが予期される。ステント面積は、両群間で類似することが予期される。新生内膜厚及び新生内膜面積は、ベアメタルステントを用いたビヒクル対照動物と比較して、ＥＮＰＰ３－Ｆｃでコーティングされたステントで治療された動物では低減されることが期待される。加えて、ＥＮＰＰ３－Ｆｃで治療された動物は、ビヒクル対照群と比較して、著しく低い狭窄の面積％を有することが予期される。

【０５２３】

したがって、ＥＮＰＰ３でコーティングされたステントを使用することによるＥＮＰＰ３薬剤のインサイチュ投与は、末梢動脈における損傷部位での筋内膜増殖及び／又は再狭窄を予防し、効果的に治療することが予期される。

【０５２４】

参照による組み込み

本明細書で参照されるありとあらゆる米国特許及び外国特許並びに係属中の特許出願及び刊行物の開示は、配列表及び図の内容と同様に、参照によりその全体で本明細書に具体的に組み込まれる。

【０５２５】

等価物

当業者は、日常的な実験のみを使用して、本明細書に記載される特定の実施形態の多くの等価物を認識するか、又は確認することができるであろう。そのような等価物は、以下の特許請求の範囲に包含されることが意図される。任意の複数の従属請求項又は実施例に開示される実施形態の任意の組み合わせは、本開示の範囲内であることが企図される。

【０５２６】

他の実施形態

前述の説明から、本開示に従う範囲内である病理学的石灰化又は骨化の存在によって特徴付けられるあらゆる疾患を治療するための、当該技術分野で既知の異なるプロモーター若しくはエンハンサー、又は異なる細胞型を有する異なるウイルスベクターにおける、ＥＮＰＰ１若しくはＥＮＰＰ３又はそれらの組み合わせの機能的バリアントを発現する異なるシグナル配列の使用を含む、様々な使用及び条件にそれを採用するために、本明細書に記載される開示に変形及び修正がなされ得ることは明らかであろう。本開示による他の実施形態は、以下の請求項の範囲内である。

【０５２７】

本明細書の変数の任意の定義における要素の一覧の列挙は、任意の単一の要素又は列挙された要素の組み合わせ（又は部分的組み合わせ）としてのその変数の定義を含む。本明細書の実施形態の列挙は、任意の単一の実施形態として、又は任意の他の実施形態若しくはその一部と組み合わせたその実施形態を含む。

【０５２８】

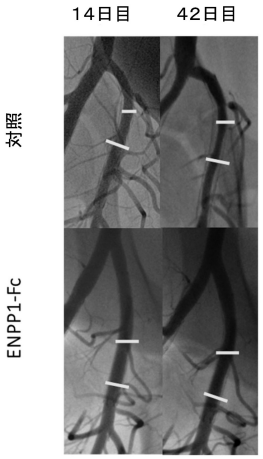
本明細書で言及される全ての刊行物及び特許出願は、本開示が関連する当業者の技術レベルを示すものである。全ての刊行物及び特許出願は、各個々の刊行物又は特許出願が、参照により組み込まれることを具体的かつ個別に示唆された場合と同じ程度で、参照により本明細書に組み込まれる。

【０５２９】

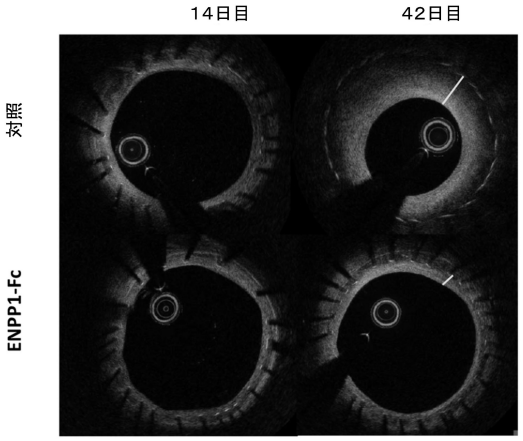
他の実施形態は、以下の請求項の範囲内である。

【図面】

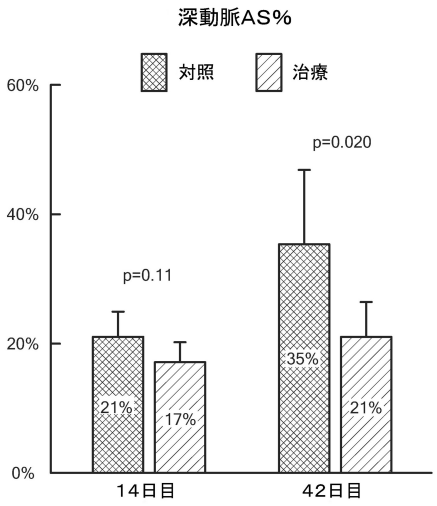
【図１】



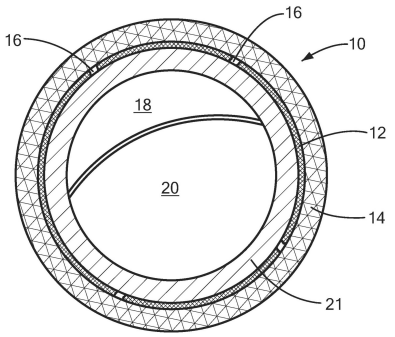
【図２】



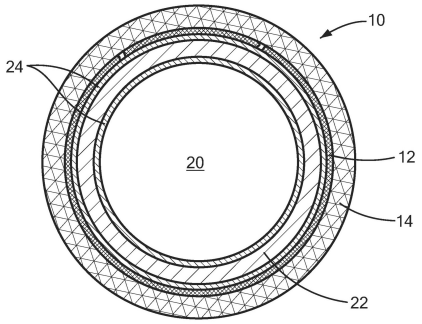
【図３】



【図４Ａ】



【図４Ｂ】



【配列表】

2023527364000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/34533

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 38/46, A61P 13/12, C12N 9/14, C12N 9/16, A01K 67/02, A01K 67/027 (2021.01)

CPC - A61P 13/12, C12N 9/16, A01K 67/02, A01K 67/027, A61K 38/00, A61K 38/177, A61K 38/1741, C12N 15/86, C12N 15/85, C12N 2750/14143, C12N 2750/14171, A61K 38/46, A61K 45/06, A61K 9/0019, A61P 9/10, C07K 19/00, C12Y 301/04001, C12Q 1/6883, C07K 7/06, A61K 38/46, C07K 14/745, A01K 67/0271, A01K 2207/15, C12N 2840/007, H05K 999/99, A01K 2267/0387

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	NITSCHKE, et al. ENPP1-Fc prevents neointima formation in generalized arterial calcification of infancy through the generation of AMP. Exp Mol Med. October 2018, Vol. 50, No. 10, Article 139; Abstract, pg 4, col 1; pg 7, col 1; pg	1-4, 8-10, 30, 31, 39-41, 85-88, 92-95
Y	ZETTERVALL, et al. Association of arterial calcification with chronic limb ischemia in patients with peripheral artery disease. J Vasc Surg. February 2018, Vol. 67, No. 2, pp. 507-513; Abstract; pg 509, col 2	1-4, 8-10, 30, 31, 39-41, 85-88, 92-95
Y	US 2019/0022286 A1 (SCHNEIDERMAN) 24 January 2019 (24.01.2019) claims 1-5, 14; para [0129], [0246], [0252], [0259]	9, 10, 30, 31, 39-41, 85-88, 92-95
A	US 2020/0138905 A1 (YALE UNIVERSITY) 07 May 2020 (07.05.2020) Abstract, para [0027], [0095], [0146]	1-4, 8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
23 September 2021	NOV 10 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Karl Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/34533

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/34533

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 5-7, 11-29, 36-38, 42-60, 89-91, 96-114, 119-121, 126-146
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1.

Group I, claims 1-4, 8-10, 30, 31, 39-41, 85-88, 92-95, directed to a method for treating a subject having peripheral artery disease by administering to the subject an effective amount of an ENPP1 agent.

Group II, claims 63-73, 147, directed to a coated a vascular stent, wherein the coating comprises an ENPP1 agent.

Group III, claims 32-35, 61, 62, 115-118, 122-125, directed to a method for treating a subject having peripheral artery disease by administering to the subject an effective amount of an ENPP3 agent.

Group IV, claims 74-84, 148, directed to a coated a vascular stent, wherein the coating comprises an ENPP3 agent.

********** See Supplemental Sheet to continue **********

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-4, 8-10, 30, 31, 39-41, 85-88, 92-95

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/34533

In Continuation of
Box III. Observations where unity of invention is lacking:

The inventions listed as Groups I-IV do not relate to a single special technical feature under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The inventions of Group I and Group III share the special technical feature of a method for treating a subject having peripheral artery disease that is not required by Group II or IV.

The inventions of Group II and Group IV share the special technical feature of a coated a vascular stent; wherein the coating comprises a drug and a carrier for said drug and is configured to release said drug from the stent at a specified rate that is not required by Group I or III.

The inventions of Group I and Group II share the special technical feature of an ENPP1 agent that is not required by Group III or IV.

The inventions of Group III and Group IV share the special technical feature of an ENPP3 agent that is not required by Group I or II.

The inventions of Group I and Group II share the technical feature of an ENPP1 agent (claims 1, 2, 8, 30, 39, 85, 86, 88, 92). Some inventions of Group I and Group III share the technical features of a method for reducing and/or preventing progression of vascular smooth cell muscle proliferation (claims 2, 8, 30, 33, 39, 61, 86, 92, 116, 122). However, these shared technical features do not represent an improvement over prior art as being anticipated by a paper titled "ENPP1-Fc prevents neointima formation in generalized arterial calcification of infancy through the generation of AMP" by Nitschke, et al. (Exp Mol Med. 2018, 50(10):139) (hereinafter "Nitschke").

Nitschke discloses an ENPP1 agent (pg 4, col 1, "Recombinant human ENPP1-Fc fusion protein administration. To determine the effect of rhENPP1-Fc (Alexion, New Haven, CT, USA) on intimal hyperplasia, 6?7-week-old homozygous ttw/ttw mice were treated with either vehicle (20 mM HEPES, pH 7.3, 140 mM NaCl) or rhENPP1-Fc at 10 mg/kg body weight by subcutaneous injection every other day").

Nitschke discloses a method for reducing and/or preventing progression of vascular smooth cell muscle proliferation by administering an ENPP1 agent (Abstract, "subcutaneous rhENPP1-Fc protein replacement was effective in preventing and treating intimal hyperplasia induced by carotid ligation in an animal model of GACI [Generalized arterial calcification of infancy] ... ENPP1 inhibits neointima formation by generating AMP. RhENPP1-Fc may serve as an approach for the effective prevention and treatment of arterial stenoses in GACI"; pg 7, col 1, "rhENPP1-Fc administration prevents and effectively treats neointima formation following arterial injury. To determine the preventive effect of rhENPP1-Fc on the accelerated intimal hyperplasia in ttw/ttw mice, the mice were treated with either vehicle or rhENPP1-Fc for 7 days prior to carotid ligation, and treatment continued for 14 days postsurgery. The ttw/ttw mice treated with rhENPP1 -Fc showed greatly reduced intimal hyperplasia than those treated with vehicle, approaching the degree observed in WT animals (Fig. 4a)").

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the inventions.

The inventions of Group I and Group III share the technical features of a method for treating a subject having peripheral artery disease (claims 1, 2, 8, 30, 32, 33, 35, 39, 61, 85, 86, 88, 92, 115, 116, 118, 122). However, this shared technical feature does not represent an improvement over prior art as being obvious over Nitschke, as above, in view of a paper titled "Association of arterial calcification with chronic limb ischemia in patients with peripheral artery disease" by Zettervall, et al. (J Vasc Surg. 2018, 67(2): 507-513) (hereinafter "Zettervall").

Nitschke discloses a method for reducing and/or preventing progression of vascular smooth cell muscle proliferation by administering an ENPP1 agent (Abstract, "subcutaneous rhENPP1-Fc protein replacement was effective in preventing and treating intimal hyperplasia induced by carotid ligation in an animal model of GACI. We conclude that ENPP1 inhibits neointima formation by generating AMP. RhENPP1-Fc may serve as an approach for the effective prevention and treatment of arterial stenoses in GACI [Generalized arterial calcification of infancy]"; pg 7, col 1, "rhENPP1-Fc administration prevents and effectively treats neointima formation following arterial injury. To determine the preventive effect of rhENPP1-Fc on the accelerated intimal hyperplasia in ttw/ttw mice, the mice were treated with either vehicle or rhENPP1-Fc for 7 days prior to carotid ligation, and treatment continued for 14 days postsurgery. The ttw/ttw mice treated with rhENPP1-Fc showed greatly reduced intimal hyperplasia than those treated with vehicle, approaching the degree observed in WT animals (Fig. 4a)").

Nitschke does not specifically disclose that said method is suitable for treating a subject having peripheral artery disease.
Zettervall discloses that peripheral artery calcification is associated with peripheral artery disease ("ABSTRACT... Arterial calcification is associated with an increased risk of limb events, including amputation... we sought to determine whether the extent of peripheral artery calcification (PAC) was correlated with Rutherford chronic ischemia categories and hypothesized that it could independently contribute to worsening limb status... Results: There were 116 patients identified, including 75 with claudication and 41 with critical limb ischemia. In univariate regression, there was a significant association between increasing Rutherford ischemia category and age, diabetes duration, hypertension, the occlusion score, and PAC. There was a moderate correlation between the extent of occlusive disease and PAC scores
... In multivariable analysis, only tobacco use ... and the calcification score ... maintained an association with increasing ischemia categories after adjusting for relevant cardiovascular risk factors and the extent of occlusive disease. Conclusions: PAC is independently associated with increased ischemia categories in patients with peripheral artery disease").

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/34533

In Continuation of
Box III. Observations where unity of invention is lacking and the Preceding Supplemental Sheet:

It would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time of the invention to combine, in the course of routine experimentation and with a reasonable expectation of success, Nitschke and Zettervall by administering to a subject having peripheral artery disease and effective amount of rhENPP1-Fc disclosed by Nitschke, because Nitschke discloses that rhENPP1-Fc is useful for treating Generalized arterial calcification, while Zettervall discloses that peripheral artery calcification is associated with increased ischemia in patients with peripheral artery disease.

As the technical features would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the inventions.

The inventions of Group III and Group IV share the technical features of an ENPP3 agent. However, this shared technical feature does not represent an improvement over prior art as being anticipated by WO 2019/217373 A1 TO YALE UNIVERSITY (14 November 2019) (hereinafter "YALE").

YALE discloses an ENPP3 agent (pg 71, ln 23-35, "Example 2: Treatment of Renal Stones using ENPP3"; claims 11, 12, "the soluble ENPP3 polypeptide is fused to a moiety that increases half-life and/or reduces immunogenicity of the soluble ENPP3 polypeptide... the moiety is selected from the group consisting of an immunoglobulin (Ig) Fc domain, polyethylene glycol (PEG) and albumin").

As the technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical features that would otherwise unify the inventions.

The inventions of Group II and Group IV share the technical feature of a drug-eluting coated a vascular stent (claims 63, 74). Some inventions of Group I and Group III share the technical feature of a method of using a drug-eluting coated a vascular stent (claims 85, 86, 88, 92, 115, 116, 118, 122). However, this shared technical feature does not represent an improvement over prior art as being anticipated by US 2019/0022286 A1 to SCHNEIDERMAN (24 January 2019) (hereinafter "SCHNEIDERMAN").

SCHNEIDERMAN discloses a coated stent (claim 1, "[a] drug eluting stent for treating ischemia and reperfusion injury, comprising a structural framework configured to be deployed in a blood vessel, the structural framework having an outer surface and an inner surface; wherein said outer surface is configured to enable sustained-release of antiproliferative drug and said inner surface is configured to enable sustained-release of a leptin antagonist") comprising:

a vascular stent and a coating on the stent, the coating comprising an anti-proliferative agent and a carrier for said agent (claim 5, "The drug eluting stent according to claim 3, wherein said outer surface reservoirs comprise a layer coating the outer surface of said structural framework"; para [0129], "a carrier for local delivery of the leptin antagonist... the composition is a coating on a medical device (FIG. 27A); para [0246], a framework of any one of stents 24, 26 and 28 is made of cobalt chromium coated with a coating of a hydrogel that includes a pharmaceutically effective amount of leptin antagonist"),
wherein said coating is configured to release said agent anti-proliferative agent from the stent at a specified rate (para [0259], "FIGS. 31b and 31c illustrate another embodiment of a double function drug eluting stent, depicting cross sectional views of one of the struts that constitute the stent, abutting vessel wall 50. According to this embodiment, the outer surface of struts 61 and 71 is partially coated by layer, 62 and 72, respectively, of a polymer containing the anti-proliferative drug. Layers 62, 72 cover about 75% of the strut's circumference. The inner surface of the strut, facing the lumen, is provided with a long recessed slit, 64, 74, which serves as a reservoir for containing the sustained release composition of the leptin antagonist for slow release into the lumen. Slits 64 and 74 that extend along the length of the strut have circular and triangular cross sections, respectively, but may assume other cross sectional shapes as well. Preferably, the slit opening, 65, 75, at the luminal aspect of the struts leads to a wider reservoir. This design prevents early detachment of the sustained release matrix. The size of opening 65, 75 can also be selected as one of the parameters that control the release rate"; para [0252], "The total dose of leptin antagonist in the stent may be released into the lumen over a period of at least 3 days, preferably between 10 to 14 days, and even for a longer period. The release rate is determined, inter alia, by the choice of the sustained release material. For example, PLGA (Poly lactic-co-glycolic acid) 65:35 MW 45000-75000 Da was tested in a mouse model and was found suitable to establish this timeframe. The kinetics of drug release for the anti-proliferative drug may be designed based parameters known in the art").

Finally, SCHNEIDERMAN discloses a method of using a drug-eluting coated a vascular stent for treating a vascular disease (claim 14, "[a] method for treating an ischemia and reperfusion injury (IRI) the method comprising: deploying into a blood vessel a drug eluting stent comprising a structural framework having an outer surface and an inner surface; enabling sustained-release of antiproliferative drug via said outer surface; and enabling sustained-release of leptin antagonist into a re-opened blood vessel via said inner surface").

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the inventions.

Therefore, Inventions of Groups I-IV lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*19/08 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/08		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｋ	*39/395 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｗ	
Ａ６１Ｋ	*38/17 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/17	１００	
Ａ６１Ｋ	*38/38 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/38		
Ａ６１Ｌ	*31/10 (2006.01)*	Ａ６１Ｌ	31/10		
Ａ６１Ｌ	*31/14 (2006.01)*	Ａ６１Ｌ	31/14	５００	
Ｃ１２Ｎ	*9/14 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	9/14		
Ｃ１２Ｎ	*15/55 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/55		
Ｃ１２Ｎ	*15/86 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/86	Ｚ	
Ｃ０７Ｋ	*19/00 (2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	19/00		
Ｃ０７Ｋ	*16/00 (2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	16/00		
Ｃ１２Ｎ	*15/13 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/13		
Ｃ１２Ｎ	*15/62 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/62	Ｚ	
Ｃ１２Ｎ	*15/12 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/12		
Ｃ０７Ｋ	*14/76 (2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/76		

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．テフロン

ｅｌｍｓ－Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔａｅｔ Ｍｕｅｎｓｔｅｒ
ドイツ連邦共和国 ４８１４９ ミュンスター シュロスプラッツ ２
Ｓｃｈｌｏｓｓｐｌａｔｚ ２，４８１４９ Ｍｕｅｎｓｔｅｒ，Ｇｅｒｍａｎｙ
(74)代理人 100114890
弁理士 アインゼル・フェリックス＝ラインハルト
(74)代理人 100098501
弁理士 森田 拓
(74)代理人 100116403
弁理士 前川 純一
(74)代理人 100134315
弁理士 永島 秀郎
(74)代理人 100162880
弁理士 上島 類
(72)発明者 デイヴィッド トンプソン
アメリカ合衆国 ０２２１０ マサチューセッツ ボストン サマー ストリート ３２１ スイート ４００
(72)発明者 フランク ルッチュ
ドイツ連邦共和国 ４８１４９ ミュンスター アルバート－シュヴァイツァー－キャンパス １ ゲボイデ ディー５ ユニヴァーシティ オブ ミュンスター
(72)発明者 イヴォンヌ ニチュケ
ドイツ連邦共和国 ４８１４９ ミュンスター アルバート－シュヴァイツァー－キャンパス １ ゲボイデ ディー５ ユニヴァーシティ オブ ミュンスター

Ｆターム（参考） 4B050 CC05 LL01
4C081 AC10 BA16 CD112 CE02 DC03 EA06
4C084 AA02 AA13 BA01 BA08 BA22 BA23 BA41 DA36 DA39 DC22
MA66 NA03 NA14 ZA361 ZA961 ZB211
4C085 AA33 BB36 BB42 EE01 GG02 GG04

Fターム（参考） 4C087 AA01 BC83 CA08 MA66 NA14 ZA36 ZA96 ZB21
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 DA89 EA23
FA74