(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4179422号
(P4179422)

(45)発行日　平成20年11月12日(2008.11.12)　(24)登録日　平成20年9月5日(2008.9.5)

(51)Int.Cl.　　F I
C07K 14/415 (2006.01)　C07K 14/415 ZNA
A61K 39/36 (2006.01)　A61K 39/36
A61P 37/08 (2006.01)　A61P 37/08

請求項の数 7　(全 35 頁)

(21)出願番号　特願平7-526440
(86)(22)出願日　平成7年4月6日(1995.4.6)
(65)公表番号　特表平9-511747
(43)公表日　平成9年11月25日(1997.11.25)
(86)国際出願番号　PCT/US1995/004249
(87)国際公開番号　WO1995/027786
(87)国際公開日　平成7年10月19日(1995.10.19)
審査請求日　平成14年3月14日(2002.3.14)
(31)優先権主張番号　08/226,248
(32)優先日　平成6年4月8日(1994.4.8)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　08/350,225
(32)優先日　平成6年12月6日(1994.12.6)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者
メルク　パテント　ゲーエムベーハー
ドイツ連邦共和国　ダルムシュタット　６４２９３　フランクフルター　ストラッセ　２５０
(74)代理人
弁理士　特許業務法人小田島特許事務所
(74)代理人
弁理士　水野　祐啓
(72)発明者　フランゼン,　ヘンリー・エム
アメリカ合衆国マサチユセツツ州０２１７２ウオータータウン・チヤールズリバーロード３７２

最終頁に続く

(54)【発明の名称】スギ花粉アレルギーを治療するための医薬組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

CJI-43.39（配列番号３６）、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-44.8（配列番号３８）から成る群より選択されるアミノ酸配列からなる、単離されたCryjIペプチド。

【請求項２】

CJI-43.39（配列番号３６）、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-44.8（配列番号３８）から成る群より選択される少なくとも１つの単離されたCryjIペプチドを有効成分として含んで成るスギ花粉アレルゲンに対する感受性を処置するための治療製剤。

【請求項３】

CJI-43.39（配列番号３６）、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-44.8（配列番号３８）から成る群より選択される２種以上の単離されたCryjIペプチドを有効成分とする、スギ花粉アレルゲンに対する感受性を処置するための医薬製剤。

【請求項４】

各ペプチドがＴ細胞活性を有し、各ペプチドが可溶性であり、そして６．０～８．０のｐＨで安定である、CJI-43.39（配列番号３６）、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-44.8（配列番号３８）から成る群より選択される少なくとも２つのCryjIペプチドを含んで成るスギ花粉アレルゲンに対する感受性を処置するためのマルチペプチド組成物。

【請求項５】

ペプチドCJI-43.39（配列番号３６）、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-44.8（配列番号３８）を含んで成る、請求項４記載のマルチペプチド組成物。

【請求項６】
CryjIペプチドCJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）を含んでなり、各ペプチドが１バイアル当たり0.75mg含まれており、そして注射用滅菌水で再構成したとき、0.05M　リン酸ナトリウム（pH6.0-8.0）および5%　重量／容量マンニトール溶液を提供する、リン酸ナトリウムおよびマンニトールを含んで成る、スギ花粉アレルゲンに対する感受性を処置するための至適化されたマルチペプチド組成物。
【請求項７】
凍結乾燥粉末状態である、請求項６記載の至適化されたマルチペプチド組成物。
【発明の詳細な説明】
発明の背景
スギ（スギ：クリプトメリア ジャポニカ：Cryptomeria japonica）花粉症は、日本における最も重要なアレルギー疾患の１つである。この疾患に罹患している患者数は増加し続けており、そして人口の10%以上が冒されている地域もある。
スギ花粉に由来する主なアレルゲンが精製され、そしてアミノ酸配列が部分的に同定され、そしてスギベーシックタンパク質（Sugi basic protein:SBP）またはCryjI（ヤスエダら、（1983）、J.Allergy Clin.Immunol.71:77-86;およびタニアイら、（1988）FEBS Letters 239:329-332）と命名された。CryjIはクローン化され、そしてCryjIタンパク質の完全長のヌクレオチド配列および完全長のアミノ酸配列が同定された（国際公開第93/01213号明細書）。
クリプトメリア　ジャポニカ（Cryptomeria japonica）に見いだされたCryjIアレルゲンは、クプレスサス セミパービレンス（Cupressus sempervirens）を含む他の種の木に由来する花粉中のアレルゲンと交叉反応性であることも分かった。Panzaniら（Annals of Allergy 57:26-30（1986））は皮膚試験（RASTおよびRAST阻害）において、クプレスサス セミパービレンス（Cupressus sempervirens）およびクリプトメリア　ジャポニカ：Cryptomeria japonica）の花粉中のアレルゲンの間に、交叉反応性が検出されたことを報告した。マウンテンシーダー（ジャニペルス サビノイデス：Juniperus sabinoides、ジャニペルス アシェイ：Juniperus asheiとしても知れらている）から単離した50kDaのアレルゲンは、CryjIアレルゲンのNH_2-末端配列の最初の5つのアミノ酸と同じ配列であるNH_2-末端配列を有する。このCryjIアレルゲンは、以下の種の木とアレルギー交叉反応性であることも判明した：クプレスサス アリゾニカ（Cupressus arizonica）、クプレスサス マクロカルパ（Cupressus macrocarpa）、ジャニペルス バージニアーナ（Juniperus virginiana）、ジャニペルス コムムニス（Juniperus communis）、ズーヤ　オリエンタリス（Thuya orientalis）およびシャマエシパリス オブツサ（Chamaecyparis obtusa）。
アレルゲンに対する減感作を施すために、スギ花粉抽出物の投与によるスギ花粉症の治療が試みられた。しかしスギ花粉抽出物を使用する脱感作は、高投与量を使用するとアナフィラキシーを発症するという欠点があり、一方アナフィラキシーを回避するために低投与量を使用すると、抽出物に対する免疫学的寛容を確立するために治療は数年続けなければならない。
国際公開第94/01560号明細書は、スギ花粉または免疫的に交叉反応性の花粉アレルゲンに対する感受性を治療するための改良された組成物および方法を開示し、これはスギ花粉抽出物を使用する脱感作療法に付随する潜在的な悪作用を大いに少なくする。国際公開第94/01560号明細書は、スギ花粉－感受性個体、またはスギ花粉アレルゲンと交叉反応性のアレルゲンに対してアレルギーの個体に投与した時、スギ花粉またはそのような交叉反応性アレルゲンに対する個体のアレルギー応答を、下方調節できる、CryjI由来の単離された抗原性断片またはペプチドを開示する。個体のアレルギー応答のそのような下方調節は、スギ花粉により誘導される喘息症状を含む古典的なアレルギー症状の減少または軽減を導く。そのような抗原性断片は、スギ花粉アレルゲンで攻撃（チャレンジ）した時に、刺激（すなわち、Ｔ細胞増殖またはリンホカイン分泌）のようなＴ細胞応答をもたらすことができ、かつ／またはＴ細胞非－非応答を誘導できるか、またはＴ細胞応答の減少を誘導で

きる、と開示されている。さらに国際公開第94/01560号明細書は、治療用の使用に適する最も好適なCryjIペプチドは、CryjIに特異的なIgEと結合しないか、あるいは天然のCryjIアレルゲンよりは実質的に低い程度でIgEに結合し、これによりそのようなペプチドが関与する治療的処方において、アナフィラキシーの可能性を減少するか、または排除することを開示する。最後に国際公開第94/01560号明細書は、上記の特徴を有するペプチドを開示する。

様々な予備配合の努力の結果、本発明は新規な修飾されたCryjIペプチド、ならびにヒトおよび他の哺乳類のスギ花粉アレルギーを治療するための使用に適する製剤の調製に最適な修飾されたCryjIペプチドの新規な組み合わせ、および配合を提供する。至適化されたヒトへの製剤として使用するための、そのようなCryjIペプチドおよびその組成物は、これまでに開示または意図されたことはなかった。

発明の要約

本発明は、スギ花粉アレルゲンまたはスギ花粉アレルゲンと免疫学的に交叉反応性の花粉アレルゲンに対するアレルギーに罹患しているヒトの治療的処置のための至適化された製剤を開発するために、予備配合スキームの一部として修飾されたCryjIの新規ペプチドを提供する。そのような修飾されたペプチドは、それらを製剤組成物に特に適するようにする特定の独特な特徴を有する。さらに本発明は、修飾されたCryjIペプチドの独特な特性を適応させ、そして維持するために、そして同時にヒトのスギ花粉アレルギーの処置のための治療用処方に使用された時、最大の治療効果を提供するために至適化された治療用組成物およびマルチペプチド組成物を提供する。

図面の説明

図１は、５’非翻訳配列の66ヌクレオチド、メチオニンのコドンから始まる1122ヌクレオチドの読み取り枠、および３’非翻訳領域を含む1312ヌクレオチドから成るCryjI（配列番号３９）の完全なｃＤＮＡ配列を表す。図１はまた、CryjIの短縮化アミノ酸配列（配列番号40）も表す。

図２は、CryjIに由来するペプチドと10個まで重複する35種類の重複20merペプチドを表す。

図３は、本発明の新規な“独特”のペプチドのアミノ酸配列を表す。

図４は、精製した天然のCryjIでインビトロにて釣り上げた25名の患者からのＴ細胞の応答をグラフで表し、そして図２に示す35種の重複する20merのCryjIペプチドに対する反応を、少なくとも2つ（各棒の上に示す）のS.I.での反応パーセント（陽性）、ペプチドに関する陽性反応の刺激指数（各棒の上のカッコ内に示す）、そして陽性指数（Ｙ軸）により分析した；

図５は、図２に示す重複CryjIペプチドおよび図３に示す新規な本発明の“独特”なペプチドに対するＴ細胞反応をグラフで表す。各棒の上（カッコ内）に平均S.I.ならびに応答パーセントを示し、陽性指数（応答パーセントを掛け算した平均S.I.）はＹ軸である。

図６ａは、50mMリン酸塩緩衝液中（５％マンニトールを含み、そして22℃で、95.2％の推定ペプチド含量および2.7％アセテートを含む）のCJI-24.5（配列番号３６）（脱塩）のpH溶解性プロフィールである。

図６ｂは、50mMリン酸塩緩衝液中（５％マンニトールを含み、そして22℃で、83.5％の推定ペプチド含量および1.9％アセテートを含む）のCJI-43.39（配列番号３７）（脱塩）のpH溶解性プロフィールである。

図６cは、50mMリン酸塩緩衝液中（５％マンニトールを含み、そして22℃で、86.％の推定ペプチド含量および1.5％アセテートを含む）のCJI-44.8（配列番号３８）（脱塩）のpH溶解性プロフィールである。

本発明の詳細な説明

本発明は、スギ花粉アレルゲンまたはスギ花粉アレルゲンと免疫学的に交叉反応性の花粉アレルゲン（クプレスサス セミパービレンス（Cupressus sempervirens）、ジャニペルス サビノイデス：Juniperus sabinoides（ジャニペルス アシェイ：Juniperus asheiとしても知れらている）、クプレスサス アリゾニカ（Cupressus arizonica）、クプレスサ

ス マクロカルパ（Cupressus macrocarpa）、ジャニペルス バージニアーナ（Juniperus virginiana）、ジャニペルス コムムニス（Juniperus communis）、ズーヤ オリエンタリス（Thuya orientalis）およびシャマエシパリス オブツサ（Chamaecyparis obtusa）に対するアレルギーに罹患しているヒトの治療的処置のための至適化された製剤を開発するために、予備配合スキームの一部として修飾されたCryjIの新規ペプチドを提供する。そのような修飾されたペプチドは、それらを製剤組成物に特に適するようにする特定の独特な特性を有し、そして本明細書においてはこれらを“独特な”ペプチドと呼ぶ。

薬化学によれば、予備配合は安定で、効果的で、かつ安全な投与形態の組成物に重要であると考えられている薬剤の物理的および化学的特性の決定および／または定義を通して、薬剤を至適化する工程である。最終的な製剤に使用することを意図する様々な成分との相互作用の可能性も考慮する。予備配合は、溶解性、安定性のｐＨプロフィールおよび薬剤－賦形剤相互作用といったパラメーターの研究を含む徹底的な研究であり、この研究は薬剤の生理学的利用性ならびに物理および化学的安定性に関する十分な効果もあるかもしれない。そのような研究から得たデータは、活性薬剤成分に関する予備的な薬学的および生化学的研究と統合されて、最高の薬剤形態、およびこの開発に使用するために最も望ましい賦形剤の選択を可能にする情報を提供する。

活性薬剤成分および賦形剤の最適な配合の開発は、複雑であり、そして多くの因子が組成物の性質に影響する。高度な均一性、生理学的利用性および医薬品に期待される治療的性質は、かなりの努力と技術によってのみ達成できる。また柔軟性も予備配合には重要な因子である。多数の賦形剤、安定化対イオン等が、組成物の活性薬剤成分との適合性を見いだすために試験されなければならないかもしれない。成功裏に製剤を配合するために、活性成分の多種の変更が必要になるかもしれない。そのような変更は薬剤全体の治療効果には影響しないが、同時に薬剤を組成物により適するようにするものでなければならない。CryjIに対する感受性の治療のために、ヒトおよび他の哺乳類に使用するのに適する、至適化された製剤を提供するための予備配合スキームの一部として、そのような組成物中の活性成分（ペプチドまたは候補ペプチド）は、CryjI配列に由来するすべての可能性のあるペプチドの中で、これらのペプチドを“独特”とする以下の特徴を有するべきである。第一に独特なペプチドは単独で、または他の独特なペプチドと組み合わせて、CryjIタンパク質アレルゲンに感受性の個体に実質的な割合で、Ｔ細胞非応答またはＴ細胞の応答の減少を誘導するために、十分な割合のCryjIタンパク質アレルゲンのＴ細胞反応性を含んで成るべきである。第二に、候補ペプチドは水性緩衝液中でpH6からpH8のpH範囲で、5mg/mlより高い溶解性というような本明細書中で定義する“超溶解性”の特性を有するべきである。第三に、ペプチドは水性緩衝液中でpH6からpH8のpH範囲のpHで安定である。本発明で“独特”なペプチドと決定された候補ペプチドは、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）であり、すべて図３に示す。

第一の特性により、Ｔ細胞増殖またはリンホカイン分泌（すなわち、少なくとも１つのＴ細胞エピトープを含んで成る）のようなＴ細胞応答を現すか、あるいはＴ細胞非－応答性またはＴ細胞応答の減少を誘導すると判明したこれらのペプチドは、Ｔ細胞反応性を有すると考えられる。Ｔ細胞エピトープは、アレルギーの臨床的症状の原因であるタンパク質アレルゲンに対する免疫応答の開始および持続に関与していると思われる。これらのＴ細胞エピトープは抗原提示細胞上の適切なHLA分子と結合し、そして関連するＴ細胞亜集団を刺激することにより、Ｔヘルパー細胞のレベルで初期の出来事の引き金を引くと考えられる。これらの出来事が、Ｔ細胞増殖、リンホカイン分泌、局部炎症反応、さらなる免疫細胞の部位への再集合、および抗体生産を導くＢ細胞カスケードの活性化を導く。これらの抗体の１つのイソタイプ、IgEはアレルギー症状の発生に基本的に重要であり、その生産は分泌されるリンホカインの性質により、Ｔヘルパー細胞のレベルで、カスケードの初期の出来事により影響される。Ｔ細胞エピトープは、Ｔ細胞レセプターによる認識の基本的要素または最小単位であり、ここでエピトープはレセプター認識に必須のアミノ酸を含んで成る。スギ花粉患者が、少なくとも１つのＴ細胞エピトープを含んで成る単離されたCryjIペプチドに暴露されると、例えばアネルギー、免疫学的寛容もしくはアポトーシス

、天然に存在する自己抗原への暴露と比べてリンホカイン分泌プロフィールを変化させる能力；および／またはＴ抑制細胞の誘導を引き起こす能力を介して、タンパク質アレルゲンに対して非応答になるか、または応答性が減少し、そしてそのような暴露に際して免疫反応の刺激に参加しないように、適当なＴ細胞亜集団のＴ細胞非－応答性を引き出すことができると考えられている。

Ｔ細胞反応性を有し、そして少なくとも１つのＴ細胞エピトープを含んで成るペプチドを決定するために、単離されたペプチドを、例えばＴ細胞生物学的法により試験して、そのペプチドがＴ細胞応答を現すか、またはＴ細胞非－応答性を誘導するかどうかを決定する。実施例で考察するように、ヒトＴ細胞刺激活性は、スギ花粉アレルゲンに対して感受性の個体（すなわちスギ花粉アレルゲンに対してIgE媒介免疫応答を有する個体）から得たＴ細胞を、CryjIから得たペプチドまたは修飾ペプチドと培養し、そしてＴ細胞増殖が例えばトリチル化チミジンの細胞取り込みにより測定されるように、ペプチドに反応して起こるかどうかを決定する。ペプチドに対するＴ細胞応答の刺激指数は、ペプチドに反応するCPM（１分あたりの最大カウント）を対照CPMで割り算して算出できる。バックグラウンドレベルの２倍以上の刺激指数（S.I.）を、“陽性”と考える。陽性結果は試験した患者群に関して、各ペプチドの平均刺激指数を算出するために使用する。最終的な製剤中の配合物の候補として適するペプチドは、2.0以上の平均Ｔ細胞刺激指数を有し、そして好ましくはより高い（例えば、少なくとも2.5、より好ましくは少なくとも3.5、より好ましくは少なくとも4.0、さらに好ましくは少なくとも５、さらに一層好ましくは少なくとも７、そして最も好ましくは少なくとも約９）。

治療目的のために、候補ペプチドは少なくとも10％、より好ましくは少なくとも20％、さらに好ましくは少なくとも30％、そして一層好ましくは少なくとも40％以上のスギ花粉に感受性の個体群に認識される。さらに、好適な候補ペプチドは、少なくとも約100、よりこの好ましくは少なくとも約250、そして最も好ましくは少なくとも約350の陽性指数（P.I.）を有する。ペプチドに関するこの陽性指数は、平均Ｔ細胞刺激指数に、そのようなペプチドに対して少なくとも2.0のＴ細胞刺激指数を有するスギ花粉に対して感受性の個体群中の個体のパーセント（例えば少なくとも15個体、より好ましくは少なくとも30個体以上を対象とする）を掛け算することにより決定される。このように陽性指数は、スギ花粉に感受性の個体群を対象として、ペプチドに対するＴ細胞応答の強さ（S.I.）およびペプチドに対するＴ細胞応答の頻度の両方を表す。

１つのペプチド（候補ペプチド）または候補ペプチドの組み合わせが、CryjIに感受性の個体群に実質的な割合で、Ｔ細胞非応答を誘導するためにCryjIの十分な割合のＴ細胞反応性を含んで成るのかどうかを決定するために、アルゴリズムを使用できる。そのような１つのアルゴリズムに従い、CryjIを所望の長さの少なくとも２つの重複ペプチド領域に『計画的に分割することにより（例えば、約12－30のアミノ酸残基長、好ましくは約25アミノ酸残基長より長くなく、約5－15の重複アミノ酸残基を有する）、１組の重複ペプチドを作成する。例えば図２を参照にされたい。このペプチド領域への分割は任意に行うことができ、アルゴリズムに従い作成でき、あるいは少なくとも１つのＴ細胞エピトープを含んで成ると知られているCryjIの領域の全部または部分に基づくこともできる。好ましくは全CryjIタンパク質配列の少なくとも50％、そしてより好ましくはCryjIの全タンパク質配列を、２つ以上のペプチドに分割する。ヒトＴ細胞刺激指数は各ペプチドに関しては、タンパク質アレルゲンに対して感受性の個体群で試験した各個体について、本明細書に記載するインビトロＴ細胞増幅アッセイで決定する。例えば、図４を参照にされたい。候補ペプチドまたは候補ペプチドの組み合わせは、少なくとも部分的には試験したペプチド組の候補ペプチドの平均ヒトＴ細胞刺激指数、および試験したペプチド組の候補ペプチドの陽性指数に基づき選択される。例えば図５を参照にされたい。候補ペプチド（１つまたは複数）に関するヒトＴ細胞刺激指数をまとめる。各個人について、候補ペプチド（１つまたは複数）に関するヒトＴ細胞刺激指数を、試験したペプチド組中の残りのペプチドのヒトＴ細胞刺激指数の和で割り算して、以下に示すようにＴ細胞反応性の割合を決定する：

（1）候補ペプチド（１つまたは複数）の％Ｔ細胞反応性＝

$$\frac{\text{候補S.I.}}{\text{重複ペプチド組のS.I.の和}} \times 100$$

あるいは、候補ペプチド中のＴ細胞エピトープの存在は、タンパク質抗原のアミノ酸配列中の候補ペプチドのＮ－末端またはＣ－末端のいずれかに位置する重複ペプチドのアミノ酸残基に依存するが、そのようなエピトープが候補ペプチド中には存在しない場合は、以下の式を使用することにより、候補ペプチド中のＴ細胞反応性の存在を算出できると考えられる：

（2）候補ペプチド（１つまたは複数）の％Ｔ細胞反応性＝

$$\frac{N_T\text{フランキングペプチドのS.I.}+\text{候補ペプチドのS.I.}+C_T\text{フランキングペプチドのS.I.}}{\text{重複ペプチド組のS.I.の和}} \times 100$$

この式において、“N_Tフランキングペプチド”とは、このペプチドが由来するタンパク質抗原のアミノ酸配列において候補ペプチドのＮ－末端に位置するアミノ酸残基と重複するアミノ酸残基を含んで成るペプチドを言い；“C_Tフランキングペプチド”とは、このペプチドが由来するタンパク質抗原のアミノ酸配列において候補ペプチドのＣ－末端に位置するアミノ酸残基と重複するアミノ酸残基を含んで成るペプチドを言う。この計算で、候補ペプチドに関する刺激指数は、Ｎ－末端フランキングペプチドおよびＣ－末端フランキングペプチドを加え、そして重複ペプチドの全組に関する全刺激指数の和で割り算することにより、候補ペプチドに関するＴ細胞反応性のパーセントを得る。２つ以上の候補ペプチドの組み合わせが選択されるならば、その各々が重複するアミノ酸残基を含むが、この計算を各候補ペプチドについてＴ細胞反応性の割合を決定するために別々に使用できない。しかし、候補ペプチドの組み合わせに関するＴ細胞反応性の全パーセントを得ることができる。この場合、重複するすべての候補ペプチドの刺激指数が計算に含まれる。

各個人の試験で、候補ペプチドまたはペプチドの組み合わせに関するＴ細胞反応性のパーセントについて得られた値は、上記計算の結果より低い、および高い値の範囲を表すことができる。上記のいずれかの計算により、タンパク質抗原に対して感受性の少なくとも約（20）、そして好ましくは少なくとも約（30）の個体についてパーセントを得、そして平均パーセントを決定する。本発明の組成物に使用するために、候補ペプチドまたは候補ペプチドの組み合わせは以下の基準を有する：（１）候補ペプチドまたは候補ペプチドの組み合わせは、少なくとも約10％、好ましくは少なくとも約20％、より好ましくは少なくとも約30％、より好ましくは少なくとも約40％、そしてさらに好ましくは少なくとも約50－60％以上の平均パーセントを有する；そして（２）試験した個体群において、少なくとも約60％、好ましくは少なくとも約75％、そしてより好ましくは少なくとも約90－100％が、陽性Ｔ細胞応答（2.0以上のS.I.）を、候補ペプチドまたは候補ペプチドの組み合わせに反応して有する。上記基準に合う候補ペプチドまたは候補ペプチドの組み合わせは、CryjIに対して感受性の個体群に実質的な割合で、Ｔ細胞非－応答またはＴ細胞応答の減少を誘導するために、CryjIに対する実質的なパーセントのＴ細胞反応性を含んで成るようである。

上記記載のアルゴリズムの説明的な態様として、CryjIに由来する１組の重複ペプチドおよび候補ペプチド、CJI-24.5、CJI-23.39およびCJI-44.8を作成し、そして試験した。CryjIタンパク質抗原と反応性であると定められた二代目のＴ細胞カルチャーを、36名のCryjI-アレルギー性患者から得、そして重複ペプチド組の反応性を本明細書に記載したインビ

トロＴ細胞増殖アッセイで分析した。結果を図５に示す。各ペプチドに反応して2.0以上の最高の刺激指数を、試験した各個体について記録した。次にデータを上記式により分析した。１人のCryjI-アレルギー性個体について、この結果、およびＴ細胞反応性の計算を式（１）および（２）を使用して、以下に示す。

患者１３０８に関するＴ細胞反応性

ペプチド	刺激指数
ＣＪＩ－１（配列番号１）	１０．９
ＣＪＩ－２（配列番号２）	１６．１
ＣＪＩ－３（配列番号３）	８．８
ＣＪＩ－４（配列番号４）	０
ＣＪＩ－５（配列番号５）	３．２
ＣＪＩ－６（配列番号６）	０
ＣＪＩ－７（配列番号７）	２．５
ＣＪＩ－８（配列番号８）	０
ＣＪＩ－４１（配列番号４１）	８．９
ＣＪＩ－１１（配列番号１１）	０
ＣＪＩ－１２（配列番号１２）	０
ＣＪＩ－１３（配列番号１３）	０
ＣＪＩ－１４（配列番号１４）	０
ＣＪＩ－１５（配列番号１５）	９
ＣＪＩ－４２．５（配列番号４２）	１７．６
ＣＪＩ－１８（配列番号１８）	０
ＣＪＩ－１９（配列番号１９）	０
ＣＪＩ－２０（配列番号２０）	０
ＣＪＩ－２１（配列番号２１）	０
ＣＪＩ－４３．３９（配列番号３６）	２５．６
ＣＪＩ－２３（配列番号２３）	５．３
ＣＪＩ－２４．５（配列番号３７）	６．９
ＣＪＩ－２５（配列番号２５）	９．４
ＣＪＩ－２６（配列番号２６）	１１．９
ＣＪＩ－２７（配列番号２７）	５．５
ＣＪＩ－２８（配列番号２８）	０
ＣＪＩ－２９（配列番号３９）	２．９
ＣＪＩ－３０（配列番号３０）	０
ＣＪＩ－４４．８（配列番号３８）	２１．５
ＣＪＩ－３３（配列番号３３）	２０．９
ＣＪＩ－３４（配列番号３４）	１７．８
ＣＪＩ－３５（配列番号３５）	０
刺激指数の和	：　１９５．７（分母）

患者1308に関するペプチド44.8の％反応性

(1) $$\frac{\text{CJ1 - 44.8 (S.I.)}}{195.7} = \frac{21.5}{195.7} \times 100 = 11\%$$

(2) $$\frac{\text{CJ1 - 30 + CJ1-44.8 + CJ1-33 (S.I.s)}}{195.7} = \frac{0 + 21.5 + 20.9}{195.7} \times 100 = 21.7\%$$

したがって、この患者に関するペプチド44.8（配列番号３８）のＴ細胞反応性の予想範囲は、CryjIタンパク質の全反応性の11－21.7％である。上記計算を任意の可能性のある候

補ペプチドで繰り返す。試験した36名のCryjI-アレルギー性患者において、以下の結果を得た：

候補ペプチド	T細胞反応性の平均パーセント範囲	少なくとも１つのペプチドの応答頻度
CJ1-24.5 + CJ1-43.3 + CJ1-44.8	36-53%	97%

このように、本発明の３つのペプチドの組み合わせは、組み合わせて十分なCryjIのＴ細胞反応性を有する範囲内であり、したがって本発明の“独特“なペプチドという第一の基準に合っている。

本発明の方法によるアレルギー治療には、組み合わせて使用するペプチドが免疫グロブリンＥ（IgE）に結合しないか、またはペプチドが由来するCryjIタンパク質アレルゲンよりも実質的に少ない程度（すなわち少なくとも100倍少ない結合、より好ましくは少なくとも1,000倍少ない結合）でIgEに結合することが好ましい。標準的な免疫療法での主な複雑さは、アナィフラキシーのようなIgE-媒介反応である。免疫グロブリンＥは、アレルギー性（“アトピー性”）患者において、抗原がマスト細胞または好塩性細胞上のIgEに結合あるいは架橋結合し、そしてメディエーター（例えばヒスタミン、セロトニン、好酸球遊走因子）を放出する結果生じるアナィフラキシー反応のメディエーターである。このように、治療されるべきアレルゲンに感受性の個体群で実質的割合のアナフィラキシーは、CryjIに感受性の個体群において、IgEに結合しない１つのペプチドまたは複数のペプチドを免疫療法に使用することにより実質的な割合で（例えば少なくとも約75%）回避できるか、あるいはもしペプチドがIgEと結合しても、そのような結合はマスト細胞または好塩性細胞からメディエーターを放出しない。アナフィラキシーの危険性は、IgE結合性が減少した１つのペプチドまたは複数のペプチドを免疫療法に使用することにより減少させることができた。IgE結合は、例えば直接的なELISAまたは捕捉ELISAにより試験できる。さらに、最小のIgE刺激活性を有するペプチドが治療効力のためには望ましい。最小のIgE刺激活性とは、天然のCryjIタンパク質アレルゲンにより刺激されるIgE生産量および／またはIL-4生産量よりも少ないIgE生産を言う。もしペプチドがIgEに結合するならば、そのような結合がマスト細胞または好塩性細胞からメディエーター（例えばヒスタミン）の放出を生じないことが好ましい。IgEに結合するペプチドがメディエーターを放出するかどうかを測定するために、ヒスタミン放出アッセイを、例えばアマック社（Amac,Inc.、ウエストブロック、メリーランド州）から得た標準試薬および手法を使用して行うことができる。簡単に説明すると、試験するペプチドの緩衝液をアレルギー患者からの等容量の全ヘパリン処理血液と混合する。混合そしてインキューベーションした後、細胞をペレットとし、そして上清を処理して放射性免疫アッセイを使用して放出したヒスタミン量を測定する。実施例３に記載するように、本発明の候補ペプチド、24.5（配列番号３７）、43.39（配列番号３６）および44.8（配列番号３８）は、IgEとは結合しないようである。

第二の独特なペプチドの特徴は、既に定義したようなpH6－pH8のpH範囲のpHで5mg/mlよりも大きい溶解性の“超溶解性”である。生理学的に許容できるpH範囲（例えば、pH6－pH8）内のpHでの溶解性は、注射用のマルチペプチド治療剤を配合するときに特に重要である。生理学的に許容できるpH範囲での可溶性製剤の静脈または皮下注射による投与は、薬剤が導入される生理学的系に薬剤成分の100%の生物利用性を提供する。したがって、注射を意図する製剤はシリンジで容易に注射できる程度に流体である必要があり、そして最大の治療効果を達成するためには、活性成分も十分に可溶性である必要がある。また溶解性は、経口投与（錠剤、エアゾール、舌下）のような他の投与様式を介して投与される組成物を配合する時、または徐放性組成物および配合物にも有用である。

ペプチドは任意の所望するpH範囲では可溶性ではなく、あるいはわずかに狭いpH範囲でのみ可溶性であるため、１つのタンパク質またはペプチドを可溶性組成物に配合することは難しいかもしれない。特に、多数のペプチドを一緒に１つのマルチペプチド組成物中に配合する時、各ペプチドの可溶性pH範囲が組成物中の他のペプチドの可溶性範囲とは重複し

ないので、特に難しい。その結果、目的とする候補ペプチドをかなり修飾して、ほとんどの配合物との柔軟性を要求する“超溶解性”という必要条件が、マルチペプチド製剤を成功裏に配合するためには必須であるかもしれない。

本発明の独特のペプチドは、元の目的とする候補ペプチド配列（“親”）の多くのアミノ酸を変更した生成物であり、この（“親”）から本発明の修飾された独特なペプチドが“超溶解性”という特性に適するペプチドを見出す目的で初めに引き出された。例えば、CJI-44.8（配列番号３８）のアミノ酸配列は、CryjI（配列番号４０）のタンパク質配列から、最初に親タンパク質（図１）のこれらの領域を、実施例１に記載するような20-merの重複ペプチドの組を使用して高いＴ細胞反応性で同定することにより取り出し、これを図２に示すが、これは全配列を網羅する。これらの２つのペプチド、CJI-31（配列番号３１）およびCJI-32（配列番号３２）は、個々に高いＴ-細胞反応性を表した。これらのペプチドは天然のタンパク質配列中（図１）で互いに隣接し、かつ10残基が重複し、ペプチドCJI-44は両ペプチドの総Ｔ細胞反応性を捕捉するように合成された。CJI-44はアミノ酸配列DEEGAYFVSSGKYEGGNIYTKKEAEFNVE（配列番号４３）を有する30merのペプチドであり、これは2つの20merのCJI-31（配列番号３１）およびCJI-32（配列番号３２）のペプチドに存在するすべての配列を含む。しかし、CJI-44（配列番号４３）は2つの20mer、CJI-31（配列番号３１）およびCJI-32（配列番号３２）のＴ細胞反応性を有するが、CJI-44（配列番号４３）の溶解性を試験した時、本発明の“独特”なペプチドに必要な5mg/mlの溶解性よりもはるかに低い溶解性を有した。

ここでさらに、CJI-44のＮ－末端部分を短縮化することにより溶解性を増大することを試み、これによりCJI-44.1を生成した（NGAYFVSSGKYEGGNIYTKKEAFNVE）（配列番号４４）。さらに２つのＣ－末端残基を短縮して44.2を生成した（NGAYFVSSGKYEGGNIYTKKEAFN）（配列番号４５）。しかし、これらの配列で溶解性は増したが、“超溶解性”の標準には達しなかった。そこで44.2（配列番号４５）を、Ｎ－末端に電荷を付加（親水性残基）することにより、そして疎水性残基Valをより低い疎水性残基Alaに置換することにより、さらに修飾した。２つの生成した類似体、CJI-44.5（DENGAYFVSSGKYEGGNIYTKKEAFNAE）（配列番号４６）およびCJI-44.6（DEENGAYFVSSGKYEGGNIYTKKEAFNVE）（配列番号４７）は、“１ｐＨ点プロトコール法”（例えばマンニトールを含まない100mMのリン酸ナトリウム緩衝液中、一定の撹拌下で、1pH点で溶解性を決定するプロトコール）の使用に対して、溶解性の増大を示した。さらなる類似体は、残基Asnを欠失させて構築した。これら２つの類似体、CJI-44.7（DEGAYFVSSGKYEGGNIYTKKEAFNAE）（配列番号４８）およびCJI-44.8（DEEGAYFVSSGKYEGGNIYTKKEAFNVE）（配列番号３８）は、“１ｐＨ点プロトコール”で大変溶解性が高く、そして“pH範囲プロトコール法”（すなわち最初に撹拌した後は撹拌せずに、5%のマンニトールを含む50mMのリン酸ナトリウム中でpHの関数として溶解性を測定する）で“超溶解性”を活性化した。CJI-44.8（配列番号３８）は安定であり、そして溶解性は水性緩衝液中でpH6－8にわたるpHで5mg/mlより高かった（実施例４および図６ｃを参照にされたい）。

ペプチドCJI-44.8（配列番号３８）が、その親ペプチド、CJI-31（配列番号３１）、CJI-32（配列番号３２）およびCJI-44（配列番号４３）と同様のＴ－細胞反応性を保持していることを確認した後（実施例２を参照にされたい）、そして以下に考察するようなその安定性を確認した後に、“独特”のペプチドであると決定した。他の“独特”なペプチド、CJI-24.5（配列番号３７）およびCJI-43.39（配列番号３６）の開発は、上記のCJI-44.8（配列番号３８）に記載したものに従った。

本発明の独特なペプチドが満たさなければならない第三の基準は、pH6－pH8の範囲で生理的に許容できるpHでの安定性である。ペプチドは製造または保存の条件下で、そしてもし必要ならば再構成の条件下で安定でなければならない。安定性試験は、最終的な投与形態で製剤の完全性、品質および純度が妨害される時間を決定する。安定性試験は、実施例４に考察したように溶解性の実験と同時に行うことができる。本発明の各々の候補ペプチドは、pH6－8のpH範囲の生理学的pHで、室温で少なくとも24時間、安定であった（例えば有意な分解が無い）。

したがって、候補ペプチドCJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）は上記に概説した必要とされる３つの“独特”な特性のそれぞれを有し、このペプチドの組み合わせが、スギ花粉アレルゲンに対するアレルギーを治療するために、ヒトに投与するための至適化された治療用製剤として配合するのに適することを示す。

本発明の高度に精製されたペプチドは、標準的方法を使用して化学合成により合成的に生成できる。市販されているペプチド合成機で、全または半自動化された固相合成のような、様々なペプチドの化学合成法が当該技術分野で知られている。次に合成的に生成したペプチドは均一に精製され（すなわち、少なくとも90％、より好ましくは少なくとも95％、そしてさらに一層好ましくは少なくとも97％純度）、すべての他のポリペプチドおよび混入物は、タンパク質精製に関して文献で知られている任意の多くの方法を使用して除去される。

本発明の高度に精製された均一なペプチドを生成するための１つの方法に従い、合成の化学手段により生成したペプチド（ポリマー支持体に連結された“固相合成”、または従来の均一化学反応の“溶液合成”のいずれか）は、調製用逆相クロマトグラフィーにより精製できる。この方法では、合成で生成した“粗”状態のペプチドを、適当な溶媒（典型的には水性緩衝液）に溶解し、そして分離カラム（典型的には逆相シリカを基本とした媒体、さらにポリマーまたは炭素を基本とした媒体も使用できる）に添加する。ペプチドをカラムから、水性緩衝液（典型的にはＴＦＡ、リン酸トリエチルアミン、酢酸塩または同様の緩衝液）中の有機成分（典型的にはアセトニトリルまたはメタノール）の濃度を増加させることにより溶出する。溶出液の画分を集め、そして適当な分析法（典型的には逆相ＨＰＬＣまたはＣＺＥクロマトグラフィー）により分析する。必要な均一性を有する画分をプールする。存在する対イオンは、次に選択した塩の中でのさらなる逆相クロマトグラフィーまたはイオン交換樹脂により変えることができる。このペプチドを次にその酢酸塩または他の適当な塩として単離できる。ペプチドを次に濾過し、そして水を除去（典型的には凍結乾燥による）して、少なくとも90％、より好ましくは95％、そしてさらに一層好ましくは少なくとも97％の必要とするペプチド成分を含む均一なペプチド組成物を得る。場合によっては、上記の逆相ＨＰＬＣと組み合わせて、精製はアフィニティークロマトグラフィー、イオン交換、サイズ排除、向流または通常の相分離システムにより、あるいはこれらの方法を組み合わせることにより、行うことができる。ペプチドは限外濾過、ロータリーエバポレーション、沈殿、透析または他の同様な方法により、さらに濃縮できる。

高度に精製された均一なペプチド組成物は、次に以下の任意の方法により、またはその組み合わせにより特性を決定することができる：ａ）ペプチドの同一性を確認するために分子量を測定するためのマススペクトロメトリー；ｂ）アミノ酸組成を介して、ペプチドの同一性を確認するためのアミノ酸分析：ｃ）アミノ酸残基の定めた配列を確認するためのアミノ酸シークエンシング（自動化タンパク質シークエンサーまたは手動を使用する）；ｄ）ペプチドの同一性および純度を検査するために使用するＨＰＬＣ（所望により多くのシステム）（すなわち、ペプチドの不純物を同定する）；ｅ）ペプチド組成物の水濃度を測定するための水含量；ｆ）ペプチド組成物中の塩の存在を測定するためのイオン含量；およびｇ）残存有機試薬、出発物質、および／または有機混入物を検査するための残存有機物質。

本発明のペプチドは、そのようなペプチドをコードする核酸配列で形質転換した宿主細胞中で、組換えＤＮＡ法により生産することもできる。組換え法により生産した時、所望のペプチドをコードする核酸で形質転換した宿主細胞を、細胞に適する培地中で培養し、そして単離したペプチドを細胞培養培地、宿主細胞またはその両方から、イオン交換クロマトグラフィー、限外濾過、電気泳動または所望のペプチドに特異的な抗体を用いた免疫精製法を含むペプチドおよびタンパク質の精製について当該技術分野で周知の方法を使用して精製できる。組換え的に生産したペプチドを使用するためには、合成的に生成したペプチド用に上記に記載した方法に従い単離そして均一に精製し、細胞性物質、他のポリペプチドまたは培地を含まない。

特定の限られた状況において、本発明のペプチドは、化学的消化または酵素的開裂の部位がすでに決定され、そして生じる消化に再現性がある、高度に精製された完全長の、または天然のタンパク質の化学的または酵素的開裂により生成することもできる。定めたアミノ酸配列を有するペプチドは、合成的または組換え的に生成したペプチドを高度に精製し、そして単離するために上記に記載した任意の方法により、酵素的または化学的消化で存在するポリペプチドまたは混入物が無い状態に高度に精製でき、そして単離できる。

また本発明は、本発明の独特なペプチドを含んで成る治療用組成物およびマルチペプチド治療用組成物を意図する。本発明の治療用組成物は、ヒトおよび他の哺乳類のスギ花粉アレルゲンに対するアレルギーを治療するために、１回分の処方として同時に、または連続的に投与できる１つ以上の本発明の独特なペプチドを含んで成ることができる。そのような治療的処方は、本発明の１つ以上のペプチドの物理的混合物である必要は無いが、最大治療効果を達成するために、そのようなペプチドの組み合わせを同時に、または連続して1回分の治療として含んで成り、独特のペプチド、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）の組み合わせを提供する（例えば生理的に許容できるｐＨ範囲（好ましくはpH7.0－pH7.5）で、溶解性および安定性を提供し、ならびに試験した患者の97％に36-53％のＴ細胞反応性をカバーする）。

本発明の治療用組成物は、１つ以上のペプチドCJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）を含んで成り、そしてまた１つの組成物中に存在する１つのペプチドまたは複数のペプチドと適合性がある賦形剤のような１つ以上の医薬的に許容できるキャリアーも含んで成る。組成物がマルチペプチド組成物の時、医薬的に許容できるキャリアーはマルチペプチド組成物中のすべてのペプチドと適合性がなければならない。好適な賦形剤は、制限する訳ではないが、滅菌水、リン酸ナトリウム、マンニトール、あるいはリン酸ナトリウムおよびマンニトールの両方、あるいはこれらの任意の組み合わせを含む。他の適当な賦形剤は制限する訳ではないが、ソルビトール、スクロース、デキストロース、ラクトースデキストランおよびＰＶＰがある。さらに、医薬的に許容できる対イオンを、マルチペプチド組成物の調製中に加えてもよい。医薬的に許容できる対イオンは酢酸塩、ＨＣｌおよびクエン酸塩がある。

本発明の治療用組成物は、製造、保存、輸送および使用条件下で滅菌、安定な状態であるべきであり、そして細菌および真菌のような微生物の混入作用に対して保護されるべきである。組成物の完全性を維持するために（すなわち、混入、長期保存を防ぐ）、本発明の治療用組成物を製造するための好適な手段は、ペプチドおよび医薬的に許容できるキャリアー（１つまたは複数）を、組成物が使用直前に滅菌水のような医薬的に許容できるキャリアー中で再構成される凍結乾燥粉末状態となることができる配合物に調製することである。滅菌注射溶液の調製のための滅菌粉末の場合には、調製の好適な方法は真空乾燥、凍結－乾燥またはスピン乾燥であり、これらは活性成分にさらなる所望の成分を加えて、すでに滅菌濾過したその溶液状態から粉末にする。

好適なマルチペプチド組成物は、独特なCryjIペプチド、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）ならびにリン酸ナトリウムおよびマンニトールを含んで成る。この態様のために、酢酸塩のような適当な対イオンが組成物の調製中に加えられ、そして組成物は好ましくは生理的に許容できるキャリアー（滅菌水のような）中で、使用前に再構成される凍結乾燥粉末状態に調製される。制限するわけではないが、本発明の１つの好適なマルチペプチド組成物の例を以下に記載する。CryjIペプチド、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）は、好ましくは製造中に適当な対イオンと混合されて、以下の組成を有する滅菌状態の、パイロジェンを含まない凍結粉末を含むバイアルを作成する：

活性：CryjIペプチド、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）

ペプチドあたり0.75mg

不活性：0.05Mリン酸ナトリウム、pH6.0－8.0

５％重量／容量　マンニトール、U.S.P.

希釈剤：注射用滅菌水、U.S.P.（最初の再構成）
注射用の0.9％塩化ナトリウム
（最初の再構成後の希釈）
最終ｐＨ：pH7.0－pH7.5
本発明のマルチペプチド組成物は、使用説明書を含むキットの状態で提供されることもできる。
上記の治療用組成物およびマルチペプチド組成物を個体に、好ましくは非-免疫原性の状態で投与することは、個体のスギ花粉またはスギ花粉アレルゲンと免疫的に交叉反応性のアレルゲンに対する免疫反応の下方調節を引き起こすために有効な投与量および投与期間（すなわち、スギ花粉またはスギ花粉誘発喘息を含む関連アレルゲンにより引き起こされるアレルギー症状を減少する）で、周知の方法を使用して行うことができる。ヒトのスギ花粉に対するアレルギー性免疫反応の下方調節は、可能であればいつでも（例えば、Varneyら、British Medical Journal, 302:265-269（1990）を参照にされたい）、あるいは患者毎に（すなわち、患者がスギ花粉により起こるアレルギー症状のいくつか、またはすべてが軽減したと感じる時）に、臨床的に測定できる。
本発明の各ペプチドの独特の特徴は、各ペプチドが“超溶解性”を有することである。したがって、本発明の組成物およびマルチペプチド組成物は、注射（例えば静脈または皮下）による投与に特に適する。しかし、至適化された本発明組成物およびマルチペプチド組成物は、活性薬剤成分の溶解性が所望であるか、または許容できる任意の便利な様式で、例えば注射（皮下、静脈等）、経口投与、舌下、吸入、経皮投与、直腸投与、または可溶性治療剤用に当該技術分野で周知の任意の他の投与経路により投与できる。本発明の１つ以上の治療用組成物の治療的に有効な量を同時に、または連続して、個体に１回分の処方として投与することが好ましいかもしれない。１回分の処方として同時または連続的に投与するためのそのような各組成物は、本発明の独特なペプチド単独で成るか、あるいは本発明に従い、至適化されたマルチペプチド組成物を含んで成るものでもよい。
本発明の１つ以上の治療用組成物およびマルチペプチド組成物の皮下注射については、投薬単位あたり好ましくは約１μｇ－3mg、そしてより好ましくは約20μｇ－1.5mg、そしてさらに一層好ましくは約50μｇ－750μｇの各活性成分（ペプチド）を投与できる。投与の容易さ、および投与量の均一性のためには、単位投薬形態で非経口組成物を配合することが特に有利である。本明細書で使用する単位投薬形態とは、治療するヒト患者に均一に投与するのに適する物理的に分割された単位を言い；各単位は所望のキャリアーと共に所望の治療効果を生成するために計算された、予め定めた量の活性成分を含む。本発明の新規な単位投薬形態の仕様は、（ａ）活性化合物の独特な特性および達成すべき特定の治療効果、ならびに（ｂ）ヒト患者の治療用にそのような活性化合物を配合する技術に固有の制限に支配され、そして直接的に依存する。
本発明の組成物を非経口投与以外の様式で投与するために（すなわち、経口投与による）、組成物の不活性化を防ぎ、または吸収および生物利用性を増大させるための物質で組成物を被覆するか、あるいはその物質とともに投与する必要があるかもしれない。例えば、ペプチド組成物は酵素阻害剤と共に、またはリポソーム状態で投与できる。酵素阻害剤には、膵臓トリプシンインヒビター、ジイソプロピルフルオロホスフェート（DEP）およびトラシロールがある。リポソームには水中油中水CGF乳剤および従来のリポソーム（Strejanら、（1984）J.Neuroimmunol.,7:27）を含む。ペプチドが適当に保護される時、ペプチドは例えば不活性希釈剤または同化できる可食性キャリアーと一緒に経口的に投与できる。このペプチドおよび他の成分は、硬質または軟質殻ゼラチンカプセルに封入するか、錠剤に圧縮するか、あるいは個体の食物に直接的に含ませることもできる。経口治療投与には、活性化合物は賦形剤と一緒に包含され、そして消化性錠剤、バッカル錠、トローチ、カプセル、エリクシル、溶剤、ゲル、懸濁剤、シロップ、カシュ剤等の形態で使用できる。そのような組成物および調製物は、少なくとも１重量％の活性化合物を含むべきである。組成物および調製物の割合は、もちろん可変であってよいが、そして都合よくは単位重量の約5-80％の間であることができる。そのような治療に有用な活性化合物の量は、適切

な投与量が得られるようなものである。さらに、活性化合物は徐放性または制御放出（一定の、または搏動性の放出）調製物または組成物中に包含することができる。
本発明の至適化された薬剤組成物の有効量は、抗原に対する個体の感受性の程度、年齢、性別および個体の体重、ならびにペプチドの個体中での抗原特異的免疫反応の下方調節能力、のような因子に従い変化するだろう。投与量の処方は、最適な治療応答を提供するために調整できる。例えば、幾つかに分けた投与量を日、週、月または年にわたって投与してもよく、あるいは投与量は治療状況の緊急性に示されるように、各々の後の注射を比例的に増加または減少することができる。１つの好適な治療的処方では、治療用組成物の皮下注射は、1週間に1回、3-6週間与えられる。この投与量で各注射を一定にするか、あるいは後の各注射を増加または減少することもできる。追加注射は最初の処置後、約３ケ月から約１年の間隔で投与でき、そして１回の注射だけでよいか、あるいは初期の処置と同様に別に数回の注射が必要かもしれない。
本発明をさらに以下の実施例により説明するが、これらは制限を意図するものではない。
実施例１
重複CryjIペプチドを用いたスギ花粉アレルギー患者のＴ細胞実験
重複ペプチドの合成
スギ花粉CryjIを、20アミノ酸長で10個のアミノ酸が重複する35種のペプチド組に分割した。重複ペプチドは標準的なFmoc/tBoc合成化学を使用して合成し、そして逆相HPLCにより精製した。図２はこれらの実験に使用した重複CryjIペプチドを示している。ペプチド名は実験を通して一貫している。
スギ花粉抗原性ペプチドに対するＴ細胞応答
末梢血単核細胞（PBMC）は、季節的な鼻炎の臨床的症状を示し、そしてスギ花粉にMASTおよび／または皮膚試験が陽性を表すスギ花粉－アレルギー患者から、60mlのヘパリン処理血液をリンパ球分離媒質（LSM）遠心することにより精製した。長期間のＴ細胞系は、完全培地（PRMI-1640、2mM L-グルタミン、100U/mlペニシリン/ストレプトマイシン、5×10^{-5} 2-メルカプトエタノールおよび10mM HEPES、5%の熱不活性化ヒトAB血清を補充）のバルクカルチャー中で$2X10^{6}$PBL/mlを、20μg/mlの部分精製された天然のCryjI（図２と同じ３本のバンドを含む75%純度）を用いて、37℃で７日間、５%のCO_2インキューベーターで刺激して樹立し、Ｔ細胞に反応性のCryjIを選択した。このプライミング抗原の量は、ほとんどの花粉アレルギー患者からのＴ細胞活性化のために最適であると決定した。生細胞を、LSM遠心により精製し、そして5単位の組換えヒトIL-2/mlおよび5単位の組換えヒトIL-4/mlを補充した完全培地中で、最高３週間まで、細胞がこれ以上リンホカインに反応せず、そして“休止“したと考えられるまで培養した。Ｔ細胞が、選択したペプチド、組換えCryjI（CryjI）、精製した天然のCryjまたは組換えAmbaI.1（AmbaI.1）または陽性対照、フィトヘモアグルチニン（PHA）に対して増殖する能力を次に測定した。アッセイのために2×10^{4}の休止細胞を、2×10^{4}の自己エプスタイン-バールウイルス（EBV）-形質転換Ｂ細胞（以下に記載したように調製）（25,000RADSでガンマー照射）の存在下で、2-50μg/mlの選択ペプチド、CryjI、精製した天然CryjIまたはrAmbaI.1またはPHA（200μlの完全培地中）を用いて、96-ウェルの丸底プレート中で2連または3連で、2－4日間再刺激した。最適なインキューベーションは、３日間であることが分かった。各ウェルは次に１μCiのトリチル化チミジンを16-20時間受容した。取り込まれたカウントをガラスフィルターマット上に集め、そして液体シンチレーションカウンターで処理した。集めたデータ（示さず）では、組換えCryjI、精製した天然のCryjIおよび組換えAmbaI.1および上記のように合成した幾つかの抗原性ペプチドを用いたアッセイで、様々な抗原投与量の効果が示された。幾つかのペプチドはこれらのアッセイでは高濃度で阻害物質であることが判明した。この力価はＴ細胞アッセイでペプチドの投与量を至適化するために使用した。各ペプチドの力価で最大の反応を、刺激指数（S.I.）として表す。このS.I.は、ペプチドに反応して細胞に取り込まれた１分あたりのカウント（CPM）であり、培地中の細胞のみにより取り込まれたCPMにより割り算した。バックグラウンドレベルの２倍以上のS.I.値は“陽性”であり、そしてペプチドがＴ細胞エピトープを含むと考える。陽性の結果は、試

験した患者群について、各ペプチドに関する平均刺激指数を算出するために使用した。結果（データは示さず）は、患者#999が組換えCryjIおよび精製した天然CryjIならびにペプチドCJ1-2、3、20および22によく反応するが、組換えAmb aI.1には反応しないことを示した。これはCryjI Ｔ細胞エピトープがこの特定のアレルギー患者からのＴ細胞により認識され、そしてrCryjIおよびペプチド３（配列番号４９）、20（配列番号５０）、および22（配列番号５１）がＴ細胞エピトープを含むことを示している。さらにこのエピトープはしばしば隣接する重複ペプチドでは検出されず、したがっておそらく反応性ペプチドの非重複中心残基に広がっているのだろう。対照抗原を用いてプライムしたＴ細胞、または他の抗原に対するCryj Ｉプライムｔ細胞を使用するＴ細胞アッセイでは、有意な交叉反応は見られなかった。

上記の方法は、多数の他の患者でも行った。もし患者がCryjIタンパク質に対して2.0以上のS.I.で反応し、そして患者がCryjIに由来する少なくとも１つのペプチドと2.0以上のS.I.で反応するならば、個々の患者の結果を、各ペプチドの平均S.I.を算出するために使用した。25名の患者からの陽性実験の要旨を、図４に示す。棒は陽性指数を表す。各棒の上は、試験した患者群を対象として、少なくとも２つのペプチドまたはタンパク質のS.I.との陽性応答のパーセントである。各棒の上のカッコは、試験した患者群に関する、各ペプチドまたはタンパク質の平均刺激指数である。25のＴ細胞系が精製した天然CryjIに反応し、そしてＴ細胞系の68.0％がrCryj Ｉに反応した。これらの25のＴ細胞系は、かなり低いレベルでrAmba I.1にも反応し、Amba Iアレルゲンが Cryj Ｉとホモロジーを共有し、そしてこの“共有”されたＴ細胞エピトープがCryjIとAmba Iとの間に存在するかもしれないことを示している。スギアレルギー患者のこのパネルは、ペプチド ＣＪＩ－１（配列番号１）、ＣＪＩ－２（配列番号２）、ＣＪＩ－３（配列番号３）、ＣＪＩ－４（配列番号４）、ＣＪＩ－７（配列番号７）、ＣＪＩ－８（配列番号８）、ＣＪＩ－９（配列番号９）、ＣＪＩ－１０（配列番号１０）、ＣＪＩ－１１（配列番号１１）、ＣＪＩ－１２（配列番号１２）、ＣＪＩ－１４（配列番号１４）、ＣＪＩ－１５（配列番号１５）、ＣＪＩ－１６（配列番号１６）、ＣＪＩ－１７（配列番号１７）、ＣＪＩ－１８（配列番号１８）、ＣＪＩ－１９（配列番号１９）、ＣＪＩ－２０（配列番号２０）、ＣＪＩ－２１（配列番号２１）、ＣＪＩ－２２（配列番号２２）、ＣＪＩ－２３（配列番号２３）、ＣＪＩ－２４（配列番号２４）、ＣＪＩ－２５（配列番号２５）、ＣＪＩ－２６（配列番号２６）、ＣＪＩ－２７（配列番号２７）、ＣＪＩ－２８（配列番号２８）、ＣＪＩ－３０（配列番号３０）、ＣＪＩ－３１（配列番号３１）、ＣＪＩ－３２（配列番号３２）、ＣＪＩ－３３（配列番号３３）、ＣＪＩ－３４（配列番号３４）およびＣＪＩ－３５（配列番号３５）に反応し、これらのペプチドがＴ細胞エピトープを含むことを示している。

抗原提示細胞として使用するための（EBV）-形質転換Ｂ細胞の調製

自己EBV-形質転換細胞系を、25,000Radでγ-照射し、そして第二増殖アッセイおよび第二のバルク刺激に抗原提示細胞として使用した。これらのEBV-形質転換細胞系は、5×10^6PBLを1mlのＢ-59/8 Marmoset細胞系（ATCC CRL 1612、アメリカンタイプカルチャーコレクション、ロックビル、メリーランド州）と共に、1μl/mlのフォルボール12-ミリステート-13-アセテート（PMA）が存在するコンディション培地中で、37℃で60分間、12×75mmのポリプロピレン丸底ファルコン スナップ カップ試験管（Falcon snap cap tubes）（ベクトンデッキンソン ラボウェア：Becton Dickinson Labware、リンカンパーク、ニュージャージー州）中でインキュベーションすることにより作成した。これらの細胞を次に1.25×10^6細胞/mlにRPMI-1640中（10％の熱不活性化ウシ胎児血清を除き、上記のような）で希釈し、そして200μlのアリコートを平底培養プレート中で目で見えるコロニーが検出されるまで培養した。これらを次に大きなウェルに移して、細胞系を樹立した。

実施例２

全Ｔ細胞反応性のパーセントおよび本発明の独特なペプチドの組み合わせの患者適用範囲の決定

本発明の独特なペプチドの合成

ペプチドCJI-24.5（配列番号３７）およびCJI-44.8（配列番号３８）は、標準的なＦmoc

合成化学を使用して合成した。ペプチドCJI-43.39（配列番号３６）は、t-Boc合成化学により合成した。すべてのペプチドを、すでに記載したように高度に精製されたペプチドを生成するための方法を使用して93％以上の純度に精製した。図３はこの実験に使用した独特なCryjＩペプチドを示す。ペプチドの名前は実験を通して一貫している。

本発明の独特なペプチドのＴ細胞反応性

ペプチドCJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）を、実施例１に記載したようにＴ細胞反応性について試験し（データは示さず）、そしてこれらのペプチドが由来するそれぞれの“親”ペプチドのようにＴ細胞活性の発現を測定し、このように、これらは組み合わせたときに、CryjＩに対して感受性の群に十分な割合でCryjＩに対する全Ｔ細胞反応性の割合を有するかを決定するためのさらなる実験に、候補ペプチドとして適してした。

重複ペプチドおよびペプチド候補を用いたＴ細胞実験

CryjＩタンパク質アレルゲンに反応性であると決定された第二のＴ細胞カルチャーは、36名のCryjＩ-アレルギー性患者から得、そして実施例１に記載したようなインビトロＴ細胞増殖アッセイで、重複ペプチド組（図２）および本発明の候補ペプチド（図３）の反応性を分析した。結果を図５に示す。各ペプチドに対して2.0以上の最高の刺激指数を、試験した各患者に関して記録した。このデータを次に明細書にすでに記載した式により分析した。

候補ペプチドCJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）は、36名の患者の分析に基づき約36－53％のＴ細胞反応性の範囲を有し（図５）、97％の応答頻度は少なくとも１つの候補ペプチドに対する反応性を表し、このペプチドの組み合わせが本発明の“独特”なペプチドの第一基準に合い、ペプチドCJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）の組み合わせが、試験した群に実質的な割合で、CryjIの全Ｔ細胞反応性の実質的な割合を含んで成ることを示している。

実施例３

IgE結合実験

候補ペプチドCJI-24.5（配列番号３７）、CJI-43.39（配列番号３６）およびCJI-44.8（配列番号３８）そして図３に示す、に対するIgE反応性を分析するために、直接的なELISAフォーマットを使用した。ELISAウェルを候補ペプチドで被覆し、そしてIgE結合をアッセイした。結合の結果は、２つの異なるCryjIアレルギー性患者血漿のプールを使用して作成した。患者血漿プールＡ（PHP-Aと記載）は、天然の精製されたCryjIへのIgEの直接的結合がELISAにより陽性であると示されたすべての22名の患者に由来する等容量の血漿を混合することにより配合した。第二プール（PHP-D）は、天然および変性した精製CryjIへのIgEの結合を有すると直接的ELISAにより示された8名の患者に由来する等容量の血漿を混合することにより配合した。このプールではペプチドに対する反応性の検出の機会を増加するように作成した。このアッセイ組では両方のプールが、天然の精製CryjＩへの直接的結合を示した（データは示さず）。使用した任意の血漿濃度で、試験した任意のペプチドに対して検出しうるIgE結合反応性は無かった。ウェルを被覆するペプチドの存在を制御するために、マウスポリクローナル抗血清をペプチドに対して作成した。これらの抗血清を次に直接的ELISA結合に使用して、ペプチドがウェルを被覆していることを示した。これらのアッセイの結果（データは示さず）は、ペプチドがウェルを被覆していることを示した。

実施例４

本発明の候補ペプチドのpH-溶解性およびpH安定性プロフィールの同時測定

１．緩衝液の調製

50mMのリン酸ナトリウム保存溶液：

保存溶液Ａ：0.66g（0.05mol）のリン酸１塩基ナトリウム1水和物を、100mlのWFIに溶解した。溶液を0.2ミクロンフィルターを通して濾過した。

保存溶液Ｂ：0.71g（0.05mol）のリン酸２塩基ナトリウムを100mlのWFIに溶解した。溶液

を0.2ミクロンフィルターを通して濾過した。

２．最初のペプチド分散

分散液Ａ：3.0mgの各ペプチドCJI-24.5（配列番号３７）、CJI-44.8（配列番号３８）およびCJI-43.39（配列番号３６）を別個に計り取り、そして別々の1.5mlのエッペンドルフバイアルに600μLの保存溶液Ａと共に入れた。この組成物を５秒間撹拌してよく混合した。

分散液Ｂ：3.0mgの各ペプチドCJI-24.5（配列番号３７）、CJI-44.8（配列番号３８）およびCJI-43.39（配列番号３６）を別個に計り取り、そして別々の1.5mlのエッペンドルフバイアルに600μLの保存溶液Ｂと共に入れた。この組成物を５秒間撹拌してよく混合した。

分散液ＡおよびＢを、よく均一にするために２分間超音波処理した。各々の分散液から、以下の容量比に従い小容量を表示したエッペンドルフバイアルにピペットで移した：

バイアル#	懸濁液　A (μL)	懸濁液　B (μL)	全容量 (μL)	推定最終 al pH
1	100	0	100	5.2
2	90	10	100	5.8
3	80	20	100	6.2
4	70	30	100	6.4
5	60	40	100	6.6
6	50	50	100	6.6
7	40	60	100	6.8
8	30	70	100	7.0
9	20	80	100	7.1
10	10	90	100	7.3
11	0	100	100	7.6

生成した溶液／懸濁液を、暗室で22℃にて24時間、撹拌せずに保存した。11個のミクロ遠心フィルターをレテンテート（retentate）カップ上に表示した。フィルターリザーバーを除いたキャプ付の各カップの重量を測定した。平衡化した溶液／懸濁液を各エッペンドルフバイアルからピペットでフィルターリザーバーに移し、そしてミクロ遠心機に設置し、そして10分間回転した。遠心後、フィルターリザーバーを捨て、そして各カップ／キャップの重量を集めた濾液と共に記録した。各カップ中の正味の濾液重量は、濾液を含む各カップ／キャップの重量から空のカップ／キャップの重量を引き算することにより算出した。各カップ中の濾液のpHは、ミクロ　コンビネーションpH電極を使用して測定した。各pHを読んだ後、電極チップを1.0mLの選択された希釈緩衝液で各カップ中にすすいだ。各カップ／キャップ中の総希釈溶液を記録した。希釈因子は希釈溶液の重量を濾液重量で割り算することにより算出した。

希釈溶液中のペプチドの濃度は、HPLC分析により決定した。各pHでのペプチドの溶解性は、測定した濃度に希釈因子を掛け算することにより得た。ペプチドの分解の程度は、総ピーク面積にわたる総分解ピーク面積の割合から算出した。

溶解性の値に関してpH値をプロットし、そして図６ａ－ｃに各ペプチドについて示す。図６ａ－ｃに表すように、各ペプチドに関する溶解曲線を示す時、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-44.8（配列番号３８）およびCJI-43.39（配列番号３６）は、それぞれpH6－pH8のpH範囲のpHで、5mg/mlより高い溶解性を有する。

各ペプチド、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-44.8（配列番号３８）およびCJI-43.39（配列番号３６）に関するpH安定性プロフィールを算出し、そして総分解面積の関数として表を作成した（データは示さず）。24時間後に有意な分解を示すペプチドは無かった。

したがって、各ペプチド、CJI-24.5（配列番号３７）、CJI-44.8（配列番号３８）およびCJI-43.39（配列番号３６）は、本発明の独特なペプチドに要求される適切な溶解性および安定性を有すると決定した。

本発明はその好適態様に関して記載してきたが、他の態様も同じ結果を達成できる。本発明の変更および修飾は当業者には明らかであり、そしてそれらは本発明の真の精神および範囲に従うものである。

配列表

（１）一般情報：

（ｉ）出願人：イムロジック　ファーマシューティカル　コーポレーション

（ii）発明の名称：スギ花粉アレルギーを治療するための医薬組成物

（iii）配列の数：５１

（iv）住所：

（Ａ）宛て先：イムロジック　ファーマシューティカル　コーポレーション

（Ｂ）通り：リンカーン通り　６１０

（Ｃ）市：ウォールサム

（Ｄ）州：マサチューセッツ州

（Ｅ）国：アメリカ合衆国

（Ｆ）郵便番号：０２１５４

（ｖ）コンピューター読み取り先：

（Ａ）媒体：フロッピーディスク

（Ｂ）コンピューター：ＩＢＭ　ＰＣ互換型

（Ｃ）操作システム：ＰＣ－ＤＯＳ／ＭＳ－ＤＯＳ

（Ｄ）ソフトウェア：パテントインリリース＃1.0、バージョン#1.25

（vi）本出願データ：

（Ａ）出願番号：

（Ｂ）出願日：

（Ｃ）分類：

（vii）先願データ：

（Ａ）出願番号：米国特許第08/226,248号

（Ｂ）出願日：１９９４年４月８日

（Ａ）出願番号：米国特許第08/350,225号

（Ｂ）出願日：１９９４年１２月６日

（viii）弁理士／代理人情報：

（Ａ）氏名：ダルレーン　エイ．バンストーン

（Ｂ）登録番号：３５，７２９

（Ｃ）参照／処理番号：025.7PCT（IMI-028CPC）

（ix）通信情報：

（Ａ）電話番号：（６１７）４６６－６０００

（Ｂ）ファックス：（６１７）４６６－６０４０

（２）配列番号１の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号１：

Asp Asn Pro Ile Asp Ser Cys Trp Arg Gly Asp Ser Asn Trp Ala Gln
1 5 10 15

Asn Arg Met Lys
20

（２）配列番号２の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号２：

```
Asp Ser Asn Trp Ala Gln Asn Arg Met Lys Leu Ala Asp Cys Ala Val
 1               5                  10                  15

Gly Phe Gly Ser
            20
```

（２）配列番号３の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号３：

```
Leu Ala Asp Cys Ala Val Gly Phe Gly Ser Ser Thr Met Gly Gly Lys
 1               5                  10                  15

Gly Gly Asp Leu
            20
```

（２）配列番号４の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号４：

```
Ser Thr Met Gly Gly Lys Gly Gly Asp Leu Tyr Thr Val Thr Asn Ser
 1               5                  10                  15

Asp Asp Asp Pro
            20
```

（２）配列番号５の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号５：

```
Tyr Thr Val Thr Asn Ser Asp Asp Asp Pro Val Asn Pro Ala Pro Gly
 1               5                  10                  15

Thr Leu Arg Tyr
            20
```

（２）配列番号６の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号６：

Val Asn Pro Ala Pro Gly Thr Leu Arg Tyr Gly Ala Thr Arg Asp Arg
1 5 10 15

Pro Leu Trp Ile
20

（２）配列番号７の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号７：

Gly Ala Thr Arg Asp Arg Pro Leu Trp Ile Ile Phe Ser Gly Asn Met
1 5 10 15

Asn Ile Lys Leu
20

（２）配列番号８の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号８：

Ile Phe Ser Gly Asn Met Asn Ile Lys Leu Lys Met Pro Met Tyr Ile
1 5 10 15

Ala Gly Tyr Lys
20

（２）配列番号９の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号９：

Lys Met Pro Met Tyr Ile Ala Gly Tyr Lys Thr Phe Asp Gly Arg Gly
1 5 10 15

Ala Gln Val Tyr
20

（２）配列番号１０の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号１０：

Thr Phe Asp Gly Arg Gly Ala Gln Val Tyr Ile Gly Asn Gly Gly Pro
1 5 10 15

Cys Val Phe Ile
20

（２）配列番号１１の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号１１：

```
Ile Gly Asn Gly Gly Pro Cys Val Phe Ile Lys Arg Val Ser Asn Val
 1               5                  10                  15

Ile Ile His Gly
            20
```

（２）配列番号１２の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号１２：

```
Lys Arg Val Ser Asn Val Ile Ile His Gly Leu Tyr Leu Tyr Gly Cys
 1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Val
            20
```

（２）配列番号１３の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号１３：

```
Leu Tyr Leu Tyr Gly Cys Ser Thr Ser Val Leu Gly Asn Val Leu Ile
 1               5                  10                  15

Asn Glu Ser Phe
            20
```

（２）配列番号１４の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号１４：

```
Leu Gly Asn Val Leu Ile Asn Glu Ser Phe Gly Val Glu Pro Val His
 1               5                  10                  15

Pro Gln Asp Gly
            20
```

（２）配列番号１５の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号１５：

Gly Val Glu Pro Val His Pro Gln Asp Gly Asp Ala Leu Thr Leu Arg
1 5 10 15

Thr Ala Thr Asn
20

（２）配列番号１６の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号１６：

Asp Ala Leu Thr Leu Arg Thr Ala Thr Asn Ile Trp Ile Asp His Asn
1 5 10 15

Ser Phe Ser Asn
20

（２）配列番号１７の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号１７：

Ile Trp Ile Asp His Asn Ser Phe Ser Asn Ser Ser Asp Gly Leu Val
1 5 10 15

Asp Val Thr Leu
20

（２）配列番号１８の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号１８：

Ser Ser Asp Gly Leu Val Asp Val Thr Leu Thr Ser Thr Gly Val Thr
1 5 10 15

Ile Ser Asn Asn
20

（２）配列番号１９の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号１９：

Thr Ser Thr Gly Val Thr Ile Ser Asn Asn Leu Phe Phe Asn His His
1 5 10 15

Lys Val Met Leu
20

（２）配列番号２０の情報：
（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号２０：

```
Leu Phe Phe Asn His His Lys Val Met Leu Leu Gly His Asp Asp Ala
 1               5                  10                  15

Tyr Ser Asp Asp
            20
```

（２）配列番号２１の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号２１：

```
Leu Gly His Asp Asp Ala Tyr Ser Asp Asp Lys Ser Met Lys Val Thr
 1               5                  10                  15

Val Ala Phe Asn
            20
```

（２）配列番号２２の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号２２：

```
Lys Ser Met Lys Val Thr Val Ala Phe Asn Gln Phe Gly Pro Asn Cys
 1               5                  10                  15

Gly Gln Arg Met
            20
```

（２）配列番号２３の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号２３：

```
Gln Phe Gly Pro Asn Cys Gly Gln Arg Met Pro Arg Ala Arg Tyr Gly
 1               5                  10                  15

Leu Val His Val
            20
```

（２）配列番号２４の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号２４：

Pro Arg Ala Arg Tyr Gly Leu Val His Val Ala Asn Asn Asn Tyr Asp
1 5 10 15

Pro Trp Thr Ile
20

（２）配列番号２５の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号２５：

Ala Asn Asn Asn Tyr Asp Pro Trp Thr Ile Tyr Ala Ile Gly Gly Ser
1 5 10 15

Ser Asn Pro Thr
20

（２）配列番号２６の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号２６：

Tyr Ala Ile Gly Gly Ser Ser Asn Pro Thr Ile Leu Ser Glu Gly Asn
1 5 10 15

Ser Phe Thr Ala
20

（２）配列番号２７の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号２７：

Ile Leu Ser Glu Gly Asn Ser Phe Thr Ala Pro Asn Glu Ser Tyr Lys
1 5 10 15

Lys Gln Val Thr
20

（２）配列番号２８の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号２８：

Pro Asn Glu Ser Tyr Lys Lys Gln Val Thr Ile Arg Ile Gly Cys Lys
1 5 10 15

Thr Ser Ser Ser
20

（２）配列番号２９の情報：

（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号２９：

```
Ile Arg Ile Gly Cys Lys Thr Ser Ser Ser Cys Ser Asn Trp Val Trp
 1               5                  10                  15

Gln Ser Thr Gln
            20
```

（２）配列番号３０の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号３０：

```
Cys Ser Asn Trp Val Trp Gln Ser Thr Gln Asp Val Phe Tyr Asn Gly
 1               5                  10                  15

Ala Tyr Phe Val
            20
```

（２）配列番号３１の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号３１：

```
Asp Val Phe Tyr Asn Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Tyr Glu
 1               5                  10                  15

Gly Gly Asn Ile
            20
```

（２）配列番号３２の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号３２：

```
Ser Ser Gly Lys Tyr Glu Gly Gly Asn Ile Tyr Thr Lys Lys Glu Ala
 1               5                  10                  15

Phe Asn Val Glu
            20
```

（２）配列番号３３の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：20アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号３３：

```
Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Val Glu Asn Gly Asn Ala Thr Pro
 1               5                  10                  15

Gln Leu Thr Lys
            20
```

（２）配列番号３４の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号３４：

```
Asn Gly Asn Ala Thr Pro Gln Leu Thr Lys Asn Ala Gly Val Leu Thr
 1               5                  10                  15

Cys Ser Leu Ser
            20
```

（２）配列番号３５の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：13アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号３５：

```
Asn Ala Gly Val Leu Thr Cys Ser Leu Ser Lys Arg Cys
 1               5                  10
```

（２）配列番号３６の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：22アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号３６：

```
Asp Asp Ala Tyr Ser Asp Asp Lys Ser Met Lys Val Thr Val Ala Phe
1               5                  10                  15

Asn Gln Phe Gly Asp Glu
            20
```

（２）配列番号３７の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：26アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号３７：

```
Asp Lys Glu Pro Arg Ala Arg Tyr Gly Leu Val His Val Ala Asn Asn
1               5                  10                  15

Asn Tyr Asp Pro Trp Thr Ile Glu Glu Glu
            20                  25
```

（２）配列番号３８の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：28アミノ酸
（Ｂ）種類：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ペプチド
（ｖ）フラグメント型：中間部
（xi）配列の記載：配列番号３８：

```
Asp Glu Glu Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Tyr Glu Gly
Gly
1               5                  10                  15

Asn Ile Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Val Glu
            20                  25
```

（２）配列番号３９の情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）長さ：1337塩基対
（Ｂ）種類：核酸
（Ｃ）鎖の数：一本鎖
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）分子の型：ｃＤＮＡからｍＲＮＡ
（ｖ）起源：
（Ａ）微生物：クリトポメリア　ジャポニカ（Ｃｒｙｔｐｏｍｅｒｉａ　ｊａｐｏｎｉｃａ）
（ix）特徴：
（Ａ）名前／キー：ＣＤＳ
（Ｂ）位置：６６．．１１８７
（ix）特徴：
（Ａ）名前／キー：ｍａｔ＿Ｐｅｐｔｉｄｅ
（Ｂ）位置：１２９．．１１８７
（xi）配列の記載：配列番号３９：

```
AGTCAATCTG  CTCATAATCA  TAGCATAGCC  GTATAGAAAG  AAATTCTACA  CTCTGCTACC
60

AAAAA ATG GAT TCC CCT TGC TTA GTA GCA TTA CTG GTT TTC TCT TTT
107
      Met Asp Ser Pro Cys Leu Val Ala Leu Leu Val Phe Ser Phe
      -21 -20                 -15                 -10

GTA ATT GGA TCT TGC TTT TCT GAT AAT CCC ATA GAC AGC TGC TGG AGA
155


Val Ile Gly Ser Cys Phe Ser Asp Asn Pro Ile Asp Ser Cys Trp Arg
        -5                   1                   5

GGA GAC TCA AAC TGG GCC CAA AAT AGA ATG AAG CTC GCA GAT TGT GCA
203
Gly Asp Ser Asn Trp Ala Gln Asn Arg Met Lys Leu Ala Asp Cys Ala
 10                  15                  20                  25

GTG GGC TTC GGA AGC TCC ACC ATG GGA GGC AAG GGA GGA GAT CTT TAT
251
Val Gly Phe Gly Ser Ser Thr Met Gly Gly Lys Gly Gly Asp Leu Tyr
                    30                  35                  40

ACG GTC ACG AAC TCA GAT GAC GAC CCT GTG AAT CCT GCA CCA GGA ACT
299
Thr Val Thr Asn Ser Asp Asp Asp Pro Val Asn Pro Ala Pro Gly Thr
             45                  50                  55

CTG CGC TAT GGA GCA ACC CGA GAT AGG CCC CTG TGG ATA ATT TTC AGT
347
Leu Arg Tyr Gly Ala Thr Arg Asp Arg Pro Leu Trp Ile Ile Phe Ser
         60                  65                  70

GGG AAT ATG AAT ATA AAG CTC AAA ATG CCT ATG TAC ATT GCT GGG TAT
395
Gly Asn Met Asn Ile Lys Leu Lys Met Pro Met Tyr Ile Ala Gly Tyr
     75                  80                  85

AAG ACT TTT GAT GGC AGG GGA GCA CAA GTT TAT ATT GGC AAT GGC GGT
443
Lys Thr Phe Asp Gly Arg Gly Ala Gln Val Tyr Ile Gly Asn Gly Gly
 90                  95                  100                 105

CCC TGT GTG TTT ATC AAG AGA GTT AGC AAT GTT ATC ATA CAC GGT TTG
491
Pro Cys Val Phe Ile Lys Arg Val Ser Asn Val Ile Ile His Gly Leu
                110                 115                 120

TAT CTG TAC GGC TGT AGT ACT AGT GTT TTG GGG AAT GTT TTG ATA AAC
539
Tyr Leu Tyr Gly Cys Ser Thr Ser Val Leu Gly Asn Val Leu Ile Asn
            125                 130                 135

GAG AGT TTT GGG GTG GAG CCT GTT CAT CCT CAG GAT GGC GAT GCT CTT
587
Glu Ser Phe Gly Val Glu Pro Val His Pro Gln Asp Gly Asp Ala Leu
        140                 145                 150

ACT CTG CGC ACT GCT ACA AAT ATT TGG ATT GAT CAT AAT TCT TTC TCC
635
Thr Leu Arg Thr Ala Thr Asn Ile Trp Ile Asp His Asn Ser Phe Ser
    155                 160                 165

AAT TCT TCT GAT GGT CTG GTC GAT GTC ACT CTT ACT TCG ACT GGA GTT
683
Asn Ser Ser Asp Gly Leu Val Asp Val Thr Leu Thr Ser Thr Gly Val
170                 175                 180                 185

ACT ATT TCA AAC AAT CTT TTT TTC AAC CAT CAT AAA GTG ATG TTG TTA
731
Thr Ile Ser Asn Asn Leu Phe Phe Asn His His Lys Val Met Leu Leu
                190                 195                 200
```

```
GGG CAT GAT GAT GCA TAT AGT GAT GAC AAA TCC ATG AAG GTG ACA GTG
779
Gly His Asp Asp Ala Tyr Ser Asp Asp Lys Ser Met Lys Val Thr Val
          205                 210                 215

GCG TTC AAT CAA TTT GGA CCT AAC TGT GGA CAA AGA ATG CCC AGG GCA
827
Ala Phe Asn Gln Phe Gly Pro Asn Cys Gly Gln Arg Met Pro Arg Ala
      220                 225                 230


CGA TAT GGA CTT GTA CAT GTT GCA AAC AAT AAT TAT GAC CCA TGG ACT
875
Arg Tyr Gly Leu Val His Val Ala Asn Asn Asn Tyr Asp Pro Trp Thr
  235                 240                 245

ATA TAT GCA ATT GGT GGG AGT TCA AAT CCA ACC ATT CTA AGT GAA GGG
923
Ile Tyr Ala Ile Gly Gly Ser Ser Asn Pro Thr Ile Leu Ser Glu Gly
250                 255                 260                 265

AAT AGT TTC ACT GCA CCA AAT GAG AGC TAC AAG AAG CAA GTA ACC ATA
971
Asn Ser Phe Thr Ala Pro Asn Glu Ser Tyr Lys Lys Gln Val Thr Ile
              270                 275                 280

CGT ATT GGA TGC AAA ACA TCA TCA TCT TGT TCA AAT TGG GTG TGG CAA
1019
Arg Ile Gly Cys Lys Thr Ser Ser Ser Cys Ser Asn Trp Val Trp Gln
          285                 290                 295

TCT ACA CAA GAT GTT TTT TAT AAT GGA GCT TAT TTT GTA TCA TCA GGG
1067
Ser Thr Gln Asp Val Phe Tyr Asn Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly
      300                 305                 310

AAA TAT GAA GGG GGT AAT ATA TAC ACA AAG AAA GAA GCT TTC AAT GTT
1115
Lys Tyr Glu Gly Gly Asn Ile Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Val
  315                 320                 325

GAG AAT GGG AAT GCA ACT CCT CAA TTG ACA AAA AAT GCT GGG GTT TTA
1163
Glu Asn Gly Asn Ala Thr Pro Gln Leu Thr Lys Asn Ala Gly Val Leu
330                 335                 340                 345

ACA TGC TCT CTC TCT AAA CGT TGT TGATGATGCA TATATTCTAG
CATGTTGTAC     1217
Thr Cys Ser Leu Ser Lys Arg Cys
              350

TATCTAAATT    AACATCAACA    AGAAAATATA    TCATGATGTA    TATTGTTGTA
TTGATGTCAA     1277

AATAAAAATG    TATCTTTTAC    TATTAAAAAA    AAAAATGATC    GATCGGACGG
TACCTCTAGA     1337
```

（２）配列番号４０の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：374アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：タンパク質

（xi）配列の記載：配列番号４０：

```
Met Asp Ser Pro Cys Leu Val Ala Leu Leu Val Phe Ser Phe Val Ile
-21 -20                 -15                 -10

Gly Ser Cys Phe Ser Asp Asn Pro Ile Asp Ser Cys Trp Arg Gly Asp
 -5                   1                   5                  10

Ser Asn Trp Ala Gln Asn Arg Met Lys Leu Ala Asp Cys Ala Val Gly
            15                  20                  25

Phe Gly Ser Ser Thr Met Gly Gly Lys Gly Gly Asp Leu Tyr Thr Val
        30                  35                  40

Thr Asn Ser Asp Asp Asp Pro Val Asn Pro Ala Pro Gly Thr Leu Arg
    45                  50                  55

Tyr Gly Ala Thr Arg Asp Arg Pro Leu Trp Ile Ile Phe Ser Gly Asn
60                  65                  70                  75

Met Asn Ile Lys Leu Lys Met Pro Met Tyr Ile Ala Gly Tyr Lys Thr
                80                  85                  90

Phe Asp Gly Arg Gly Ala Gln Val Tyr Ile Gly Asn Gly Gly Pro Cys
            95                  100                 105

Val Phe Ile Lys Arg Val Ser Asn Val Ile Ile His Gly Leu Tyr Leu
        110                 115                 120

Tyr Gly Cys Ser Thr Ser Val Leu Gly Asn Val Leu Ile Asn Glu Ser
    125                 130                 135

Phe Gly Val Glu Pro Val His Pro Gln Asp Gly Asp Ala Leu Thr Leu
140                 145                 150                 155

Arg Thr Ala Thr Asn Ile Trp Ile Asp His Asn Ser Phe Ser Asn Ser
                160                 165                 170

Ser Asp Gly Leu Val Asp Val Thr Leu Thr Ser Thr Gly Val Thr Ile
            175                 180                 185

Ser Asn Asn Leu Phe Phe Asn His His Lys Val Met Leu Leu Gly His
        190                 195                 200

Asp Asp Ala Tyr Ser Asp Asp Lys Ser Met Lys Val Thr Val Ala Phe
    205                 210                 215

Asn Gln Phe Gly Pro Asn Cys Gly Gln Arg Met Pro Arg Ala Arg Tyr
220                 225                 230                 235

Gly Leu Val His Val Ala Asn Asn Asn Tyr Asp Pro Trp Thr Ile Tyr
                240                 245                 250

Ala Ile Gly Gly Ser Ser Asn Pro Thr Ile Leu Ser Glu Gly Asn Ser
            255                 260                 265

Phe Thr Ala Pro Asn Glu Ser Tyr Lys Lys Gln Val Thr Ile Arg Ile
        270                 275                 280

Gly Cys Lys Thr Ser Ser Ser Cys Ser Asn Trp Val Trp Gln Ser Thr
    285                 290                 295

Gln Asp Val Phe Tyr Asn Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Tyr
300                 305                 310                 315

Glu Gly Gly Asn Ile Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Val Glu Asn
                320                 325                 330

Gly Asn Ala Thr Pro Gln Leu Thr Lys Asn Ala Gly Val Leu Thr Cys
            335                 340                 345

Ser Leu Ser Lys Arg Cys
        350
```

（２）配列番号４１の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：30アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号４１：

```
Lys Met Pro Met Tyr Ile Ala Gly Tyr Lys Thr Phe Asp Gly Arg
Gly
1               5                  10                  15

Ala Gln Val Tyr Ile Gly Asn Gly Gly Pro Cys Val Phe Ile
            20                  25                  30
```

（２）配列番号４２の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：21アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｃ）鎖の数：一本鎖

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（xi）配列の記載：配列番号４２：

```
Asp Glu Arg Thr Ala Thr Asn Ile Trp Ile Asp His Asn Ser Phe Ser
1               5                  10                  15

Asn Ser Ser Asp Asp
            20
```

（２）配列番号４３の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：30アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号４３：

```
Asp Val Phe Tyr Asn Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Tyr Glu
1               5                  10                  15

Gly Gly Asn Ile Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Val Glu
            20                  25                  30
```

（２）配列番号４４の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：26アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号４４：

```
Asn Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Tyr Glu Gly Gly Asn Ile
1               5                  10                  15

Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Val Glu
            20                  25
```

（２）配列番号４５の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：24アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号４５：

```
Asn Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Tyr Glu Gly Gly Asn Ile
1               5                  10                  15

Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn
            20
```

（２）配列番号４６の青報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：28アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号４６：

```
Asp Glu Asn Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Tyr Glu Gly Gly
1               5                  10                  15

Asn Ile Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Ala Glu
            20                  25
```

（２）配列番号４７の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：29アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号４７：

```
Asp Glu Glu Asn Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Tyr Glu Gly
1               5                  10                  15

Gly Asn Ile Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Val Glu
            20                  25
```

（２）配列番号４８の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：27アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号４８：

```
Asp Glu Gly Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Tyr Glu Gly Gly Asn
1               5                  10                  15

Ile Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Ala Glu
            20                  25
```

（２）配列番号４９の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号４９：

```
Leu Ala Asp Cys Ala Val Gly Phe Gly Ser Ser Thr Met Gly Gly Lys
 1               5                  10                  15

Gly Gly Asp Leu
            20
```

（２）配列番号５０の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号５０：

```
Leu Phe Phe Asn His His Lys Val Met Leu Leu Gly His Asp Asp Ala
 1               5                  10                  15

Tyr Ser Asp Asp
            20
```

（２）配列番号５０の情報：

（ｉ）配列の特徴：

（Ａ）長さ：20アミノ酸

（Ｂ）種類：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：ペプチド

（ｖ）フラグメント型：中間部

（xi）配列の記載：配列番号５１：

```
Lys Ser Met Lys Val Thr Val Ala Phe Asn Gln Phe Gly Pro Asn Cys
 1               5                  10                  15

Gly Gln Arg Met
            20
```

【図１ａ】

【図１ｂ】

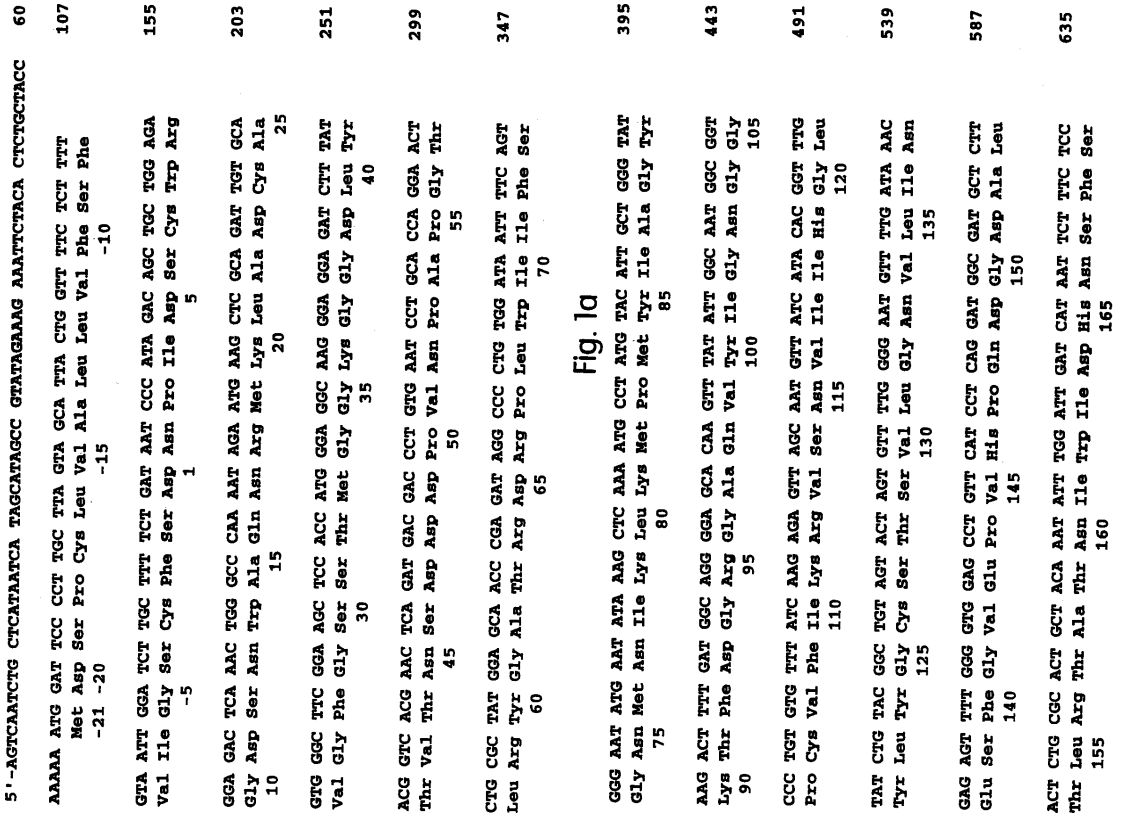

Fig. 1a

Fig. 1b

【図１ｃ】

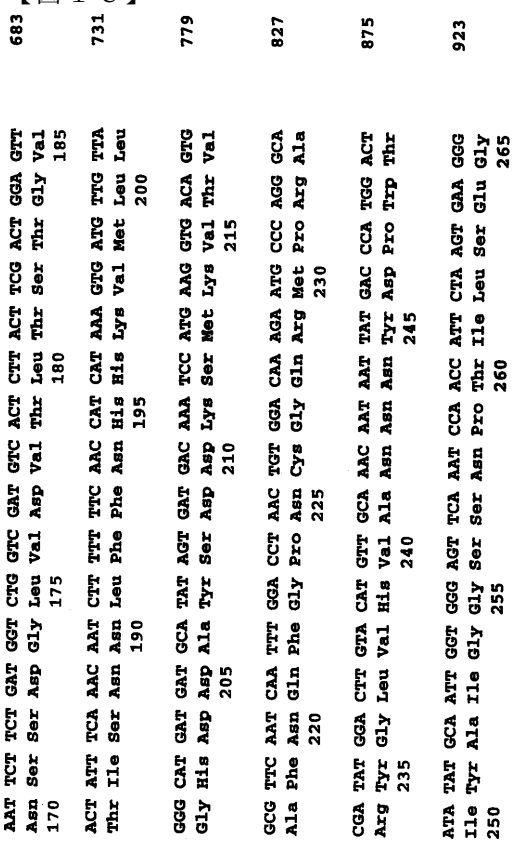

Fig. 1c

【図１ｄ】

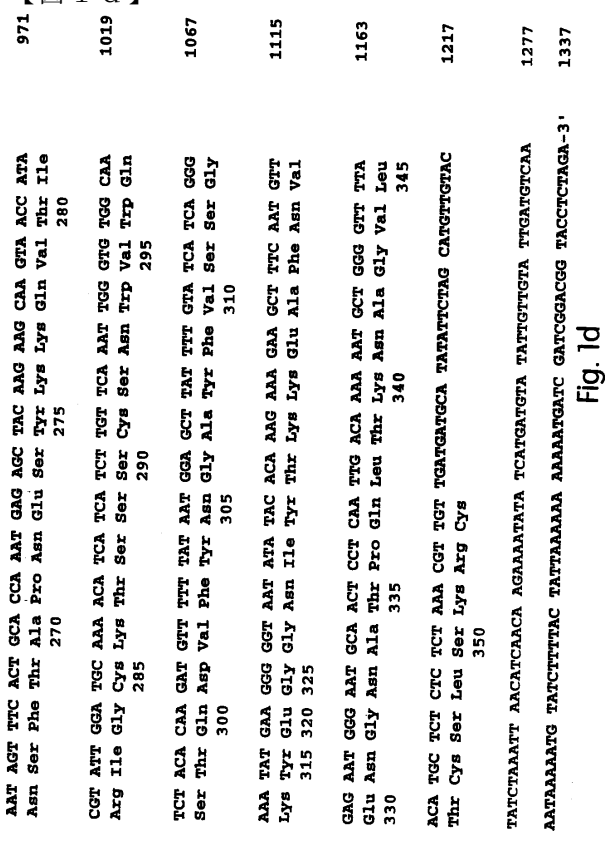

Fig. 1d

【図２】

PEPTIDE NAME	
CJI-1 (1-20)	DNPIDSCWRGDSNWAQNRMK
CJI-2 (11-30)	DSNWAQNRMKLADCAVGFGS
CJI-3 (21-40)	LADCAVGFGSSTMGGKGGDL
CJI-4 (31-50)	STMGGKGGDLYTVTNSDDDP
CJI-5 (41-60)	YTVTNSDDDPVNPAPGTLRY
CJI-6 (51-70)	VNPAPGTLRYGATRDRPLWI
CJI-7 (61-80)	GATRDRPLWIIFSGNMNIKL
CJI-8 (71-90)	IFSGNMNIKLKMPMYIAGYK
CJI-9 (81-100)	KMPMYIAGYKTFDGRGAQVY
CJI-10 (91-110)	TFDGRGAQVYIGNGGPCVFI
CJI-11 (101-120)	IGNGGPCVFIKRVSNVIIHG
CJI-12 (111-130)	KRVSNVIIHGLYLYGCSTSV
CJI-13 (121-140)	LYLYGCSTSVLGNVLINESF
CJI-14 (131-150)	LGNVLINESFGVEPVHPQDG
CJI-15 (141-160)	GVEPVHPQDGDALTLRTATN
CJI-16 (151-170)	DALTLRTATNIWIDHNSFSN
CJI-17 (161-180)	IWIDHNSFSNSSDGLVDVTL
CJI-18 (171-190)	SSDGLVDVTLTSTGVTISNN
CJI-19 (181-200)	TSTGVTISNNLFFNHHKVML
CJI-20 (191-210)	LFFNHHKVMLLGHDDAYSDD
CJI-21 (201-220)	LGHDDAYSDDKSMKVTVAFN
CJI-22 (211-230)	KSMKVTVAFNQFGPNCGQRM
CJI-23 (221-240)	QFGPNCGQRMPRARYGLVHV
CJI-24 (231-250)	PRARYGLVHVANNNYDPWTI
CJI-25 (241-260)	ANNNYDPWTIYAIGGSSNPT
CJI-26 (251-270)	YAIGGSSNPTILSEGNSFTA
CJI-27 (261-280)	ILSEGNSFTAPNESYKKQVT
CJI-28 (271-290)	PNESYKKQVTIRIGCKTSSS
CJI-29 (281-300)	IRIGCKTSSSCSNWVWQSTQ
CJI-30 (291-310)	CSNWVWQSTQDVFYNGAYFV
CJI-31 (301-320)	DVFYNGAYFVSSGKYEGGNI
CJI-32 (311-330)	SSGKYEGGNIYTKKEAFNVE
CJI-33 (321-340)	YTKKEAFNVENGNATPQLTK
CJI-34 (331-350)	NGNATPQLTKNAGVLTCSLS
CJI-35 (341-353)	NAGVLTCSLSKRC

Fig. 2

【図３】

ペプチド名：	アミノ酸配列
CJI-43.39	DDAYSDDKSMKVTVAFNQFGDE
CJr-24.5	DKEPRARYGLVHVANNNYDPWTIEEE
CJI-44.8	DEEGAYFVSSGKYEGGNIYTKKEAFNVE

Fig. 3

【図４】

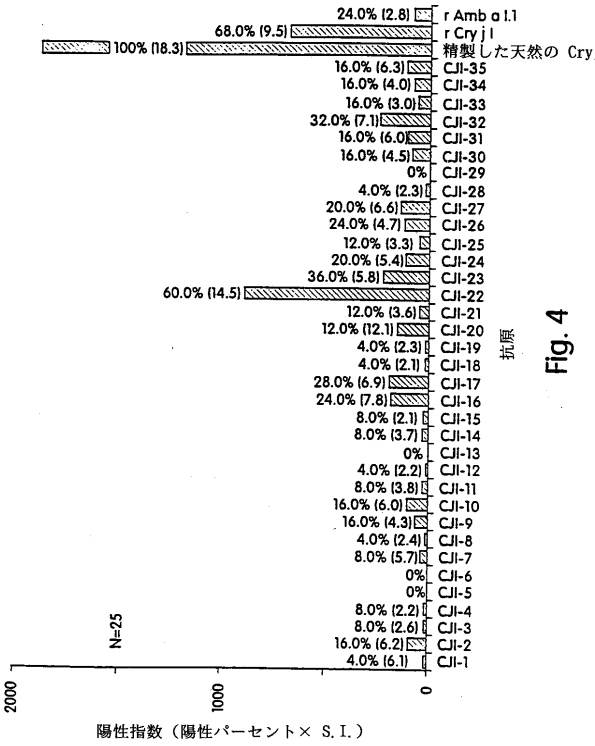

Fig. 4

【図５】

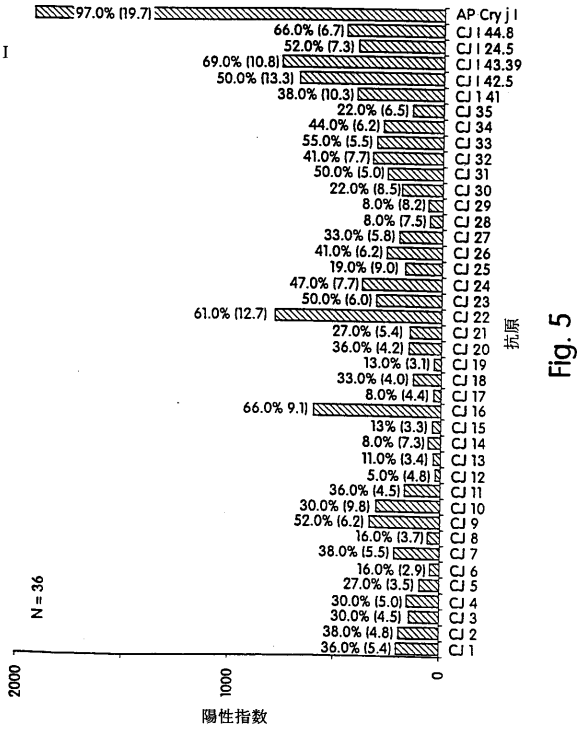

Fig. 5

【図６ａ】

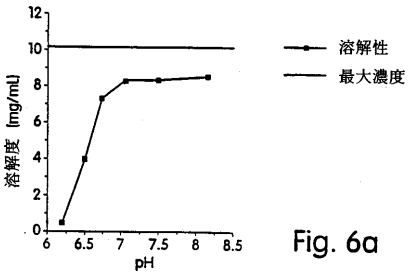

Fig. 6a

【図６ｂ】

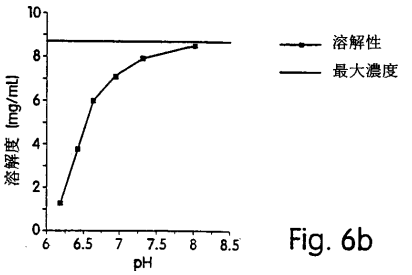

Fig. 6b

【図６ｃ】

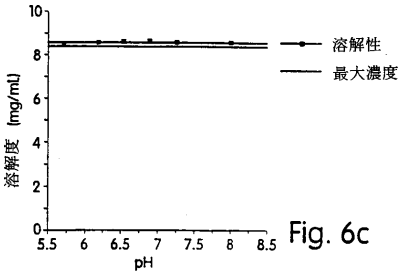

Fig. 6c

フロントページの続き

(72)発明者 パワーズ, スチーブン・パルマー
アメリカ合衆国マサチユセツツ州０２１５４ウオルサム・スターンズヒルロード２００８
(72)発明者 クオ, メイ－チヤング
アメリカ合衆国マサチユセツツ州０１８９０ウインチエスター・コツクスロード５
(72)発明者 エバンス, シーン
アメリカ合衆国マサチユセツツ州０１７２０アクトン・リンカーンドライブ６
(72)発明者 シエイクド, ゼーブ
アメリカ合衆国カリフオルニア州９４７０７バークリー・シーラストリート１０３８
(72)発明者 チエン, シーアン
アメリカ合衆国マサチユセツツ州０１８６３ノースチエルムズフオード・ウエルマンアベニユー７５５

審査官 吉田 知美

(56)参考文献 国際公開第９４／００１５６０（WO，Ａ１）
国際公開第９３／００８２８０（WO，Ａ１）
国際公開第９７／０３２６００（WO，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
C07K 14/00 - 16/46
C12N 15/00 - 90
PubMed
EUROPAT(QUESTEL)
JSTPlus(JDreamII)
BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)
GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
SwissProt/PIR/GeneSeq