(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7564143号
(P7564143)

(45)発行日　令和6年10月8日(2024.10.8)

(24)登録日　令和6年9月30日(2024.9.30)

(51)国際特許分類		FI		
C07K 19/00 (2006.01)		C07K	19/00	ZNA
C07K 7/08 (2006.01)		C07K	7/08	
C07K 14/00 (2006.01)		C07K	14/00	
C12N 15/62 (2006.01)		C12N	15/62	Z
C12N 15/63 (2006.01)		C12N	15/63	Z

請求項の数　13　外国語出願　（全460頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-31705(P2022-31705)
(22)出願日　令和4年3月2日(2022.3.2)
(62)分割の表示　特願2020-54163(P2020-54163)の分割
原出願日　平成25年2月27日(2013.2.27)
(65)公開番号　特開2022-69495(P2022-69495A)
(43)公開日　令和4年5月11日(2022.5.11)
審査請求日　令和4年3月2日(2022.3.2)
(31)優先権主張番号　61/634,312
(32)優先日　平成24年2月27日(2012.2.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　61/690,187
(32)優先日　平成24年6月18日(2012.6.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
最終頁に続く

(73)特許権者　511188819
アムニクス ファーマシューティカルズ，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９４０８０－１８２６ サウス サンフランシスコ タワー プレイス ２ ＃１１００
(74)代理人　100127926
弁理士　結田 純次
(74)代理人　100216105
弁理士　守安 智
(72)発明者　フォルカー シェレンバーガー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４３０３，パロ アルト，モレノ アベニュー ９１４
(72)発明者　ヴラディーミル ポダスト
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＸＴＥＮ共役組成物およびそれを製造する方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

伸長組換えポリペプチド（ＸＴＥＮ）のＮ末端に融合されたヘルパー配列（ＨＳ）を含むポリペプチドであって、該ＨＳが、ＡＤＡＱＫＡＡＤＮＫＫＰあるいはＫＮＰＥＱＡＥＥＱＡＥＥＱＲＥＥＴを含む配列を含み、ＸＴＥＮが、

－　３６～３０００のアミノ酸残基を有し、

－　グリシン、アラニン、セリン、トレオニン、グルタミン酸およびプロリン残基の合計が、ＸＴＥＮの全残基の少なくとも９０％を占め、

－　（ｉ）ＸＴＥＮ配列が、アミノ酸がセリンでない限り同一である３個の隣接するアミノ酸を含有しないか、（ｉｉ）ＸＴＥＮ配列の少なくとも８０％が、非重複配列モチーフからなり、配列モチーフのそれぞれが、９～１４個のアミノ酸残基を含み、いずれの２つの隣接するアミノ酸残基も、配列モチーフのそれぞれにおいて２回を超えて発生しないか、または（ｉｉｉ）ＸＴＥＮ配列が、１０未満の部分列スコアを有する、

－　ＸＴＥＮ配列が、ＧＯＲアルゴリズムによって決定される９０％を超えるランダムコイル形成を有し、

－　ＸＴＥＮ配列が、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズムによって決定される、２％未満のαらせんおよび２％未満のβシートを有し、

－　ＸＴＥＮ配列が、ＴＥＰＩＴＯＰＥアルゴリズムによって分析されるとき、予測されたＴ細胞エピトープを欠き、ＸＴＥＮ配列内のエピトープについてのＴＥＰＩＴＯＰＥアルゴリズム予測が、－６のスコアに基づく、ポリペプチド。

【請求項２】
前記ＨＳが、配列番号５１７と同一である配列を含む、請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項３】
前記ＨＳが、リンカーによって前記ＸＴＥＮのＮ末端に融合されている、請求項１または２に記載のポリペプチド。
【請求項４】
前記リンカーが、切断配列を含む、請求項３に記載のポリペプチド。
【請求項５】
前記切断配列が、プロテアーゼによって切断されることができる、請求項４に記載のポリペプチド。
【請求項６】
前記プロテアーゼが、トリプシンである、請求項５に記載のポリペプチド。
【請求項７】
式ＩＩ：
（ＨＳ）－（ＣＳ１）－（ＸＴＥＮ）－（ＣＳ２）－（ＡＴ１）
の構成を有するポリペプチドであって、式中、
（ｉ）ＨＳが、ＡＤＡＱＫＡＡＤＮＫＫＰおよびＫＮＰＥＱＡＥＥＱＡＥＥＱＲＥＥＴからなる群から選択されるヘルパー配列であり；
（ｉｉ）ＡＴ１が、第１の親和性タグであり；
（ｉｉｉ）ＣＳ１が、プロテアーゼによって切断されることができる第１の切断配列であり；
（ｉｖ）ＣＳ２が、プロテアーゼによって切断されることができる第２の切断配列であり；
（ｖ）ＸＴＥＮが、伸長組換えポリペプチドであり、ここで、ＸＴＥＮが、
－　３６～３０００のアミノ酸残基を有し、
－　グリシン、アラニン、セリン、トレオニン、グルタミン酸およびプロリン残基の合計が、ＸＴＥＮの全残基の少なくとも９０％を占め、
－　（ｉ）ＸＴＥＮ配列が、アミノ酸がセリンでない限り同一である３個の隣接するアミノ酸を含有しないか、（ｉｉ）ＸＴＥＮ配列の少なくとも８０％が、非重複配列モチーフからなり、配列モチーフのそれぞれが、９～１４個のアミノ酸残基を含み、いずれの２つの隣接するアミノ酸残基も、配列モチーフのそれぞれにおいて２回を超えて発生しないか、または（ｉｉｉ）ＸＴＥＮ配列が、１０未満の部分列スコアを有する、
－　ＸＴＥＮ配列が、ＧＯＲアルゴリズムによって決定される９０％を超えるランダムコイル形成を有し、
－　ＸＴＥＮ配列が、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズムによって決定される、２％未満のαらせんおよび２％未満のβシートを有し、
－　ＸＴＥＮ配列が、ＴＥＰＩＴＯＰＥアルゴリズムによって分析されるとき、予測されたＴ細胞エピトープを欠き、ＸＴＥＮ配列内のエピトープについてのＴＥＰＩＴＯＰＥアルゴリズム予測が、－６のスコアに基づく、
ポリペプチド。
【請求項８】
前記ＨＳが、配列番号５１７と同一である配列を含む、請求項７に記載のポリペプチド。
【請求項９】
配列番号５１７の配列を含むポリペプチド。
【請求項１０】
請求項１～９のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。
【請求項１１】
請求項１０に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。
【請求項１２】
請求項１１に記載のベクターを含む原核細胞。
【請求項１３】

大腸菌細胞である、請求項１２に記載の原核細胞。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の相互参照

本出願は、２０１２年２月２７日に出願された米国仮特許出願第６１／６３４，３１２号、２０１２年６月１８日に出願された米国仮特許出願第６１／６９０，１８７号、および２０１２年１０月４日に出願された米国特許出願第６１／７０９，９４２号に対する優先権の利益を主張し、これらの出願は、参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【０００２】

治療薬の半減期を延長することは、治療用タンパク質であるか、ペプチドであるか、または小分子であるかにかかわらず、しばしば治療薬自体に対して特別な製剤化または修飾を必要とする。ＰＥＧ化、治療薬への抗体フラグメントまたはアルブミン分子の添加等の従来の修飾方法は、多数の重大な欠点を抱えている。これらの修飾された形態は、大規模に調製されることができるが、これらの従来の方法は、一般に、高い商品価格、複雑な製造プロセス、および最終製品の低い純度に悩まされる。しばしば、標的実体を均質に精製することは、不可能ではないにしても困難である。これは、同じ数または質量のポリエチレングリコールを担持するＰＥＧ化剤の均質な集団を生成するために、反応自体を精密に制御することができないＰＥＧ化の場合に特に真である。さらに、これらのＰＥＧ化剤の代謝は、深刻な副作用を有し得る。例えば、ＰＥＧ化タンパク質は、動物モデルにおいて腎尿細管空胞化を引き起こすことが観察されている（Ｂｅｎｄｅｌｅ，Ａ．，Ｓｅｅｌｙ，Ｊ．，Ｒｉｃｈｅｙ，Ｃ．，Ｓｅｎｎｅｌｌｏ，Ｇ．＆ Ｓｈｏｐｐ，Ｇ．Ｓｈｏｒｔ ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎ：ｒｅｎａｌ ｔｕｂｕｌａｒ ｖａｃｕｏｌａｔｉｏｎ ｉｎ ａｎｉｍａｌｓ ｔｒｅａｔｅｄ ｗｉｔｈ ｐｏｌｙｅｔｈｙｌｅｎｅ－ｇｌｙｃｏｌ－ｃｏｎｊｕｇａｔｅｄ ｐｒｏｔｅｉｎｓ．Ｔｏｘｉｃｏｌ．Ｓｃｉ．１９９８．４２，１５２－１５７）。腎臓から除去されたＰＥＧ化タンパク質またはそれらの代謝物は、腎臓内に蓄積し、正常な糸球体ろ過を干渉するＰＥＧ水和物の形成を引き起こし得る。さらに、動物およびヒトは、ＰＥＧに対する抗体を製造するように誘導され得る（Ｓｒｏｄａ，Ｋ．ｅｔ ａｌ．Ｒｅｐｅａｔｅｄ ｉｎｊｅｃｔｉｏｎｓ ｏｆ ＰＥＧ－ＰＥ ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ ｇｅｎｅｒａｔｅ ａｎｔｉ－ＰＥＧ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ．Ｃｅｌｌ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｌｅｔｔ．２００５．１０，３７－４７）。

【０００３】

したがって、妥当な価格で延長した半減期特性を持つ高度に純粋な形態の治療薬の産生に有用な代替の組成物および方法に対する相当の必要性が残る。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００４】

【文献】Ｂｅｎｄｅｌｅ，Ａ．，Ｓｅｅｌｙ，Ｊ．，Ｒｉｃｈｅｙ，Ｃ．，Ｓｅｎｎｅｌｌｏ，Ｇ．＆ Ｓｈｏｐｐ，Ｇ．Ｓｈｏｒｔ ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎ：ｒｅｎａｌ ｔｕｂｕｌａｒ ｖａｃｕｏｌａｔｉｏｎ ｉｎ ａｎｉｍａｌｓ ｔｒｅａｔｅｄ ｗｉｔｈ ｐｏｌｙｅｔｈｙｌｅｎｅ－ｇｌｙｃｏｌ－ｃｏｎｊｕｇａｔｅｄ ｐｒｏｔｅｉｎｓ．Ｔｏｘｉｃｏｌ．Ｓｃｉ．１９９８．４２，１５２－１５７

【文献】Ｓｒｏｄａ，Ｋ．ｅｔ ａｌ．Ｒｅｐｅａｔｅｄ ｉｎｊｅｃｔｉｏｎｓ ｏｆ ＰＥＧ－ＰＥ ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ ｇｅｎｅｒａｔｅ ａｎｔｉ－ＰＥＧ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ．Ｃｅｌｌ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｌｅｔｔ．２００５．１０，３７－４７

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００５】

本発明は、この必要性に取り組み、関連した利点を提供する。本明細書に開示される組

成物および方法は、治療薬として有用であるだけでなく、候補治療薬の前臨床および臨床開発のための研究ツールとしても特に有用である。いくつかの態様において、本発明は、部分的に、１つまたは複数の単純ステップで均質に精製され得る、および／または広範な共役方法を使用する、反応基とペイロードペプチド、タンパク質、および小分子との化学的共役の影響を受け易い伸長組換えポリペプチド（ＸＴＥＮ）試薬を生成することにより、この必要性に取り組む。ＸＴＥＮ試薬の使用は、非共役産物と比較して、高均質性、高可溶性、長期安定性、および強化された終末相半減期を含む１つ以上の態様において優れている、ＸＴＥＮ結合した薬剤の高収率産物を生成する。

【０００６】

本発明は、部分的に、１つ以上のペイロードの薬理学的または生物学的に活性な薬剤に結合し、ＸＴＥＮ－ペイロード組成物をもたらすための共役パートナーとして有用な実質的に均質の伸長組換えポリペプチド（ＸＴＥＮ）を含む新規の組成物に関する。一態様において、本発明は、直接または架橋剤を介してのいずれかで、１つ以上のペイロードに共有結合し、１、２、３、またはそれ以上の種のペイロードの１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個以上の分子を含むＸＴＥＮ－ペイロード組成物をもたらすために操作されたＸＴＥＮを提供する。強化された薬物動態特性を含む強化された薬学的特性を持つ組成物として、関心対象のペイロード薬を用いて共役体を創製する際に使用するための、そのように操作されたＸＴＥＮポリペプチドを提供することが、本発明の目的である。本発明は、得られたＸＴＥＮ－ペイロード共役体が高程度の純度を有するように、１つ以上のペイロードに結合されたＸＴＥＮを含む共役体を調製するために有用である、長さおよび配列において実質的に均質なＸＴＥＮを提供する。高純度のそのような共役体は、１つ以上のペイロードが、状態の予防、処置、または改善において有用性を有する医学的状態を有する対象に対して、薬学的組成物を調製する際に有用である。

【０００７】

第１の態様において、本発明は、ＸＴＥＮ－架橋剤の中間体およびＸＴＥＮ－ペイロード組成物を創製するための共役パートナーとして有用な実質的に均質なＸＴＥＮポリペプチド組成物を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、伸長組換えポリペプチド（ＸＴＥＮ）を含むポリペプチドの実質的に均質な集団を提供し、当該集団中の個別のポリペプチド分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。前述の一実施形態において、ＸＴＥＮは、全ＸＴＥＮアミノ酸残基が、少なくとも３６～約３０００個のアミノ酸残基であることと、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）およびプロリン（Ｐ）残基の合計が、ＸＴＥＮの全アミノ酸残基の約９０％超を占めることと、ＸＴＥＮ配列が、（ｉ）ＸＴＥＮ配列が、アミノ酸がセリンでない限り同一である３個の隣接するアミノ酸を含有しないか、（ｉｉ）ＸＴＥＮ配列の少なくとも約８０％、または約９０％、または約９５％が、非重複配列モチーフからなり、配列モチーフのそれぞれが、約９～約１４個のアミノ酸残基を含み、いずれの２つの隣接するアミノ酸残基も、配列モチーフのそれぞれにおいて２回を超えて発生しないか、または（ｉｉｉ）ＸＴＥＮ配列が、１０未満の部分列スコアを有するように、実質的に非反復的であることと、ＸＴＥＮ配列が、ＧＯＲアルゴリズムによって決定される９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％を超えるか、または９９％を超えるランダムコイル形成を有することと、ＸＴＥＮ配列が、２％、または３％、または４％、または５％未満のαらせんを有することと、ＸＴＥＮ配列が、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズムによって決定される２％、または３％、または４％、または５％未満のβシートを有することと、ＸＴＥＮ配列が、ＴＥＰＩＴＯＰＥアルゴリズムによって分析されるとき、予測されたＴ細胞エピトープを欠き、ＸＴＥＮ配列内のエピトープについてのＴＥＰＩＴＯＰＥアルゴリズム予測が、－８、または－９、または－１０のスコアに基づくことと、を特徴とする。前述の別の実施形態において、ＸＴＥＮは、表２、表３、表４、および表２２～２５に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくと

も約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列を含む。

【０００８】

他の実施形態において、実質的に均質なＸＴＥＮポリペプチド組成物は、１つ以上の親和性タグを含む。一実施形態において、本発明は、第１の親和性タグを含む実質的に均質なＸＴＥＮポリペプチド組成物を提供し、この第１の親和性タグは、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）、カチオン交換、アニオン交換、固定化金属イオン親和性クロマトグラフィー（ＩＭＡＣ）、および固定化抗体からなる群から選択されるクロマトグラフィー基質に対する結合親和性を有する。前述の一実施形態において、第１の親和性タグは、表７に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または少なくとも約９５％の配列同一性を有する。前述のＸＴＥＮおよび親和性タグの別の実施形態において、組成物は、１つ以上のヘルパー配列をさらに含む。一実施形態において、ヘルパー配列は、表１０に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列を含む。別の実施形態において、ヘルパー配列は、ＫＮＰＥＱＡＥＥＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲである）；ＡＮＰＥＱＡＥＥＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲである）；ＫＮＰＥＱＡＥＥＱＡＥＥＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲである）；ＫＸ２Ｘ３ＥＱＡＥＥＱＡＥＥＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）；ＫＸ２（Ｘ３）$_{10}$ＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）；ＫＸ２（Ｘ３）$_{7}$ＡＥＥＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）；ＫＸ２Ｘ３ＥＱＥ（Ｘ３）$_{3}$ＡＥＥＱＲＥＥＴ（式中、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）；ＫＸ２Ｘ３ＥＱＥ（Ｘ３）$_{3}$ＡＥＥ（Ｘ３）$_{5}$（式中、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）；ＫＫＱＥＱＥＫＥＱＡＥＥＱ（Ｘ４Ｘ５）$_{2}$ＲＥＥＴ（式中、Ｘ４が、独立して、ＡまたはＳであり、Ｘ５が、独立して、Ｋ、Ｑ、またはＥである）；ＫＫＱＥＱＥＫＥＱＡＥＥＱ（Ｘ４Ｘ５）$_{4}$ＲＥＥＴ（式中、Ｘ４が、独立して、ＡまたはＳであり、Ｘ５が、独立して、Ｋ、Ｑ、またはＥである）；ＫＫＱＥＱＥＫＥＱＡＥＥＱ（Ｚ）$_{4}$ＲＥＥＴ（式中、Ｚが、任意の天然に存在するＬアミノ酸である）；ＫＸ２（Ｘ３）$_{n}$（式中、ｎが、１０～４０の整数であり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）；（Ｘ３）$_{n}$（式中、ｎが、１０～５０の整数であり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）；ＫＸ２ＱＥＱＥＫＥＱＡＥＥＱ（Ｘ４Ｘ５）$_{n}$Ｘ１ＥＥＴ（式中、ｎが、ゼロまたは１～１０の整数であり、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ４が、独立して、ＡまたはＳであり、Ｘ５が、独立して、Ｋ、Ｑ、またはＥである）；ＫＸ２（Ｘ３）$_{n}$（Ｘ４Ｘ５）$_{m}$Ｘ１ＥＥＴ（式中、ｎが、５～２０の整数であり、ｍが、ゼロまたは１～１０の整数であり、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳであり、Ｘ４が、ＡまたはＳであり、Ｘ５が、独立して、Ｋ、Ｑ、またはＥである）；およびＫＸ２（Ｘ３）$_{n}$（Ｚ）$_{m}$Ｘ１ＥＥＴ（式中、ｎが、５～２０の整数であり、ｍが、ゼロまたは１～１０の整数であり、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであ

り、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳであり、Ｚが、任意の天然に存在するＬアミノ酸である）、ならびに最適に整列されたときに前述の少なくとも８０％、９０％、９５％、９８％、または９９％の配列同一性を示す任意の配列相同体からなる群から選択される。

【０００９】

前述の実質的に均質なＸＴＥＮ、親和性タグ、およびヘルパー配列組成物の他の実施形態において、組成物は、第１の切断配列をさらに含む。所望される場合、切断配列は、表８および表９に記載される配列からなる群から選択される。前述の一実施形態において、組成物は、式Ｉ：

【００１０】

【化１】

$$(HS)-(AT1)-(CS1)-(XTEN) \quad I$$

【００１１】

の構成を有し、式中、ＨＳは、ヘルパー配列であり、ＡＴ１は、第１の親和性タグであり、ＣＳ１は、第１の切断配列であり、ＸＴＥＮは、伸長組換えポリペプチドである。前述の組成物の別の実施形態において、組成物は、第２の切断配列をさらに含む。所望される場合、第１および第２の切断配列は、同じプロテアーゼによって切断されることができ、組成物は、式ＩＩ：

【００１２】

【化２】

$$(HS)-(CS1)-(XTEN)-(CS2)-(AT1) \quad II$$

【００１３】

の構成を有し、式中、ＨＳは、ヘルパー配列であり、ＡＴ１は、第１の親和性タグであり、ＣＳ１は、第１の切断配列であり、ＣＳ２は、第２の切断配列であり、ＸＴＥＮは、伸長組換えポリペプチドである。前述の組成物の別の実施形態において、第１の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲ、ＨＨＨＨＨＨ、または当該技術分野において既知であるか、もしくは本明細書に開示される任意の親和性タグを含む。

【００１４】

実質的に均質なＸＴＥＮ組成物の他の実施形態において、組成物は、第１および第２の親和性タグと、第１および第２の切断配列と、ヘルパー配列とを含み、第２の親和性タグは、第１の親和性タグとは異なり、第１の親和性タグとは異なるクロマトグラフィー基質に対する結合親和性を有し、クロマトグラフィー基質は、ＨＩＣ、カチオン交換、アニオン交換、ＩＭＡＣ、および固定化抗体からなる群から選択され、第１および第２の切断配列は、同じプロテアーゼによって切断されることができ、第２の親和性タグは、表７に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または少なくとも約９５％の配列同一性を有する。前述の組成物の一実施形態において、組成物は、式ＩＩＩ：

【００１５】

【化３】

$$(HS)-(AT1)-(CS1)-(XTEN)-(CS2)-(AT2) \quad III$$

【００１６】

の構成を有し、式中、ＨＳは、ヘルパー配列であり、ＡＴ１は、第１の親和性タグであり、ＣＳ１は、第１の切断配列であり、ＣＳ２は、第２の切断配列であり、ＸＴＥＮは、伸長組換えポリペプチドであり、ＡＴ２は、第２の親和性タグである。前述の組成物の別の実施形態において、第１の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含み、第２の親和性タグは、配列ＨＨＨＨＨＨを含む。前述の組成物の別の実施形態において、第

１の親和性タグは、配列ＨＨＨＨＨＨを含み、第２の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含む。前述の組成物の別の実施形態において、第１の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含み、第２の親和性タグは、配列ＨＨＨＨＨＨＨＨを含む。

【００１７】

別の態様において、本発明は、プロセスによって得られるポリペプチドの実質的に均質な集団を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態において、組成物は、ポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、宿主細胞の粗発現産物によってポリペプチドを発現するのに有効な条件下で培養することであって、コードされたポリペプチドが、ＸＴＥＮと、第１の切断配列と、第１の親和性タグとを含む、培養することと、粗発現産物のポリペプチドを、第１のクロマトグラフィー基質の上に、第１の親和性タグを第１のクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることと、ポリペプチドを溶離することと、ポリペプチドを回収することと、を含むプロセスによって得られる。いくつかの実施形態において、得られた集団のポリペプチドの少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。前述の組成物の一実施形態において、第１のクロマトグラフィー基質は、ＨＩＣ、カチオン交換、アニオン交換、およびＩＭＡＣからなる群から選択される。前述の組成物の別の実施形態において、親和性タグは、表７の親和性タグからなる群から選択される。前述の組成物の別の実施形態において、第１のクロマトグラフィー基質は、カチオン交換であり、第１の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含む。前述の組成物の別の実施形態において、第１のクロマトグラフィー基質は、ＩＭＡＣであり、第１の親和性タグは、配列ＨＨＨＨＨＨＨＨを含む。前述の組成物の一実施形態において、コードベクターは、少なくとも親和性タグと、少なくとも第１の切断配列と、ヘルパー配列と、任意に第２の切断配列と、を含む本明細書に記載されるＸＴＥＮ実施形態のいずれかをコードする。前述の組成物の別の実施形態において、ベクターは、第２の切断配列および第２の親和性タグをさらにコードし、第１および第２の切断配列は、同じプロテアーゼによって切断されることができ、第２の親和性タグは、第１の親和性タグとは異なる第２のクロマトグラフィー基質に対する結合親和性を有し、組成物は、ポリペプチドを、第２のクロマトグラフィー基質の上に、第２の親和性タグを第２のクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることと、ポリペプチドを溶離することと、ポリペプチドを回収することと、をさらに含むプロセスによって得られ、集団のポリペプチドの少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。前述の一実施形態において、第１のクロマトグラフィー基質は、第２のクロマトグラフィー基質とは異なり、第１および第２のクロマトグラフィー基質のそれぞれは、独立して、ＨＩＣ、カチオン交換、アニオン交換、およびＩＭＡＣからなる群から選択される。前述の組成物の別の実施形態において、第１のクロマトグラフィー基質は、カチオン交換であり、第１の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲまたはＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含み、第２のクロマトグラフィー基質は、ＩＭＡＣであり、第１の親和性タグは、配列ＨＨＨＨＨＨＨＨまたはＨＨＨＨＨＨＨＨを含む。前述の組成物の別の実施形態において、第１のクロマトグラフィー基質は、ＩＭＡＣであり、第１の親和性タグは、配列ＨＨＨＨＨＨＨＨまたはＨＨＨＨＨＨＨＨを含み、第２のクロマトグラフィー基質は、カチオン交換であり、第１の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲまたはＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含む。別の実施形態において、第１の親和性タグまたは第１および第２の親和性タグを含む前述の組成物は、組成物を、切断配列（複数可）を切断するのに有効な条件下で、プロテアーゼで処置し、それによりＸＴＥＮを親和性タグ（複数可）から遊離させることと、ＸＴＥＮを、クロマトグラフィー基質の上に、ＸＴＥＮを捕捉するのには有効であるが、親和性タグ（複数可）またはプロテアーゼにはそうではない条件下で吸着させることと、ＸＴＥＮを溶離することと、ＸＴＥＮを回収することと、によってさらに処置される。得られた組成物中のＸＴＥＮの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％

は、同一配列長を有する。前述の組成物の一実施形態において、切断配列（複数可）は、表９のプロテアーゼからなる群から選択されるプロテアーゼによって切断されることができる。前述の組成物の別の実施形態において、切断配列（複数可）は、トリプシンによって切断されることができ、プロテアーゼは、トリプシンである。前述の組成物の別の実施形態において、クロマトグラフィー基質は、アニオン交換である。アニオン交換基質は、ｍａｃｒｏｃａｐ　Ｑ、ｃａｐｔｏ　Ｑ、ｓｕｐｅｒＱ－６５０Ｍ、およびｐｏｒｏｓ　Ｄからなる群から選択される基質であり得る。代替として、１つの親和性タグまたは２つの親和性タグを含む前述の組成物は、組成物を、切断配列（複数可）を切断するのに有効な条件下で処置し、それによりＸＴＥＮを１つまたは２つの親和性タグから遊離させることと、プロテアーゼを、クロマトグラフィー基質の上に、プロテアーゼおよび親和性タグを捕捉するのには有効であるが、ＸＴＥＮにはそうではない条件下で吸着させることと、ＸＴＥＮを溶離液から回収することと、によってさらに処置される。いくつかの実施形態において、得られた溶離液のＸＴＥＮの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。前述の組成物の一実施形態において、切断配列（複数可）は、表９のプロテアーゼからなる群から選択されるプロテアーゼによって切断されることができる。前述の組成物の別の実施形態において、切断配列（複数可）は、トリプシンによって切断されることができ、利用されるプロテアーゼは、トリプシンである。クロマトグラフィー基質は、カチオン交換、ＨＩＣ、またはＩＭＡＣのうちの１つ以上から選択することができる。

【００１８】

別の態様において、本発明は、部分的に、等しい長さおよび配列のＸＴＥＮセグメントに切断され得るポリペプチド組成物に関する。一実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮ配列を含む組成物を提供し、このＸＴＥＮ配列は、トリプシンによって切断されことができる１つ以上の切断配列をさらに含み、切断配列の全てを切断するのに有効な条件下で、トリプシンを用いた処置が、ＸＴＥＮフラグメントの調製物をもたらし、各ＸＴＥＮフラグメントが、調製物中のあらゆる他のフラグメントに対して少なくとも約９９％の配列同一性を有する。組成物の一実施形態において、切断配列は、配列ＳＡＳＲＳＡまたはＳＡＳＫＳＡに対して少なくとも８６％の配列同一性を有するか、または同一である。組成物の別の実施形態において、切断配列は、配列ＲＸまたはＫＸを含み、式中、Ｘは、プロリン以外の任意のＬアミノ酸である。前述の組成物の一実施形態において、ＸＴＥＮ組成物は、表６に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。

【００１９】

別の態様において、本発明は、部分的に、実質的に等しい長さおよび配列のＸＴＥＮフラグメントを産生するための方法に関する。一実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮの実質的に均質な集団を産生する方法を提供し、この方法は、表６に記載される配列の群から選択される配列を含むポリペプチドの集団を、実質的に均質なＸＴＥＮ集団をもたらす切断配列（複数可）の全てを切断するのに有効な条件下で、トリプシンで処置することを含み、ＸＴＥＮフラグメントの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。前述の方法の一実施形態において、この方法は、ＸＴＥＮフラグメントを、クロマトグラフィー基質の上に、ＸＴＥＮフラグメントを捕捉するのには有効であるが、プロテアーゼにはそうではない条件下で吸着させることと、ＸＴＥＮフラグメントを溶離することと、ＸＴＥＮフラグメントを回収することと、をさらに含み、集団の個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。前述の方法の一実施形態において、クロマトグラフィー基質は、アニオン交換である。基質は、ｍａｃｒｏｃａｐ　Ｑ、ｃａｐｔｏ　Ｑ、ｓｕｐｅｒＱ－６５０Ｍ、およびｐｏｒｏｓ　Ｄからなる群から選択することができる。前述の方法の別の実施形態において、ＸＴＥＮは、表６に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％

、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有する。前述の方法の別の実施形態において、得られたＸＴＥＮフラグメントは、表２または３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有する。別の実施形態において、本発明は、前述の方法実施形態のプロセスによって製造されるＸＴＥＮ組成物を提供する。

【００２０】

別の態様において、本発明は、部分的に、ＸＴＥＮを高い発現収率で宿主細胞から産生するための方法に関する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮ配列と、ヘルパー配列とを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、粗発現産物の成分としてポリペプチドを発現するのに有効な条件下で、約２グラム／リットル（ｇ／Ｌ）、または約３ｇ／Ｌ、または約４ｇ／Ｌ、または約５ｇ／Ｌ、または約６ｇ／Ｌ、または約７ｇ／Ｌを超えるポリペプチドの濃度で培養することを含む、方法を提供する。前述の方法の一実施形態において、前述の発現収率は、発酵反応が、６００ｎｍの波長で少なくとも１００、または少なくとも１３０、または少なくとも１５０の光学密度に到達するときに達成される。別の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮと、ヘルパー配列とを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、粗発現産物の成分としてポリペプチドを発現するのに有効な条件下で、約１０ミリグラム／グラムを超える乾燥重量宿主細胞（ｍｇ／ｇ）濃度、または少なくとも約１５ｍｇ／ｇ、もしくは少なくとも約２０ｍｇ／ｇ、もしくは少なくとも約２５ｍｇ／ｇ、もしくは少なくとも約３０ｍｇ／ｇ、もしくは少なくとも約４０ｍｇ／ｇ、もしくは少なくとも約５０ｍｇ／ｇのポリペプチドの濃度で培養することを含む、方法を提供する。前述の方法の一実施形態において、前述の高収率の発現は、発酵反応が、６００ｎｍの波長で少なくとも１００、または少なくとも１３０、または少なくとも１５０の光学密度に到達するときに達成される。別の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮ配列と、ヘルパー配列とを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、粗発現産物の成分としてポリペプチドを発現するのに有効な条件下で、約１０ミリグラム／グラムを超える乾燥重量宿主細胞（ｍｇ／ｇ）濃度、または少なくとも約２５０マイクロモル／Ｌ、もしくは約３００マイクロモル／Ｌ、もしくは約３５０マイクロモル／Ｌ、もしくは約４００マイクロモル／Ｌ、もしくは約４５０マイクロモル／Ｌ、もしくは約５００マイクロモル／Ｌのポリペプチドの濃度で培養することを含む、方法を提供する。前述の方法の一実施形態において、前述の発現収率は、発酵反応が、６００ｎｍの波長で少なくとも１００、または少なくとも１３０、または少なくとも１５０の光学密度に到達するときに達成される。前述の方法の一実施形態において、発現されたポリペプチドのヘルパー配列は、ポリペプチドのＮ末端に存在し、このヘルパー配列は、表１０に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％の配列同一性を有するか、または同一である。前述の方法の別の実施形態において、発現ベクターは、第１の親和性タグ、およびその親和性タグとＸＴＥＮとの間の切断配列をさらにコードし、この方法は、宿主細胞発酵反応混合物の粗発現産物を回収することと、粗発現産物のポリペプチドを、第１のクロマトグラフィー基質の上に、ポリペプチドの第１の親和性タグをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることであって、第１のクロマトグラフィー基質が、ＨＩＣ、カチオン交換、アニオン交換、およびＩＭＡＣからなる群から選択される、吸着させることと、ポリペプチドを溶離および回収することと、をさらに含み、ポリペプチドの少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。前述の方法の別の実施形態において、発現ベクターは、第１の親和性タグ、およびその第１のタグとは異なる第２の親和性タグ、ならびに各親和性タグとＸＴＥＮとの間の切断配列をさらにコードし、この方法は、宿主細胞発酵反応混合物の粗発現産物を回収することと、ポリペプチドを、第１のクロマトグラフィー基質の上に、そのペプチドの第１の親和性タグをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることであって、

第１のクロマトグラフィー基質が、ＨＩＣ、カチオン交換、アニオン交換、およびＩＭＡＣからなる群から選択される、吸着させることと、ポリペプチドを溶離することと、ポリペプチドを、第２のクロマトグラフィー基質の上に、そのポリペプチドの第２の親和性タグをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることであって、第２のクロマトグラフィー基質が、ＨＩＣ、カチオン交換、アニオン交換、およびＩＭＡＣからなる群から選択される、吸着させることと、ポリペプチドを溶離することと、ポリペプチドを回収することと、をさらに含み、ポリペプチドの少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。前述の方法の一実施形態において、この方法は、ポリペプチドを、切断配列（複数可）を切断するのに有効な条件下で、プロテアーゼで処置し、それによりＸＴＥＮをポリペプチドから遊離させることと、ＸＴＥＮを、アニオンクロマトグラフィー基質の上に、ＸＴＥＮを捕捉するのに有効な条件下で吸着させることと、ＸＴＥＮを溶離することと、ＸＴＥＮを回収することと、をさらに含み、個別のＸＴＥＮ分子の少なくとも９０％、または少なくとも９１％、または少なくとも９２％、または少なくとも９３％、または少なくとも９４％、または９５％は、同一配列長を有する。前述の方法において、アニオン交換基質は、ｍａｃｒｏｃａｐ Ｑ、ｃａｐｔｏ Ｑ、ｓｕｐｅｒＱ－６５０Ｍ、およびｐｏｒｏｓ Ｄからなる群から選択することができる。 前述の方法の一実施形態において、切断配列は、トリプシンによって切断されることができ、プロテアーゼは、トリプシンである。 前述の方法の別の実施形態において、この方法は、ポリペプチドを 、切断配列（複数可）を切断するのに有効な条件下で、プロテアーゼで処置し、それによりＸＴＥＮをポリペプチドから遊離させることと、プロテアーゼを、クロマトグラフィー基質の上に、プロテアーゼおよび親和性タグを捕捉するのには有効であるが、ＸＴＥＮにはそうではない条件下で吸着させることと、溶離液中のＸＴＥＮを回収することと、をさらに含み、ＸＴＥＮの少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。前述の方法の一実施形態において、切断配列は、トリプシンによって切断されることができ、利用されるプロテアーゼは、トリプシンである。プロテアーゼおよび親和性タグを捕捉するための前述の方法において、クロマトグラフィー基質は、ＨＩＣ、カチオン交換、およびＩＭＡＣのうちの１つ以上から選択することができる。

【００２１】

別の態様において、本発明は、部分的に、上に固定化された実質的に同一のＸＴＥＮポリペプチド分子の集団を含む固体支持体に関する。一実施形態において、本発明は、上に固定化された実質的に同一のポリペプチド分子の集団を含む固体支持体を提供し、この固体支持体は、クロマトグラフィー基質と、固定化ポリペプチド（それぞれが、ＸＴＥＮと、第１の親和性タグと、第２の親和性タグと、を含む）とを含み、第１の親和性タグは、ＸＴＥＮのＮ末端で切断配列によってＸＴＥＮに接合され、第２の親和性タグは、Ｃ末端における切断配列によってＸＴＥＮに接合され、第２の親和性タグは、第１の親和性タグとは異なり、クロマトグラフィー基質は、双方にではないが、第１または第２の親和性タグのいずれかに結合することができ、固定化ポリペプチド分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する。 表２、表３、表４、および表２２～２５に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列を含むＸＴＥＮの一実施形態において、第１および第２の親和性タグは、それぞれ、独立して、表７に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または少なくとも約９５％の配列同一性を有し、切断配列は、表８および表９に記載される配列からなる群から選択される。前述の一実施形態において、切断配列は、配列ＳＡＳＲＳＡまたはＳＡＳＫＳＡに対して少なくとも約８６％の配列同一性を有するか、または同一である。前述の一実施形態において、切断配列は、配列ＲＸまたはＫＸを含み、式中

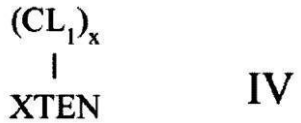
、Ｘは、プロリン以外の任意のＬアミノ酸である。前述の一実施形態において、固体支持体が、ＨＩＣクロマトグラフィー樹脂、カチオン交換樹脂、アニオン交換クロマトグラフィー樹脂、およびＩＭＡＣクロマトグラフィー樹脂からなる群から選択される。前述の一実施形態において、第１の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲまたはＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含み、第２の親和性タグは、配列ＨＨＨＨＨＨまたはＨＨＨＨＨＨＨＨを含む。前述の別の実施形態において、第１の親和性タグは、配列ＨＨＨＨＨＨまたはＨＨＨＨＨＨＨＨを含み、第２の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲまたはＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含む。

【００２２】

別の態様において、本発明は、部分的に、架橋剤に共役されたＸＴＥＮの組成物に関する。いくつかの実施形態において、本発明は、少なくとも第１の架橋剤の１つ以上の分子に共有結合される、本明細書に記載されるＸＴＥＮのいずれかの組成物を提供し、架橋剤は、表１３に記載される架橋剤、表１５に記載されるアルキン反応物、および表１５に記載されるアジド反応物からなる群から選択される。共役組成物の一実施形態において、第１の架橋剤は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ酸残基のαアミノ基、ＸＴＥＮの各リジン残基のεアミノ基、およびＸＴＥＮの各システイン残基のチオール基からなる群から選択される場所において、少なくとも第１のＸＴＥＮに共役される。所望される場合、この実施形態におけるＸＴＥＮは、表２および表３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する。共役組成物の別の実施形態において、ＸＴＥＮは、ＡＥ１４４、ＡＥ２８８、ＡＥ４３２、ＡＥ５７６、ＡＥ８６４、セグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択され、架橋剤は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ酸のαアミノ基に共役される。共役組成物の別の実施形態において、ＸＴＥＮは、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択され、架橋剤は、ＸＴＥＮの各システイン残基のチオール基に共役される。共役組成物の別の実施形態において、第１の架橋剤は、Ｎ－マレイミド、ヨードアセチル、ピリジルジスルフィドおよびビニルスルホン、３－プロパルギルオキシプロパン酸、（オキシエチル）$_n$－アセチレン（ｎは１～１０）、ジベンジルシクロオクチン（ＤＢＣＯ）、シクロオクチン（ＣＯＴ）、３－アジド－プロピオン酸、６－アジド－ヘキサン酸、および（オキシエチル）$_n$－アジド（ｎは１～１０）からなる群から選択される。このパラグラフの前述の実施形態において、共役体は、式ＩＶ：

【００２３】

【化４】



IV

【００２４】

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、CL_1は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２である

か、または１である。所望される場合、この実施形態におけるＸＴＥＮは、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列を含む。式ＩＶの共役体の一実施形態において、ＣＬ１は、表１３から選択される架橋剤である。ＸＴＥＮ－架橋剤共役組成物の他の実施形態において、組成物は、各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基をさらに含み、残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される。前述の一実施形態において、単一原子残基の第１のペイロードは、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択することができる。ＸＴＥＮ－架橋剤共役組成物の他の実施形態において、組成物は、各第１の架橋剤に共役された表１１および１２に記載されるペイロードからなる群から選択されるペイロードをさらに含む。

【００２５】

ＸＴＥＮ－架橋剤共役組成物の他の実施形態において、本発明は、第１の架橋剤の１つ以上の分子および第２の架橋剤の１つ以上の分子に共有結合された本明細書に記載される実施形態のＸＴＥＮの組成物を提供し、第１の架橋剤は、ＸＴＥＮの各システイン残基のチオール基、またはＸＴＥＮの各リジン残基のεアミノ基のいずれかに共役され、第２の架橋剤は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ酸のαアミノ基に共役され、各架橋剤は、独立して、表１３に記載される架橋剤、表１５のアルキン反応物、および表１５のアジド反応物からなる群から選択される。前述の実施形態において、組成物は、式Ｖ：

【００２６】

【化５】

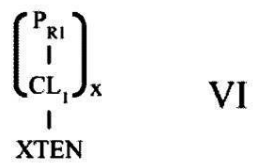
Ｖ

【００２７】

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、ＣＬ１は、ＸＴＥＮのシステイン残基に共役された第１の架橋剤であり、ＣＬ２は、Ｎ末端においてＸＴＥＮに共役された第２の架橋剤であり、ｘは、１～約１０の整数であり、ｙは、整数１であるが、但し、ｘ＋ｙ≧２を条件とし、ＸＴＥＮは、ｘ個のシステイン残基を含むシステイン操作されたＸＴＥＮ、またはｘ個のリジン残基を含むリジン操作されたＸＴＥＮのいずれかである。ＸＴＥＮ－架橋剤共役組成物の別の実施形態において、組成物は、第１の架橋剤のそれぞれに共役された第１のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、第２の架橋剤のそれぞれに共役された第２のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、をさらに含む。前述の一実施形態において、単一原子残基の第１のペイロードは、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択することができ、単一原子残基の第２のペイロードは、独立して、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択することができる。ＸＴＥＮ－架橋剤－ペイロード残基組成物のいくつかの実施形態において、組成物は、式ＶＩ：

【００２８】

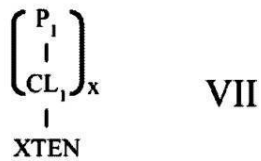
【化６】



ＶＩ

【００２９】
の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、P_{R1}は、ペイロードの単一原子残基であり、残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、CL_1は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または３であるか、または２であるか、または１である。所望される場合、この実施形態におけるＸＴＥＮは、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列を含む。式ＶＩの共役体の一実施形態において、ペイロードの単一原子残基は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択されるペイロードに由来する。式ＶＩの共役体の一実施形態において、CL_1は、表１３から選択される架橋剤である。式ＶＩの共役体の一実施形態において、各架橋剤は、ＸＴＥＮのシステイン硫黄に結合される。式ＶＩの共役体の別の実施形態において、各架橋剤は、ＸＴＥＮのリジンεアミノ基に結合される。式ＶＩの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、架橋剤は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合される。式ＶＩの共役体の別の実施形態において、CL_1は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。別の実施形態において、本発明は、式ＶＩの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ分子の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。ＸＴＥＮ－架橋剤共役組成物の他の実施形態において、組成物は、第１の架橋剤のそれぞれに共役された第１のペイロードであって、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択されるペイロードと、第２の架橋剤に共役された第１のペイロードとは異なる第２のペイロードであって、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第２のペイロードと、をさらに含む。ＸＴＥＮ－架橋剤－ペイロード共役組成物の一実施形態において、組成物は、第１の架橋剤のそれぞれに共役された第１のペイロードであって、表２１の薬物部分からなる群から選択されるペイロードと、第２の架橋剤に共役された第１のペイロードとは異なる第２のペイロードであって、表２１の標的部分からなる群から選択される第２のペイロードと、を含む。第１および第２のペイロードを持つＸＴＥＮ－架橋剤－ペイロード共役組成物の一実施形態において、単一の第２のペイロードは、表１５の反応物からなる群から選択されるアルキン反応物とアジド反応物との反応によって共役された第２の架橋剤によって、ＸＴＥＮのＮ末端に結合される。ＸＴＥＮ－架橋剤－ペイロード組成物のいくつかの実施形態において、組成物は、式ＶＩＩ：

【００３０】
【化７】



VII

【００３１】
の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、P_1は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択されるペイロードであり、CL_1は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、ＸＴＥＮは、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約８０％、または少なくとも約９０

％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列である。式ＶＩＩの共役体の一実施形態において、CL_1は、表１３から選択される架橋剤である。式ＶＩＩの共役体の一実施形態において、各架橋剤は、ＸＴＥＮのシステイン硫黄に結合される。式ＶＩＩの共役体の別の実施形態において、各架橋剤は、ＸＴＥＮのリジンεアミノ基に結合される。式ＶＩＩの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、架橋剤は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合される。一実施形態において、式ＶＩＩの共役体は、表２１に記載される共役体からなる群から選択される。式ＶＩＩの共役体の別の実施形態において、CL_1は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。特定の成分を使用してＸＴＥＮ－架橋剤に共役されたペイロードを含む前述の実施形態の組成物が、反応物の反応産物を表し、したがって反応物の精密な組成物とは異なることは、当業者によって理解されるであろう。別の実施形態において、本発明は、式ＶＩＩの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ分子の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。

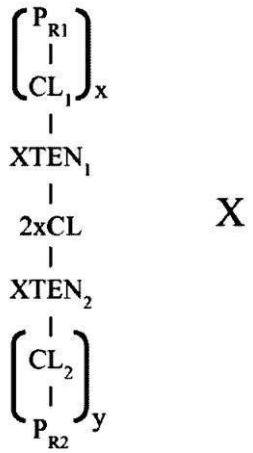
【００３２】

別の態様において、本発明は、部分的に、互いに共役された第１および第２のＸＴＥＮの組成物に関する。いくつかの実施形態において、共役組成物は、第１および第２のＸＴＥＮを含み、ＸＴＥＮは同じであるか、または異なり、それぞれ、独立して、表３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有し、第１および第２のＸＴＥＮは、この第１および第２のＸＴＥＮのＮ末端によって、表１５の反応物からなる群から選択されるアルキン反応物とアジド反応物との反応によって形成された架橋剤を用いて互いに共役され、二量体ＸＴＥＮ共役体をもたらす。二量体ＸＴＥＮ組成物の一実施形態において、第１のＸＴＥＮのそれぞれの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有し、第２のＸＴＥＮのそれぞれの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する。二量体ＸＴＥＮ共役体の一実施形態において、第１のＸＴＥＮは、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有し、第２のＸＴＥＮは、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる配列の群から選択される異なる配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する。二量体ＸＴＥＮ共役体の別の実施形態において

、第１のＸＴＥＮおよび第２のＸＴＥＮは、同じであり、それぞれが、表３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する。二量体ＸＴＥＮ共役体の別の実施形態において、第１のＸＴＥＮおよび第２のＸＴＥＮは、同じであり、それぞれが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する。二量体ＸＴＥＮ共役体の別の実施形態において、第１および第２のＸＴＥＮは、それぞれ、１つ以上のシステイン残基を含み、第１のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第１の架橋剤と、第２のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第２の架橋剤と、をさらに含み、第１および第２の架橋剤は、独立して、表１３に記載される架橋剤からなる群から選択される。二量体ＸＴＥＮ共役体の別の実施形態において、第１および第２のＸＴＥＮは、それぞれ、１つ以上のリジン残基を含み、共役体の第１および第２のＸＴＥＮの各リジン残基に共役された架橋剤をさらに含み、この架橋剤は、表１３に記載される架橋剤からなる群から選択される。架橋剤に共役された二量体ＸＴＥＮの別の実施形態において、共役体は、第１のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基をさらに含み、この残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、および第２のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第２のペイロードの単一原子残基をさらに含み、この残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される。前述の実施形態において、単一原子残基の第１のペイロードは、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択することができ、単一原子残基の第２のペイロードは、第１のペイロードとは異なるペイロードであり、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択することができる。二量体ＸＴＥＮ－架橋剤－ペイロード残基組成物のいくつかの実施形態において、組成物は、式Ｘ

【００３３】

【化８】



【００３４】

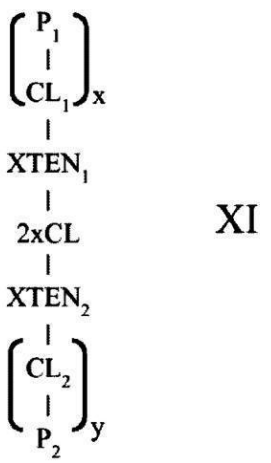
の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、P_{R1}は、第１のペイロードの単一原子残基であり、この残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、P_{R2}

は、第２のペイロードの単一原子残基であり、この残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、ＣＬ$_1$は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、ＣＬ$_2$は、ＣＬ$_1$とは異なる架橋剤であり、ｙは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であるが、但し、ｘ＋ｙ≧２を条件とし、２ｘＣＬは、代替として、二価架橋剤または表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物であり、ＸＴＥＮ$_1$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有するポリペプチドであり、ＸＴＥＮ$_2$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有するポリペプチドである。式Ｘの共役体の一実施形態において、ＣＬ$_1$およびＣＬ$_2$は、それぞれ、表１３に記載される架橋剤の群から選択される。式Ｘの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、ＣＬ$_1$は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合される。式Ｘの共役体の別の実施形態において、ＣＬ$_1$は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。式Ｘの共役体の別の実施形態において、Ｃ$_2$は、表１５から選択される第１のアジドおよび第２のアルキンクリック化学反応物の反応産物である。式Ｘの共役体の別の実施形態において、各ＣＬ$_1$は、ＸＴＥＮ$_1$のシステイン硫黄に結合され、各ＣＬ$_2$は、ＸＴＥＮ$_2$のシステイン硫黄に結合される。式Ｘの共役体の別の実施形態において、各ＣＬ$_1$は、ＸＴＥＮ$_1$のリジンεアミノ基に結合され、各ＣＬ$_2$は、ＸＴＥＮ$_2$のリジンεアミノ基に結合される。式Ｘの共役体の別の実施形態において、各ＣＬ$_1$は、ＸＴＥＮ$_1$のシステイン硫黄に結合され、各ＣＬ$_2$は、ＸＴＥＮ$_2$のリジンεアミノ基に結合される。式Ｘの共役体の別の実施形態において、　ＸＴＥＮ$_1$およびＸＴＥＮ$_2$は、同一である。式Ｘの共役体の別の実施形態において、　ＸＴＥＮ$_1$およびＸＴＥＮ$_2$は、異なる。別の実施形態において、本発明は、式Ｘの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ分子の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。　架橋剤に共役された二量体ＸＴＥＮの別の実施形態において、組成物は、第１のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第１のペイロードをさらに含み、この第１のペイロードは、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択され、第１のペイロードとは異なる第２のペイロードをさらに含み、この第２のペイロードは、第２のＸＴＥＮの各架橋剤に共役され、第２のペイロードは、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される。架橋剤に共役された二量体ＸＴＥＮの別の実施形態において、組成物は、第１のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第１のペイロードをさらに含み、第１のペイロードは、表１８または表２１に記載される標的部分からなる群から選択され、第１のペイロードとは異なる第２のペイロードをさらに含み、この第２のペイロードは、第２のＸＴＥＮの各架橋剤に共役され、第２のペイロードは、表１８または表２１に記載される毒素の群から選択される。架橋剤に共役された二量体ＸＴＥＮ、ならびに第１および第２のペイロードの別の実施形態において、第１のＸＴＥＮは、表３に記載されるセグメント１７６であり、第２のＸＴＥＮは、表３に記載されるセグメント１７６およびセグメント１７７からなる群から選択される。二量体ＸＴＥＮ－架橋剤－ペイロード組成物のいくつかの実施形態において、組成

物は、式ＸＩ

【００３５】

【化９】



XI

【００３６】

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、P_1は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードの群から選択される第１のペイロードであり、P_2は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードの群から選択され、P_1とは異なる第２のペイロードであり、CL_1は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、CL_2は、CL_1とは異なる架橋剤であり、ｙは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であるが、但し、ｘ＋ｙ≧２を条件とし、２ｘＣＬは、代替として、二価架橋剤、または表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物であり、$XTEN_1$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第１の実質的に均質なＸＴＥＮであり、$XTEN_2$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第１の実質的に均質なＸＴＥＮである。式ＸＩの共役体の一実施形態において、CL_1およびCL_2は、それぞれ、表１３に記載される架橋剤の群から選択される。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、CL_1は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合される。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、CL_1は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、C_2は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、各CL_1は、$XTEN_1$のシステイン硫黄に結合され、各CL_2は、$XTEN_2$のシステイン硫黄に結合される。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、各CL_1は、$XTEN_1$のリジンεアミノ基に結合され、各CL_2は、$XTEN_2$のリジンεアミノ基に結合される。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、各CL_1は、$XTEN_1$のシステイン硫黄に結合され、各CL_2は、$XTEN_2$のリジンεアミノ基に結合される。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、$XTEN_1$および$XTEN_2$

は、同一である。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、ＸＴＥＮ$_1$およびＸＴＥＮ$_2$は、異なる。一実施形態において、式ＸＩの共役体は、表２１に記載される共役体からなる群から選択される。別の実施形態において、本発明は、式ＸＩの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ$_1$およびＸＴＥＮ$_2$分子それぞれの少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。

【００３７】

別の態様において、本発明は、部分的に、互いに共役され、三量体共役組成物をもたらす、第１および第２および第３のＸＴＥＮの組成物に関する。いくつかの実施形態において、共役組成物は、第１および第２および第３のＸＴＥＮを含み、ＸＴＥＮは、同じであり得るか、または異なり得、第１および第２および第３のＸＴＥＮは、表１３または表１４に記載される三価架橋剤からなる群から選択される三価架橋剤を使用して、Ｎ末端によって互いに共役される。三量体共役体の一実施形態において、第１および第２および第３のＸＴＥＮは、同一であるか、または異なり、それぞれが、表２または表３のいずれかに記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する。三量体共役体の別の実施形態において、第１および第２および第３のＸＴＥＮは、同一であるか、または異なり、第１のＸＴＥＮのそれぞれの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有し、第２のＸＴＥＮのそれぞれの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有し、第３のＸＴＥＮのそれぞれの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。三量体共役体の別の実施形態において、三価架橋剤は、トリス－（２－マレイミドエチル）アミン（ＴＭＥＡ）およびアミン反応性トリス－（スクシンイミジルアミノトリアセテート（ＴＳＡＴ）からなる群から選択される。三量体共役体の別の実施形態において、第１および第２および第３のＸＴＥＮは、同一であり、それぞれが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する。三量体共役体の別の実施形態において、第１および第２および第３のＸＴＥＮは、同一であり、それぞれが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有し、また第３のＸＴＥＮは、第１および第２のＸＴＥＮとは異なり、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメ

ント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する。三量体共役体の別の実施形態において、各ＸＴＥＮは、少なくとも第１のシステイン残基を含み、共役体は、第１のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第１の架橋剤と、第２のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第２の架橋剤と、第３のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第３の架橋剤と、をさらに含み、この架橋剤は、表１３に記載される架橋剤からなる群から選択される。三量体共役体のいくつかの実施形態において、組成物は、式ＸＩＩ：

【００３８】

【化１０】

$$(CL1)_x\text{-}(XTEN_1)\text{-}3xCL\text{-}(XTEN_2)\text{-}(CL2)_y$$
$$\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad |$$
$$\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad (XTEN_3)\text{-}(CL3)_z \qquad\qquad \text{XII}$$

【００３９】

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、３ｘＣＬは、三価架橋剤であり、ＣＬ１は、$XTEN_1$に共役された第１の架橋剤であり、ＣＬ２は、$XTEN_2$に共役された第２の架橋剤であり、ＣＬ３は、$XTEN_3$に共役された第３の架橋剤であり、ｘは、１～約１０の整数であり、ｙは、１～約１０の整数であり、ｚは、１～約１０の整数であるが、但し、$x+y \geq 3$を条件とし、$XTEN_1$は、第１のＸＴＥＮであり、$XTEN_2$は、第２のＸＴＥＮであり、$XTEN_3$は、第３のＸＴＥＮである。三量体共役体の別の実施形態において、共役体は、第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、第３のＸＴＥＮの各第３の架橋剤に共役された第３のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、をさらに含む。三量体共役組成物の別の実施形態において、組成物は、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードと、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードであって、第１のペイロードと同じであるか、または異なるペイロードと、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第３のＸＴＥＮの各第３の架橋剤に共役された第３のペイロードであって、第１または第２のペイロードと同じであるか、または異なるペイロードと、をさらに含む。三量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物の一実施形態において、第１のペイロードは、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、この標的部分は、表１７～１９および２１に記載される標的部分からなる群から選択され、第２および第３のペイロードは、同じであり得るか、または異なり得る薬物であり、この薬物は、表１１、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される。第１のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、第２のペイロードおよび第３のペイロードが、薬物である、三量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物の一実施形態において、標的部分は、ＬＨＲＨおよび葉酸塩からなる群から選択され、薬物は、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、モノメチルオーリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、モノメチルオーリスタチンＦ、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス、エキソトキシン、

ＳＮ－３８、およびラケルマイシンからなる群から選択される。第１のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、第２のペイロードおよび第３のペイロードが、薬物である三量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物の一実施形態において、標的部分および薬物部分は、表２１に記載される共役体１～２９０のいずれか１つに対応する。第１のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、第２のペイロードおよび第３のペイロードが、薬物である三量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物の別の実施形態において、共役体は、表２１の共役体７１に対応するＸＴＥＮと、標的部分と、薬物部分と、を有する。三量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物の別の実施形態において、組成物は、式ＸＩＩＩ

【００４０】

【化１１】

$$P_1\text{-}(CL1)_x\text{-}(XTEN_1)\text{-}3xCL\text{-}(XTEN_2)\text{-}(CL2)_y\text{-}P_2$$
$$\qquad\qquad\qquad

さらに含み、このペイロードは、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、この標的部分は、表１７～１９および２１に記載される標的部分からなる群から選択され、ペイロードの少なくとも他の１つは薬物であり、この薬物は、表１１、表１９、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される。前述の一実施形態において、標的部分は、ＬＨＲＨまたは葉酸であり、薬物は、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、モノメチルオーリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、モノメチルオーリスタチンＦ、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス、エキソトキシン、ＳＮ－３８、およびラケルマイシンからなる群から選択される。三量体ＸＴＥＮ共役組成物の別の実施形態において、組成物は、式ＸＩＶ：

【００４２】

【化１２】

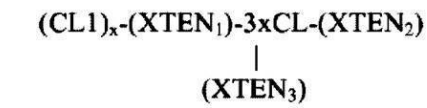
$$(CL1)_x\text{-}(XTEN_1)\text{-}3xCL\text{-}(XTEN_2)\text{-}(CL2)_y$$
$$\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad |$$
$$\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad (XTEN_3) \qquad\qquad XIV$$

【００４３】

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、３ｘＣＬは、三価架橋剤であり、ＣＬ１は、$XTEN_1$に共役された第１の架橋剤であり、ＣＬ２は、$XTEN_2$に共役された第２の架橋剤であり、ｘは、１～約１０の整数であり、ｙは、１～約１０の整数であるが、但し、ｘ＋ｙ≧２を条件とし、$XTEN_1$は、第１のＸＴＥＮであり、$XTEN_2$は、第２のＸＴＥＮであり、$XTEN_3$は、第３のＸＴＥＮであり、ＸＴＥＮは、表２に記載される配列からなる群から選択される。式ＸＶＩの三量体ＸＴＥＮ共役組成物の一実施形態において、組成物は、第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、をさらに含む。式ＸＶＩの三量体ＸＴＥＮ共役組成物の別の実施形態において、組成物は、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードと、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードであって、第１のペイロードと同じであるか、または異なるペイロードと、をさらに含む。前述の一実施形態において、第１のペイロードは、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、この標的部分は、表１７～１９および２１に記載される標的部分からなる群から選択され、第２のペイロードは、表６、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される薬物である。前述の別の実施形態において、第１のペイロードは、ＬＨＲＨおよび葉酸塩からなる群から選択される標的部分であり、第２のペイロードは、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、モノメチルオーリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、モノメチルオーリスタチンＦ、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス、エキソトキシン、ＳＮ－３８、およびラケルマイシンからなる群から選択される薬物である。前述の一実施形態において、第１のペイロードは、表１１の薬物および表１２のタンパク質からなる群から選択される薬物であり、第２のペイロードは、第１のペイロードとは異なり、表１１の薬物および表１２のタンパク質からなる群から選択される。前述の別の実施形態において、第１のペイロードおよび前記第２のペイロードは、同一であり、表１１の薬物および表１２のタンパク質からなる群から選択される。三量体ＸＴＥＮ共役組成物の別の実施形態において、組成物は、式ＸＶ：

【００４４】

【化１３】



XV

【００４５】

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、３ｘＣＬは、ＸＴＥＮ$_1$と、ＸＴＥＮ$_2$と、ＸＴＥＮ$_3$とを結合する三価架橋剤であり、ＣＬ１は、ＸＴＥＮ$_1$に共役された第１の架橋剤であり、ｘは、１～約１０の整数であり、ＸＴＥＮ$_1$は、第１のＸＴＥＮであり、ＸＴＥＮは、表３に記載される配列からなる群から選択され、ＸＴＥＮ$_2$は、第２のＸＴＥＮであり、ＸＴＥＮは、表２に記載される配列からなる群から選択され、ＸＴＥＮ$_3$は、第３のＸＴＥＮであり、ＸＴＥＮは、表２に記載される配列からなる群から選択される。式ＸＶＩＩとして構成された三量体ＸＴＥＮ共役組成物の一実施形態において、組成物は、第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基をさらに含み、この残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される。式ＸＶＩＩとして構成された三量体ＸＴＥＮ共役組成物の一実施形態において、組成物は、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードをさらに含む。

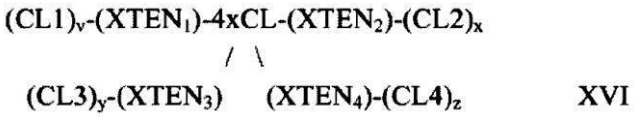
【００４６】

別の態様において、本発明は、部分的に、互いに共役され、四量体共役組成物をもたらす、第１、第２、第３、および第４のＸＴＥＮの組成物に関する。いくつかの実施形態において、共役組成物は、第１および第２および第３および第４のＸＴＥＮを含み、ＸＴＥＮは、表３に記載される配列からなる群から選択され、ＸＴＥＮは、同じであり得るか、または異なり得、第１および第２および第３および第４のＸＴＥＮは、四量体架橋剤を使用してＮ末端によって互いに共役され、この四量体架橋剤は、四価マレイミドクラスターである。四量体共役体の一実施形態において、第１および第２および第３および第４のＸＴＥＮは、同一であるか、または異なり、それぞれが、表２または表３のいずれかに記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する。四量体共役体の別の実施形態において、第１および第２および第３のＸＴＥＮは、同一であるか、または異なり、第１のＸＴＥＮのそれぞれの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有し、第２のＸＴＥＮのそれぞれの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有し、第３のＸＴＥＮのそれぞれの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有し、第４のＸＴＥＮのそれぞれの個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％は、同一配列長を有する。四量体共役体の別の実施形態において、第１、第２、第３、および第４のＸＴＥＮは、同じであり、それぞれが、表３に記載される、セグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する。四量体共役体の別の実施形態において、第１および第２のＸＴＥＮは、同じであり、それぞれが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグ

メント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有し、第３および第４のＸＴＥＮは、同じであるが、第１および第２のＸＴＥＮとは異なり、それぞれが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する。四量体共役体の別の実施形態において、各ＸＴＥＮは、少なくとも第１のシステイン残基を含み、共役体は、第１のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第１の架橋剤と、第２のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第２の架橋剤と、第３のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第３の架橋剤と、第４のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第４の架橋剤と、をさらに含み、各架橋剤は、表１３に記載される架橋剤からなる群から選択される。四量体共役組成物のいくつかの実施形態において、組成物は、式ＸＶＩ

【００４７】

【化１４】



XVI

【００４８】

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、４ｘＣＬは、四価架橋剤であり、ＣＬ１は、$ＸＴＥＮ_1$に共役された第１の架橋剤であり、ＣＬ２は、$ＸＴＥＮ_2$に共役された第２の架橋剤であり、ＣＬ３は、$ＸＴＥＮ_3$に共役された第３の架橋剤であり、ＣＬ４は、$ＸＴＥＮ_4$に共役された第４の架橋剤であり、ｖは、１～約１０の整数であり、　ｘは、１～約１０の整数であり、ｙは、１～約１０の整数であり、ｚは、１～約１０の整数であるが、但し、ｘ＋ｙ＋ｚ≧４を条件とし、$ＸＴＥＮ_1$は、第１のＸＴＥＮであり、$ＸＴＥＮ_2$は、第２のＸＴＥＮであり、$ＸＴＥＮ_3$は、第３のＸＴＥＮであり、$ＸＴＥＮ_3$は、第４のＸＴＥＮである。四量体共役組成物の別の実施形態において、組成物は、第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、第３のＸＴＥＮの各第３の架橋剤に共役された第３のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、第４のＸＴＥＮの各第４の架橋剤に共役された第４のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、をさらに含む。四量体共役組成物の別の実施形態において、組成物は、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードと、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第

２のペイロードであって、第１のペイロードと同じであるか、または異なるペイロードと、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第３のＸＴＥＮの各第３の架橋剤に共役された第３のペイロードであって、第１または第２のペイロードと同じであるか、または異なるペイロードと、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第４のＸＴＥＮの各第４の架橋剤に共役された第４のペイロードであって、第１または第２または第３のペイロードと同じであるか、または異なるペイロードと、をさらに含む。四量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物の一実施形態において、第１のペイロードは、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、この標的部分は、表１７～１９および２１に記載される標的部分からなる群から選択され、第２、第３、および第４のペイロードのうちの少なくとも他の１つは、薬物であり、この薬物は、表１１、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される。四量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物の一実施形態において、第１のペイロードは、標的部分であり、この標的部分は、ＬＨＲＨおよび葉酸からなる群から選択され、第２、第３、および第４のペイロードのうちの少なくとも１つは、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス、エキソトキシン、ＳＮ－３８、およびラケルマイシンからなる群から選択される薬物である。四量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物の別の実施形態において、第１のペイロードは、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、この標的部分は、表１７～１９および２１に記載される標的部分からなる群から選択され、第２、第３、および第４のペイロードのうちの少なくとも他の１つは、薬物であり、この薬物は、表１１、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択され、ＸＴＥＮ、標的部分、および薬物部分は、表２１に記載される共役体１～２９０のうちのいずれか１つに対応する。

【００４９】

別の態様において、本発明は、部分的に、分岐様式で構成された多量体ＸＴＥＮ分子を含む組成物に関し、この組成物の溶液は、減少した粘度を有する。一実施形態において、本発明は、分岐様式（例えば、三量体様式）で一緒に結合された少なくとも３個のＸＴＥＮフラグメントを有する多量体ＸＴＥＮを含む溶液を含む組成物を提供し、溶液の粘度は、≧１００、１３０、または１５０ｍｇ／ｍｌの等モル濃度の対応する直鎖状ＸＴＥＮを含有する溶液と比較して、≧１００、１３０、または１５０ｍｇ／ｍｌの三量体ＸＴＥＮ調製物を含有する溶液中で少なくとも５、６、７、８、９、または１０ｃＰだけ減少する。別の実施形態において、本発明は、分岐様式（例えば、四量体様式）で一緒に結合された少なくとも４個のＸＴＥＮフラグメントを有する多量体ＸＴＥＮを含む溶液を含む組成物を提供し、この組成物は、同数のアミノ酸および同じモル濃度を有する対応する直鎖状ＸＴＥＮを含む溶液未満の粘度を有し、溶液の粘度は、≧１００、１３０、または１５０ｍｇ／ｍｌの等モル濃度の対応する直鎖状ＸＴＥＮを含有する溶液と比較して、≧１００、１３０、または１５０ｍｇ／ｍｌの三量体ＸＴＥＮ調製物を含有する溶液中で少なくとも５、６、７、８、９、または１０ｃＰだけ減少する。別の実施形態において、本発明は、分岐様式（例えば、五量体様式）で一緒に結合された少なくとも５個のＸＴＥＮフラグメントを有する多量体ＸＴＥＮを含む溶液を含む組成物を提供し、この組成物は、同数のアミノ酸および同じモル濃度を有する対応する直鎖状ＸＴＥＮを含む溶液未満の粘度を有し、溶液の粘度は、≧１００、１３０、または１５０ｍｇ／ｍｌの等モル濃度の対応する直鎖状ＸＴＥＮを含有する溶液と比較して、≧１００、１３０、または１５０ｍｇ／ｍｌの三量体ＸＴＥＮ調製物を含有する溶液中で少なくとも５、６、７、８、９、または１０ｃＰだけ減少する。このパラグラフの前述の実施形態において、多量体構成の個別のＸＴＥＮは、表２および表３に記載される配列からなる群から選択される。

【００５０】

別の実施形態において、本発明は、表５２に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、ま

たは少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有するポリペプチドの組成物を提供する。

【００５１】

別の実施形態において、本発明は、本明細書に記載されるＸＴＥＮ－ペイロード共役体の実施形態のうちのいずれか１つ、および薬学的に許容される担体の共役体を含む、薬学的組成物を提供する。一実施形態において、前述の薬学的組成物は、表１６に記載される状態の群から選択される状態の処置において有用性を有する。別の実施形態において、前述の薬学的組成物は、対象の処置のための薬学的計画において使用するための有用性を有し、当該計画は、薬学的組成物を含む。別の実施形態において、前述の薬学的計画は、表１６に記載される状態の群から選択される状態を有する対象において、有益な効果を達成するために必要とされる薬学的組成物の量を決定するステップをさらに含む。別の実施形態において、対象を処置するために使用される薬学的計画は、薬学的組成物を２つ以上の連続用量で対象に有効な量で投与することを含み、この投与は、未処置の対象と比較して、状態と関連付けられた少なくとも１つ、２つ、または３つのパラメータの少なくとも１０％、または２０％、または３０％、または４０％、または５０％、または６０％、または７０％、または８０％、または９０％超の改善をもたらす。

【００５２】

別の実施形態において、本発明は、表１６に記載される状態の群から選択される状態の処置のための薬剤の調製において使用するための、本明細書に記載されるＸＴＥＮ－ペイロード共役体の実施形態のうちのいずれか１つの共役体を提供する。

【００５３】

いくつかの実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮに結合されたペイロードの組合せを治療薬として選択する方法を提供し、この方法は、複数のＸＴＥＮ配列を含むＸＴＥＮのライブラリーを提供することであって、当該ＸＴＥＮ配列のそれぞれが、少なくとも第１のペイロードおよび第１のペイロードとは異なる少なくとも第２のペイロードに共役される、提供することと、当該ライブラリーから、（１）第１のペイロード単独に共役されたＸＴＥＮ配列、および（２）第２のペイロード単独に共役されたＸＴＥＮ配列のものと比較して、改善されたインビトロまたはインビボパラメータを呈する場合に、ＸＴＥＮ配列を治療薬として選択することと、を含む。本方法の一実施形態において、第１のペイロードおよび第２のペイロードは、共通の疾患（例えば、第１および第２のペイロードの双方が標的にする疾患）を改善するために治療上有効である。本方法の一実施形態において、第１の薬物および第２の薬物は、共通の疾患の異なる症状を処置するために治療上有効である。本方法の一実施形態において、共通の疾患は、癌、癌の支持療法、心血管、中枢神経系、内分泌疾患、消化管、尿生殖器、血液学的、ＨＩＶ感染、ホルモン疾患、炎症、自己免疫疾患、感染症、代謝疾患、筋骨格系疾患、腎臓学的障害、眼科疾患、疼痛、および呼吸器から選択される。本方法の一実施形態において、第１のペイロードおよび第２のペイロードは、共通の生物学的経路を介して、それらの治療効果を媒介する。本方法の一実施形態において、第１のペイロードおよび第２のペイロードは、表１１、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される、異なる薬物である。本方法の一実施形態において、第１のペイロードおよび第２のペイロードは、表１２、表１８、および表２１に記載されるタンパク質からなる群から選択される、異なる生物学的に活性なタンパク質である。本方法の一実施形態において、第１のペイロードは、表１１、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される薬物であり、第２のペイロードは、表１２、表１８、および表２１に記載されるタンパク質からなる群から選択される生物学的に活性なタンパク質である。

【００５４】

別の実施形態において、本発明は、ＳＡＳＲＳＡまたはＳＡＳＸＳＡ（Ｘが、ＲまたはＫである）から選択される配列を有する、タンパク質分解切断部位を介して、親和性精製

タグに結合される伸長組換えポリペプチドを含む、単離されたポリペプチドを提供する。
【００５５】
別の実施形態において、本発明は、ＳＡＳＲＳＡまたはＳＡＳＸＳＡ（Ｘが、ＲまたはＫである）から選択される配列を有する、タンパク質分解切断部位を介して、そのＮ末端で第１の親和性精製タグに結合され、ＳＡＳＲＳＡまたはＳＡＳＸＳＡ（Ｘが、ＲまたはＫである）から選択される配列を有する、タンパク質分解切断部位を介して、そのＣ末端で第２の親和性精製タグに結合される、ＸＴＥＮを含むポリペプチドを含む、単離されたポリペプチドを提供する。
【００５６】
別の態様において、本発明は、対象における状態を、ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物で処置する方法に関する。一実施形態において、本発明は、対象における状態を処置する方法を提供し、有効な量の本明細書に記載されるＸＴＥＮ－ペイロードの実施形態のうちのいずれか１つの共役体を、処置を必要とする対象に投与することを含む。別の実施形態において、本発明は、対象における状態を処置する方法を提供し、有効な量の表２１に記載される共役体からなる群の共役体を、処置を必要とする対象に投与することを含む。このパラグラフの前述の実施形態において、処置される状態としては、表１３に記載される状態が挙げられるが、これらに限定されない。別の実施形態において、本発明は、治療計画において使用するための、本明細書に記載されるＸＴＥＮ－ペイロード共役体の実施形態のうちのいずれか、および薬学的に許容される担体の共役体を含む、薬学的組成物を提供し、この計画は、薬学的組成物の２つ以上の連続用量を投与することを含む。
【００５７】
一実施形態において、本発明は、表１６に記載される状態の群から選択される状態の処置のための薬剤の調製のための、本明細書に記載されるＸＴＥＮ－ペイロードの実施形態のうちのいずれか１つの共役体の使用を提供する。別の実施形態において、本発明は、表１６に記載される群から選択される状態の処置のための薬学的組成物を提供し、有効な量の本明細書に記載されるＸＴＥＮ－ペイロードの実施形態のうちのいずれか１つの共役体を含む。
【００５８】
別の実施形態において、本発明は、図１１７に記載される構造を有する組成物を提供する。
本発明は、例えば、以下の項目も提供する。
（項目１）
ＸＴＥＮ配列の実質的に均質な集団を含む組成物を産生する方法であって、
ａ．　表６に記載される配列の群から選択されるアミノ酸配列であって、少なくとも１つの切断配列を含む、アミノ酸配列を有する少なくとも１つのポリペプチドを含む組成物を提供することと、
ｂ．　前記ポリペプチド組成物を、前記切断配列を切断するのに有効な条件下で、トリプシンで処置することと、を含み、
得られたＸＴＥＮ配列の実質的に均質な集団中の個別の配列の少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％が、同一配列長を有する、方法。
（項目２）
ａ．　前記ＸＴＥＮ配列を、クロマトグラフィー基質の上に、前記ＸＴＥＮ配列を捕捉するのには有効であるが、プロテアーゼにはそうでない条件下で吸着させることと、
ｂ．　前記ＸＴＥＮ配列を溶離することと、
ｃ．　前記ＸＴＥＮ配列を回収することと、をさらに含み、前記集団の個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％が、同一配列長を有する、項目１に記載の方法。
（項目３）
前記クロマトグラフィー基質が、アニオン交換基質である、項目２に記載の方法。
（項目４）

前記アニオン交換基質が、ｍａｃｒｏｃａｐ　Ｑ、ｃａｐｔｏ　Ｑ、ｓｕｐｅｒＱ－６５０Ｍ、およびｐｏｒｏｓ　Ｄからなる群から選択される、項目３に記載の方法。

（項目５）

前記ＸＴＥＮ配列が、表６に記載されるアミノ酸配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有する、項目１～４のいずれか１項に記載の方法。

（項目６）

前記ＸＴＥＮ配列が、表２または３に記載されるアミノ酸配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有する、項目１～５のいずれか１項に記載の方法。

（項目７）

項目１～６のいずれか１項に記載の方法によって産生される、組成物。

（項目８）

伸長組換えポリペプチド（ＸＴＥＮ）を含むポリペプチドの実質的に均質な集団を含む組成物であって、前記集団中の個別のポリペプチド分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する、組成物。

（項目９）

前記ＸＴＥＮが、

ａ．　前記ＸＴＥＮが、約３６～約３０００個のアミノ酸残基を含むことと、

ｂ．　グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）、およびプロリン（Ｐ）残基の合計が、前記ＸＴＥＮの全アミノ酸残基の約９０％超を構成することと、

ｃ．　前記ＸＴＥＮ配列が、（ｉ）前記ＸＴＥＮ配列が、前記アミノ酸がセリンでない限り同一である３個の隣接するアミノ酸を含有しないか、（ｉｉ）前記ＸＴＥＮ配列の少なくとも約８０％が、非重複配列モチーフからなり、前記配列モチーフのそれぞれが約９個～約１４個のアミノ酸残基を含み、いずれの２個の隣接するアミノ酸残基も、前記配列モチーフのそれぞれにおいて２回を超えて発生しないか、または（ｉｉｉ）前記ＸＴＥＮ配列が、１０未満の部分列スコアを有するように、実質的に非反復的であることと、

ｄ．　前記ＸＴＥＮ配列が、ＧＯＲアルゴリズムによって決定される９０％を超えるランダムコイル形成を有することと、

ｅ．　前記ＸＴＥＮ配列が、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズムによって決定される２％未満のαらせんおよび２％のβシートを有することと、

ｆ．　前記ＸＴＥＮ配列が、ＴＥＰＩＴＯＰＥアルゴリズムによって分析されるとき、予測されたＴ細胞エピトープを欠き、前記ＸＴＥＮ配列内のエピトープについての前記ＴＥＰＩＴＯＰＥアルゴリズム予測は、－９のスコアに基づくことと、を特徴とする、項目８に記載の組成物。

（項目１０）

前記ＸＴＥＮが、表２、表３、表４、および表２２～２５に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列を含む、項目８に記載の組成物。

（項目１１）

第１の親和性タグをさらに含む、項目８に記載の組成物。

（項目１２）

前記第１の親和性タグが、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、固定化金属イオン親和性クロマトグラフィー（ＩＭＡＣ）基質、および固定化抗体基質からなる群から選択されるクロマトグラフィー基質に対す

る結合親和性を有する、項目１１に記載の組成物。
（項目１３）
前記第１の親和性タグが、表７に記載される配列からなる群から選択される、項目１１に記載の組成物。
（項目１４）
ヘルパー配列をさらに含む、項目１１～１３のいずれか１項に記載の組成物。
（項目１５）
前記ヘルパー配列が、表１０に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列を含む、項目１４に記載の組成物。
（項目１６）
前記ヘルパー配列が、
ａ．　ＫＮＰＥＱＡＥＥＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲである）、
ｂ．　ＡＮＰＥＱＡＥＥＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲである）、
ｃ．　ＫＮＰＥＱＡＥＥＱＡＥＥＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲである）、
ｄ．　ＫＸ２Ｘ３ＥＱＡＥＥＱＡＥＥＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）、
ｅ．　ＫＸ２（Ｘ３）１０ＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）、
ｆ．　ＫＸ２（Ｘ３）７ＡＥＥＱＸ１ＥＥＴ（式中、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）、
ｇ．　ＫＸ２Ｘ３ＥＱＥ（Ｘ３）３ＡＥＥＱＲＥＥＴ（式中、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）、
ｈ．　ＫＸ２Ｘ３ＥＱＥ（Ｘ３）３ＡＥＥ（Ｘ３）５（式中、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）、
ｉ．　ＫＫＱＥＱＥＫＥＱＡＥＥＱ（Ｘ４Ｘ５）２ＲＥＥＴ（式中、Ｘ４が、独立して、ＡまたはＳであり、Ｘ５が、独立して、Ｋ、Ｑ、またはＥである）；ＫＫＱＥＱＥＫＥＱＡＥＥＱ（Ｘ４Ｘ５）４ＲＥＥＴ（式中、Ｘ４が、独立して、ＡまたはＳであり、Ｘ５が、独立して、Ｋ、Ｑ、またはＥである）、
ｊ．　ＫＫＱＥＱＥＫＥＱＡＥＥＱ（Ｚ）４ＲＥＥＴ（式中、Ｚが、任意の天然に存在するＬアミノ酸である）、
ｋ．　ＫＸ２（Ｘ３）ｎ（式中、ｎが、１０～４０の整数であり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）、
ｌ．　（Ｘ３）ｎ（式中、ｎが、１０～５０の整数であり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳである）、
ｍ．　ＫＸ２ＱＥＱＥＫＥＱＡＥＥＱ（Ｘ４Ｘ５）ｎＸ１ＥＥＴ（式中、ｎが、ゼロまたは１～１０の整数であり、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ４が、独立して、ＡまたはＳであり、Ｘ５が、独立して、Ｋ、Ｑ、またはＥである）、
ｎ．　ＫＸ２（Ｘ３）ｎ（Ｘ４Ｘ５）ｍＸ１ＥＥＴ（式中、ｎが、５～２０の整数であり

、ｍが、ゼロまたは１～１０の整数であり、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳであり、Ｘ４が、独立して、ＡまたはＳであり、Ｘ５が、独立して、Ｋ、Ｑ、またはＥである）、
ｏ．　ＫＸ２（Ｘ３）ｎ（Ｚ）ｍＸ１ＥＥＴ（式中、ｎが、５～２０の整数であり、ｍが、ゼロまたは１～１０の整数であり、Ｘ１が、独立して、ＳまたはＲであり、Ｘ２が、独立して、ＫまたはＮであり、Ｘ３が、独立して、Ｋ、Ｎ、Ｔ、Ｑ、Ｈ、Ｐ、Ｅ、Ｄ、Ａ、Ｒ、またはＳであり、Ｚが、任意の天然に存在するＬアミノ酸である）からなる群から選択される、項目１４に記載の組成物。
（項目１７）
第１の切断配列をさらに含み、前記第１の切断配列が、表８および表９に記載される配列からなる群から選択される、項目１１～１６のいずれか１項に記載の組成物。
（項目１８）
前記組成物が、式Ｉ：
【化１０１】

$$(HS)-(AT1)-(CS1)-(XTEN) \quad I$$

の構成を有し、式中、
ａ．　ＨＳが、前記ヘルパー配列であり、
ｂ．　ＡＴ１が、前記第１の親和性タグであり、
ｃ．　ＣＳ１が、前記第１の切断配列であり、
ｄ．　ＸＴＥＮが、前記伸長組換えポリペプチドである、項目１７に記載の組成物。
（項目１９）
第２の切断配列をさらに含み、前記第１および前記第２の切断配列が、同じプロテアーゼによって切断されることができ、前記組成物が、式ＩＩ：
【化１０２】

$$(HS)-(CS1)-(XTEN)-(CS2)-(AT1) \quad II$$

の構成を有し、式中、
ａ．　ＨＳが、ヘルパー配列であり、
ｂ．　ＡＴ１が、前記第１の親和性タグであり、
ｃ．　ＣＳ１が、前記第１の切断配列であり、
ｄ．　ＣＳ２が、前記第２の切断配列であり、
ｅ．　ＸＴＥＮが、前記伸長組換えポリペプチドである、項目１７に記載の組成物。
（項目２０）
前記第１の親和性タグが、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲまたはＨＨＨＨＨＨを含む、項目１８または項目１９に記載の組成物。
（項目２１）
第２の親和性タグおよび第２の切断配列をさらに含み、前記第２の親和性タグが、前記第１の親和性タグとは異なるクロマトグラフィー基質に対する結合親和性を有し、前記クロマトグラフィー基質が、ＨＩＣ基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、ＩＭＡＣ基質、および固定化抗体基質からなる群から選択され、前記第１および前記第２の切断配列が、同じプロテアーゼによって切断されることができる、項目１１～１７のいずれか１項に記載の組成物。
（項目２２）
前記第２の親和性タグが、前記第１の親和性タグとは異なり、前記第２の親和性タグが、表７に記載される配列の群から選択される、項目２１に記載の組成物。
（項目２３）
前記組成物が、式ＩＩＩ：

【化１０３】

(HS) − (AT1) − (CS1) − (XTEN) − (CS2) − (AT2)　　II

I

の構成を有し、式中、
ａ．　ＨＳが、前記ヘルパー配列であり、
ｂ．　ＡＴ１が、前記第１の親和性タグであり、
ｃ．　ＣＳ１が、前記第１の切断配列であり、
ｄ．　ＣＳ２が、前記第２の切断配列であり、
ｅ．　ＸＴＥＮが、前記伸長組換えポリペプチドであり、
ｆ．　ＡＴ２が、前記第２の親和性タグである、項目２１または項目２２に記載の組成物。
（項目２４）
前記第１の親和性タグが、前記配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含み、前記第２の親和性タグが、前記配列ＨＨＨＨＨＨを含む、項目２３に記載の組成物。
（項目２５）
前記第１の親和性タグが、前記配列ＨＨＨＨＨＨを含み、前記第２の親和性タグが、前記配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含む、項目２３に記載の組成物。
（項目２６）
ａ．　ポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、前記宿主細胞の粗発現産物の成分として前記ポリペプチドを発現するのに有効な条件下で培養することであって、前記コードされたポリペプチドが、ＸＴＥＮと、第１の切断配列と、第１の親和性タグとを含む、培養することと、
ｂ．　前記粗発現産物の前記ポリペプチドを、第１のクロマトグラフィー基質の上に、前記第１の親和性タグを前記第１のクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることと、
ｃ．　前記ポリペプチドを溶離することと、
ｄ．　前記集団の前記ポリペプチドの少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する、前記ポリペプチドを回収することと、を含むプロセスによって得られたポリペプチドの実質的に均質な集団を含む、組成物。
（項目２７）
前記第１のクロマトグラフィー基質が、ＨＩＣ基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、およびＩＭＡＣ基質からなる群から選択される、項目２６に記載の組成物。
（項目２８）
前記親和性タグが、表７に記載される親和性タグからなる群から選択される、項目２６に記載の組成物。
（項目２９）
前記第１のクロマトグラフィー基質が、カチオン交換であり、前記第１の親和性タグが、前記配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含む、項目２７に記載の組成物。
（項目３０）
前記第１のクロマトグラフィー基質が、ＩＭＡＣであり、前記第１の親和性タグが、前記配列ＨＨＨＨＨＨＨＨを含む、項目２７に記載の組成物。
（項目３１）
前記ベクターが、項目１１～１９のいずれか１項に記載のポリペプチドをコードする、項目２６に記載の組成物。
（項目３２）
前記ベクターが、第２の切断配列および第２の親和性タグをさらにコードし、前記第１および前記第２の切断配列が、同じプロテアーゼによって切断されることができ、前記第２の親和性タグが、前記第１の親和性タグとは異なる第２のクロマトグラフィー基質に対する結合親和性を有し、前記組成物が、
ａ．　前記ポリペプチドを、第２のクロマトグラフィー基質の上に、前記第２の親和性タ

グを前記第２のクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることと、
ｂ．　前記ポリペプチドを溶離することと、
ｃ．　前記集団の前記ポリペプチドの少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する、前記ポリペプチドを回収することと、をさらに含むプロセスによって得られる、項目２６～２８のいずれか１項に記載の組成物。
（項目３３）
前記ベクターが、項目２３に記載のポリペプチドをコードする、項目３２に記載の組成物。
（項目３４）
前記第１のクロマトグラフィー基質が、前記第２のクロマトグラフィー基質とは異なり、前記第１および前記第２のクロマトグラフィー基質のそれぞれが、独立して、ＨＩＣ、カチオン交換、アニオン交換、およびＩＭＡＣからなる群から選択される、項目３２に記載の組成物。
（項目３５）
前記第１のクロマトグラフィー基質が、カチオン交換であり、前記第１の親和性タグが、前記配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含み、前記第２のクロマトグラフィー基質が、ＩＭＡＣであり、前記第１の親和性タグが、前記配列ＨＨＨＨＨＨＨＨを含む、項目３２に記載の組成物。
（項目３６）
前記第１のクロマトグラフィー基質が、ＩＭＡＣであり、前記第１の親和性タグが、前記配列ＨＨＨＨＨＨＨＨを含み、前記第２のクロマトグラフィー基質が、カチオン交換であり、前記第１の親和性タグが、前記配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含む、項目３２に記載の組成物。
（項目３７）
前記プロセスが、
ａ．　前記組成物を、前記切断配列（複数可）を切断するのに有効な条件下で、プロテアーゼで処置し、それにより前記ＸＴＥＮを前記親和性タグ（複数可）から遊離させることと、
ｂ．　前記ＸＴＥＮを、クロマトグラフィー基質の上に、前記ＸＴＥＮを捕捉するのには有効であるが、前記親和性タグ（複数可）または前記プロテアーゼにはそうではない条件下で吸着させることと、
ｃ．　前記ＸＴＥＮを溶離することと、
ｄ．　前記ＸＴＥＮを回収することと、をさらに含み、ＸＴＥＮの前記個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する、項目２３～２８または３２～３４のいずれか１項に記載の組成物。
（項目３８）
前記切断配列（複数可）が、表９のプロテアーゼからなる群から選択されるプロテアーゼによって切断されることができる、項目３７に記載の組成物。
（項目３９）
前記切断配列（複数可）が、トリプシンによって切断されることができ、前記配列が、表８に記載される配列からなる群から選択され、前記プロテアーゼが、トリプシンである、項目３８に記載の組成物。
（項目４０）
前記クロマトグラフィー基質が、アニオン交換である、項目３７または３８に記載の組成物。
（項目４１）
前記アニオン交換クロマトグラフィー基質が、ｍａｃｒｏｃａｐ　Ｑ、ｃａｐｔｏ　Ｑ、ｓｕｐｅｒＱ－６５０Ｍ、およびｐｏｒｏｓ　Ｄからなる群から選択される、項目４０に記載の組成物。

（項目４２）
前記プロセスが、
ａ．　前記組成物を、前記切断配列（複数可）を切断するのに有効な条件下で、プロテアーゼで処置し、それにより前記ＸＴＥＮを前記親和性タグ（複数可）から遊離させることと、
ｂ．　前記プロテアーゼを、クロマトグラフィー基質の上に、前記プロテアーゼを捕捉するのには有効であるが、前記ＸＴＥＮにはそうではない条件下で吸着させることと、
ｃ．　前記ＸＴＥＮを溶離液から回収することと、をさらに含み、ＸＴＥＮの前記個別の分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する、項目２３～２８または３２～３４のいずれか１項に記載の組成物。
（項目４３）
前記切断配列（複数可）が、表９のプロテアーゼからなる群から選択されるプロテアーゼによって切断されることができる、項目４２に記載の組成物。
（項目４４）
前記切断配列（複数可）が、トリプシンによって切断されることができ、前記配列が、表８に記載される配列からなる群から選択され、前記プロテアーゼが、トリプシンである、項目４２または項目４３に記載の組成物。
（項目４５）
前記クロマトグラフィー基質が、カチオン交換基質、ＨＩＣ基質、またはＩＭＡＣ基質のうちの１つ以上である、項目４２～４４のいずれか１項に記載の組成物。
（項目４６）
ＸＴＥＮ配列を含む組成物であって、前記ＸＴＥＮ配列が、トリプシンによって切断されることができる１つ以上の切断配列をさらに含み、前記切断配列の全てを切断するのに有効な条件下で、トリプシンを用いた処置が、ＸＴＥＮフラグメントの調製物をもたらし、各ＸＴＥＮフラグメントが、前記調製物中のあらゆる他のフラグメントに対して少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有する、組成物。
（項目４７）
前記切断配列が、配列ＳＡＳＲＳＡまたはＳＡＳＫＳＡに対して少なくとも８６％の配列同一性を有するか、または同一である、項目４６に記載の組成物。
（項目４８）
前記切断配列が、配列ＲＸまたはＫＸを含み、式中、Ｘが、プロリン以外の任意のＬアミノ酸である、項目４６に記載の組成物。
（項目４９）
前記組成物が、表６に記載される配列の群から選択される前記配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、項目４６に記載の組成物。
（項目５０）
ＸＴＥＮ配列を宿主細胞中で産生するための方法であって、ａ）前記ＸＴＥＮ配列と、ｂ）ヘルパー配列とを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、粗発現産物の成分として前記ポリペプチドを発現するのに有効な条件下で、約２グラム／リットル（ｇ／Ｌ）、または約３ｇ／Ｌ、または約４ｇ／Ｌ、または約５ｇ／Ｌ、または約６ｇ／Ｌ、または約７ｇ／Ｌを超える前記ポリペプチドの濃度で培養することを含む、方法。
（項目５１）
ＸＴＥＮ配列を宿主細胞中で産生するための方法であって、ａ）前記ＸＴＥＮ配列と、ｂ）ヘルパー配列とを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、粗発現産物の成分として前記ポリペプチドを発現するのに有効な条件下で、約１０ミリグラム／グラムを超える乾燥重量宿主細胞（ｍｇ／ｇ）濃度、または少なくとも約１５ｍｇ／ｇ、もしくは少なくとも約２０ｍｇ／ｇ、もしくは少なくとも約２５ｍｇ／ｇ、もしくは少なくとも約３０ｍｇ／ｇ、もしくは少なくとも約４０ｍｇ／ｇ、もしく

は少なくとも約５０ｍｇ／ｇの前記ポリペプチドの濃度で培養することを含む、方法。
（項目５２）
ＸＴＥＮ配列を宿主細胞中で産生するための方法であって、ａ）前記ＸＴＥＮ配列と、ｂ）ヘルパー配列とを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、粗発現産物の成分として前記ポリペプチドを発現するのに有効な条件下で、約１０ミリグラム／グラムを超える乾燥重量宿主細胞（ｍｇ／ｇ）濃度、または少なくとも約２５０マイクロモル／Ｌ、もしくは約３００マイクロモル／Ｌ、もしくは約３５０マイクロモル／Ｌ、もしくは約４００マイクロモル／Ｌ、もしくは約４５０マイクロモル／Ｌ、もしくは約５００マイクロモル／Ｌの前記ポリペプチドの濃度で培養することを含む、方法。
（項目５３）
前記発酵反応が、６００ｎｍの波長で少なくとも１３０の光学密度に到達するときに、前記濃度が測定される、項目５０～５２のいずれか１項に記載の方法。
（項目５４）
前記発現されたポリペプチドの前記ヘルパー配列が、前記ポリペプチドのＮ末端に存在し、前記配列が、表１０に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％の配列同一性を有するか、または同一である、項目５０～５２のいずれか１項に記載の方法。
（項目５５）
前記ベクターが、項目１４～１７のいずれか１項に記載のポリペプチドをコードする、項目５４に記載の方法。
（項目５６）
ａ．　前記宿主細胞発酵反応混合物の前記粗発現産物を回収することと、
ｂ．　前記粗発現産物の前記ポリペプチドを、第１のクロマトグラフィー基質の上に、前記ポリペプチドの前記第１の親和性タグを前記クロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることであって、前記第１のクロマトグラフィー基質が、ＨＩＣ基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、およびＩＭＡＣ基質からなる群から選択される、吸着させることと、
ｃ．　前記ＸＴＥＮ配列を溶離および回収することと、をさらに含み、前記ポリペプチドの少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する、項目５５に記載の方法。
（項目５７）
前記ベクターが、項目２１～２３のいずれか１項に記載のポリペプチドをコードする、項目５０～５２のいずれか１項に記載の方法。
（項目５８）
ａ．　前記宿主細胞発酵反応混合物の前記粗発現産物を回収することと、
ｂ．　前記ポリペプチドを、第１のクロマトグラフィー基質の上に、前記ポリペプチドの前記第１の親和性タグを前記クロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることであって、前記第１のクロマトグラフィー基質が、ＨＩＣ基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、およびＩＭＡＣ基質からなる群から選択される、吸着させることと、
ｃ．　前記ポリペプチドを溶離することと、
ｄ．　前記ポリペプチドを、第２のクロマトグラフィー基質の上に、前記ポリペプチドの前記第２の親和性タグを前記クロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることであって、前記第２のクロマトグラフィー基質が、ＨＩＣ基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、およびＩＭＡＣ基質からなる群から選択される、吸着させることと、
ｅ．　前記ポリペプチドを溶離することと、
ｆ．　前記ＸＴＥＮ配列を回収することと、をさらに含み、前記ポリペプチドの少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する、項

目５７に記載の方法。
（項目５９）
ａ．　前記ポリペプチドを、前記切断配列を切断するのに有効な条件下で、プロテアーゼで処置し、それにより前記ＸＴＥＮを前記ポリペプチドから遊離させることと、
ｂ．　前記ＸＴＥＮを、アニオンクロマトグラフィー基質の上に、前記ＸＴＥＮを捕捉するのに有効な条件下で吸着させることと、
ｃ．　前記ＸＴＥＮを溶離することと、
ｄ．　前記ＸＴＥＮを回収することと、をさらに含み、前記個別のＸＴＥＮ分子の少なくとも９０％、または少なくとも９１％、または少なくとも９２％、または少なくとも９３％、または少なくとも９４％、または少なくとも９５％が、同一配列長を有する、項目５６または項目５８に記載の方法。
（項目６０）
前記アニオンクロマトグラフィー基質が、ｍａｃｒｏｃａｐ　Ｑ、ｃａｐｔｏ　Ｑ、ｓｕｐｅｒＱ－６５０Ｍ、およびｐｏｒｏｓ　Ｄからなる群から選択される、項目５９に記載の方法。
（項目６１）
前記プロテアーゼがトリプシンであり、前記配列が、表８に記載される配列からなる群から選択される、項目５９または項目６０に記載の方法。
（項目６２）
ａ．　前記ポリペプチドを、前記切断配列（複数可）を切断するのに有効な条件下で、プロテアーゼで処置し、それにより前記ＸＴＥＮを前記ポリペプチドから遊離させることと、
ｂ．　前記プロテアーゼを、クロマトグラフィー基質の上に、前記プロテアーゼを捕捉するのには有効であるが、前記ＸＴＥＮにはそうではない条件下で吸着させることと、
ｃ．　前記溶離液中の前記ＸＴＥＮを回収することと、をさらに含み、前記ＸＴＥＮの少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する、項目５６または項目５８に記載の方法。
（項目６３）
前記プロテアーゼがトリプシンであり、前記配列が、表８に記載される配列からなる群から選択される、項目６２に記載の方法。
（項目６４）
前記クロマトグラフィー基質が、ＨＩＣ基質、カチオン交換基質、およびＩＭＡＣ基質のうちの１つ以上である、項目６２または項目６３に記載の方法。
（項目６５）
上に固定化された実質的に同一のポリペプチドの集団を含む、固体支持体であり、前記固体支持体が、クロマトグラフィー基質を含み、前記固定化されたポリペプチドが、それぞれ、ＸＴＥＮ、第１の親和性タグ、および第２の親和性タグを含み、
ａ．　前記第１の親和性タグが、前記ＸＴＥＮの前記Ｎ末端における切断配列によって、前記ＸＴＥＮに接合され、
ｂ．　前記第２の親和性タグが、前記ＸＴＥＮの前記Ｃ末端における切断配列によって、前記ＸＴＥＮに接合され、
ｃ．　前記第２の親和性タグが、前記第１の親和性タグとは異なり、
ｄ．　前記クロマトグラフィー基質が、双方にではないが、前記第１または前記第２の親和性タグのいずれかに結合することができ、
ｅ．　前記固定化ポリペプチド分子の少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、または９５％が、同一配列長を有する、固体支持体。
（項目６６）
前記固定化ポリペプチド分子が、項目２１～２５のいずれか１項に記載のポリペプチドを含む、項目６５に記載の固定支持体。
（項目６７）
前記切断配列が、配列ＳＡＳＲＳＡまたはＳＡＳＫＳＡに対して少なくとも８６％の配

列同一性を有するか、または同一である、項目６５または項目６６に記載の固定支持体。
（項目６８）
前記切断配列が、配列ＲＸまたはＫＸを含み、式中、Ｘが、プロリン以外の任意のＬアミノ酸である、項目６５または項目６６に記載の固体支持体。
（項目６９）
前記固体支持体が、ＨＩＣクロマトグラフィー樹脂、カチオン交換樹脂、アニオン交換クロマトグラフィー樹脂、およびＩＭＡＣクロマトグラフィー樹脂からなる群から選択される、項目６５～６８のいずれか１項に記載の固体支持体。
（項目７０）
前記第１の親和性タグが、前記配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含み、前記第２の親和性タグが、前記配列ＨＨＨＨＨＨを含む、項目６９に記載の組成物。
（項目７１）
前記第１の親和性タグが、前記配列ＨＨＨＨＨＨを含み、前記第２の親和性タグが、前記配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含む、項目６９に記載の組成物。
（項目７２）
少なくとも第１の架橋剤の１つ以上の分子に共有結合したＸＴＥＮを含む共役組成物であって、前記架橋剤が、表１３に記載される架橋剤、表１５に記載されるアルキン反応物、および表１５に記載されるアジド反応物からなる群から選択され、前記ＸＴＥＮが、項目３７に記載のＸＴＥＮ、項目４２に記載のＸＴＥＮ、項目７に記載のＸＴＥＮ、表２に記載される配列、および表３に記載される配列からなる群から選択される、共役組成物。
（項目７３）
前記第１の架橋剤が、
ａ．　前記ＸＴＥＮのＮ末端アミノ酸残基のαアミノ基、
ｂ．　前記ＸＴＥＮの各リジン残基のεアミノ基、
ｃ．　前記ＸＴＥＮの各システイン残基のチオール基、からなる群から選択される場所で、前記少なくとも第１のＸＴＥＮに共役される、項目７２に記載の共役組成物。
（項目７４）
前記ＸＴＥＮが、表２および表３に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、項目７２または項目７３に記載の共役組成物。
（項目７５）
前記ＸＴＥＮが、ＡＥ１４４、ＡＥ２８８、ＡＥ４３２、ＡＥ５７６、ＡＥ８６４、セグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択され、前記架橋剤が、前記ＸＴＥＮの前記Ｎ末端アミノ酸の前記αアミノ基に共役される、項目７４に記載の共役組成物。
（項目７６）
前記ＸＴＥＮが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択され、前記架橋剤が、前記ＸＴＥＮの各システイン残基の前記チオール基に共役される、項目７４に記載の共役組成物。
（項目７７）

前記第１の架橋剤が、Ｎ－マレイミド、ヨードアセチル試薬、ピリジルジスルフィド試薬、ビニルスルホン試薬、３－プロパルギルオキシプロパン酸、（オキシエチル）ｎ－アセチレン（ｎが１～１０）、ジベンジルシクロオクチン（ＤＢＣＯ）、シクロオクチン（ＣＯＴ）、３－アジド－プロピオン酸、６－アジド－ヘキサン酸、および（オキシエチル）ｎ－アジド（ｎが１～１０）からなる群から選択される、項目７２～７６のいずれか１項に記載の共役体。

（項目７８）

前記第１の架橋剤が、前記ＸＴＥＮの各システイン残基の前記チオール基に共役され、前記共役体が、前記ＸＴＥＮの前記Ｎ末端アミノ酸の前記αアミノ基に共役された第２の架橋剤をさらに含み、前記架橋剤が、表１３に記載される架橋剤、表１５に記載のアルキン反応物、および表１５に記載のアジド反応物からなる群から選択される、項目７６に記載の共役組成物。

（項目７９）

式Ｖ：

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、

ａ．　ＣＬ１が、前記ＸＴＥＮのシステイン残基に共役された前記第１の架橋剤であり、

ｂ．　ＣＬ２が、前記Ｎ末端においてＸＴＥＮに共役された前記第２の架橋剤であり、

ｃ．　ｘが、１～約１０の整数であり、

ｄ．　ｙが整数１であるが、但し、ｘ＋ｙ＞２を条件とし、

ｅ．　ＸＴＥＮが、ｘ個のシステイン残基を含むシステイン操作されたＸＴＥＮである、

項目７８に記載の共役組成物。

（項目８０）

各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基をさらに含み、前記残基が、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、項目７２～７７のいずれか１項に記載の共役組成物。

（項目８１）

前記単一原子残基の前記第１のペイロードが、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、項目８０に記載の共役組成物。

（項目８２）

各第１の架橋剤に共役された表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択されるペイロードをさらに含む、項目７２～７７のいずれか１項に記載の共役組成物。

（項目８３）

第１の架橋剤のそれぞれに共役された第１のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、前記第２の架橋剤に共役された第２のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、をさらに含む、項目７８または項目７９に記載の共役組成物。

（項目８４）

前記単一原子残基の前記第１のペイロードが、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択され、前記単一原子残基の前記第２のペイロードが、前記第１のペイロードとは異なるペイロードであり、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、項目８３に記載の共役組成物。

（項目８５）

前記第１の架橋剤のそれぞれに共役された第１のペイロードであって、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、第１のペイロードと、前記第２の架橋剤に共役された前記第１のペイロードとは異なる第２のペイロードであって、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、第２のペイロードと、をさらに含む、項目７８または項目７９に記載の共役組成物。

（項目８６）

前記第１の架橋剤のそれぞれに共役された第１のペイロードであって、表２１の薬物部

分からなる群から選択される、第１のペイロードと、前記第２の架橋剤に共役された前記第１のペイロードとは異なる第２のペイロードであって、表２１の標的部分からなる群から選択される、第２のペイロードと、をさらに含む、項目７８または項目７９に記載の共役組成物。

（項目８７）

前記第２のペイロードが、表１５の反応物からなる群から選択される、アルキン反応物とアジド反応物との反応によって共役された前記第２の架橋剤によって、前記ＸＴＥＮの前記Ｎ末端に結合される、項目８５または項目８６に記載の共役組成物。

（項目８８）

少なくとも第１および第２のＸＴＥＮを含む、共役組成物であって、前記ＸＴＥＮが、同じであるか、または異なり、それぞれが項目３７に記載のＸＴＥＮ、項目４２に記載のＸＴＥＮ、項目７に記載のＸＴＥＮ、および表３に記載される配列からなる群から選択され、前記第１および前記第２のＸＴＥＮが、前記第１および前記第２のＸＴＥＮの前記Ｎ末端によって、表１５の反応物からなる群から選択されるアルキン反応物とアジド反応物との反応によって形成された架橋剤を用いて互いに共役される、共役組成物。

（項目８９）

前記第１のＸＴＥＮおよび前記第２のＸＴＥＮが異なり、それぞれが独立して、表３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、項目８８に記載の共役組成物。

（項目９０）

前記第１のＸＴＥＮが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有し、前記第２のＸＴＥＮが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる配列の群から選択される異なる配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、項目８９に記載の共役組成物。

（項目９１）

前記第１のＸＴＥＮおよび前記第２のＸＴＥＮが、同じであり、それぞれが、表３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、項目８８に記載の共役組成物。

（項目９２）

前記第１のＸＴＥＮおよび前記第２のＸＴＥＮが、それぞれ、表３に記載されるセグメ

ント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、項目９１に記載の共役組成物。

（項目９３）

前記第１および前記第２のＸＴＥＮが、それぞれ、１つ以上のシステイン残基を含み、前記第１のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第１の架橋剤と、前記第２のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第２の架橋剤と、をさらに含み、前記第１および前記第２の架橋剤が、独立して、表１３に記載される架橋剤からなる群から選択される、項目８８～９２のいずれか１項に記載の共役組成物。

（項目９４）

前記第１および前記第２のＸＴＥＮが、それぞれ、１つ以上のリジン残基を含み、前記共役体の第１および／または前記第２のＸＴＥＮの各リジン残基に共役された架橋剤をさらに含み、前記架橋剤が、表１３に記載される架橋剤からなる群から選択される、項目８８～９２のいずれか１項に記載の共役組成物。

（項目９５）

前記第１のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基をさらに含み、前記残基が、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、前記第２のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第２のペイロードの単一原子残基であって、前記残基が、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、項目９３または項目９４に記載の共役組成物。

（項目９６）

前記単一原子残基の前記第１のペイロードが、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択され、前記単一原子残基の前記第２のペイロードが、前記第１のペイロードとは異なるペイロードであり、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、項目９５に記載の共役組成物。

（項目９７）

前記第１のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第１のペイロードをさらに含み、前記第１のペイロードが、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択され、前記第１のペイロードとは異なる第２のペイロードをさらに含み、前記第２のペイロードが、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、項目９３または項目９４に記載の共役組成物。

（項目９８）

前記第１のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第１のペイロードをさらに含み、前記第１のペイロードが、表１８に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第１のペイロードとは異なる第２のペイロードをさらに含み、前記第２のペイロードが、表１８に記載される毒素の群から選択される、項目９３または項目９４に記載の共役組成物。

（項目９９）

前記第１のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第１のペイロードをさらに含み、前記第１のペイロードが、表２１に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第１のペイロードとは異なる第２のペイロードをさらに含み、前記第２のペイロードが、表２１に記載される毒素の群から選択される、項目９３または項目９４に記載の共役組成物。

（項目１００）

前記第１のＸＴＥＮが、表３のセグメント１７６であり、前記第２のＸＴＥＮが、表３に記載されるセグメント１７６およびセグメント１７７からなる群から選択される、項目

９９に記載の共役組成物。
（項目１０１）
少なくとも第１のＸＴＥＮ、第２のＸＴＥＮ、および第３のＸＴＥＮを含む、共役組成物であって、前記ＸＴＥＮが、それぞれ、独立して、項目３７に記載のＸＴＥＮ、項目４２に記載のＸＴＥＮ、項目７に記載のＸＴＥＮ、および表３に記載の配列からなる群から選択され、前記第１および前記第２および前記第３のＸＴＥＮが、表１３または表１４に記載される三価架橋剤からなる群から選択される三価架橋剤を使用し、前記Ｎ末端で互いに共役される、共役組成物。
（項目１０２）
前記三価架橋剤が、トリス－（２－マレイミドエチル）アミン（ＴＭＥＡ）およびアミン反応性トリス－（スクシンイミジルアミノトリアセテート（ＴＳＡＴ）からなる群から選択される、項目１００に記載の共役組成物。
（項目１０３）
前記第１、前記第２、および前記第３のＸＴＥＮが、同一であり、それぞれが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、項目１００～１０２のいずれか１項に記載の共役組成物。
（項目１０４）
前記第１および前記第２のＸＴＥＮが、同じであり、それぞれが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有し、前記第３のＸＴＥＮが、前記第１および前記第２のＸＴＥＮとは異なり、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、項目１００～１０２のいずれか１項に記載の共役組成物。
（項目１０５）
前記共役体が、前記第１のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第１の架橋剤と、前記第２のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第２の架橋剤と、前記第３のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第３の架橋剤と、をさらに含み、前記架橋剤が、表１３に記載される架橋剤からなる群から選択される、項目１０３または項目１０４に記載の共役組成物。
（項目１０６）

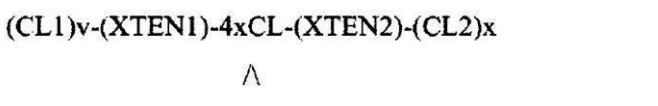
式ＸＩＩ：
【化１０４】

(CL1)x-(XTEN1)-3xCL-(XTEN2)-(CL2)y
|
(XTEN3)-(CL3)z XII

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、
ａ．　３ｘＣＬが、前記三価架橋剤であり、
ｂ．　ＣＬ１が、ＸＴＥＮ１に共役された前記第１の架橋剤であり、
ｃ．　ＣＬ２が、ＸＴＥＮ２に共役された前記第２の架橋剤であり、
ｄ．　ＣＬ３が、ＸＴＥＮ３に共役された前記第３の架橋剤であり、
ｅ．　ｘが、１～約１０の整数であり、
ｆ．　ｙが、１～約１０の整数であり、
ｇ．　ｚが、１～約１０の整数であるが、但し、ｘ＋ｙ＞３を条件とし、
ｈ．　ＸＴＥＮ１が、前記第１のＸＴＥＮであり、
ｉ．　ＸＴＥＮ２が、前記第２のＸＴＥＮであり、
ｊ．　ＸＴＥＮ３が、前記第３のＸＴＥＮである、項目１０５に記載の共役組成物。
（項目１０７）
ａ．　前記第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、
ｂ．　前記第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、
ｃ．　前記第３のＸＴＥＮの各第３の架橋剤に共役された第３のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、をさらに含む、項目１０５または項目１０６に記載の共役組成物。
（項目１０８）
ａ．　表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードと、
ｂ．　表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードと、
ｃ．　表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第３のＸＴＥＮの各第３の架橋剤に共役された第３のペイロードと、をさらに含む、項目１０５または項目１０６に記載の共役組成物。
（項目１０９）
前記第１のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、前記標的部分が、表１７～１９および２１に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第２および前記第３のペイロードが、同じであり得るか、または異なり得る薬物であり、前記薬物が、表６、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される、項目１０８に記載の共役組成物。
（項目１１０）
前記標的部分が、ＬＨＲＨおよび葉酸からなる群から選択され、前記薬物が、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、モノメチルオーリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、モノメチルオーリスタチンＦ、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス、エキソトキシン、ＳＮ－３８、およびラケルマイシンからなる群から選択される、項目１０９に記載の共役組成物。
（項目１１１）
前記標的部分、および前記薬物部分が、表２１に記載される共役体１～２９０のうちのいずれか１つに対応する、項目１０８に記載の共役組成物。

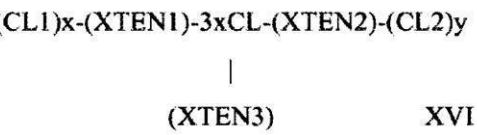
（項目１１２）
前記共役体が、前記ＸＴＥＮ、前記標的部分、および表２１の共役体７１に対応する前記薬物部分を有する、項目１１１に記載の共役組成物。
（項目１１３）
少なくとも第１および第２および第３および第４のＸＴＥＮを含む共役組成物であって、前記ＸＴＥＮが、項目３７に記載のＸＴＥＮ、項目４２に記載のＸＴＥＮ、項目７に記載のＸＴＥＮ、および表３に記載される配列からなる群から選択され、前記ＸＴＥＮが、同じであり得るか、または異なり得、前記第１および前記第２および前記第３および前記第４のＸＴＥＮが、四価架橋剤を使用し、前記Ｎ末端によって互いに共役され、前記四価架橋剤が、四価マレイミドクラスターである、共役組成物。
（項目１１４）
前記第１、前記第２、前記第３、および前記第４のＸＴＥＮが、同じであり、それぞれが、表３に記載される、セグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、項目１１３に記載の共役組成物。
（項目１１５）
前記第１および前記第２のＸＴＥＮが、同じであり、それぞれが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有し、前記第３および前記第４のＸＴＥＮが、同じであるが、前記第１および前記第２のＸＴＥＮとは異なり、それぞれが、表３に記載されるセグメント１７４、セグメント１７５、セグメント１７６、セグメント１７７、セグメント１８６、セグメント１８７、セグメント１８８、セグメント１８９、セグメント１９０、セグメント１９１、セグメント１９２、セグメント１９３、セグメント１９４、セグメント１９５、セグメント１９６、セグメント１９７、セグメント１９８、およびセグメント１９９からなる群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、項目１１３のいずれか１項に記載の共役組成物。
（項目１１６）
前記共役体が、前記第１のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第１の架橋剤と、前記第２のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第２の架橋剤と、前記第３のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第３の架橋剤と、前記第４のＸＴＥＮの各システイン残基に共役された第４の架橋剤と、をさらに含み、各架橋剤が、表１３に記載される架橋剤からなる群から選択される、項目１１４または項目１１５に記載の共役組成物。
（項目１１７）
式ＸＩＶ

【化１０５】



の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、
ａ．　４ｘＣＬが、前記四価架橋剤であり、
ｂ．　ＣＬ１が、ＸＴＥＮ１に共役された前記第１の架橋剤であり、
ｃ．　ＣＬ２が、ＸＴＥＮ２に共役された前記第２の架橋剤であり、
ｄ．　ＣＬ３が、ＸＴＥＮ３に共役された前記第３の架橋剤であり、
ｅ．　ＣＬ４が、ＸＴＥＮ４に共役された前記第４の架橋剤であり、
ｆ．　ｖが、１～約１０の整数であり、
ｇ．　ｘが、１～約１０の整数であり、
ｈ．　ｙが、１～約１０の整数であり、
ｉ．　ｚが、１～約１０の整数であるが、但し、ｘ＋ｙ＞４を条件とし、
ｊ．　ＸＴＥＮ１が、前記第１のＸＴＥＮであり、
ｋ．　ＸＴＥＮ２が、前記第２のＸＴＥＮであり、
ｌ．　ＸＴＥＮ３が、前記第３のＸＴＥＮであり、
ｍ．　ＸＴＥＮ４が、前記第４のＸＴＥＮである、項目１１６のいずれか１項に記載の共役組成物。
（項目１１８）
ａ．　前記第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、
ｂ．　前記第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、
ｃ．　前記第３のＸＴＥＮの各第３の架橋剤に共役された第３のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、
ｄ．　前記第４のＸＴＥＮの各第４の架橋剤に共役された第４のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、をさらに含む、項目１１６または項目１１７に記載の共役組成物。
（項目１１９）
ａ．　表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードと、
ｂ．　表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードであって、前記第１のペイロードと同じであるか、または異なる、ペイロードと、
ｃ．　表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第３のＸＴＥＮの各第３の架橋剤に共役された第３のペイロードであって、前記第１または前記第２のペイロードと同じであるか、または異なる、ペイロードと、
ｄ．　表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第４のＸＴＥＮの各第４の架橋剤に共役された第４のペイロードであって、前記第１または前記第２または前記第３のペイロードと同じであるか、または異なる、ペイロードと、をさらに含む、項目１１６または項目１１７に記載の共役組成物。
（項目１２０）
前記第１のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、前記標的部分が、表１７～１９および２１に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第２、第３、および第４のペイロードのうちの少なくとも他の１つが、薬物であり、前記薬物が、表６、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される、項目１１９に記載の共役組成物。

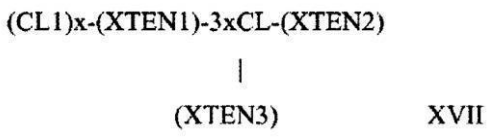
（項目１２１）
前記標的部分が、ＬＨＲＨおよび葉酸からなる群から選択され、前記薬物が、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス、エキソトキシン、ＳＮ－３８、およびラケルマイシンからなる群から選択される、項目１２０に記載の共役組成物。
（項目１２２）
前記第１のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、前記標的部分が、表１７～１９および２１に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第２、第３、および第４のペイロードのうちの少なくとも他の１つが、薬物であり、前記薬物が、表６、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択され、前記ＸＴＥＮ、前記標的部分、および前記薬物部分が、表２１に記載される共役体１～２９０のうちのいずれか１つに対応する、項目１１９に記載の共役組成物。
（項目１２３）
式ＸＶＩ：
【化１０６】



(CL1)x-(XTEN1)-3xCL-(XTEN2)-(CL2)y
|
(XTEN3) XVI

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、
ａ．　３ｘＣＬが、前記三価架橋剤であり、
ｂ．　ＣＬ１が、ＸＴＥＮ１に共役された前記第１の架橋剤であり、
ｃ．　ＣＬ２が、ＸＴＥＮ２に共役された前記第２の架橋剤であり、
ｄ．　ｘが、１～約１０の整数であり、
ｅ．　ｙが整数１～約１０であるが、但し、ｘ＋ｙ＞２を条件とし、
ｆ．　ＸＴＥＮ１が、前記第１のＸＴＥＮであり、
ｇ．　ＸＴＥＮ２が、前記第２のＸＴＥＮであり、
ｈ．　ＸＴＥＮ３が、前記第３のＸＴＥＮであり、前記ＸＴＥＮが、表２に記載される配列からなる群から選択される、項目１０１に記載の共役組成物。
（項目１２４）
ａ．　前記第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、
ｂ．　前記第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、をさらに含む、項目１２３に記載の共役組成物。
（項目１２５）
ａ．　表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードと、
ｂ．　表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードであって、前記第１のペイロードと同じであるか、または異なる、ペイロードと、をさらに含む、項目１２３に記載の共役組成物。
（項目１２６）
前記第１のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、前記標的部分が、表１７～１９および２１に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第２のペイロードが、同じであり得るか、または異なり得る薬物であり、前記薬物が、表６、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される、項目１２５に記載の共役組成物。

（項目１２７）
前記標的部分が、ＬＨＲＨおよび葉酸からなる群から選択され、前記薬物が、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、モノメチルオーリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、モノメチルオーリスタチンＦ、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス、エキソトキシン、ＳＮ－３８、およびラケルマイシンからなる群から選択される、項目１２６に記載の共役組成物。
（項目１２８）
前記第１のペイロードが、表１１の薬物および表１２のタンパク質からなる群から選択され、前記第２のペイロードが、前記第１のペイロードとは異なり、表１１の薬物および表１２のタンパク質からなる群から選択される、項目１２５に記載の共役組成物。
（項目１２９）
前記第１のペイロードおよび前記第２のペイロードが、同一であり、表１１の薬物および表１２のタンパク質からなる群から選択される、項目１２５に記載の共役組成物。
（項目１３０）
式ＸＸＶＩＩ：
【化１０７】



XVII

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、
ａ．　３ｘＣＬが、前記三価架橋剤であり、
ｂ．　ＣＬ１が、ＸＴＥＮ１に共役された前記第１の架橋剤であり、
ｃ．　ｘが、１～約１０の整数であり、
ｄ．　ＸＴＥＮ１が、前記第１のＸＴＥＮであり、前記ＸＴＥＮが、表３に記載される配列からなる群から選択され、
ｅ．　ＸＴＥＮ２が、前記第２のＸＴＥＮであり、前記ＸＴＥＮが、表２に記載される配列からなる群から選択され、
ｆ．　ＸＴＥＮ３が、前記第３のＸＴＥＮであり、前記ＸＴＥＮが、表２に記載される配列からなる群から選択される、項目１０１に記載の共役組成物。
（項目１３１）
前記第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基をさらに含み、前記残基が、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、項目１３０に記載の共役組成物。
（項目１３２）
表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードをさらに含む、項目１３０に記載の共役組成物。
（項目１３３）
多量体分岐ＸＴＥＮ分子を含む組成物であって、前記組成物の溶液が、同じアミノ酸数および同じモル濃度を有する対応する直線ＸＴＥＮを含む溶液よりも低い粘度を有する、組成物。
（項目１３４）
前記ＸＴＥＮ分子が、三量体、四量体、または五量体構成を有する、項目１３３に記載の組成物。
（項目１３５）
前記ＸＴＥＮ分子が、表２および表３に記載される配列からなる群から選択される、項目１３３に記載の組成物。

（項目１３６）
前記溶液の前記粘土が、≧１００ｍｇ／ｍｌの多量体ＸＴＥＮを含む溶液中で、≧１００ｍｇ／ｍｌの等モル濃度の前記対応する直線ＸＴＥＮを含む溶液と比較して、少なくとも５、６、７、８、９、または１０ｃＰだけ減少する、項目１３３～１３５のいずれか１項に記載の組成物。
（項目１３７）
表５２に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、ポリペプチド。
（項目１３８）
項目８５～８７、９７～９９、１０８～１１２、１１８～１２２、１２５～１２７、１２９、または１３２のいずれか１項に記載の前記共役体と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。
（項目１３９）
表１６に記載される状態の群から選択される状態の処置のための項目１３８に記載の薬学的組成物。
（項目１４０）
対象の処置のための薬学的計画において使用するための、前記計画が、前記薬学的組成物を含む、項目１３８に記載の薬学的組成物。
（項目１４１）
前記薬学的計画が、表１６に記載される状態の群から選択される状態を有する対象において、有益な効果を達成するために必要とされる薬学的組成物の量を決定するステップをさらに含む、項目１４０に記載の薬学的組成物。
（項目１４２）
前記対象を処置するための前記薬学的計画が、前記薬学的組成物を２つ以上の連続用量で前記対象に有効な量で投与することを含み、前記投与が、未処置の対象と比較して、前記状態と関連付けられた少なくとも１つ、２つ、または３つのパラメータの少なくとも１０％、または２０％、または３０％、または４０％、または５０％、または６０％、または６０％、または７０％、または８０％、または９０％超の改善をもたらす、項目１４１に記載の薬学的組成物。
（項目１４３）
表１６に記載される状態の群から選択される状態の処置のための薬剤の調製において使用するための、項目８５～８７、９７～９９、１０８～１１２、１１８～１２２、１２５～１２７、１２９、または１３２のいずれか１項に記載の共役体。
（項目１４４）
ＸＴＥＮに結合されたペイロードの組合せを治療薬として選択する方法であって、
ａ．　複数のＸＴＥＮ配列を含むＸＴＥＮのライブラリーを提供することであって、前記ＸＴＥＮ配列のそれぞれが、少なくとも第１のペイロード、および前記第１のペイロードとは異なる少なくとも第２のペイロードに共役される、提供することと、
ｂ．　前記ライブラリーから、（１）前記第１のペイロード単独に共役されたＸＴＥＮ配列、および（２）前記第２のペイロード単独に共役されたＸＴＥＮ配列のものと比較して、改善されたインビトロまたはインビボパラメータを呈する場合に、ＸＴＥＮ配列を治療薬として選択することと、を含む、方法。
（項目１４５）
前記第１のペイロードおよび第２のペイロードが、共通の疾患を寛解させるために治療上有効である、項目１４４に記載の方法。
（項目１４６）
前記第１の薬物および第２の薬物が、共通の疾患の異なる症状を処置するために治療上

有効である、項目１４４に記載の方法。
（項目１４７）
前記共通の疾患が、癌、癌の支持療法、心血管、中枢神経系、内分泌疾患、消化管、血液学的、ＨＩＶ感染、ホルモン疾患、炎症、自己免疫疾患、感染症、代謝疾患、筋骨格系疾患、腎臓学的障害、眼科疾患、疼痛、および呼吸器から選択される、項目１４５または項目１４６に記載の方法。
（項目１４８）
前記第１のペイロードおよび第２のペイロードが、共通の生物学的経路を介して、それらの治療効果を媒介する、項目１４４に記載の方法。
（項目１４９）
前記第１のペイロードおよび第２のペイロードが、表６、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される、異なる薬物である、項目１４４に記載の方法。
（項目１５０）
前記第１のペイロードおよび第２のペイロードが、表７、表１８、および表２１に記載されるタンパク質からなる群から選択される、異なる生物学的に活性なタンパク質である、項目１４４に記載の方法。
（項目１５１）
前記第１のペイロードが、表６、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される薬物であり、前記第２のペイロードが、表７、表１８、および表２１に記載されるタンパク質からなる群から選択される生物学的に活性なタンパク質である、項目１４４に記載の方法。
（項目１５２）
ＳＡＳＲＳＡまたはＳＡＳＸＳＡ（Ｘが、ＲまたはＫである）から選択される配列を有する、タンパク質分解切断部位を介して、親和性精製タグに結合される伸長組換えポリペプチド（ＸＴＥＮ）を含む、単離されたポリペプチド。
（項目１５３）
ＳＡＳＲＳＡまたはＳＡＳＸＳＡ（Ｘが、ＲまたはＫである）から選択される配列を有する、タンパク質分解切断部位を介して、そのＮ末端で第１の親和性精製タグに結合され、ＳＡＳＲＳＡまたはＳＡＳＸＳＡ（Ｘが、ＲまたはＫである）から選択される配列を有する、タンパク質分解切断部位を介して、そのＣ末端で第２の親和性精製タグに結合される、伸長組換えポリペプチド（ＸＴＥＮ）を含む、ポリペプチド。
（項目１５４）
図１１７に記載される構造を有する組成物。
【００５９】
特に、共役体の実施形態は、本明細書に開示される特性のうちの１つ以上、またはそれらの任意の組合せを呈することができると企図される。さらに、本明細書に開示されるＸＴＥＮ組成物のうちのいずれかは、本明細書に開示される方法のうちのいずれかにおいて利用されることができる。
（参照による組み込み）
本明細書に記載される全ての刊行物、特許および特許出願は、各個別の刊行物、特許、または特許出願が、明確かつ個別に参照により組み込まれることが示されているのと同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。
【図面の簡単な説明】
【００６０】
本発明の特徴および利点は、例示の実施形態について記載する以下の詳細な説明および添付の図面を参照することによりさらに説明され得る。
【図１】ペイロードとの共役に適したＸＴＥＮの概略図を示す。（図１Ａ）非修飾ＸＴＥＮを示す。（図１Ｂ）チオール側鎖を持つ内部システインを含むシステイン操作されたＸＴＥＮを示し、その下は、反応性Ｎ末端アミノ基を持つＸＴＥＮであり、その下は、チオール反応基を持つＮ末端システインを含むＸＴＥＮである。（図１Ｃ）複数の内部システ

インを持つシステイン操作されたＸＴＥＮを示す。（図１Ｄ）チオール側鎖持つ内部システインを含むシステイン操作されたＸＴＥＮ、および反応性Ｎ末端アミノ基の２つの変化形を示し、一番下は、内部システインおよび内部リジンを持つシステインおよびリジン操作されたＸＴＥＮを示す。
【図２】ＮＨＳ－エステルおよびそれらの水溶性類似体（スルホ－ＮＨＳ－エステル）を利用し、第１級アミノ基と反応させて安定したアミドＸＴＥＮ－ペイロード産物を生じる共役反応を示す。
【図３】チオール基およびＮ－マレイミドを利用する共役反応を示す。マレイミド基は、反応混合物のｐＨがｐＨ６．５～７．５であるとき、スルフヒドリル基と特異的に反応し、可逆的ではない安定したチオエーテル結合を形成する。
【図４】ハロアセチルを利用する共役反応を示す。最も一般的に使用されるハロアセチル試薬は、生理的ｐＨでスルフヒドリル基と反応するヨードアセチル基を含有する。ヨードアセチル基とスルフヒドリルとの反応は、ヨードのチオールとの求核置換によって進行し、ＸＴＥＮ－ペイロード中で安定したチオエーテル結合を産生する。
【図５】ピリジルジスリフィドを利用する共役反応を示す。ピリジルジスルフィドは、広いｐＨ範囲（最適ｐＨは４～５）にわたってスルフヒドリル基と反応し、ＸＴＥＮをペイロードに結合するジスルフィド結合を形成する。
【図６】ゼロ長架橋剤を利用する共役反応を示し、これらの架橋剤を使用して、１つの分子のカルボキシル官能基（例えば、ペイロード）を別の分子の第１級アミン（例えば、ＸＴＥＮ）に直接共役する。
【図７】デンドリマーを含む多官能性（または多価）のＸＴＥＮ前駆体の異なる構成を示す。三官能性リンカーの非限定例は、「Ｙ型」スルフヒドリル反応性（ＴＭＥＡ）（トリス－（２－マレイミドエチル）アミン）およびアミン反応性ＴＳＡＴ（トリス（スクシンイミジルアミノトリアセテート）である。反応性部分の任意の組合せは、直鎖状（「くし形」構成を形成する）または分岐（「デンドリマー」構成を形成する）のいずれかの足場ポリマーを使用して、多価表示のために設計され得る。
【図８】図示されるように、１，４－二置換－１，２，３－トリアゾールを形成するために、アルキンのアジドへのヒュスゲン１，３－双極性環状付加を利用する共役反応を示す。
【図９】チオール－エン反応と呼ばれる遊離ラジカル反応、またはチオールマイケル付加と呼ばれるアニオン性反応によって進行し得るチオ－エン系クリック化学を使用する共役反応を示す。
【図１０】ヒドラジドとアルデヒドとの間の反応に基づくクリック化学を利用し、例示されるＸＴＥＮ－ペイロード中のヒドラゾン結合をもたらす共役反応を示す。
【図１１】アミド結合の形成をもたらす、Ｃ末端アシルアジドと第１級アミノ基との間の反応を示す。
【図１２】Ｃ末端チオエステルを求電子剤として、Ｎ末端システインを求核剤として必要とする、天然型化学的ライゲーション（Ｎａｔｉｖｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｌｉｇａｔｉｏｎ（ＮＣＬ））を利用する共役反応を示す。この反応の結果は、ＸＴＥＮ－ペイロード組成物のライゲーション部位における天然アミド結合である。
【図１３】発現タンパク質ライゲーション（ＥＰＬ）法を利用する共役反応を示す。このＥＰＬ法は、タンパク質スプライシングに基づき、これはタンパク質が分子内分子内転移を受けて、内部配列（インテイン（ｉｎｔｅｉｎ））の突出および外側配列（エクステイン（ｅｘｔｅｉｎ））の接合をもたらすプロセスである。この方法において、融合タンパク質は、前駆体タンパク質のインテイン部分の第１のシステイン残基の側鎖が、すぐ上流の残基（つまり、例えば、ＸＴＥＮの最終残基）のペプチド結合を求核的に攻撃するときに、Ｎ－Ｓシフトを受け、直鎖状チオエステル中間体を創製し、ＸＴＥＮ－架橋剤とペイロードとの間のアミド結合を形成するための再配置が続く。
【図１４】天然型化学的ライゲーション（ＮＣＬ）等のトレースレス（ｔｒａｃｅｌｅｓｓ）シュタウディンガーライゲーションを利用し、ライゲーション部位において天然型アミド結合をもたらす共役反応を示す。

【図１５】酵素ライゲーションを利用する共役反応を示す。トランスグルタミナーゼは、ペイロードペプチドまたはタンパク質のグルタミンのγ－カルボキシアミド基と、リジン操作されたＸＴＥＮ中のリジンのεアミノ基（またはＮ末端アミノ基）との間のイソペプチド結合の形成を触媒し、それによりＸＴＥＮとペイロードとの間の分子間または分子内架橋を創製する酵素である。

【図１６】黄色ブドウ球菌からのソルターゼＡトランスペプチダーゼ酵素を利用して、タンパク質１のトレオニン残基とグリシン残基との間の短い５アミノ酸認識配列ＬＰＸＴＧの切断を触媒し、後次にアシルフラグメントをタンパク質１のＮ末端オリゴグリシン求核剤に移すように、酵素的に創製されたＸＴＥＮ－ペイロード組成物を示す。オリゴグリシンを含有するようにタンパク質２を官能化することによって、２つのタンパク質の酵素共役は、部位特異的様式で達成され、所望のＸＴＥＮ－ペイロード組成物をもたらす。

【図１７】ペイロードまたはＸＴＥＮ反応物に結合するように、反応物として使用される様々なＸＴＥＮ－架橋剤前駆体セグメントを示す。（図１７Ａ）１Ｂが、右側の前駆体の残りの反応基を表すことを示すよう意図される。（図１７Ｂ）ＸＴＥＮに共役された複数（左）または単一（右）のペイロードＡ分子を持つ類似の反応性前駆体を示す。

【図１８】ペイロードまたは他のＸＴＥＮ反応物に結合するように反応物として使用される、架橋剤の２つの反応基または組み込まれたアミノ酸の反応基を用いたＸＴＥＮ－架橋剤前駆体セグメントの例示的な置換を示す。１Ｂおよび２Ｂは、他の図面において、１と１、および２と２等の同様に番号付けられた反応基と反応する反応基を表す。

【図１９】図面の他の場所に示される構成について、様々な反応物および命名の例を示すことが意図される。（図１９Ａ）それぞれがＮ末端上に異なる反応基を持つ、反応性ＸＴＥＮセグメント前駆体の様々な形態を示す。（図１９Ｂ）２、３、または４個の反応基を持つ様々な架橋剤を示す。最初の例において、二価架橋剤は、「２」および「１」によって表される２つの異なる型の反応基と反応する、ヘテロ官能性リンカーである。三価および四価架橋剤の場合において、それぞれは、「１」によって表されるたった１つの型の反応基と反応する。（図１９Ｃ）２つのＸＴＥＮセグメント前駆体の反応産物の命名を示す。上のバージョンにおいて、１Ａは１Ｂと反応して、Ｎ末端で結合された二量体ＸＴＥＮを創製し、$１Ａ_{R}－１Ｂ_{R}$によって示される架橋剤の残基を有するが、下のバージョンも、Ｎ末端で結合された二量体ＸＴＥＮであり、$２Ａ_{R}－２Ｂ_{R}$によって示される架橋剤の残基を有する。

【図２０】様々なＸＴＥＮ前駆体セグメントの創製を示す。（図２０Ａ）ＸＴＥＮポリペプチドを製造するステップを示し、２Ｂ－１Ａ反応基を持つ架橋剤とのＮ末端の反応に続いて、１Ａは、Ｎ末端１Ｂ（例えば、αアミノ酸）と反応して、反応基２Ｂを持つＸＴＥＮ前駆体２を創製する。（図２０Ｂ）ＸＴＥＮ前駆体４をもたらす、２Ａ反応基を持つ２つの架橋剤の、ＸＴＥＮの２Ｂ反応基への連続付加を示し、次いで、架橋剤の反応性１Ｂと１Ａとの間のＮ末端において架橋剤と反応し、反応基４Ｂおよび３Ｂを持つＸＴＥＮ前駆体５をもたらす。そのような場合、ＸＴＥＮ前駆体５は、２つの異なるペイロードまたはＸＴＥＮとの反応物として機能し得る。

【図２１】多量体共役体の例を示す。（図２１Ａ）共役されたペイロードＡを持つＸＴＥＮの３つの分子が、三量体架橋剤にどのように共役され得、３つのＡペイロードを持つ三量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらすかを示す。（図２１Ｂ）ペイロードＡを持つポリペプチドの３つの分子が、三量体架橋剤にどのように共役され得、Ａペイロードを持つ３つのポリペプチドを持つ三量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらすかを示す。

【図２２】単一システインを持つＸＴＥＮ前駆体を起源とし得る、多量体ＸＴＥＮ共役体の例を示す。ＸＴＥＮ前駆体中のアミノ基は、反応基２Ｂとして作用し、チオール基は、反応基１Ｂとして作用する。ＸＴＥＮ前駆体は、基１Ｂと反応することができる架橋剤を使用して架橋され得る。架橋剤の原子価は、得られる中間体の原子価を制御する。この架橋された中間体は、アミノ基と反応して共役結合$２Ａ－ＢＲ$を形成することができる、反応基２Ａを担持するペイロードと反応することができる。（図２２Ａ）単一チオール基を持つＸＴＥＮ前駆体である。（図２２Ｂ）二価共役体である。（図２２Ｃ）三量体共役体

である。（図２２Ｄ）四量体共役体である。
【図２３】単一システインを持つＸＴＥＮ前駆体を起源とし得る、多量体ＸＴＥＮ共役体の例を示す。ＸＴＥＮ前駆体中のアミノ基は、反応基１Ｂとして作用し、チオール基は、反応基２Ｂとして作用する。ＸＴＥＮ前駆体は、基１Ｂと反応することができる架橋剤を使用して架橋され得る。架橋剤の原子価は、得られる中間体の原子価を制御する。この架橋された中間体は、チオール基と反応して共役結合２Ａ－ＢＲを形成することができる、反応基２Ａを担持するペイロードと反応することができる。（図２３Ａ）ＸＴＥＮのＣ末端の近くに位置するチオール基を示す。結果として、ペイロードは、最終の三量体共役体の遠位端に位置する。（図２３Ｂ）ＸＴＥＮのＮ末端の近くに位置するチオール基を示す。結果として、ペイロードは、ＸＴＥＮによるペイロード遮蔽の増加をもたらす、最終の三量体共役体の遠位端に位置する。
【図２４】「くし形」構成の創製の例を示す。（図２４Ａ）リンカー反応基１Ａを含む、ＸＴＥＮ－ペイロード前駆体である。このペイロードは、組換え技術によってＸＴＥＮに融合することができるか、または共役することができる。（図２４Ｂ）くし形様架橋剤を持つＸＴＥＮ前駆体を示す。これは、複数の反応基Ｂを担持するＸＴＥＮであり得る。（図２４Ｃ）５つのペイロードＡを持つ「くし形」構成の最終産物を示す。原子価は、くし形様前駆体中の反応基の数によって制御される。
【図２５】２つのペイロードとの二重特異性共役体の様々な構成を示す。（図２５Ａ）２つのペイロードのそれぞれの１つの分子を持つ構成を示すが、図２５Ｂは、一方または双方のペイロードの複数コピーを持つ様々な構成を示す。
【図２６】高い原子価を持つ共役体の様々な例を示す。ペイロードの共役部位は、群化（図２６Ａ）または散在（図２６Ｂ）することができる。
【図２７】アミノ基およびチオール基の双方を担持するＸＴＥＮ前駆体からの二重特異性共役体の調製を示し、多くの化学反応を使用することができ、ペイロード付加の順序は異なり得る。リンカー共役体を前駆体として生成することができる。（図２７Ａ）２つの異なるペイロードが付着する単一ＸＴＥＮ前駆体の創製を示す。（図２７Ｂ）２つのＸＴＥＮ前駆体分子から開始するセグメント手法を示す。この手法は、同じ型のリンカー化学反応を使用して、双方のペイロードをＸＴＥＮに共役することを許す。この場合、この図は、ペイロードが共役される基としてチオールを示し、次いで各セグメントのＮ末端は、頭－頭セグメント共役を可能にするように架橋剤で修飾され、二量体二重特異性共役体の最終産物をもたらす。
【図２８】抗体、ＸＴＥＮ、およびペイロードを合わせる、多量体共役体の例を示す。そのような構築物は、異なる原子価を有し、ＸＴＥＮが切断可能なリンカーを有することができ、ＸＴＥＮが組成物に対する可溶性を提供することができ、ＩｇＧ当たりの薬物負荷の調整を可能にすることができ、製造を簡素化するためにＸＴＥＮを薬物と事前共役することができるという、多くの利点を提供することができる。（図２８Ａ）ヒンジ領域内のＣｙｓ残基においてＩｇＧに共役される２つのＸＴＥＮを示す。（図２８Ｂ）ヒンジ領域内のＣｙｓを使用してＩｇＧに共役される４つのＸＴＥＮを示す。（図２８Ｃ）ヒンジの外側で共役されたＸＴＥＮを示す。これは、Ｃｙｓを挿入して共役部位を制御すること、またはＬｙｓ側鎖へのランダム共役によって行うことができる。
【図２９】抗体、ＸＴＥＮ、およびペイロードを合わせる、共役体の構築の例を示す。この抗体は、１つまたは複数の反応基１Ｂを有することができる。ＸＴＥＮは、１つまたは複数のペイロードＡに共役することができる。さらに、ＸＴＥＮは、抗体上の反応基１Ｂと選好的に反応する反応基１Ａを担持することができる。抗体中の反応基１Ｂの位置は、抗体に共役されるＸＴＥＮの数および位置を制御し、最終産物をもたらす。
【図３０】標的部分、ＸＴＥＮ、およびペイロードを含む共役体の例を示す。標的部分は、ペプチド、ペプトイド、または受容体リガンドであり得る。（図３０Ａ）１ｘ（１ｘ３）共役体を示す。（図３０Ｂ）１ｘ２（１ｘ３）共役体を示す。（図３０Ｃ）３ｘ１（１ｘ３）共役体を示す。
【図３１】複数の異なる標的部分、ＸＴＥＮ、およびペイロードを含む共役体の例を示す

。標的部分は、ペプチド、ペプトイド、受容体リガンドであり得る。
【図３２】標的部分、ＸＴＥＮ、および複数の異なるペイロードを含む共役体の例を示す。
【図３３】組合せＸＴＥＮ共役体の例を示す。ペイロードＡ、Ｂ、Ｃ、およびＤは、ＸＴＥＮ前駆体上の反応基２Ｂと反応する反応基２Ａを担持する。次のステップにおいて、ペイロードＥおよびＦは、ＸＴＥＮ上の反応基１Ｂと反応する反応基１Ａを担持し、二重特異性共役体の異なる置換のライブラリーをもたらす。この場合、反応基１Ｂおよび２Ｂは、それぞれチオール基およびアミノ基である。
【図３４】組合せＸＴＥＮ共役体ライブラリーの創製の例を示す。ペイロードＡ、Ｂ、Ｃは、反応基１Ａを担持するＸＴＥＮに共役され、ＸＴＥＮ前駆体セグメントの１つのセットをもたらす。ペイロードＥ、Ｆ、およびＧは、反応基１Ｂを担持するＸＴＥＮに共役され、ＸＴＥＮ前駆体セグメントの第２のセットをもたらす。これらのセグメントは、組合せ共役に供され、次いで反応物から精製される。これは、インビトロおよびインビボ試験に即時に供され得る、組合せ産物の形成を可能にする。この場合、反応基１Ａおよび１Ｂは、二重特異性架橋剤を持つか、または持たないＸＴＥＮのαアミノ基である。一実施例において、１Ａはアジドであり、１Ｂはアルキンであるか、またはその逆であるが、ペイロードは、ＸＴＥＮ中のチオール基を介してＸＴＥＮに付着する。
【図３５】２つのペイロード間の比率を最適化する、組合せＸＴＥＮ共役体ライブラリーの創製の例を示す。各ライブラリーメンバーは、異なる比率のペイロードＡおよびペイロードＥを担持する。
【図３６】標的部分およびペイロードの組合せを創製する、組合せＸＴＥＮ共役体ライブラリーの創製の例を示す。標的部分１、２、および３は、反応基１Ａを担持するＸＴＥＮに共役される。ペイロードＥ、Ｆ、およびＧは、反応基１Ｂを担持するＸＴＥＮに共役される。これらのセグメントは組合せ共役に供され、組合せ産物の形成を可能にし、各ライブラリーメンバーは、標的部分およびペイロードを含む。ペイロードおよび共役基を担持する全てのＸＴＥＮセグメントは、インビトロおよびインビボ試験に即時に供され得る組合せ産物として精製することができる。
【図３７】腫瘍細胞等の標的細胞の表面に対して選択的に作用する、標的部分およびペイロードを含むＸＴＥＮ共役体の例を示す。二量体ＸＴＥＮ共役体の特定の設計は、ＬＨＲＨおよびドキソルビシンを含む。この共役体は、多くの癌細胞上で過剰発現するＬＨＲＨ受容体に結合する。受容体結合は、内在化に続いてタンパク質分解、および細胞に対して毒性のドキソルビシンの細胞内遊離をもたらす。
【図３８】ＸＴＥＮの組立て、産生、および評価における代表的なステップの概略的フローチャートである。
【図３９】融合タンパク質をコードするＸＴＥＮポリヌクレオチド構築物の組立てにおける代表的なステップの概略的フローチャートである。個別のオリゴヌクレオチド５０１は、１２アミノ酸モチーフ（「１２－ｍｅｒ」）等の配列モチーフ５０２にアニールされ、ライブラリーからの追加の配列モチーフに結紮されて、所望の長さのＸＴＥＮ５０４を包含するプールを創製すると同時に、より低い濃度のＢｂｓＩ、およびＫｐｎＩ制限部位５０３を含有するオリゴに結紮される。得られたライゲーション産物のプールは、ゲル精製され、所望の長さのＸＴＥＮを持つバンドが切断され、ストッパー配列５０５を持つ単離されたＸＴＥＮ遺伝子をもたらす。ＸＴＥＮ遺伝子は、スタッファーベクターにクローン化される。この場合、ベクターは、任意のＣＢＤ配列５０６およびＧＦＰ遺伝子５０８をコードする。次いで、ＢｂｓＩ／ＨｉｎｄＩＩＩを用いて消化が行われ、５０７および５０８を除去し、終止コドンを配置する。次いで、得られた産物は、ＢｓａＩ／ＨｉｎｄＩＩＩ消化されたベクターにクローン化され、ＸＴＥＮをコードする遺伝子５００をもたらす。
【図４０】ＸＴＥＮをコードする遺伝子の組立て、その発現、ペイロードとの共役、およびＸＴＥＮ－ペイロードとしての回収、ならびに候補産物としてのその評価における代表的なステップの概略的フローチャートである。
【図４１】図４２に示される方法を使用して、精製のために最適化されたＮもしくはＣ末

端タグ、またはＮおよびＣ末端配列のいずれかを持つ一般化ＸＴＥＮを示す。
【図４２】この例示の実施形態では、２つのタグを持つＸＴＥＮの精製のための一般化スキームを示し、第１のタグ、次いで第２のタグを捕捉するための２ステップ精製方法を利用して、切断ＸＴＥＮを発酵から除去することができ、高度に精製された標的ＸＴＥＮ実体をもたらす。
【図４３】実施例１０に記載されるように、振とうフラスコ培養物からの大腸菌ＢＬ２１ＤＥ３ｒｎｅ－１３１および大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３細胞に発現されたＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４およびＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＧＦＰ構築物のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを示す。ＭＷマーカーを持つゲルレーン試料および構築物から発現されたタンパク質は、１）ＭＷマーカー；２～５）大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３中でＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＧＦＰ融合タンパク質を発現する、４つの独立したフラスコからの溶解物；６～９）大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３ｒｎｅ－１３１中でＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＧＦＰ融合タンパク質を発現する、４つの独立したフラスコからの溶解物；１０～１３）大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３中でＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４融合タンパク質を発現する、４つの独立したフラスコからの溶解物；１４～１７）大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３ｒｎｅ－１３１中でＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４融合タンパク質を発現する、４つの独立したフラスコからの溶解物である。全長タンパク質スポットは、外枠内に出現する。より低い分子量のバンドは、宿主細胞タンパク質である。
【図４４】実施例１０に記載されるように、振とうフラスコ培養物からの大腸菌ＢＬ２１ＤＥ３ｒｎｅ－１３１および大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３細胞中で発現されたＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＧＦＰの相対ＧＦＰ蛍光を示す。
【図４５】実施例１７に記載されるように、大腸菌発酵において発現されたＣＢＤ－Ｒ－Ｃ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＲＨ８（ＥＣ６８２）およびＣＢＤ－Ｒ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＲＨ８（ＥＣ６８３）構築物のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを示す。ＭＷマーカーを持つゲルレーン試料および構築物から発現されたタンパク質は、１）ＭＷマーカー；播種後２）１６時間、３）２４時間、４）４０時間、５）４５時間の時点における大腸菌発酵＃ＥＣ６８２浄化された可溶性溶解物；播種後６）１６時間、７）２４時間、８）４０時間、９）４５時間の時点における大腸菌発酵＃ＥＣ６８３浄化された可溶性溶解物；１０）１マイクログラム、１１）２マイクログラム、および１２）４マイクログラムの精製されたＣＢＤ－Ｒ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＲＨ８参照基準である。大腸菌発酵浄化された可溶性溶解物の場合、各レーンは、３マイクロリットルの発酵槽培養物を表す。全長タンパク質スポットは、外枠内に出現する。より低い分子量のバンドは、宿主細胞タンパク質である。
【図４６】実施例１８に記載されるように、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　Ｐｈｅｎｙｌ　６５０Ｍ疎水性相互作用クロマトグラフィーのトレース出力を示す。
【図４７】図面に示されるように、また実施例１８に記載されるように、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　Ｐｈｅｎｙｌ　６５０Ｍ疎水性相互作用クロマトグラフィー画分の非還元４～１２％Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。レーン当たりの材料は、レーン１：マーカー；レーン２：ロード７．５μｌ；レーン３：フロースルー１；レーン４：フロースルー２；レーン５：溶出画分Ｅ１；レーン６：溶出画分Ｅ２；レーン７：溶出画分Ｅ３；レーン８：溶出画分Ｅ４；レーン９：溶出画分Ｅ５；レーン１０：溶出画分Ｅ６；レーン１１：溶出画分Ｅ７；レーン１２：溶出画分Ｅ８である。
【図４８】実施例１８に記載されるように、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　ＩＭＡＣクロマトグラフィーフロースルー、洗浄（図４８Ａ）、および溶出画分（図４８Ｂ）（非還元）の非還元４～１２％　Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。
【図４９】実施例１８に記載されるトリプシン消化ＩＭＡＣプールの非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。
【図５０】実施例１８に記載されるＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑクロマトグラフィーの溶出プロファイルを示す。

【図５１】実施例１８に記載されるように、ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑ溶出画分の４～１２％Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。（図５１Ａ）フロースルー、クマシー染色。（図５１Ｂ）溶出画分、クマシー染色。（図５１Ｃ）溶出画分、銀染色。
【図５２】実施例１８に記載されるように、ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑ溶出画分のＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣ分析からのトレースを示す。
【図５３】実施例１８に記載されるように、ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑ溶出プールのＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣからのトレースを示す。
【図５４】実施例１９に記載されるように、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ Ｐｈｅｎｙｌ ６５０Ｍ疎水性相互作用クロマトグラフィー画分の非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。
【図５５】実施例１９に記載されるように、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ ＩＭＡＣクロマトグラフィー画分の非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。
【図５６】実施例１９に記載されるように、ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑ溶出画分の非還元４～１２％Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ ＳＤＳ－ＰＡＧＥ／銀染色分析を示す。
【図５７】実施例１９に記載されるように、ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑ溶出画分のＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣ分析からのトレースを示す。
【図５８】実施例１９に記載されるＭａｃｒｏＣａｐ Ｑ溶出プールのＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣ分析からのトレースを示す。
【図５９】実施例２０に記載されるように、大腸菌における発現後の実験タグを持つＸＴＥＮ構築物のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。可溶性溶解物は、３６μｌの細胞培養懸濁液に等しいレーン当たりに負荷される量で、４～１２％ Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓポリアクリルアミドゲル上に負荷した。ゲルは、標準方法を使用し、クマシーブルーで染色した。
【図６０】実施例２０に記載されるように、大腸菌中で発現されたＲＰ１１－ＸＴＥＮ－Ｈｉｓ８構築物のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。熱処理された可溶性溶解物は、それぞれ１または２μｌの細胞培養懸濁液に等しい量で、４～１２％ Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓポリアクリルアミドゲル上に負荷した。ゲルは、クマシーブルーで染色した。ゲルは、発現されたＲＰ１１－ＸＴＥＮ－Ｈｉｓ８タンパク質の本質的に全てが、ペレット画分中で見出されたことを実証する。
【図６１】実施例２１に記載されるＲＰ１１－ＸＴＥＮ－Ｈｉｓ８ポリペプチドのＭａｃｒｏＣａｐ ＳＰ精製のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。画分は、４～１２％ ＳＤＳ－ＰＡＧＥに続いて、クマシー染色によって分析された。
【図６２】実施例２１に記載されるＲＰ１１－ＸＴＥＮ－Ｈｉｓ８ポリペプチドのＩＭＡＣ精製のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。画分は、４～１２％ ＳＤＳ－ＰＡＧＥに続いて、クマシー染色によって分析された。
【図６３】実施例２１に記載される２つのクロマトグラフィーステップ（ＳＰ＋ＩＭＡＣ）によって精製されたＲＰ１１－ＸＴＥＮ－Ｈｉｓ８タンパク質のトリプシン消化のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。調製物は、４～１２％ ＳＤＳ－ＰＡＧＥに続いて、クマシー染色（図６３Ａ）および銀染色（図６３Ｂ）によって分析した。
【図６４】実施例２３に記載される３ｘチオール－ＸＴＥＮへのＤＢＣＯ－Ｍａｌの共役反応の分析の結果を示す。（図６４Ａ）反応混合物のＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣ分析を示す。２０μｇのタンパク質試料は、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ Ｊｕｐｉｔｅｒ Ｃ１８ ５μＭ ３００Ａ ４．６ｍｍｘ１５０ｍｍカラム上に負荷した。タンパク質は、０．１％トリフルオロ酢酸中の５～５０％勾配のアセトニトリルで溶出した。（図６４Ｂ）ＤＢＣＯ－ＸＴＥＮ反応産物のＨＩＣ精製を示す。（図６４Ｃ）ＨＩＣ精製されたＤＢＣＯ－ＸＴＥＮ反応産物のＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣ分析を示す。
【図６５】実施例２４に記載されるように、二重タグ付加された前駆体ＸＴＥＮのトリプシン切断からの結果を示す。（図６５Ａ）レーン当たり２μｇで負荷されたタンパク質試料の４～１２％ Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。ゲルは、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ ＳｉｍｐｌｙＢｌｕｅ ＳａｆｅＳｔａｉｎで染色した。（図６５Ｂ）レーン当たり０．５μｇで負荷されたタンパク質試料の４～１２％ Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。ゲルは、Ｐｉｅｒｃｅ銀染色キットで染色した。

【図６６】実施例２４に記載されるように、トリプシン消化された二重タグ付加前駆体のＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ精製のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析の結果を示す。（図６６Ａ）レーン当たり３μｇで負荷されたタンパク質試料の４～１２％　Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。ゲルは、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　ＳｉｍｐｌｙＢｌｕｅ　ＳａｆｅＳｔａｉｎで染色した。（図６６Ｂ）レーン当たり０．５μｇで負荷されたタンパク質試料の４～１２％　Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。ゲルは、Ｐｉｅｒｃｅ銀染色キットで染色した。（図６６Ｃ）レーン当たり０．５μｇで負荷されたタンパク質試料の４～１２％　Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。ゲルは、Ｐｉｅｒｃｅ銀染色キットで染色した。

【図６７】残留トリプシン活性についてのＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣ試験の結果を示す。（図６７Ａ）無傷形態の合成［Ｇ２］ＧＬＰ２ペプチドの分析のトレース出力である。（図６７Ｂ）ウシトリプシンで消化された合成［Ｇ２］ＧＬＰ２ペプチドの分析のトレース出力である。（図６７Ｃ）実施例２４に記載されるように、［Ｇ２］ＧＬＰ２でスパイクされ、３７℃で終夜インキュベートされたＸＴＥＮ＿ＡＥ８６９＿Ａｍ１，Ｃ２の分析のトレース出力である。

【図６８】実施例２６に記載されるように、ＧＬＰ２－Ｃｙｓペプチドおよび１ｘアミノ－ＸＴＥＮからのＧＬＰ２－ＸＴＥＮ共役体の調製を示す。２０μｇのタンパク質試料は、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｊｕｐｉｔｅｒ　Ｃ１８　５μＭ　３００Ａ　４．６ｍｍｘ１５０ｍｍカラム上に負荷した。タンパク質は、０．１％トリフルオロ酢酸中の５～５０％勾配のアセトニトリルで溶出され、２１４ｎｍでの吸光度によって検出された（左パネルＡ～Ｃ）。１００μｇのタンパク質試料は、ＮａｎｏＳｅｐ　３Ｋ　Ｏｍｅｇａ遠心装置（Ｐａｌｌ　Ｃｏｒｐ．）を使用して脱塩した。５０％アセトニトリル、０．５％ギ酸中のタンパク質溶液は、流量１０μｌ／分で高分解能質量分析計に注入した。ＥＳＩ－ＭＳスペクトルは、８００～１６００ａｍｕ（原子質量単位）範囲内で得られ、Ｂａｙｅｓｉａｎタンパク質再構築ソフトウェアを使用して、ゼロ電荷スペクトルに再構築された（右パネルＡ～Ｃ）。（図６８Ａ）：最初の１ｘアミノ－ＸＴＥＮタンパク質。（図６８Ｂ）：１ｘアミノ－ＸＴＥＮとスルホ－ＳＭＣＣ架橋剤との間の反応の産物。（図６８Ｃ）：ＧＬＰ２－ＣｙｓとＮ－Ｍａｌ－ＸＴＥＮとの間の反応後の精製されたＧＬＰ２－ＸＴＥＮ共役体。

【図６９】実施例２７に記載されるように、ＧＬＰ２－Ｍａｌペプチドおよび１ｘチオール－ＸＴＥＮからのＧＬＰ２－ＸＴＥＮ共役体の調製を示す。２０μｇのタンパク質試料は、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｊｕｐｉｔｅｒ　Ｃ１８　５μＭ　３００Ａ　４．６ｍｍｘ１５０ｍｍカラム上に負荷した。タンパク質は、０．１％トリフルオロ酢酸中の５～５０％勾配のアセトニトリルで溶出され、２１４ｎｍでの吸光度によって検出された（左パネルＡ、Ｂ）。１００μｇのタンパク質試料は、ＮａｎｏＳｅｐ　３Ｋ　Ｏｍｅｇａ遠心装置（Ｐａｌｌ　Ｃｏｒｐ．）を使用して脱塩した。５０％アセトニトリル、０．５％ギ酸中のタンパク質溶液は、流量１０μｌ／分で高分解能質量分析計に注入した。ＥＳＩ－ＭＳスペクトルは、８００～１６００ａｍｕ範囲内で得られ、Ｂａｙｅｓｉａｎタンパク質再構築ソフトウェアを使用して、ゼロ電荷スペクトルに再構築された（右パネルＡ、Ｂ）。（図６９Ａ）：最初の１ｘチオール－ＸＴＥＮタンパク質。（図６９Ｂ）：ＧＬＰ２－Ｍａｌと１ｘチオール－ＸＴＥＮとの間の反応の産物。

【図７０】実施例２７に記載されるように、分取Ｃ４　ＲＰ－ＨＰＬＣを使用して、ＧＬＰ２－ＸＴＥＮの精製の結果を示す。（図７０Ａ）分取ＲＰ－ＨＰＬＣのクロマトグラフィープロファイルを示す。５６～６２分で画分を回収し、真空下で蒸発させた。（図７０Ｂ）精製されたＧＬＰ２－ＸＴＥＮについてのＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによる分析を示す。

【図７１】実施例２８に記載されるように、１ｘチオール－ＸＴＥＮへのＤＢＣＯ－Ｍａｌの共役の結果を示す。（図７１Ａ）反応混合物のＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣ分析を示す。２０μｇのタンパク質試料は、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｊｕｐｉｔｅｒ　Ｃ１８　５μＭ　３００Ａ　４．６ｍｍｘ１５０ｍｍカラム上に負荷した。タンパク質は、０．１％トリフルオロ酢酸中の５～５０％勾配のアセトニトリルで溶出した。（図７１Ｂ）ＤＢＣＯ－Ｘ

ＴＥＮのＨＩＣ精製を示す。（図７１Ｃ）ＨＩＣ精製されたＤＢＣＯ－ＸＴＥＮのＣ１８ＲＰ－ＨＰＬＣ分析を示す。
【図７２】実施例３１に記載されるように、架橋されたＦＩＴＣと共役されたＸＴＥＮの分析アッセイの結果を示す。（図７２Ａ）ＦＩＴＣ含有共役種の大きな見掛けのＭＷを示すように、紫外線ライトボックスによって撮像され、ＳＥＣカラム中のＯＤ２１４（タンパク質シグナル）およびＯＤ４９５（ＦＩＴＣシグナル）におけるＳＥＣによっても検出されたゲル中の共遊走を示し、最小の遊離染料汚染を伴うＸＴＥＮの良好な標識化を示す。ＭＷ標準後のレーン別（左から右）の材料は、標識されたＦＩＴＣ－ＣＬ－ＣＢＤ－ＸＴＥＮ、標識されたＦＩＴＣ－ＣＬ－ＸＴＥＮ、精製されたＦＩＴＣ－ＣＬ－ＸＴＥＮ、精製されたＦＩＴＣ－ＣＬ－ＸＴＥＮ、および精製されたＦＩＴＣ－ＣＬ－ＸＴＥＮである。ゲルは、紫外線ライトボックスによって撮像され、ＦＩＴＣ含有種のＦＩＴＣ見掛けのＭＷを示す。（図７２Ｂ）ＯＤ２１４およびＯＤ４９５において検出された材料の出力の重複を示す、ＦＩＴＣ共役ＸＴＥＮのＳＥＣ分析の結果、および見掛けの大きな分子量も示す。
【図７３】実施例３２に記載されるように、ＸＴＥＮおよび遊離ＧＦＰに架橋されたＧＦＰの共役体のピーク溶出画分のＳＥＣ分析の結果を示す。架橋は、ＳＥＣカラム中のＯＤ２１４タンパク質シグナルおよびＯＤ３９５　ＧＦＰシグナルの共遊走によって確認された。
【図７４】実施例３３に記載されるように、カニクイザルにおいて試験されたＧＦＰ－Ｘ－ＸＴＥＮおよびＦＩＴＣ－Ｘ－ＸＴＥＮの薬物動態アッセイの結果を示す。
【図７５】実施例３３に記載されるように、可変長の非構造化ポリペプチドに結合されたＧＦＰの異なる組成物の単一用量が、皮下または静脈内のいずれかで投与された後のカニクイザルにおける薬物動態プロファイル（血漿濃度）を示す。組成物は、ＧＦＰ－Ｌ２８８、ＧＦＰ－Ｌ５７６、ＧＦＰ－ＸＴＥＮ＿ＡＦ５７６、ＧＦＰ－Ｙ５７６、およびＸＴＥＮ＿ＡＤ８３６－ＧＦＰであった。血液試料は、注入後の様々な時点で分析され、血漿中のＧＦＰ濃度は、捕捉の場合はＧＦＰに対するポリクローナル抗体を使用するＥＬＩＳＡによって、検出の場合は同じポリクローナル抗体のビオチニル化調製によって測定された。結果は、投与後の時間（ｈ）に対する血漿濃度として提示され、特に、ＸＴＥＮ＿ＡＤ８３６－ＧＦＰの半減期の大幅な増加を示し、この組成物は、最長のＸＴＥＮ配列長を持つ。最短の配列長を持つ構築物、ＧＦＰ－Ｌ２８８は、最短の半減期を有した。
【図７６】ＧＦＰのＮ末端に融合されたＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４の融合タンパク質の安定性研究からの試料のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを示す。実施例５５に記載されるように、ＧＦＰ－ＸＴＥＮは、カニクイザル血漿およびラット腎溶解物中で最長７日間、３７℃でインキュベートした。さらに、カニクイザルに投与されたＧＦＰ－ＸＴＥＮも評価した。試料は、０日目、１日目、および７日目に抽出し、ＳＤＳ　ＰＡＧＥに続いて、ウェスタン分析を使用する検出、およびＧＦＰに対する抗体を用いた検出によって分析した。
【図７７】実施例５６に記載されるように行われた、Ｅｘ４－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４の近紫外線円二色性スペクトルを示す。
【図７８】実施例５８に記載されるように、保持容量に対する吸光度としてのグラフ出力とともに、既知の分子量のタンパク質標準に対して測定されたグルカゴン－ＸＴＥＮ構築物試料のサイズ除外クロマトグラフィー分析の結果を示す。グルカゴン－ＸＴＥＮ構築物は、１）グルカゴン－Ｙ２８８、２）グルカゴンＹ－１４４、３）グルカゴン－Ｙ７２、および４）グルカゴン－Ｙ３６である。結果は、を示す。
【図７９】アルゴリズムＳｅｇＳｃｏｒｅの論理フローチャートの概略図である（実施例５９）。この図において、以下の凡例が適用される：ｉ、ｊ－配列全体を通過する制御ループにおいて使用されるカウンター；ＨｉｔＣｏｕｎｔ－この変数は、部分列がブロック内で同一部分列に何回遭遇するかを記録するカウンターである；ＳｕｂＳｅｑＸ－この変数は、冗長性についてチェックされる部分列を保持する；ＳｕｂＳｅｑＹ－この変数は、ＳｕｂＳｅｑＸがチェックされる部分列を保持する；ＢｌｏｃｋＬｅｎ－この変数は、ブロックのユーザーが決定した長さを保持する；ＳｅｇＬｅｎ－この変数は、セグメントの

長さを保持する。このプログラムは、長さ３、４、５、６、７、８、９、および１０の部分列に対してスコアを生成するようにハードコードされ、Ｂｌｏｃｋ－この変数は、文字列の長さＢｌｏｃｋＬｅｎを保持する。この文字列は、入力ＸＴＥＮ配列からの文字からなり、ｉカウンターの位置によって決定され、ＳｕｂＳｅｑＬｉｓｔ－これは、生成された部分列スコアの全てを保持する一覧である。

【図８０】反復性を決定するための、１１個のアミノ酸の仮説ＸＴＥＮに対するアルゴリズムＳｅｇＳｃｏｒｅの適用を表す。Ｎ個のアミノ酸からなるＸＴＥＮ配列は、長さＳのＮ－Ｓ＋１部分列に分割される（この場合、Ｓ＝３）。全ての部分列のペアワイズ比較が行われ、同一配列の平均数を計算し、この場合、１．８９の部分列スコアをもたらす。

【図８１】実施例１２に記載されるように、ＲＰ１１クローン（ｐＳＤ０１０７～ｐＳＤ０１１８）の蛍光シグナルを測定するためのアッセイの結果を提供する。１つの陽性対照（ｐＬＣＷ９７０）および２つの陰性対照（ｐＢｒ３２２およびｐＬＣＷ９７０＋１０ｍＭリン酸塩）を含めた。ＧＦＰ発現レベルは、構築物当たり２～３個の振とうフラスコからの試料を使用して測定した。

【図８２Ａ－Ｃ】ライブラリーＬＣＷ１１５７～１１５９のスクリーニング結果を示す。（図８２Ａ～Ｃ）実施例１２に記載されるように、ＬＣＷ１１５７～１１５９の蛍光ヒストグラムを提供し、各発光シグナル領域に対して特定されたコロニーの数を示す。図面において、陰性対照（黒色矢印）および正のｐＳＤ０１１６（白色矢印）の平均蛍光読み取りが標示される。（図８２Ｄ～Ｆ）選択クローンの元の試験と、再試験における蛍光読み取り間の相関を提供する。

【図８２Ｄ－Ｆ】ライブラリーＬＣＷ１１５７～１１５９のスクリーニング結果を示す。（図８２Ａ～Ｃ）実施例１２に記載されるように、ＬＣＷ１１５７～１１５９の蛍光ヒストグラムを提供し、各発光シグナル領域に対して特定されたコロニーの数を示す。図面において、陰性対照（黒色矢印）および正のｐＳＤ０１１６（白色矢印）の平均蛍光読み取りが標示される。（図８２Ｄ～Ｆ）選択クローンの元の試験と、再試験における蛍光読み取り間の相関を提供する。

【図８３】実施例１２に記載されるように、非還元条件下での上位８つの発現構築物産物および対照のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析の結果を示す。所望の全長タンパク質最終産物ＲＰ１１－ＸＴＥＮ－ＧＦＰは、矢印によって示され、より高いバンドは、タンパク質の二量体である。レーン：１～８：上位８つの発現構築物（再試験の蛍光読み取りに基づく、高位から低位への発現レベル）、１．ＬＣＷ１１５９．００４、２．ＬＣＷ１１５９．００６、３．ＬＣＷ１１５８．００４、４．ＬＣＷ１１５７．０４０、５．ＬＣＷ１１５８．００３、６．ＬＣＷ１１５７．０３９、７．ＬＣＷ１１５７．０２５、８．ＬＣＷ１１５７．０３８、Ｃ１－Ｃ３：対照：Ｃ１．ｐＳＤ０１１４、Ｃ２．ｐＳＤ０１１６、Ｃ３．ｐＣＷ１１４６（陰性対照）。

【図８４】実施例１２に記載されるように、非還元条件下での上位４つの発現構築物産物のＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰ捕捉効率のＳＤＳ－ＰＡＧＥ評価を示す。レーン１～４：ＬＣＷ１１５９．００４の負荷、フロースルー、洗浄、および溶出。２．レーン５～８：ＬＣＷ１１５９．００６の負荷、フロースルー、洗浄、および溶出。レーン９～１２：ＬＣＷ１１５８．００４の負荷、フロースルー、洗浄、および溶出。１３～１６：ＬＣＷ１１５７．０４０の負荷、フロースルー、洗浄、および溶出。レーン１７～２０　１～４：陰性対照の負荷、フロースルー、洗浄、および溶出。標示されていないレーンは、分子量標準である。

【図８５】実施例１２に記載されるように、再試験における上位４つの発現産物および対照の蛍光シグナルとの比較で、ライブラリーＬＣＷ１１６３スクリーニング結果の要約を示す。各試料は、４つの複製を有し、４つの個別のドットによって図中に表される。

【図８６】実施例１２に記載されるように、ライブラリーＬＣＷ１１６０スクリーニング結果の要約を示す。各蛍光シグナル領域に対して特定されたコロニーの数を示す、ＬＣＷ１１５７～１１５９の蛍光ヒストグラム。陰性対照（黒色矢印）、ｐＳＤ０１１６（白色矢印）、およびＬＣＷ１１５９．００４（スクリーニングＬＣＷ１１５７～１１５９から

の高発現候補、灰色矢印）の平均蛍光読み取りが、図中に標示される。
【図８７】実施例１４に記載されるように、ＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ画分の４～１２％　ＳＤＳ－ＰＡＧＥ／銀染色分析を示す。（図８７Ａ）：バッチ２、レーン１：分子量標準；レーン２～５：それぞれＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑフロースルー画分１～４；レーン６～１６：それぞれＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ溶出画分１～１１。（図８７Ｂ）：バッチ１、レーン１：分子量標準；レーン２～６：それぞれＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑフロースルー画分１～５；レーン７～１６：それぞれＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ溶出画分１～１０。
【図８８】実施例３４に記載されるように、１ｘＤＢＣＯ、３ｘＬＨＲＨ－ＸＴＥＮの調製中の中間体および最終産物の分析からの結果を示す。
【図８９】実施例３５に記載されるように、Ｃ１８－ＲＰ－ＨＰＬＣおよび質量分析によって分析された１ｘアジド、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮに対する共役体の調製からの反応混合物の分析結果を示す。（図８９Ａ）最初の１ｘアミノ、３ｘチオール－ＸＴＥＮ反応物の分析である。（図８９Ｂ）ＭＭＡＥ－マレイミドを用いたタンパク質修飾の分析であり、ＭＭＡＥ－Ｍａｌを用いた３つのシステインの修飾に対応する質量増加を示す。（図８９Ｃ）アジド－ＰＥＧ４－ＮＨＳエステルを用いたタンパク質修飾の分析を示し、アジド－ＰＥＧ４部分の単一付加に対応する質量増加を伴う。
【図９０】実施例３６に記載されるように、３ｘＬＨＲＨ、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの共役体中の反応産物の分析を示す。（図９０Ａ）：クリック共役体のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析。０．５μｇのタンパク質は、１２％　Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　ＮｕＰＡＧＥミニゲル（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）上のレーンごとに負荷した。このゲルは、Ｐｉｅｒｃｅ銀染色キット（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，カタログ＃２４６１２）で染色した。レーン１、１ｘアジド、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ；レーン２、１ｘＤＢＣＯ、３ｘＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ；レーン３、クリック化学反応の産物。共役産物バンドは、矢印によって示される。（図９０Ｂ）：クリック共役反応物および産物－（１）１ｘＤＢＣＯ、３ｘＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ；（２）１ｘアジド、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ；（３）クリック化学反応の産物のＣ４　ＲＰ－ＨＰＬＣ分析。
【図９１】実施例３７に記載されるように、１ｘＬＨＲＨ、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの共役体の調製中の反応のフローチャートを示す。（図９１Ａ）：最初の１ｘアミノ、３ｘチオール－ＸＴＥＮ；（図９１Ｂ）：２，２’－ジピリジルジスルフィドを用いたタンパク質修飾；（図９１Ｃ）：ＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳを用いたタンパク質修飾；（図９１Ｄ）：ＴＣＥＰを用いたシステインの脱保護；（図９１Ｅ）ＭＭＡＥ－Ｍａｌを用いた３つのシステインの修飾；（９１Ｆ）：Ｎ末端ＤＢＣＯへのＬＨＲＨ－アジドの共役。
【図９２】実施例４１に記載されるように、１ｘＭａｌ、３ｘＰＴＸ－ＸＴＥＮ反応物の共役体の調製中の反応のフローチャートを示す。（図９２Ａ）：最初の１ｘアミノ、３ｘチオール－ＸＴＥＮ；（図９２Ｂ）：ＰＴＸ－Ｍａｌを用いたタンパク質修飾；（図９２Ｃ）スルホ－ＳＭＣＣを用いたタンパク質修飾。
【図９３】実施例４２に記載されるように、ヨードアセチル－ＸＴＥＮの調製からの反応混合物の分析結果を示す。（図９３Ａ）：１０ｘ過剰のＳＩＡを用いたインキュベーション前後にＣ１８－ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析された１ｘアミノ－ＸＴＥＮ。（図９３Ｂ）：ＳＩＡを用いて修飾された１ｘアミノ－ＸＴＥＮのＥＳＩ－ＭＳ分析。（図９３Ｃ）：Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣ－下プロファイル－ＨＣＫＦＷＷペプチドによって分析された試料。中間プロファイル－ＩＡ－ＸＴＥＮ。上プロファイル－５ｘ過剰のＨＣＫＦＷＷペプチドとのＩＡ－ＸＴＥＮの反応。
【図９４】実施例１４に記載されるように、ライブラリーＬＣＷ１１７１、１１７２、１２０３、および１２０４のスクリーニング結果を示す。（図９４Ａ～Ｄ）：ＬＣＷ１１７１、１１７２、１２０３、１２０４の蛍光ヒストグラムであり、各蛍光シグナル領域に対して特定されたコロニーの数を示す；ＬＣＷ１１７１～１１７２をスクリーニングしたときの陰性対照（黒色矢印）およびｐＳＤ０１１６（白色矢印）の平均蛍光読み取りは、図９４ＡおよびＢに標示され、ＬＣＷ１２０３～１２０４をスクリーニングしたときの陰性対照（黒色矢印）、ｐＳＤ０１１６（白色矢印）、およびＣＢＤ対照（灰色矢印）の平均

蛍光読み取りは、図９４ＣおよびＤに標示される。
【図９５】実施例１２に記載されるように、ライブラリーＬＣＷ１２０８～１２１０をスクリーニングした結果を示す。（図９５Ａ～Ｃ）：ＬＣＷ１２０８～１２１０の蛍光ヒストグラムであり、各蛍光シグナル領域に対して特定されたコロニーの数を示し、陰性対照（黒色矢印）およびＣＢＤ対照（灰色矢印）の平均蛍光読み取りが図中に標示される。
【図９６】同一の長さおよび配列のＸＴＥＮの３つの反復コピーを含有する前駆体からのＸＴＥＮセグメントの産生を示す。図９６Ａにおいて、ＸＴＥＮ前駆体は、同一のプロテアーゼ切断部位に隣接するＸＴＥＮの３つの同一コピーを含む。図９６Ｂにおいて、ＸＴＥＮ前駆体は、全長前駆体分子の精製を促進するように、ＮおよびＣ末端親和性精製タグをさらに含む。前駆体の精製に続いて、ＸＴＥＮからタグを遊離するように組み込まれた切断配列の全てに作用するプロテアーゼによって切断され、続いて精製してＸＴＥＮの個別の単位を分離し、長鎖前駆体分子から短長および中間長のＸＴＥＮの高収率産生を促進する。
【図９７】三量体分岐ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の異なる実施形態を示し、示される全ての共役体は、そのＮ末端アミノ基、およびＣ末端の近くに位置する官能基（例えば、システインのチオール）への共役を介して、同一のＸＴＥＮ分子から調製することができる。（図９７ＡおよびＢ）単一ペイロード分子を有する共役体を示し、図９７Ａでは、ペイロードにごく接近して共役されたＸＴＥＮの全てを持つ４アーム架橋剤を使用し、他の分子とのペイロード相互作用の重大な遮蔽をもたらす。（図９７Ｂ）ペイロードがその構成の遠位端で分岐される単一ＸＴＥＮアームに共役され、図９７Ａの構成と比較して、低減したペイロード遮蔽をもたらす構成を示す。（図９７Ｃ）増加親和性または増加した能力をもたらすことができる２つのペイロードを持つ共役体を示す。（図９７ＤおよびＥ）能力および／または親和性をさらに増加させる３つの同一のペイロードを持つ構成を示す。（図９７Ｆ）高親和性結合または相互作用のために、１つのペイロードＡおよびペイロードＢの２つの同一コピーを持つ構成を示す。（図９７Ｇ）単一ＸＴＥＮ共役体への３つの異なる機能の包含を可能にする、３つの異なるペイロードを持つ構成を示す。
【図９８】分岐ＸＴＥＮと単一ペイロード分子との間の共役体の合成のためのスキームを示す。最初に、ＸＴＥＮ中のチオール基は、ヨードアセトアミドとの反応によってブロックされる（代替として、チオール基を欠くＸＴＥＮを使用して合成を開始することができる）。次に、ＤＢＣＯ基は、ＸＴＥＮのαアミノ基に付加され、次いで、１つのヨードアセチル基および３つのアジド基を含む四官能性架橋剤と反応する。次に、得られたＸＴＥＮは、遊離チオール基を担持するペイロードと反応し、最終ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。
【図９９】分岐ＸＴＥＮと単一ペイロード分子との間の共役体の合成のためのスキームを示す。中間体は、２つのアジド官能基および１つのＮＨＳ官能基を含むＸＴＥＮを三官能性リンカーと反応させることに続いて、マレイミド化学を介して、ペイロードＡをチオール基に付加することによって産生される（これら２つのステップの順序は、逆にすることができる）。第２の中間体は、ＸＴＥＮを、ヨードアセトアミドを持つシステインと反応させて遊離チオール基をブロックすることに続いて、ＮＨＳ活性化を介して、ＤＢＣＯをαアミノ基に付加することによって産生される（これら２つのステップの順序は、逆にすることができる）。後次に、２つの中間体分子は、クリック化学反応を使用して共役され、最終ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。
【図１００】１つの分岐ＸＴＥＮおよび２つの同一ペイロード分子を有する共役体の合成のためのスキームを示す。中間体は、ＮＨＳ化学を介して、ＤＢＣＯ基をＸＴＥＮのαアミノ基に付加することによって産生される。第２の中間体は、ヨードアセトアミドを持つＸＴＥＮの遊離チオール基をブロックすることに続いて、三官能性架橋剤（２つのＮ－マレイミド基およびＮＨＳによって活性化される１つのカルボキシル基）をαアミノ基に付加することによって産生される（これら２つのステップの順序は、逆にすることができる）。２つの中間体は反応して分岐共役体をもたらし、次いで、２つのペイロードＡ分子は、クリック化学反応を介して付加され、最終産物ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。

【図１０１】１つの分岐ＸＴＥＮおよび３つの同一ペイロード分子を有する共役体の合成のためのスキームを示す。中間体は、ＮＨＳ化学を介して、ＤＢＣＯ基をＸＴＥＮのαアミノ基に付加することによって産生される。別の中間体は、Ｎ－マレイミド官能基を介して、ペイロードＡをＸＴＥＮのチオール基に共役することによって産生される。３つの分子は、３つのアジド官能基を含む三官能性架橋剤を介して一緒に結合され、最終ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。

【図１０２】１つの分岐ＸＴＥＮおよび３つの同一ペイロード分子を有する共役体の合成のためのスキームを示す。中間体は、Ｎ－マレイミド化学を介して、ＤＢＣＯ基をＸＴＥＮ　Ａのチオール基に付加することによって産生される。次のステップにおいて、ペイロードＡは、ＮＨＳ化学を介してＸＴＥＮ中間体のαアミノ基に共役される。３つの分子は、３つのアジド官能基を含む三官能性架橋剤を介して結合され、最終ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。

【図１０３】共役体当たり１つの分岐ＸＴＥＮ、および２つのペイロードＡ、および１つのペイロードＢ分子を有する共役体の合成のためのスキームを示す。中間体は、Ｎ－マレイミド官能基を使用して、ペイロードＡをＸＴＥＮのチオール基に付加することに続いて、三官能性架橋剤（２つのアジド基およびＮＨＳによって活性化される１つのカルボキシル基）をαアミノ基に付加することによって産生される（これら２つのステップの順序は、逆にすることができる）。第２の中間体は、ＮＨＳ活性化を介して、ＤＢＣＯをＸＴＥＮのαアミノ基に付加することに続いて、Ｎ－マレイミド基を使用して、ペイロードＢをＸＴＥＮの遊離チオール基に付加することによって産生される（これら２つのステップの順序は、逆にすることができる）。第２の中間体の２つの分子は、第１の中間体の１つの分子と反応して、最終ＸＴＥＮ－ペイロード共役体を形成する。

【図１０４】１つの分岐ＸＴＥＮおよび３つの異なるペイロードを有する共役体の合成のためのスキームを示す。中間体は、Ｎ－マレイミド官能基を使用して、ペイロードＡをＸＴＥＮ上のチオール基に付加することに続いて、三官能性架橋剤（１つのアジド基、１つのＮ－マレイミド基、およびＮＨＳによって活性化される１つのカルボキシル基）をαアミノ基に付加することによって産生される（これら２つのステップの順序は、逆にすることができる）。第２の中間体は、ＮＨＳ化学を介して、ペイロードＢをＸＴＥＮのαアミノ基に付加することによって産生される。第３の中間体は、ＮＨＳ活性化を介して、ＤＢＣＯをＸＴＥＮのαアミノ基に付加することに続いて、Ｎ－マレイミド基を使用して、ペイロードＣをＸＴＥＮの遊離チオール基に付加することによって産生される（これら２つのステップの順序は、逆にすることができる）。３つの中間体は、互いに反応して、最終ＸＴＥＮ－ペイロード共役体を形成する。

【図１０５】二量体または四量体分岐ＸＴＥＮおよびペイロードＡ分子を有する共役体の合成のためのスキームを示す。中間体は、Ｎ－マレイミド官能基を使用して、ＤＢＣＯをＸＴＥＮのチオール基に付加することに続いて、ＮＨＳを使用して、ペイロードＡをＸＴＥＮのアミノ基に付加することによって産生される（これら２つのステップの順序は、逆にすることができる）。後次に、中間体は、アジド架橋剤の付加によって多量体化される。二価架橋剤の使用は、二量体構成を生じ、四価架橋剤は、四量体構成の最終産物を生じる。

【図１０６】１つの分岐ＸＴＥＮおよび３つの異なるペイロードを有する共役体の合成のためのスキームを示す。中間体は、Ｎ－マレイミド官能基を使用して、ペイロードＡをＸＴＥＮのチオール基に付加することに続いて、三官能性架橋剤（１つのアジド基、１つのＮ－マレイミド基、およびＮＨＳによって活性化される１つのカルボキシル基）をαアミノ基に付加することによって産生される（これら２つのステップの順序は、逆にすることができる）。第２の中間体は、Ｎ－マレイミド官能基を介して、ペイロードＢをＸＴＥＮの遊離チオール基に付加することによって産生される。第３の中間体は、ＮＨＳ活性化を介して、ＤＢＣＯをＸＴＥＮのαアミノ基に付加することに続いて、Ｎ－マレイミド基を使用して、ペイロードＣを遊離チオール基に付加することによって産生される（これら２つのステップの順序は、逆にすることができる）。３つの中間体は、互いに反応して、最

終ＸＴＥＮ－ペイロード共役体を形成する。
【図１０７】実施例３８に記載されるように、Ｃ１８－ＲＰ－ＨＰＬＣおよび質量分析によって分析された１ｘＤＢＣＯ、３ｘＦＡ（γ）－ＸＴＥＮに対する共役体の調製からの反応混合物の分析結果を示す。（図１０７Ａ）最初の１ｘアミノ、３ｘチオール－ＸＴＥＮ反応物の分析である。（図１０７Ｂ）葉酸－γ－マレイミドを用いたタンパク質修飾の分析であり、ＦＡ（γ）－Ｍａｌを用いた３つのシステインの修飾に対応する質量増加を示す。（図１０７Ｃ）ＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳエステルを用いたタンパク質修飾の分析を示し、ＤＢＣＯ部分の単一付加に対応する質量増加を伴う。
【図１０８】実施例３９に記載されるように、クリック共役反応物および産物３ｘＦＡ（γ）、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮのＣ４　ＲＰ－ＨＰＬＣ分析を示す。（１）１ｘＤＢＣＯ、３ｘＦＡ（γ）－ＸＴＥＮ；（２）１ｘアジド、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ；（３）クリック化学反応の産物。
【図１０９】実施例３９に記載されるように、分取ＲＰ－ＨＰＬＣによって精製された最終３ｘＦＡ（γ）、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ産物の分析を示す。（図１０９Ａ）サイズ除外クロマトグラフィー分析を示す（Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　ＢｉｏＳｅｐ－ＳＥＣ－ｓ４０００　６００ｘ７．８０ｍｍカラム、５０ｍＭ　リン酸ナトリウム　ｐＨ６．５、３００ｍＭ　ＮａＣｌ緩衝液、流量０．５ｍｌ／分、定組成溶離７０分）。（図１０９Ｂ）ＲＰ－ＨＰＬＣ分析を示す（Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｊｕｐｉｔｅｒ　Ｃ１８　５μＭ　３００Ａ　１５０ｘ４．６０ｍｍカラム、緩衝液Ａ：Ｈ２Ｏ中０．１％　ＴＦＡ、緩衝液Ｂ：ＣＡＮ中０．１％　ＴＦＡ、流量１ｍｌ／分、４５分で勾配５％～５０％Ｂ）。図３Ｃは、ＥＳＩ－ＭＳ分析を示す（ＱＳＴＡＲ－ＸＬ、計算されたＭＷ　８５，０８５．４　Ｄａ、実験的ＭＷ　８５，０９１　Ｄａ）。
【図１１０】実施例６２に記載されるように行われる、組換えＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮ（黒塗りの正方形）および共役体ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮ（黒塗りの丸）のＧＰＣＲCa^{2+}動員活性の結果を示す。
【図１１１】実施例６３に記載されるように行われる、３７℃で様々な時点での組換えＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮ（黒塗りの正方形）および共役体ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮ（黒塗りの三角形）のインビトロヒト血漿安定性の結果を示す。
【図１１２】実施例６４に記載されるように行われる、ラットにおける組換えＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮ（黒塗りの正方形）および共役体ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮ（黒塗りの三角形）の薬物動態プロファイルの結果を示す。
【図１１３】（図１１３Ａ）トリス－［２－マレイミドエチル］アミンと１ｘアミノ、１ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２との間の反応産物のＳＥＣ－ＨＰＬＣ分析を示す。図１１３Ａ－共役混合物：ピーク１－三量体ＸＴＥＮ、ピーク２－二量体ＸＴＥＮ、ピーク３－未反応の単量体ＸＴＥＮ；図１１３Ｂ－直鎖状ＸＴＥＮ＿１２９６対照；図１１３Ｃ－直鎖状ＸＴＥＮ＿８６４対照；図１１３Ｄ－直鎖状ＸＴＥＮ＿４３２対照。
【図１１４】（図１１４Ａ）実施例６５に記載されるように、１ｘアミノ－ＸＴＥＮ＿２８８に対するＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ共役のＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣ分析を示す。未反応のＸＴＥＮは、１９分で溶出した。１ｘＤＢＣＯ－ＸＴＥＮ＿２８８は、２７分で溶出した。ＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ試薬およびその加水分解の産物は、それぞれ４１．５分および３８．５分で溶出した。（図１１４Ｂ）トリス（２－アミノエチル）アミンに対するアジド－ＰＥＧ４－ＮＨＳエステル共役のＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣ分析を示す。３ｘアジド－ＰＥＧ４－ＴＡＥＡは、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ　ＭＳおよびＥＳＩ－ＭＳによって、９６６　ＤａのＭＷを持つ産物として特定された。
【図１１５】実施例６６に記載されるように、３ｘアジド－ＰＥＧ４－ＴＡＥＡと１ｘＤＢＣＯ－ＸＴＥＮ＿２８８との間の反応産物のＳＥＣ－ＨＰＬＣ分析を示す：（トレースＡ）共役混合物：ピーク１－三量体ＸＴＥＮ、ピーク２－二量体ＸＴＥＮ、ピーク３－未反応の単量体ＸＴＥＮ、ピーク４－低分子量化合物；（トレースＢ）直鎖状ＸＴＥＮ＿８６４対照；（トレースＣ）直鎖状ＸＴＥＮ５７６対照；（トレースＤ）直鎖状ＸＴＥＮ＿２８８対照。

【図１１６】実施例６９に記載されるように、ＫＢ細胞上の３ｘＦＡ（γ）、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの選択的細胞毒性を実証する殺細胞アッセイの結果を示す。阻害性用量反応曲線は、ＫＢ細胞上の葉酸競合体の存在下（黒塗りの三角形）および不在下（黒塗りの正方形）での遊離ＭＭＡＥ（黒塗りの円）、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ（黒塗りの逆三角形）、および３ｘＦＡ（γ）、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの群について示される。

【図１１７Ａ】ＸＴＥＮ－ペイロード共役体３ｘＦＡ（γ）、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの構造を示す。（図１１７Ａ）アジド１－アジド－３，６，９，１２－テトラオキサペンタデカン－１５－ｏｉｃ酸、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル、およびアルキン６－（１１，１２－ジデヒドロジベンゾ［ｂ，ｆ］アゾシン－５（６Ｈ）－イル）－６－オキソヘキサン酸、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（またはＮ－ヒドロキシスルホンスクシンイミド）エステルの反応によって結合された２つのＸＴＥＮを示す。（図１１７Ｂ）葉酸塩－γ－アミノペンチル－マレイミドを用いて修飾されたＣｙｓのＸ残基を示す。（図１１７Ｃ）マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル－モノメチルオーリスタチンＥで修飾されたＣｙｓのＺ残基を示す。

【図１１７Ｂ】ＸＴＥＮ－ペイロード共役体３ｘＦＡ（γ）、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの構造を示す。（図１１７Ａ）アジド１－アジド－３，６，９，１２－テトラオキサペンタデカン－１５－ｏｉｃ酸、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル、およびアルキン６－（１１，１２－ジデヒドロジベンゾ［ｂ，ｆ］アゾシン－５（６Ｈ）－イル）－６－オキソヘキサン酸、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（またはＮ－ヒドロキシスルホンスクシンイミド）エステルの反応によって結合された２つのＸＴＥＮを示す。（図１１７Ｂ）葉酸塩－γ－アミノペンチル－マレイミドを用いて修飾されたＣｙｓのＸ残基を示す。（図１１７Ｃ）マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル－モノメチルオーリスタチンＥで修飾されたＣｙｓのＺ残基を示す。

【図１１７Ｃ】ＸＴＥＮ－ペイロード共役体３ｘＦＡ（γ）、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの構造を示す。（図１１７Ａ）アジド１－アジド－３，６，９，１２－テトラオキサペンタデカン－１５－ｏｉｃ酸、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル、およびアルキン６－（１１，１２－ジデヒドロジベンゾ［ｂ，ｆ］アゾシン－５（６Ｈ）－イル）－６－オキソヘキサン酸、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（またはＮ－ヒドロキシスルホンスクシンイミド）エステルの反応によって結合された２つのＸＴＥＮを示す。（図１１７Ｂ）葉酸塩－γ－アミノペンチル－マレイミドを用いて修飾されたＣｙｓのＸ残基を示す。（図１１７Ｃ）マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル－モノメチルオーリスタチンＥで修飾されたＣｙｓのＺ残基を示す。

【発明を実施するための形態】

【００６１】

本発明の実施形態について記載する前に、そのような実施形態が、単なる例として提供されること、および本明細書に記載される本発明の実施形態に対する種々の代替手段が、本発明の実施において採用され得ることを理解されたい。ここで、当業者は、多数の変化形、変更、および置換を本発明から逸脱することなく想定するであろう。

【００６２】

別段に定義されない限り、本明細書に使用される全ての技術および科学用語は、本発明が属する当該技術分野の当業者によって広く理解される意味を有する。本明細書に記載の方法および物質と同様もしくは同等の方法および物質を本発明の実践または試験において使用することができるが、適切な方法および物質は、以下に説明される。対立する場合は、定義を含む特許明細書が優先する。さらに、材料、方法、および実施例は、単なる例示であり、制限的であることを意図しない。ここで、当業者は、多数の変化形、変更、および置換を本発明から逸脱することなく想定するであろう。

定義

本出願の文脈において、以下の用語は、別段の指定が無い限り、それらに帰する意味を有する。

【００６３】

本明細書および請求項全体で使用される場合、「ａ」、「ａｎ」、および「ｔｈｅ」という用語は、その後に上限が特異的に記述される例を除いて、「少なくとも１つ」、「少なくとも第１の」「１つ以上の」または「複数の」参照される成分またはステップを意味するという意味で使用される。したがって、「ペイロード」とは、本明細書において使用される場合、「少なくとも第１のペイロード」を意味するが、複数のペイロードを含む。組合せの動作制限およびパラメータは、任意の単一薬剤の量と同様に、本開示に照らして当業者には既知となるであろう。

【００６４】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」という用語は、本明細書において、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指すために同義に使用される。ポリマーは、直鎖状または分岐であり得、修飾されたアミノ酸を含み得、非アミノ酸によって妨害され得る。本用語は、修飾された（例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または標識成分との接合等の任意の他の操作）アミノ酸ポリマーも包含する。

【００６５】

本明細書において使用される場合、「アミノ酸」という用語は、天然および／もしくは非天然アミノ酸、または合成アミノ酸のいずれかを指し、ＤまたはＬ光学異性体の双方、およびアミノ酸類似体、およびペプチド模倣体を含むが、これらに限定されない。標準の１文字または３文字コードを使用して、アミノ酸を指定する。

【００６６】

「薬理学的に活性な」薬剤としては、対象に送達されることが所望される、物質または混合物の任意の薬物、化合物、組成物（例えば、治療薬、診断薬、または薬物送達剤）が挙げられ、インビボまたはインビトロで実証することができる、多くの場合は有益ないくらかの薬理学的効果を提供するか、または提供することが予想される。そのような薬剤としては、ペプチド、タンパク質、炭水化物、核酸、ヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、および小分子合成化合物、またはそれらの類似体が挙げられる。

【００６７】

「天然Ｌアミノ酸」という用語は、グリシン（Ｇ）、プロリン（Ｐ）、アラニン（Ａ）、バリン（Ｖ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、システイン（Ｃ）、フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、トリプトファン（Ｗ）、ヒスチジン（Ｈ）、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）、グルタミン（Ｑ）、アスパラギン（Ｎ）、グルタミン酸（Ｅ）、アスパラギン酸（Ｄ）、セリン（Ｓ）、およびトレオニン（Ｔ）のＬ光学異性体形態を意味する。

【００６８】

「非天然に存在する」という用語は、配列に適用される場合、および本明細書において使用される場合、哺乳類において見出される野生型または天然に存在する配列の対応物（ｃｏｕｎｔｅｒｐａｒｔ）を有しないか、相補的でないか、または高程度の相同性を有しないポリペプチドまたはポリヌクレオチオド配列を意味する。例えば、非天然に存在するポリペプチドまたはフラグメントは、適切に整列されるとき、天然配列と比較して、９９％以下、９８％、９５％、９０％、８０％、７０％、６０％、５０％、またはさらにそれ以下のアミノ酸配列同一性を共有し得る。

【００６９】

「親水性」および「疎水性」という用語は、基質が水に対して有する親和性の程度を指す。親水性物質は、水に対する強い親和性を有し、水中に溶解するか、水と混合するか、または水によって湿潤される傾向があるが、疎水性物質は、水に対する親和性を欠き、水に反発し、吸収しない傾向があり、また水中に溶解しないか、水と混合しないか、または水によって湿潤されない傾向がある。アミノ酸は、それらの疎水性に基づいて特徴付けることができる。多数のスケールが開発されている。一例は、Ｌｅｖｉｔｔ，Ｍ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ（１９７６）１０４：５９によって開発されたスケールであり、Ｈｏｐｐ，ＴＰ，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ（１９

８１）７８：３８２４に列挙されている。「親水性アミノ酸」の例は、アルギニン、リジン、トレオニン、アラニン、アスパラギン、およびグルタミンである。特に興味深いのは、親水性アミノ酸、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩、およびセリン、およびグリシンである。「疎水性アミノ酸」の例は、トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン、メチオニン、ロイシン、イソロイシン、およびバリンである。

【００７０】

「フラグメント」は、生物学的に活性なタンパク質に適用されるとき、治療的および／または生物学的活性の少なくとも一部分を保持する、生物学的に活性なタンパク質の切断形態である。「変異体」は、生物学的に活性なタンパク質に適用されるとき、生物学的に活性なタンパク質の治療的および／または生物学的活性の少なくとも一部分を保持する、天然の生物学的に活性なタンパク質に対して配列相同性を持つタンパク質である。例えば、変異体タンパク質は、参照の生物学的に活性なタンパク質と比較して、少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％のアミノ酸配列同一性を共有し得る。本明細書において使用される場合、「生物学的に活性なタンパク質変異体」という用語は、例えば、部位特異的突然変異誘導、コードする遺伝子の合成によって意図的に修飾されるか、または偶発的に突然変異を通じて修飾され、活性を保持するタンパク質を含む。

【００７１】

「配列変異体」という用語は、１つ以上のアミノ酸挿入、欠失、または置換によって、それらの天然または元の配列と比較して修飾されたポリペプチドを意味する。挿入は、タンパク質のいずれか、または双方の末端に位置し得、および／またはアミノ酸配列の内部領域内に位置付けられ得る。非限定例は、生物学的に活性なペイロードタンパク質の配列内のＸＴＥＮ配列の挿入である。別の非限定例は、異なるアミノ酸を持つＸＴＥＮ中のアミノ酸の置換である。欠失変異体において、本明細書に記載されるように、ポリペプチド中の１つ以上のアミノ酸残基が除去される。したがって、欠失変異体は、ペイロードポリペプチド配列の全てのフラグメントを含む。置換変異体において、ポリペプチド中の１つ以上のアミノ酸残基が除去され、代替残基で置換される。一態様において、これらの置換は性質上保守的であり、この型の保守的置換は、当該技術分野において周知である。

【００７２】

「部分」という用語は、より大きな組成物の成分を意味するか、または薬物分子の官能基またはより大きなポリペプチドに接合された標的ペプチド等のより大きな組成物に組み込まれることが意図される。

【００７３】

本明細書において使用される場合、「末端ＸＴＥＮ」は、ペイロードがペプチドまたはポリペプチドであるとき、ペイロードのＮ末端またはＣ末端に融合されているか、またはその中にあるＸＴＥＮ配列を指す。

【００７４】

「ＸＴＥＮ遊離部位」という用語は、プロテアーゼによって認識および切断され得、ＸＴＥＮ－ペイロードポリペプチドからのＸＴＥＮまたはＸＴＥＮの一部分の遊離をもたらす、ＸＴＥＮ－ペイロード中の切断配列を指す。本明細書において使用される場合、「哺乳類プロテアーゼ」は、通常、哺乳類の体液、細胞、または組織中に存在するプロテアーゼを意味する。ＸＴＥＮ遊離部位は、様々な哺乳類プロテアーゼ（「ＸＴＥＮ遊離プロテアーゼ」として知られる）、例えば、トリプシン、ＦＸＩａ、ＦＸＩＩａ、カリクレイン、ＦＶＩＩＩａ、ＦＶＩＩＩａ、ＦＸａ、ＦＩＩａ（トロンビン）、エラスターゼ－２、ＭＭＰ－１２、ＭＭＰ１３、ＭＭＰ－１７、ＭＭＰ－２０、または対象中に存在する任意のプロテアーゼによって切断されるように操作され得る。定義された切断部位を認識することができる他の同等プロテアーゼ（内因性または外因性）を利用することができる。切断部位は、利用されるプロテアーゼに対して調整および適合することができる。

【００７５】

「～の中で」という用語は、第２のポリペプチドに結合される第１のポリペプチドを指

すとき、第１または第２のポリペプチドのＮ末端を、それぞれ第２または第１のポリペプチドのＣ末端に接続する結合、ならびに第２のポリペプチドの配列への第１のポリペプチドの挿入を包含する。例えば、ＸＴＥＮがペイロードポリペプチド「の中で」結合されるとき、ＸＴＥＮは、Ｎ末端、Ｃ末端に結合され得るか、またはペイロードポリペプチドの任意の２つのアミノ酸の間に挿入され得る。

【００７６】

「活性」は、本明細書に提供されるＸＴＥＮ－ペイロード組成物の形態（複数可）に適用されるとき、インビトロ、エクスビボ、もしくはインビボアッセイによって測定されるか、または臨床効果によって測定されるかにかかわらず、受容体結合、アンタゴニスト活性、アゴニスト活性、細胞もしくは生理反応、または当該技術分野において一般に知られているペイロードに対する効果を含むが、これらに限定されない作用または効果を指す。

【００７７】

本明細書において使用される場合、「ＥＬＩＳＡ」という用語は、本明細書に記載されるように、または他の方法で既知であるように、当該技術分野において酵素結合した免疫吸着アッセイを指す。

【００７８】

「宿主細胞」は、本明細書に記載されるもの等の対象ベクターに対する受容体であり得るか、または受容体であった個別の細胞または細胞培養物を含む。宿主細胞は、単一宿主細胞の子孫を含む。この子孫は、天然、偶発的、または意図的な突然変異に起因して、必ずしも元の親細胞に対して（形態学的または全ＤＮＡ相補体のゲノム的に）完全に同一である必要はない。宿主細胞は、本発明のベクターとインビボで形質転換された細胞を含む。

【００７９】

「単離された」とは、本明細書に開示される様々なポリペプチドを説明するために使用されるとき、その天然環境の成分から特定および分離された、および／または回収されたポリペプチドを意味する。その天然環境の汚染物質成分は、典型的に、ポリペプチドの診断的または治療的使用を干渉する材料であり、酵素、ホルモン、および他のタンパク性または非タンパク性溶質を含み得る。当業者には明らかであるように、非天然に存在するポリヌクレオチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体、またはそれらのフラグメントは、それをその天然に存在する対応物と区別するために、「単離」を必要としない。さらに、「濃縮された」、「分離された」または「希釈された」ポリヌクレオチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体、またはそれらのフラグメントは、その天然に存在する対応物と区別することができ、容量当たりの分子濃度または数が、一般に、その天然に存在する対応物よりも大きい。一般に、組換え手段によって製造され、宿主細胞中に発現したポリペプチドは、「単離されている」と見なされる。

【００８０】

「単離された」核酸は、特定され、それが通常、ポリペプチドをコードする核酸の天然源中で関連付けられる、少なくとも１つの汚染物質核酸分子核酸分子から分離される。例えば、単離されたポリペプチドをコードする核酸分子は、それが天然にで見出される形態または状況以外で存在する。したがって、単離されたポリペプチドをコードする核酸分子は、それが天然細胞中に存在するとき、特定のポリペプチドをコードする核酸分子と区別される。しかしながら、単離されたポリペプチドをコードする核酸分子は、通常ポリペプチドを発現する細胞に含有されるポリペプチドをコードする核酸分子を含み、例えば、この核酸分子は、天然細胞のそれとは異なる染色体または染色体外位置に存在する。

【００８１】

「キメラ」タンパク質は、天然に存在するものとは異なる配列中の位置に少なくとも１つの領域を含む、少なくとも１つの融合ポリペプチドを含有する。これらの領域は、通常、別個のタンパク質中に存在し得、一緒に融合ポリペプチド中に運び込まれるか、またはそれらは、通常、同じタンパク質中に存在し得るが、融合ポリペプチド中に新たな配列で配置される。キメラタンパク質は、例えば、化学合成によるか、またはペプチド領域が所望の関係でコードされる、ポリヌクレオチドを作成および翻訳することによって作成され

得る。
【００８２】
「融合された」および「融合」は、本明細書において同義に使用され、２つ以上のペプチドまたはポリペプチド配列を、組換え手段によって一緒に接合することを指す。
【００８３】
「操作可能に結合された」とは、結合されるＤＮＡ配列が連続し、読み取り相にあるか、またはインフレームであることを意味する。「インフレーム融合」は、元のＯＲＦの正しいリーディングフレームを維持する様式で、連続する長いＯＲＦを形成するための２つ以上のオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）の接合を指す。例えば、促進剤または強化剤は、ポリペプチド配列の転写に影響を及ぼす場合、ポリペプチドのコード配列に操作可能に結合される。したがって、得られた組換え融合タンパク質は、元のＯＲＦによってコードされるポリペプチドに対応する２つ以上のセグメント（これらのセグメントは、通常、天然にそのように接合されない）を含有する単一タンパク質である。
【００８４】
「架橋する」、「共役する」、「結合」、「結合する」、および「に接合される」は、本明細書において同義に使用され、化学反応による２つの異なる分子の共有結合を指す。架橋は、以下により完全に記載されるように、１つ以上の化学反応において起こり得る。
【００８５】
本明細書において使用される場合、「共役パートナー」という用語は、共役反応において結合され得るか、または結合される個別の成分を指す。
【００８６】
「共役体」という用語は、共役パートナー同士を共有結合する結果として形成された異種分子、例えば、ＸＴＥＮ分子に共有結合された生物学的に活性なペイロード、または反応性ＸＴＥＮに共有結合されたＸＴＥＮ分子または架橋剤を指す。
【００８７】
「架橋剤」および「リンカー」は、同義に、それらの最も広義の文脈において使用され、２つ以上の実体を共有結合するために使用される化学的実体を意味する。例えば、架橋剤は、実体が本明細書において定義されるとき、２つ、３つ、４つ、またはそれ以上のＸＴＥＮを接合するか、またはペイロードをＸＴＥＮに接合する。架橋剤としては、小分子ゼロ長、ホモまたはヘテロ二官能性、および多官能性架橋剤化合物の反応産物、２つのクリック化学反応物の反応産物が挙げられるが、これらに限定されない。架橋剤が、反応物の架橋後に残る共有結合された反応産物を指し得ることは、当業者によって理解されるであろう。架橋剤は、まだ反応していないが、別の実体と反応することができる、１つ以上の反応物を含むこともできる。
【００８８】
ポリペプチドの文脈において、「直鎖状配列」または「配列」は、配列中で互いに隣接する残基が、ポリペプチドの一次構造において連続する、カルボキシル末端方向へのアミノのポリペプチド中のアミノ酸の順序である。「部分配列」は、追加の残基を一方向または双方向に含むことが知られているポリペプチドの部分の直鎖状配列である。
【００８９】
「異種」とは、比較される実体の残りとは遺伝子型が異なる実体に由来することを意味する。例えば、その天然コード配列から除去され、天然配列以外のコード配列に操作可能に結合される高グリシン配列は、異種高グリシン配列である。「異種」という用語は、ポリヌクレオチド、ポリペプチドに適用されるとき、そのポリヌクレオチドまたはポリペプチドが、比較される実体の残りのものとは遺伝子型が異なる実体に由来することを意味する。
【００９０】
「ポリヌクレオチド」、「核酸」、および「オリゴヌクレオチド」という用語は、同義に使用される。それらは、任意の長さのヌクレオチドのポリマー形態、デオキシリボヌクレオチドもしくはリボヌクレオチドのいずれか、またはそれらの類似体を指す。ポリヌク

レオチドは、任意の３次元構造を有し得、既知または未知の任意の機能を行い得る。以下は、ポリヌクレオチドの非限定例：遺伝子または遺伝子フラグメントのコードまたは非コード領域、結合分析から定義された遺伝子座（複数可）、エクソン、イントロン、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、トランスファーＲＮＡ、リボソームＲＮＡ、リボザイム、ｃＤＮＡ、組換えポリヌクレオチド、分岐ポリヌクレオチド、プラスミド、ベクター、任意の配列の単離されたＤＮＡ、任意の配列の単離されたＲＮＡ、核酸プローブ、およびプライマーである。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチドおよびヌクレオチド類似体等の修飾ヌクレオチドを含んでよい。存在する場合、ヌクレオチド構造への修飾は、ポリマーの組立て前または後に付与され得る。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分により中断され得る。ポリヌクレオチドは、例えば標識成分との共役により、重合化後にさらに修飾され得る。

【００９１】

「ポリヌクレオチドの相補体」という用語は、完全な忠実度を持つ参照配列とハイブリダイズすることができるように、参照配列と比較して、相補的な塩基配列および逆配向を有するポリヌクレオチド分子を示す。

【００９２】

「組換え」とは、ポリヌクレオチドに適用されるとき、このポリヌクレオチドが、クローニング、制限、および／またはライゲーションステップを含み得る組換えステップの様々な組合せ、および宿主細胞中に組換えタンパク質の発現をもたらす他の手順の産物であることを意味する。

【００９３】

「遺伝子」および「遺伝子フラグメント」という用語は、本明細書において同義に使用される。それらは、転写および翻訳された後に特定のタンパク質をコードすることができる少なくとも１つのオープンリーディングフレームを含有するポリヌクレオチドを指す。遺伝子または遺伝子フラグメントは、ポリヌクレオチドが、コード領域全体またはそのセグメントを被覆し得る、少なくとも１つのオープンリーディングフレームを含有する限り、ゲノムまたはｃＤＮＡであり得る。「融合遺伝子」は、一緒に結合される少なくとも２つの異種ポリヌクレオチドからなる遺伝子である。

【００９４】

「相同性」または「相同の」または「配列同一性」は、２つ以上のポリヌクレオチド配列間、または２つ以上のポリペプチド配列間の配列類似性または互換性を指す。ＢｅｓｔＦｉｔ等のプログラムを使用して、２つの異なるアミノ差配列間の配列同一性、類似性または相同性を決定するとき、デフォルト設定が使用され得るか、または同一性、類似性、または相同性スコアを最適化するために、ｂｌｏｓｕｍ４５またはｂｌｏｓｕｍ８０等の適切なスコアリングマトリックスが選択され得る。好ましくは、相同性であるポリヌクレオチドは、本明細書に定義されるように、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするものであり、それらの配列と比較して、少なくとも７０％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも９０％、より好ましくは少なくとも９５％、より好ましくは９７％、より好ましくは９８％、さらにより好ましくは９９％の配列同一性を有する。相同性であるポリペプチドは、好ましくは、少なくとも７０％、好ましくは少なくとも８０％、さらにより好ましくは少なくとも９０％、さらにより好ましくは少なくとも９５～９９％同一である配列同一性を有する。

【００９５】

「ライゲーション」は、ポリ核酸に適用されるとき、２つの核酸フラグメントまたは遺伝子間にホスホジエステル結合を創製し、それらを一緒に結合するプロセスを指す。ＤＮＡフラグメントまたは遺伝子を一緒に結紮するために、ＤＮＡの末端は、互いに適合しなければならない。場合によって、末端は、エンドヌクレアーゼ消化後に直接適合する。しかしながら、最初に、一般にエンドヌクレアーゼ消化後に産生される交差式末端を平滑末端に変換し、それらをライゲーションのために適合させることが必要であり得る。

【００９６】

「ストリンジェントな条件」または「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」という用語は、ポリヌクレオチドが、他の配列よりも（例えば、バックグラウンドの少なくとも２倍）検出可能に高度にその標的配列にハイブリダイズする条件への言及を含む。一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、部分的に、洗浄ステップが実行される温度および塩濃度を参照して表現される。典型的に、ストリンジェントな条件は、塩の濃度が、約１．５Ｍ未満のナトリウムイオン、典型的に、ｐＨ７．０～８．３で約０．０１～１．０Ｍナトリウムイオン濃度（または他の塩）であるものであり、温度は、短いポリヌクレオチド（例えば、約１０～５０ヌクレオチド）については、少なくとも約３０℃であり、長いポリヌクレオチド（例えば、５０ヌクレオチドを上回る）については、少なくとも約６０℃であり、例えば、「ストリンジェントな条件」は、５０％ホルムアミド、１Ｍ　ＮａＣｌ、１％　ＳＤＳ中３７℃でのハイブリダイゼーション、および０．１ｘＳＳＣ／１％ＳＤＳ中６０℃～６５℃でそれぞれ１５分間、３回の洗浄を含み得る。代替として、約６５℃、６０℃、５５℃、または４２℃の温度が使用されてもよい。ＳＳＣ濃度は、約０．１～２ｘＳＳＣで変動し得、ＳＤＳは、約０．１％で存在する。そのような洗浄温度は、典型的に、定義されたイオン強度およびｐＨでの特定の配列に対する熱融点よりも低い約５℃～２０℃であるように選択される。Ｔｍは、標的配列の５０％が完全に一致したプローブにハイブリダイズする（定義されたイオン強度およびｐＨでの）温度である。核酸ハイブリダイゼーションのＴｍおよび条件を計算するための等式は、周知であり、Ｓａｍｂｒｏｏｋ，Ｊ．ｅｔ　ａｌ．，″Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，″３ｒｄ　ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，２００１において見出すことができる。典型的に、ブロッキング試薬を使用して、非特異的ハイブリダイゼーションをブロックする。そのようなブロッキング試薬は、例えば、せん断および変性したサケ精子ＤＮＡを約１００～２００μｇ／ｍｌ含む。約３５～５０ｖ／ｖ％の濃度のホルムアミド等の有機溶媒は、ＲＮＡ：ＤＮＡハイブリダイゼーション等の特定の状況下で使用されてもよい。これらの洗浄条件に関する有用な変化形は、当業者に容易に明白となるであろう。

【００９７】

「同一性パーセント」、「配列同一性のパーセンテージ」、および「％同一性」という用語は、ポリヌクレオチド配列に適用されるとき、標準化アルゴリズムを使用して整列された少なくとも２つのポリヌクレオチド配列間の残基一致のパーセンテージを指す。そのようなアルゴリズムは、２つの配列間の整列を最適化するために、標準化および再現可能な方法で、比較される配列にギャップを挿入し得るため、これら２つの配列のより有意義な比較を達成する。同一性パーセントは、定義されたポリヌクレオチド配列全体の長さにわたって測定され得るか、またはより短い長さにわたって、例えば、より大きな定義されたポリヌクレオチド配列から取られたフラグメント、例えば、少なくとも４５、少なくとも６０、少なくとも９０、少なくとも１２０、少なくとも１５０、少なくとも２１０、または少なくとも４５０個の連続した残基のフラグメントの長さにわたって測定され得る。そのような長さは、単なる例示であり、本明細書において、表、図面、または配列一覧に示される配列によって支持される任意のフラグメント長を使用して、同一性のパーセンテージが測定され得る長さを記載してもよいことが理解される。配列同一性のパーセンテージは、比較ウィンドウ上の２つの最適に整列された配列を比較することと、一致した位置（同一残基が双方のポリペプチド配列中に発生する）の数を決定することと、一致した位置の数を比較ウィンドウ（すなわち、ウィンドウサイズ）内の位置の総数で割ることと、その結果に１００を掛けて配列同一性のパーセンテージを得ることによって計算される。異なる長さの配列が比較されるとき、最短の配列は、比較ウィンドウの長さを定義する。配列同一性を計算するとき、同類置換は考慮されない。

【００９８】

「パーセント（％）配列同一性」は、本明細書において特定されるポリペプチド配列に関して、最大パーセントの配列同一性を達成するために、必要ならば、配列を整列させ、ギャップを導入した後、第２の参照ポリペプチド配列またはその一部分のアミノ酸残基と

同一であるクエリー配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義され、任意の同類置換は配列同一性の一部として考慮せず、それにより最適な整列をもたらす。アミノ酸配列の同一性パーセントを決定することを目的とする整列は、当該技術分野の範囲内の様々な方法で、例えば、ＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、またはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェア等の一般に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成することができる。当業者は、整列を測定するための適切なパラメータを決定することができ、比較される配列の全長にわたって最適な整列を達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む。同一性パーセントは、定義されたポリペプチド配列全体の長さにわたって測定され得るか、またはより短い長さにわたって、例えば、より大きな定義されたポリペプチド配列から取られたフラグメント、例えば、少なくとも１５、少なくとも２０、少なくとも３０、少なくとも４０、少なくとも５０、少なくとも７０、または少なくとも１５０個の連続した残基のフラグメントの長さにわたって測定され得る。そのような長さは、単なる例示であり、本明細書において、表、図面、または配列一覧に示される配列によって支持される任意のフラグメント長を使用して、同一性のパーセンテージが測定され得る長さを記載してもよいことが理解される。

【００９９】

ポリヌクレオチド配列の文脈において使用される「反復性」は、例えば、所与の長さの同一ヌクレオチド配列の頻度等の配列における内部相同性の程度を指す。反復性は、例えば、同一配列の頻度を分析することによって測定することができる。

【０１００】

「ベクター」は、好ましくは、適切な宿主において自己複製する核酸分子であり、宿主細胞の中および／または間に挿入された核酸分子を移動させる。この用語は、主に細胞へのＤＮＡまたはＲＮＡの挿入のために機能するベクター、主にＤＮＡまたはＲＮＡの複製のために機能するベクターの複製、およびＤＮＡまたはＲＮＡの転写および／または翻訳のために機能する発現ベクターを含む。上記機能のうちの複数を提供するベクターも含まれる。「発現ベクター」は、適切な宿主細胞に導入されたときに、ポリペプチド（複数可）に転写および翻訳され得るポリヌクレオチドである。「発現系」は、通常、所望の発現産物を生じるように機能し得る、発現ベクターからなる適切な宿主細胞を含意する。

【０１０１】

「血清分解抵抗性」は、ポリペプチドに適用されるとき、ポリペプチドが血液またはその成分中で分解に耐える能力を指し、典型的に血清または血漿中にプロテアーゼを必要とする。血清分解抵抗性は、タンパク質をヒト（または必要に応じてマウス、ラット、サル）血清または血漿と、典型的に数日間（例えば、０．２５、０．５、１、２、４、８、１６日間）、典型的に約３７℃で合わせることによって測定することができる。これらの時点の試料は、ウェスタンブロットアッセイ上で実行することができ、タンパク質は、抗体で検出される。抗体は、タンパク質中のタグに対するものであり得る。タンパク質のサイズが注入されたタンパク質のサイズと同一である、ウェスタン上でタンパク質が単一バンドを示す場合、分解は発生しなかった。この例示的な方法において、タンパク質の５０％が分解される時点は、ウェスタンブロットまたは同等の手技によって判断されるように、タンパク質の血清分解半減期または「血清半減期」である。

【０１０２】

「$t_{1/2}$」、「半減期」、「終末相半減期」、「消失半減期」、および「循環半減期」という用語は、本明細書において同義に使用され、本明細書において使用される場合、$ln(2)/K_{el}$として計算された終末相半減期を意味する。K_{el}は、時間曲線に対するログ濃度の終末相線形部分の線形回帰によって計算された終末相消失速度定数である。半減期は、典型的に、生体中に沈着した投与物質の量の半分が、正常な生物学的プロセスによって代謝または消失されるのに必要とされる時間を指す。

【０１０３】

「活性クリアランス」とは、タンパク質が、濾過以外によって循環から除去される機構を意味し、細胞、受容体によって媒介される循環からのタンパク質の除去、代謝、または

分解を含む。

【０１０４】

「見掛けの分子量因子」および「見掛けの分子量」は、特定のアミノ酸またはポリペプチド配列によって提示される見掛けの分子量の相対増減の尺度を指す関連用語である。見掛けの分子量は、球状タンパク質標準と比較することによって、サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）または類似の方法を使用して決定され、「見掛けのｋＤ」単位で測定される。見掛けの分子量因子は、見掛けの分子量と実際の分子量との間の比率であり、後者は、アミノ酸組成物に基づいて、その組成物中のアミノ酸の各型の計算された分子量を加算することによって、またはＳＤＳ電気泳動ゲル中の分子量標準との比較からの推定によって予測される。代表的なタンパク質について、見掛けの分子量および見掛けの分子量因子の双方の決定は、実施例に記載される。

【０１０５】

「流体力学半径」または「ストーク半径」という用語は、それが溶液中を動く本体であり、その溶液の粘度によって抵抗されると想定することによって測定された溶液中の分子の有効半径（R_h（ｎｍ））である。本発明の実施形態において、ＸＴＥＮポリペプチドの流体力学半径測定値は、より直感的な尺度である「見掛けの分子量因子」と相関する。タンパク質の「流体力学半径」は、水溶液中のその拡散速度、ならびに高分子のゲル中を移動する能力に影響を及ぼす。タンパク質の流体力学的半径は、その分子量によって、ならびに形状およびコンパクト性を含むその構造によって決定される。流体力学半径を決定するための方法は、当該技術分野において周知であり、例えば、米国特許第６，４０６，６３２号および同第７，２９４，５１３号に記載されるように、サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）の使用による。大部分のタンパク質は、タンパク質が最小の流体力学半径を有し得る、最もコンパクトな３次元構造である球状構造を有する。いくつかのタンパク質は、ランダムかつオープンな非構造化、または「直鎖状」構造を採用し、結果として、類似の分子量の典型的な球状タンパク質と比較して、はるかに大きな流体力学半径を有する。

【０１０６】

「生理的条件」は、生きた宿主中の一式の条件、ならびに生きた対象のそれらの条件を模倣する、温度、塩濃度、ｐＨを含むインビトロ条件を指す。インビトロアッセイで使用するための多くの生理的に関連した条件が確立された。一般に、生理的緩衝液は、生理的濃度の塩を含有し、約６．５～約７．８、好ましくは約７．０～約７．５の範囲の中性ｐＨに調整される。多様な生理的緩衝液は、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（２００１）に列挙されている。生理的に関連する温度は、約２５℃～約３８℃、好ましくは、約３５℃～約３７℃の範囲である。

【０１０７】

「ペイロードの単一原子残基」とは、対象のＸＴＥＮまたはＸＴＥＮ－リンカー組成物との反応後、ＸＴＥＮに化学的に結合されるペイロードの原子、典型的に硫黄、酸素、窒素、または炭素原子を意味する。例えば、ペイロードの原子残基は、ペイロード中のシステインチオール反応基の硫黄残基、ペプチドまたはポリペプチドまたは小分子ペイロードのアミノ反応基の窒素分子、ペプチド、タンパク質もしくは小分子、または合成有機薬物の炭素もしくは酸素残基、または反応性カルボキシルもしくはアルデヒド基であり得る。

【０１０８】

「反応基」は、第２の反応基に結合され得る化学構造である。反応基の例は、アミノ基、カルボキシル基、スルフヒドリル基、ヒドロキシル基、アルデヒド基、アジド基である。いくつかの反応基は、活性化され、直接または架橋剤を通じてのいずれかで、第２の反応基との共役を促進することができる。本明細書において使用される場合、反応基は、化学反応に関与する能力を有する限り、ＸＴＥＮ、架橋剤、アジド／アルキンクリック化学反応物、またはペイロードの一部であり得る。一旦反応すると、共役結合は、ペイロードまたは架橋剤またはＸＴＥＮ反応物の残基を結合する。

【０１０９】

「制御放出剤」、「徐放剤」、「デポー製剤」、および「持続放出剤」は、ポリペプチドが薬剤の不在下で投与されるときの放出期間に対して、本発明のポリペプチドの放出期間を延長することができる薬剤を指すように同義に使用される。本発明の異なる実施形態は、異なる放出速度を有し得、異なる治療量をもたらす。

【０１１０】

「ペイロード」という用語は、本明細書において使用される場合、対象に投与されるときに、生物学的、薬理学的、または治療的活性または有益な効果を有するか、またはインビトロで実証され得る、物質の任意のタンパク質、ペプチド配列、小分子、薬物、または組成物を指す。ペイロードは、撮像またはインビボ診断目的で使用され得る分子も含む。ペイロードの例としては、サイトカイン、酵素、ホルモン、血液凝固因子、および成長因子、化学療法薬、抗ウイルス化合物、毒素、抗癌薬物、放射活性化合物、および造影剤、ならびに標的ペプチド、タンパク質、抗体、抗体フラグメント、または受容体もしくはリガンドに結合するために使用される化合物が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１１】

「抗原」、「標的抗原」、および「免疫原」という用語は、抗体フラグメントまたは抗体フラグメント系治療薬が結合するか、またはそれに対して特異性を有する、構造または結合決定基を指すように、本明細書において同義に使用される。

【０１１２】

「アンタゴニスト」という用語は、本明細書において使用される場合、本明細書に開示される天然ポリペプチドの生物活性を部分的または完全にブロック、阻害、または中和する任意の分子を含む。ポリペプチドのアンタゴニストを特定するための方法は、天然ポリペプチドを候補アンタゴニスト分子と接触させることと、通常、その天然ポリペプチドと関連付けられる１つ以上の生物活性における検出可能な変化を測定することと、を含み得る。本発明の文脈において、アンタゴニストは、タンパク質、核酸、炭水化物、抗体、または生物学的に活性なタンパク質の効果を減少させる任意の他の分子を含み得る。

【０１１３】

「定義された媒体」は、その媒体の成分が既知であるように、培養物中の細胞の生存および／または成長に必要な栄養およびホルモン要件を含む培地を指す。伝統的に、合成培地は、成長および／または生存に必要な栄養および成長因子の付加によって製剤化された。典型的に、合成培地は、以下のカテゴリーのうちの１つ以上から少なくとも１つの成分を提供する：ａ）全ての必須アミノ酸（通常、２０個のアミノ酸プラスシステインの基本セット）；ｂ）エネルギー源（通常、グルコース等の炭水化物の形態）；ｃ）ビタミンおよび／または低濃度で必要とされる他の有機化合物；ｄ）遊離脂肪酸；およびｅ）微量元素（微量元素は、無機化合物または典型的に非常に低濃度で必要とされる天然に存在する元素であり、通常、マイクロモル範囲内である）として定義される。合成培地は、以下のカテゴリーのうちのいずれかからの１つ以上の成分で任意に補足されてもよい：ａ）１つ以上の分裂促進剤；ｂ）塩および緩衝剤（例えば、カルシウム、マグネシウム、およびリン酸塩）；ｃ）ヌクレオチドおよび塩基（例えば、アデノシンおよびチミジン、ヒポキサンチン）；ｄ）タンパク質および組織加水分解産物。

【０１１４】

「アゴニスト」という用語は、最も広義に使用され、本明細書に開示される天然ポリペプチドの生物活性を模倣する任意の分子を含む。適切なアゴニスト分子としては、特に、天然ポリペプチド、ペプチド、小有機分子等のアゴニスト抗体もしくは抗体フラグメント、フラグメント、またはアミノ酸配列の変化形が挙げられる。天然ポリペプチドのアゴニストを特定するための方法は、天然ポリペプチドを候補アゴニスト分子と接触させることと、通常、その天然ポリペプチドと関連付けられる１つ以上の生物活性における検出可能な変化を測定することと、を含み得る。

【０１１５】

「阻害定数」または「Ｋｉ」は、同義に使用され、酵素－阻害剤錯体の解離定数、または酵素に対する阻害剤の結合親和性の逆数を意味する。

【０１１６】
本明細書において使用される場合、「処置」または「処置する」または「緩和する」または「改善する」は、同義に使用され、薬物または生物製剤を投与して、治療的利点を達成すること、既存の状態を治癒するか、または重症度を低減すること、または予防的利点を達成すること、状態の発生を予防するか、または発症の可能性もしくは重症度を低減することを意味する。治療的利点とは、対象が依然として基礎疾患に苦しめられることがあっても、改善がその対象で観察されるような、処置される基礎疾患、またはその基礎疾患と関連付けられる生理的症状のうちの１つ以上の根絶もしくは改善を意味する。
【０１１７】
「治療効果」または「治療的利点」は、本明細書において使用される場合、生理的効果を指し、ヒトまたは他の動物における疾患の軽減、改善、もしくは予防、または生物学的に活性なタンパク質が有する抗原エピトープに対する抗体の産生を誘導する能力以外の、本発明のポリペプチドの投与によって生じる、他の方法でヒトもしくは動物の身体的もしくは精神的健康を強化することが挙げられるが、これらに限定されない。予防的利点のために、疾患の診断がなされていない場合でさえも、組成物が特定の疾患、その疾患の状態もしくは症状（例えば、診断された血友病Ａ対象における出血）を発症する危険性のある対象に、またはこの疾患の生理的症状のうちの１つ以上を報告する対象に投与され得る。
【０１１８】
「治療上有効な量」および「治療上有効な用量」という用語は、本明細書において使用される場合、単独またはポリペプチド組成物の一部としてのいずれかで、薬物または生物学的に活性なタンパク質の量を指し、１回または反復投与で対象に投与されるとき、病態または状態の任意の症状、態様、測定されたパラメータ、または特徴に対して任意の検出可能な有益効果を有することができる。そのような効果は、絶対的に有益である必要はない。治療上有効な量の決定は、特に本明細書に提供される詳細な開示に照らして、十分に当業者の能力の範囲内である。
【０１１９】
「治療上有効な用量計画」という用語は、本明細書において使用される場合、単独またはポリペプチド組成物の一部としてのいずれかで、生物学的に活性なタンパク質の複数用量（すなわち、２または３）を連続投与するためのスケジュールを指し、これらの用量は、病態または状態の任意の症状、態様、測定されるパラメータ、または特徴に対して持続的な有益効果をもたらすように、治療上有効な量で付与される。
Ｉ）．　一般的技法
本発明の実践は、別途指示が無い限り、当該技術分野の範囲内である、免疫学、生化学、化学、分子生物学、微生物学、細胞生物学、ゲノミクス、および組換えＤＮＡの従来技法を採用する。Ｓａｍｂｒｏｏｋ，Ｊ．ｅｔ　ａｌ．，"Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，"３rd ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，２００１、"Ｃｕｒｒｅｎｔ　ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｂｉｏｌｏｇｙ"，Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ，ｅｔ　ａｌ．ｅｄｓ．，１９８７、ｔｈｅ　ｓｅｒｉｅｓ　"Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，"Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ．、"ＰＣＲ　２：ａ　ｐｒａｃｔｉｃａｌ　ａｐｐｒｏａｃｈ"，Ｍ．Ｊ．ＭａｃＰｈｅｒｓｏｎ，Ｂ．Ｄ．Ｈａｍｅｓ　ａｎｄ　Ｇ．Ｒ．Ｔａｙｌｏｒ　ｅｄｓ．，Ｏｘｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｐｒｅｓｓ，１９９５、"Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ａ　ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　ｍａｎｕａｌ"Ｈａｒｌｏｗ，Ｅ．ａｎｄ　Ｌａｎｅ，Ｄ．ｅｄｓ．，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，１９８８，"Ｇｏｏｄｍａｎ　＆　Ｇｉｌｍａｎ‘ｓ　Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｂａｓｉｓ　ｏｆ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，"１１th Ｅｄｉｔｉｏｎ，ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ，２００５、およびＦｒｅｓｈｎｅｙ，Ｒ．Ｉ．，"Ｃｕｌｔｕｒｅ　ｏｆ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃｅｌｌｓ：Ａ　Ｍａｎｕａｌ　ｏｆ　Ｂａｓｉｃ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ，"４th ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ，Ｓｏｍｅｒｓｅｔ，ＮＪ，

２０００（これらの内容は、参照によりそれら全体が本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【０１２０】

宿主細胞は、多様な培地中で培養され得る。Ｈａｍ’ｓ Ｆ１０（Ｓｉｇｍａ）、Ｍｉｎｉｍａｌ Ｅｓｓｅｎｔｉａｌ Ｍｅｄｉｕｍ（ＭＥＭ，Ｓｉｇｍａ）、ＲＰＭＩ－１６４０（Ｓｉｇｍａ）、およびＤｕｌｂｅｃｃｏ’ｓ Ｍｏｄｉｆｉｅｄ Ｅａｇｌｅ’ｓ Ｍｅｄｉｕｍ（ＤＭＥＭ，Ｓｉｇｍａ）等の市販の培地は、真核細胞を培養するのに適している。さらに、動物細胞は、血清を欠くが、ホルモン、成長因子、または特定の細胞型の生存および／または成長に必要な任意の他の因子で補足された、定義された培地中で成長することができる。細胞生存を支持する合成培地は、生存率、形態、代謝能力、および潜在的に、細胞が分化する能力を維持するが、細胞成長を促進する合成培地は、細胞増殖または増加に必要な全ての化学物質を提供する。哺乳類細胞の生存および成長をインビトロで支配する一般的パラメータは、当該技術分野において十分に確立されている。異なる細胞培養系中で制御され得る物理化学的パラメータは、例えば、ｐＨ、pO_2、温度、および浸透圧である。細胞の栄養要件は、通常、最適環境を提供するように開発された標準培地製剤中で提供される。栄養素は、いくつかのカテゴリー：アミノ酸およびそれらの誘導体、炭水化物、糖、脂肪酸、複合脂質、核酸誘導体、およびビタミンに分割され得る。細胞代謝を維持するための栄養素は別として、大部分の細胞は、無血清培中で増殖するために、地以下の群：ステロイド、プロスタグランジン、成長因子、下垂体ホルモン、およびペプチドホルモンのうちの少なくとも１つからの１つ以上のホルモンも必要とする（Ｓａｔｏ，Ｇ．Ｈ．，ｅｔ ａｌ．ｉｎ ″Ｇｒｏｗｔｈ ｏｆ Ｃｅｌｌｓ ｉｎ Ｈｏｒｍｏｎａｌｌｙ Ｄｅｆｉｎｅｄ Ｍｅｄｉａ″，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ，Ｎ．Ｙ．，１９８２）。ホルモンに加えて、細胞は、インビトロでの生存および成長のために、トランスフェリン（血漿鉄輸送タンパク質）、セルロプラスミン（銅輸送タンパク質）、および高密度リポタンパク質（脂質担体）等の輸送タンパク質を必要とし得る。最適ホルモンまたは輸送タンパク質のセットは、各細胞型に対し異なる。これらのホルモンまたは輸送タンパク質の大部分は、体外から付加されているか、またはまれに、特定の因子を必要としない変異細胞株が認められている。当業者であれば、必要以上の実験なしに細胞培養物を維持するために必要な他の因子について知っているであろう。

【０１２１】

原核宿主細胞の成長のための成長培地は、栄養素ブロス（液体栄養培地）またはＬＢ培地（Ｌｕｒｉａ Ｂｅｒｔａｎｉ）を含む。適切な培地としては、合成培地および天然培地が挙げられる。一般に、培地は、細菌成長に必要なグルコース等の炭素源、水、および塩を含有する。培地は、アミノ酸および窒素の供給源、例えば、牛肉または酵母抽出物（天然培地中）または既知の量のアミノ酸（合成培地中）を含んでもよい。いくつかの実施形態において、成長培地は、ＬＢブロス、例えば、ＬＢ Ｍｉｌｌｅｒブロスまたは ＬＢ Ｌｅｎｎｏｘブロスである。ＬＢブロスは、ペプトン（カゼインの酵素消化産物）、酵母抽出物、および塩化ナトリウムを含む。いくつかの実施形態において、抗生物質を含む選択的培地が使用される。この培地において、その抗生物質への抵抗性を有する所望の細胞のみが成長する。

ＩＩ）． ＸＴＥＮタンパク質ポリマーおよび共役組成物

本発明は、部分的に、伸長組換えポリペプチド（ＸＴＥＮ）を含む、実質的に均質の組成物に関する。第１の態様において、本発明は、長さが実質的に均一のＸＴＥＮ組成物を提供する。そのような組成物は、ＸＴＥＮ－架橋剤の中間体およびＸＴＥＮ－ペイロード組成物を創製するための試薬共役パートナーとして有用である。さらに、本発明の目的は、実質的に均質なＸＴＥＮ組成物を創製するための方法を提供することである。本発明は、そのような実質的に均質なＸＴＥＮ組成物を高収率で創製するための方法も提供する。

【０１２２】

第２の態様において、本発明は、ＸＴＥＮを提供する。例えば、１つ以上のペイロード共役パートナーに結合することができ、ペイロード－ＸＴＥＮ共役体をもたらすＸＴＥＮ

は、直接または架橋剤もしくはアジド／アルキン反応物を介してのいずれかで、ペイロードに結合するために、定義された数の反応性アミノ酸を組み込むように特異的に操作される。本発明は、強化された薬物動態および薬理学的特性を含む、強化された薬学的特性を持つ組成物として、関心対象のペイロード薬を用いて共役体を創製する際に使用するための、そのように操作されたＸＴＥＮポリマーを形成する方法も提供する。

【０１２３】

別の態様において、本発明は、反応共役パートナーとして、単量体および多量体構成で、定義された数の架橋剤またはアジド／アルキン反応物を含む実質的に均質なＸＴＥＮポリマーと、そのような反応物の調製方法とを提供する。架橋剤またはアジド／アルキン反応物を含むＸＴＥＮ誘導体は、ペイロード剤の共役における反応物として使用され、所望の物理的、薬学的、および薬理学的特性を提示するＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。

【０１２４】

別の態様において、本発明は、ＸＴＥＮ－ペイロードの組成物を提供し、１つ以上のＸＴＥＮは、異なるペイロードの組合せを含む、１つ以上のペイロードに、定義された数で、単量体または多量体構成のいずれかで化学的に結合され、強化された薬学的、薬物動態、および薬理学的特性を持つ組成物を提供する。そのようなペイロードに結合されたそのような組成物は、対象に投与されたとき、そのペイロードの薬理学的または生物学的効果に起因して、疾患または状態の予防、処置、または改善における有用性を有し得る。

１．　ＸＴＥＮ：伸長組換えポリペプチド

一態様において、本発明は、直接または架橋剤反応物を介してのいずれかで、１つ以上のペイロードに結合し、ＸＴＥＮ－ペイロード複合体をもたらすための共役パートナーとして有用な実質的に均質なＸＴＥＮポリペプチド組成物を提供する。

【０１２５】

ＸＴＥＮは、生理的条件下で低次構造を有するか、または二次もしくは三次構造を有しない、非天然に存在する、実質的に非反復的な配列を持つポリペプチドである。ＸＴＥＮは、典型的に、約３６個～約３０００個のアミノ酸を有し、それらのうちの大半または全体は、小さな親水性アミノ酸である。本明細書において使用される場合、「ＸＴＥＮ」は、全抗体または抗体フラグメント（例えば、単鎖抗体およびＦｃフラグメント）を特異的に除外する。ＸＴＥＮポリペプチドは、それらが様々な役割を果たす共役パートナーとしての有用性を有し、ペイロードに結合されたとき、ある望ましい特性を付与する。得られたＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、強化された特性、例えば、ＸＴＥＮに結合されていない対応するペイロードと比較して、強化された薬物動態、生理化学的、薬理学的、および薬学的特性を有し、そのペイロードが当該技術分野において使用されることが知られている、ある状態の処置においてそれらを有用にする。

【０１２６】

ＸＴＥＮの非構造化特徴および生理化学的特性は、部分的に、４～６種の親水性アミノ酸に不均衡に制限された全体アミノ酸組成物、定量可能な非反復的設計におけるアミノ酸の結合、およびＸＴＥＮポリペプチドの長さに由来する。ＸＴＥＮに共通するが、天然ポリペプチドには共通しない有利な特徴において、本明細書に開示されるＸＴＥＮの特性は、完全な一級アミノ酸配列に結び付けられず、表２の種々の例示的な配列によって明らかとなるように、長さの可変範囲内で、類似する特徴を有し、それらの多くは実施例に記述される。したがって、ＸＴＥＮは、タンパク質よりも非タンパク質性親水性ポリマーに似た特性を有する。本発明のＸＴＥＮは、以下の有利な特性：配座的柔軟性、二次構造の低減または欠失、高程度の水溶性、高程度のプロテアーゼ抵抗性、低い免疫原性、哺乳類受容体への低結合、定義された程度の電荷、および増加した流体力学的（またはストーク）半径のうちの１つ以上を提示し、これらの特性は、それらを共役パートナーとして特に有用にする、ある親水性ポリマー（例えば、ポリエチレングリコール）に類似する。

【０１２７】

対象の共役体のＸＴＥＮ成分（複数可）は、ポリマーの伸長された長さにかかわらず、

生理的条件下で変性したペプチド配列のように動作するよう設計される。「変性した」とは、ペプチド骨格の大きな配座的自由度によって特徴付けられる、溶液中のペプチドの状態を説明する。大部分のペプチドおよびタンパク質は、高濃度の変性剤の存在下、または上昇温度で、変性構造を採用する。変性構造のペプチドは、例えば、特徴的な円二色作用（ＣＤ）スペクトルを有し、ＮＭＲによって決定されるように、長距離に及ぶ相互作用の欠失によって特徴付けられる。「変性構造」および「非構造化構造」は、本明細書において同義に使用される。いくつかの実施形態において、本発明は、生理的条件下で、主として二次構造を欠く変性配列に似ている、ＸＴＥＮ配列を提供する。他の例において、ＸＴＥＮ配列は、生理的条件下で、実質的に二次構造を欠く。「主として欠く」とは、この文脈で使用される場合、本明細書に記載される手段によって測定または決定されるように、ＸＴＥＮ配列のＸＴＥＮアミノ酸残基の５０％未満が、二次構造に寄与することを意味する。「実質的に欠く」とは、この文脈で使用される場合、本明細書に記載される方法によって測定または決定されるように、ＸＴＥＮ配列のＸＴＥＮアミノ酸残基の少なくとも約６０％、または約７０％、または約８０％、または約９０％、または約９５％、または約９７％、または少なくとも約９９％が、二次構造に寄与しないことを意味する。

【０１２８】

対象のＸＴＥＮの物理化学的特性を決定するための多様な方法およびアッセイは、当該技術分野において既知である。そのような特性としては、二次または三次構造、可溶性、タンパク質凝集、安定性、絶対および見掛けの分子量、純度および均一性、溶解特性、汚染および水含有量が挙げられるが、これらに限定されない。そのような特性を測定する方法としては、分析的遠心分離、ＥＰＲ、ＨＰＬＣ－イオン交換、ＨＰＬＣ－サイズ除外クロマトグラフィー（ＳＥＣ）、ＨＰＬＣ－逆相、光散乱、キャピラリー電気泳動、円二色法、示差走査熱量計、蛍光、ＨＰＬＣ－イオン交換、ＨＰＬＣ－サイズ除外、ＩＲ、ＮＭＲ、ラマン分光法、屈折計法、および紫外線／可視分光法が挙げられる。特に、二次構造は、例えば、「遠紫外線」スペクトル領域（１９０～２５０ｎｍ）内の円二色性分光法によって、分光高度的に測定することができる。二次構造要素、例えば、αらせんおよびβシートは、それぞれがＣＤスペクトルの特徴的な形状および大きさをもたらし、これらの構造要素の欠失も同様である。二次構造は、米国特許出願公開第２００３０２２８３０９Ａ１号に記載されるように、周知のＣｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズム（Ｃｈｏｕ，Ｐ．Ｙ．，ｅｔ ａｌ．（１９７４）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，１３：２２２－４５）およびＧａｒｎｉｅｒ－Ｏｓｇｕｔｈｏｒｐｅ－Ｒｏｂｓｏｎアルゴリズム（「Ｇｏｒアルゴリズム」）（Ｇａｒｎｉｅｒ Ｊ，Ｇｉｂｒａｔ ＪＦ，Ｒｏｂｓｏｎ Ｂ．（１９９６），ＧＯＲ ｍｅｔｈｏｄ ｆｏｒ ｐｒｅｄｉｃｔｉｎｇ ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｅｃｏｎｄａｒｙ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ｆｒｏｍ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄ ｓｅｑｕｅｎｃｅ．Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ ２６６：５４０－５５３）等のあるコンピュータプログラムまたはアルゴリズムを介して、ポリペプチド配列について予測することもできる。所与の配列について、これらのアルゴリズムは、いくつかの二次構造が存在するか、または全く存在しないかを予測することができ、例えば、αらせんまたはβシートを形成する配列の残基の総数および／またはパーセンテージ、またはランダムコイル形成（二次構造を欠く）をもたらすことが予測される配列の残基のパーセンテージとして表される。ポリペプチド配列は、例えば、ワールドワイドウェブｆａｓｔａ．ｂｉｏｃｈ．ｖｉｒｇｉｎｉａ．ｅｄｕ／ｆａｓｔａ＿ｗｗｗ２／ｆａｓｔａ＿ｗｗｗ．ｃｇｉ？ｒｍ＝ｍｉｓｃ１上のサイトを使用するＣｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズム、およびｎｐｓａ－ｐｂｉｌ．ｉｂｃｐ．ｆｒ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｎｐｓａ＿ａｕｔｏｍａｔ．ｐｌ？ｐａｇｅ＝ｎｐｓａ＿ｇｏｒ４．ｈｔｍｌにおけるＧｏｒアルゴリズム（いずれも２０１２年９月５日にアクセスされた）を使用して、分析することができる。追加の方法は、Ａｒｎａｕ，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔ Ｅｘｐｒ ａｎｄ Ｐｕｒｉｆ（２００６）４８，１－１３に開示されている。

【０１２９】

一実施形態において、対象の共役体中で使用されるＸＴＥＮ配列は、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓ

ｍａｎアルゴリズムによって決定されるように、０％～約５％未満の範囲のαらせんパーセンテージを有する。別の実施形態において、ＸＴＥＮ配列は、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズムによって決定されるように、０％～約５％未満の範囲のβシートパーセンテージを有する。一実施形態において、共役体のＸＴＥＮ配列は、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズムによって決定されるように、０％～約５％未満の範囲のαらせんパーセンテージ、および０％～約５％未満の範囲のβシートパーセンテージを有する。一実施形態において、共役体のＸＴＥＮ配列は、約２％未満のαらせんパーセンテージ、および約２％未満のβシートパーセンテージを有する。共役組成物のＸＴＥＮ配列は、ＧＯＲアルゴリズムによって決定されるように、高程度のランダムコイルパーセンテージを有する。いくつかの実施形態において、ＸＴＥＮ配列は、ＧＯＲアルゴリズムによって決定されるように、少なくとも約８０％、より好ましくは少なくとも約９０％、より好ましくは少なくとも約９１％、より好ましくは少なくとも約９２％、より好ましくは少なくとも約９３％、より好ましくは少なくとも約９４％、より好ましくは少なくとも約９５％、より好ましくは少なくとも約９６％、より好ましくは少なくとも約９７％、より好ましくは少なくとも約９８％、および最も好ましくは少なくとも約９９％のランダムコイルを有する。一実施形態において、共役組成物のＸＴＥＮ配列は、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズムによって決定されるように、０％～約５％未満の範囲のαらせんパーセンテージ、および０％～約５％未満の範囲のβシートパーセンテージを有し、ＧＯＲアルゴリズムによって決定されるように、少なくとも約９０％のランダムコイルを有する。別の実施形態において、開示される組成物のＸＴＥＮ配列は、約２％未満のαらせんパーセンテージ、および約２％未満のβシートパーセンテージを有し、ＧＯＲアルゴリズムによって決定されるように、少なくとも約９０％のランダムコイルを有する。別の実施形態において、組成物のＸＴＥＮ配列は、円二色法によって測定されるように、実質的に二次構造を欠いている。

【０１３０】

共役組成物を形成するために使用されるペイロードに結合されるＸＴＥＮの選択基準は、一般に、ＸＴＥＮの物理化学的特性および配座構造の属性に関し、順に、それを使用して、強化された薬学的、薬理学的、および薬物動態特性を組成物に付与する。

１．　非反復的配列

特に、対象の共役組成物の実施形態に含まれる対象のＸＴＥＮ配列は、実質的に非反復的であることが企図される。一般に、反復アミノ酸配列は、コラーゲンおよびロイシンジッパー等の天然反復配列によって例示されるように、凝集するか、または高次構造を形成する傾向がある。これらの反復アミノ酸は、結晶または偽晶構造をもたらす接触を形成する傾向もあり得る。対照的に、非反復的配列が凝集する傾向が低いことは、そうでなければ配列が反復する場合に凝集する可能性がある比較的低周波の電荷アミノ酸を持つ長配列ＸＴＥＮの設計を可能にする。対象ＸＴＥＮの非反復性は、以下の特徴のうちの１つ以上を評価することによって観察され得る。一実施形態において、実質的に非反復的なＸＴＥＮ配列は、アミノ酸がセリンでない限り、同一アミノ酸型である配列中に３個の隣接するアミノ酸を有さず、この場合、３個以下の隣接するアミノ酸はセリン残基である。別の実施形態において、以下により完全に記載されるように、実質的に非反復的なＸＴＥＮ配列は、その配列の８０～９９％が９～１４個のアミノ酸残基のモチーフからなり、これらのモチーフは、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）およびプロリン（Ｐ）から選択される３、４、５、または６種のアミノ酸で構成され、いずれか１つのモチーフにおけるいずれか２つの隣接するアミノ酸残基の配列は、その配列モチーフにおいて２回を超えて反復しない。

【０１３１】

ポリペプチドまたは遺伝子の反復性の程度は、コンピュータプログラムもしくはアルゴリズムによって、または当該技術分野において既知の他の手段によって測定することができる。本発明に従い、ＸＴＥＮ等の特定のポリペプチドの反復性の程度を計算する際に使用されるアルゴリズムが本明細書において開示され、アルゴリズムによって分析された配列の例が提供される（以下の実施例参照）。一実施形態において、既定長のポリペプチド

の反復性は、等式Ｉによって示される式に従い計算することができる（以下、「部分列スコア」）。

【０１３２】

【化１５】

$$\text{部分列スコア}=\frac{\sum_{i=1}^{m} Count_i}{m} \qquad \text{I}$$

式中、　ｍ＝（ポリペプチドのアミノ酸長）－（配列のアミノ酸長）＋１、および

び　　カウント$_i$＝各固有の部分列の累積発生回数

配列$_i$中

【０１３３】

「ＳｅｇＳｃｏｒｅ」と呼ばれるアルゴリズムは、前述の等式を適用して、ＸＴＥＮ等のポリペプチドの反復性を定量化するように開発され、既定のアミノ酸長「ｎ」の配列が、長さ「ｓ」の固有の部分列が設定された長さに出現する回数（「カウント」）を決定し、その既定長の配列内の部分列の絶対数で割ることにより、反復性について分析される部分列スコアを提供する。図７９は、ＳｅｇＳｃｏｒｅアルゴリズムの論理フローチャートを示すが、図８０は、部分列スコアが、１１個のアミノ酸および３個のアミノ酸残基の部分列長を持つ架空のＸＴＥＮに対しどのように派生するかの概略を描く。例えば、２００個のアミノ酸残基の既定のポリペプチド長は、１９２個の重複する９アミノ酸部分列、および１９８個の３－ｍｅｒ部分列を有するが、任意の所与のポリペプチドの部分列スコアは、固有の部分列の絶対数、および各固有の部分列（異なるアミノ酸配列を意味する）が、既定長の配列に出現する頻度に依存する。

【０１３４】

本発明の文脈において、「部分列スコア」とは、累積ＸＴＥＮポリペプチドの２００個の連続アミノ酸全体の各固有の３－ｍｅｒフレームの発生の合計を、２００個のアミノ酸配列内の固有の３－ｍｅｒ部分列の絶対数で割ったものを意味する。反復および非反復的ポリペプチドの２００個の連続アミノ酸に由来するそのような部分列スコアの例は、実施例４５に提示される。一実施形態において、本発明は、１つのＸＴＥＮを含むＸＴＥＮ－ペイロードを提供し、このＸＴＥＮは、１２未満、より好ましくは１０未満、より好ましくは９未満、より好ましくは８未満、より好ましくは７未満、より好ましくは６未満、およびより好ましくは５未満の部分列スコアを有する。別の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮを含むＸＴＥＮ－架橋剤共役体を提供し、このＸＴＥＮは、１０未満、より好ましくは９未満、より好ましくは８未満、より好ましくは７未満、より好ましくは６未満、およびより好ましくは５未満の部分列スコアを有する。別の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮを含むＸＴＥＮ－クリック化学共役体を提供し、このＸＴＥＮは、１０未満、より好ましくは９未満、より好ましくは８未満、より好ましくは７未満、より好ましくは６未満、およびより好ましくは５未満の部分列スコアを有する。さらに別の実施形態において、本発明は、少なくとも２つの結合されたＸＴＥＮを含むＸＴＥＮ共役体を提供し、各個別のＸＴＥＮは、１０未満、または９未満、または８未満、または７未満、または６未満、または５未満、またはそれ以下の部分列スコアを有する。さらに別の実施形態において、本発明は、少なくとも３つの結合されたＸＴＥＮを含むＸＴＥＮ共役組成物を提供し、各個別のＸＴＥＮは、１０未満、または９未満、または８未満、または７未満、または６未満、または５未満、またはそれ以下の部分列スコアを有する。本明細書に記載されるＸＴＥＮ組成物の実施形態において、１０以下（すなわち、９、８、７等）の部分列スコアを持つＸＴＥＮは、実質的に非反復的であるとして特徴付けられる。

【０１３５】

一態様において、本発明のＸＴＥＮの非反復特徴は、絶対一次配列ではなく、ＸＴＥＮ中で優位を占める特定型のアミノ酸と一緒に、ＸＴＥＮおよび得られたＸＴＥＮ－ペイロ

ード共役体の強化された物理化学的および生物学的特性のうちの１つ以上を付与する。これらの強化された特性としては、ＸＴＥＮに共役されないペイロード、または反復配列を有するタンパク質に共役されたペイロードと比較して、得られた共役体の宿主細胞中のより高度なＸＴＥＮタンパク質の発現、ＸＴＥＮをコードする遺伝子のより優れた遺伝的安定性、より高度な可溶性、より低い凝集傾向、および強化された薬物動態が挙げられる。これらの強化された特性は、より効率的な製造、最終産物のより優れた均一性、より低い製品コストを許し、および／または極めて高い、場合によっては１００ｍｇ／ｍｌを超えるタンパク質濃度を含有する薬学的調製物を含むＸＴＥＮの製剤化を促進する。いくつかの実施形態において、共役体のＸＴＥＮポリペプチド配列は、哺乳類に投与されるとき、免疫原性を低減または実質的に消失させるために、低程度の内部反復性を有するよう設計される。グリシン、セリン、およびグルタミン酸塩等の主に３個のアミノ酸のみに限定される短い反復したモチーフからなるポリペプチド配列は、これらの配列中に予測されるＴ細胞エピトープの不在にもかかわらず、哺乳類に投与されるとき、比較的高い抗体滴定をもたらし得る。タンパク質凝集体、架橋免疫原、および反復炭水化物を含む、反復したエピトープを持つ免疫原が、高度に免疫原性であり、例えば、Ｂ細胞活性化を引き起こすＢ細胞受容体の架橋をもたらすことが示されているように、これは、ポリペプチドの反復性質によって引き起こされ得る（Ｊｏｈａｎｓｓｏｎ，Ｊ．，ｅｔ ａｌ．（２００７）Ｖａｃｃｉｎｅ，２５：１６７６－８２、Ｙａｎｋａｉ，Ｚ．，ｅｔ ａｌ．（２００６）Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｒｅｓ Ｃｏｍｍｕｎ，３４５：１３６５－７１、Ｈｓｕ，Ｃ．Ｔ．，ｅｔ ａｌ．（２０００）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ，６０：３７０１－５）、Ｂａｃｈｍａｎｎ ＭＦ，ｅｔ ａｌ．Ｅｕｒ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９５）２５（１２）：３４４５－３４５１）。

２． 例示的な配列モチーフ

本発明は、複数単位のより短い配列、またはモチーフを含む共役パートナーとして使用されるＸＴＥＮを包含し、モチーフのアミノ酸配列は、実質的に非反復的である。非反復特性は、図１８～１９に示されるように、ＸＴＥＮ配列を形成するために多量体化される配列モチーフのライブラリーを使用する「構築ブロック」アプローチを使用しても満たされ得る。ＸＴＥＮ配列がわずか４つの異なる種の配列モチーフの複数単位からなり得るが、これらのモチーフ自体は、一般に非反復アミノ酸配列からなるため、全体ＸＴＥＮ配列は、配列を実質的に非反復的にするように設計される。

【０１３６】

一実施形態において、ＸＴＥＮは、約３６超～約３０００、または約１００～約２０００、または約１４４～約１０００個のアミノ酸残基の実質的に非反復的な配列を有し、ＸＴＥＮ配列の少なくとも約８０％、または少なくとも約８５％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９７％、または約９９％～約１００％は、非重複配列モチーフからなり、これらのモチーフのそれぞれは、約９～３６個のアミノ酸残基を有する。本明細書において使用される場合、「非重複」とは、個別のモチーフがアミノ酸残基を共有しないが、むしろ直鎖状様式で他のモチーフまたはアミノ酸残基に融合されることを意味する。他の実施形態において、ＸＴＥＮ配列の少なくとも約８０％、または少なくとも約８５％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９７％、または約９９％～約１００％は、非重複配列モチーフからなり、これらのモチーフのそれぞれは、９～１４個のアミノ酸残基を有する。さらに他の実施形態において、ＸＴＥＮ配列の少なくとも約８０％、または少なくとも約８５％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９７％、または約９９％～約１００％は、非重複配列モチーフからなり、これらのモチーフのそれぞれは、１２個のアミノ酸残基を有する。これらの実施形態において、配列モチーフは、実質的に（例えば、９０％以上）または独占的に小さな親水性アミノ酸からなり、全体配列が非構造化可撓性特徴を有するようにすることが好ましい。ＸＴＥＮに含まれるアミノ酸の例は、例えば、アルギニン、リジン、トレオニン、アラニン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩、セリン、およびグリシンである。一実施形態にお

いて、ＸＴＥＮ配列は、約３６～約３０００、または約１００～約２０００、または約１４４～約１０００個のアミノ酸残基の長さである、実質的に非反復的な配列に配置される、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）、またはプロリン（Ｐ）から選択される４～６種のアミノ酸を主に有する。いくつかの実施形態において、ＸＴＥＮ配列は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）、またはプロリン（Ｐ）からなる群から選択される４、５、または６種のアミノ酸で形成される。いくつかの実施形態において、ＸＴＥＮは、約３６～約１０００、または約１００～約２０００、または約４００～約３０００個のアミノ酸残基の配列を有し、配列の少なくとも約８０％は、非重複配列モチーフからなり、モチーフのそれぞれは、９～３６個のアミノ酸残基を有し、モチーフのそれぞれの少なくとも９０％、または少なくとも９１％、または少なくとも９２％、または少なくとも９３％、または少なくとも９４％、または少なくとも９５％、または少なくとも９６％、または少なくとも９７％、または１００％は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）およびプロリン（Ｐ）から選択される、４～６種のアミノ酸からなり、全長ＸＴＥＮのいずれか１つのアミノ酸型の含有量は、３０％を超えない。他の実施形態において、ＸＴＥＮ配列の少なくとも約９０％は、非重複配列モチーフからなり、モチーフのそれぞれは、９～３６個のアミノ酸を有し、これらのモチーフは、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）、およびプロリン（Ｐ）から選択される４～６種のアミノ酸からなり、全長ＸＴＥＮのいずれか１つのアミノ酸型の含有量は、４０％、または約３０％、または２５％、または約１７％、または約１２％、または約８％を超えない。他の実施形態において、ＸＴＥＮ配列の少なくとも約９０％は、非重複配列モチーフからなり、モチーフのそれぞれは、これらのモチーフは、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）、およびプロリン（Ｐ）から選択される４～６種のアミノ酸からなる１２個のアミノ酸を有し、全長ＸＴＥＮのいずれか１つのアミノ酸型の含有量は、４０％、または約３０％、または２５％、または約１７％、または約１２％、または約８％を超えない。さらに他の実施形態において、ＸＴＥＮ配列の少なくとも約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、または約９９％～約１００％は、非重複配列モチーフからなり、これらのモチーフのそれぞれは、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）、およびプロリン（Ｐ）からからなる１２個のアミノ酸残基を有する。

【０１３７】

いくつかの実施形態において、本発明は、約３６～約１０００個のアミノ酸残基、または累積で約１００～約３０００個のアミノ酸残基の１つ、または２つ、または３つ、または４つ以上の実質的に非反復的なＸＴＥＮ配列（複数可）を含むＸＴＥＮ－ペイロード、ＸＴＥＮ－架橋剤、およびＸＴＥＮ－クリック化学反応物共役体を提供し、その配列の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、または約９９％～約１００％は、表１のアミノ酸配列から選択される４つ以上の非重複配列モチーフの複数単位からなり、全体配列は、実質的に非反復的なままである。いくつかの実施形態において、ＸＴＥＮは、非重複配列モチーフを含み、配列の約８０％、または少なくとも約８５％、または少なくとも約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、または約９９％、または約１００％は、表１から選択される単一モチーフファミリーから選択される非重複配列の複数単位からなり、ファミリー配列をもたらす。ファミリーとは、モチーフに適用されるとき、ＸＴＥＮが表１からの単一モチーフカテゴリーから選択されるモチーフ、すなわち、ＡＤ、ＡＥ、ＡＦ、ＡＧ、ＡＭ、ＡＱ、ＢＣ、またはＢＤを有することを意味する。他の実施形態において、ＸＴＥＮは、所望の物理化学的特徴を達成するために選択される、表１のモチーフファミリーのうちの

２つ以上からのモチーフ配列の複数単位を含み、以下により完全に記載される、正味電荷、親水性、二次構造の欠失、またはモチーフのアミノ酸組成によって付与され得る反復性の欠失等の特性を含む。このパラグラフに記載される上記の実施形態において、ＸＴＥＮに組み込まれるモチーフまたはモチーフの部分は、本明細書に記載される方法を使用して選択され、組み立てられて、約３６、約４２、約７２、約１４４、約２８８、約５７６、約８６４、約１０００、約２０００～約３０００個のアミノ酸残基、または任意の中間長のＸＴＥＮを達成することができる。対象複合体に組み込むために有用なＸＴＥＮファミリー配列の非限定例は、表２に提示される。表２に対して記述される特定の配列は、表２に記載される配列を有するが、ＡＥ１４４配列に関する一般化された言及は、例えば、１４４個のアミノ酸残基を有する任意のＡＥ配列（例えば、ＡＥ１４４＿１Ａ、ＡＥ１４４＿２Ａ等）を包含することが意図されるか、またはＡＧ１４４配列に関する一般化された言及は、例えば、１４４個のアミノ酸残基を有する任意のＡＧ配列（例えば、ＡＧ１４４＿１、ＡＧ１４４＿２、ＡＧ１４４＿Ａ、ＡＧ１４４＿Ｂ、ＡＧ１４４＿Ｃ等）を包含することが意図される。

【０１３８】

【表１】

【表１】　１２個のアミノ酸のＸＴＥＮ配列モチーフおよびモチーフファミリー

モチーフファミリー*	モチーフ配列
AD	GESPGGSSGSES
AD	GSEGSSGPGESS
AD	GSSESGSSEGGP
AD	GSGGEPSESGSS
AE, AM	GSPAGSPTSTEE
AE, AM, AQ	GSEPATSGSETP
AE, AM, AQ	GTSESATPESGP
AE, AM, AQ	GTSTEPSEGSAP
AF, AM	GSTSESPSGTAP
AF, AM	GTSTPESGSASP
AF, AM	GTSPSGESSTAP
AF, AM	GSTSSTAESPGP
AG, AM	GTPGSGTASSSP
AG, AM	GSSTPSGATGSP
AG, AM	GSSPSASTGTGP
AG, AM	GASPGTSSTGSP
AQ	GEPAGSPTSTSE
AQ	GTGEPSSTPASE
AQ	GSGPSTESAPTE
AQ	GSETPSGPSETA
AQ	GPSETSTSEPGA
AQ	GSPSEPTEGTSA
BC	GSGASEPTSTEP
BC	GSEPATSGTEPS
BC	GTSEPSTSEPGA
BC	GTSTEPSEPGSA
BD	GSTAGSETSTEA
BD	GSETATSGSETA
BD	GTSESATSESGA
BD	GTSTEASEGSAS

*＿様々な置換において一緒に使用されるとき、「ファミリー配列」をもたらす個別のモチーフ配列を記す

【０１３９】

【表２－１】

【表２】　ＸＴＥＮポリペプチド

XTEN名	アミノ酸配列
AE42	GAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPASS
AE42_1	TEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS
AE42_2	PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG
AE42_3	SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP
AG42_1	GAPSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGPSGP
AG42_2	GPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASP
AG42_3	SPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA
AG42_4	SASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG
AE48	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS
AM48	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS
AE144	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAP
AE144_1A	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPG
AE144_2A	TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPG
AE144_2B	TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPG
AE144_3A	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPG
AE144_3B	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPG
AE144_4A	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPG
AE144_4B	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPG

【０１４０】

【表２－２】

XTEN名	アミノ酸配列
AE144_5A	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEG
AE144_6B	TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPG
AF144	GTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAES PGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSPSG ESSTAP
AG144_1	SGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPG SSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGT GPGASP
AG144_2	PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSS TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGS GTASSS
AG144_A	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSP
AG144_B	GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSP
AG144_C	GTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTAS SSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSP
AG144_F	GSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSP
AG144_3	GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSP
AG144_4	GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSP
AE288_1	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS

【０１４１】

【表２－３】

XTEN名	アミノ酸配列
	PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSE PATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP
AE288_2	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP
AG288_1	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPG TSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGA SPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGS
AG288_2	GSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSS PSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSP
AF504	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSXPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSX PSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG TGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPS GATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGASPGTSSTGSP
AF540	GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPESGS ASPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSES PSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTS TPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASP GTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSES PSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGST SSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAP
AD576	GSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSE

【０１４２】

【表２－４】

XTEN名	アミノ酸配列
	GGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSG GEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSS GSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGESPGGSSG SESGESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSGGEP SESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSG GEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESS GSSESGSSEGGPGSEGSSGPGESS
AE576	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AF576	GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPESGS ASPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSES PSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTS TPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASP GTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSES PSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGST SSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGP GTSTPESGSASPGTSTPESGSASP
AG576	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGA TGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGA SPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGS SPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS

【０１４３】

【表２－５】

XTEN名	アミノ酸配列
AE624	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAP
AD836	GSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSG SESGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGESPGG SSGSESGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSS ESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESS GSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSG SESGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSEGSS GPGESSGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSEGSSGPGESSGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSS ESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSEGSSGPGSSE SGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGSEGSSGPGESSGSEGSSGPGESSGSGGEPSESGSSG SGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESPGGSSGS ESGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESPGGS SGSESGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSGG EPSESGSS
AE864	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP

【０１４４】

【表２－６】

XTEN名	アミノ酸配列
	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AF864	GSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGS ASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTSPSG ESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTS TPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASP GSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAES PGPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSES PSGTAPGTSTPESGPXXXGASASGAPSTXXXXSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPG STSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESST APGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTA ESPGPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTST PESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPG TSPSGESSTAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP
AG864_2	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG TGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPS GATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGAS PGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP
AM875	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPSTGGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTS STAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPG

【０１４５】

【表２－７】

XTEN名	アミノ酸配列
	SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESST APGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESP SGTAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASP GTSSTGSPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPG ASPGTSSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP
AM1318	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGPEPTGPAPSGGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG STSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESST APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSP SGESSTAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASASGAPSTGGTSPSGESSTA PGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSSPSAST GTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAE SPGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAP
BC 864	GTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSEPATSGT EPSGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGTSTEPSEPGSAGSEPAT SGTEPSGSEPATSGTEPSGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGTS EPSTSEPGAGSGASEPTSTEPGTSEPSTSEPGAGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGTSTEPSEPGSA GTSTEPSEPGSAGSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEPATSGT EPSGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASE PTSTEPGTSTEPSEPGSAGSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSG ASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPS GTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEP GSAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGTSEPSTSEPGAGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGTSTEP

【０１４６】

【表２－８】

XTEN名	アミノ酸配列
	SEPGSAGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGTSEPSTSEPGAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSA
BD864	GSETATSGSETAGTSESATSESGAGSTAGSETSTEAGTSESATSESGAGSETATSGSETAGSETATSGSETAGTSTEASEGSASGTSTEASEGSASGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSTEASEGSASGSTAGSETSTEAGTSESATSESGAGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSESATSESGAGTSTEASEGSASGSETATSGSETAGSETATSGSETAGTSTEASEGSASGSTAGSETSTEAGTSESATSESGAGTSTEASEGSASGSETATSGSETAGSTAGSETSTEAGSTAGSETSTEAGSETATSGSETAGTSESATSESGAGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSESATSESGAGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSTEASEGSASGSTAGSETSTEAGSETATSGSETAGTSESATSESGAGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSESATSESGAGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSTEASEGSASGTSESATSESGAGSETATSGSETAGTSESATSESGAGTSESATSESGAGSETATSGSET

【表２－９】

XTEN名	アミノ酸配列
	SGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTST
AE1140	GSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPA
AE1236	GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSTEP

【０１４８】

【表２－１０】

XTEN名	アミノ酸配列
	SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEP
AE1332	GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTST
AE1428	GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSE PATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPA

【０１４９】

【表２－１１】

XTEN名	アミノ酸配列
AE1524	GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPA
AE1620	GSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTST
AE1716	GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE

【０１５０】

【表２－１２】

XTEN名	アミノ酸配列
	SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSE
AE1812	GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEP
AE1908	GSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSEPAT

【０１５１】

【表２－１３】

XTEN名	アミノ酸配列
	SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEP
AE2004A	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSE
AG948	GSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGTPGSGTAS SSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSS PSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSST GSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSA STGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGAT GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSS TPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP
AG1044	GTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTAS

【０１５２】

【表２－１４】

XTEN名	アミノ酸配列
	SSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSS TPSGATGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGP GSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTAS SSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGAS PGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGAS PGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTAS SSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSST
AG1140	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPS GATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGAS PGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTAS SSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGTPGSG TASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSS TPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGP GASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTAS SSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSS TPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP GSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGAT GSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSST
AG1236	GSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGTP GSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSP GASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSA

【０１５３】

【表２－１５】

XTEN名	アミノ酸配列
	STGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSS TPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG TGPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGTP GSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSP GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTG TGPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASP
AG1332	GSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG TGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGTP GSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGAS PGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSP GTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSS PSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSP GSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPG
AG1428	GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTP GSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGP GSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSS PSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSP GASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGPTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGAT GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSTPS GATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSS

【０１５４】

【表２－１６】

XTEN名	アミノ酸配列
	TPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP GTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASP
AG1524	GSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSA STGTGPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGAS PGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSP GTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGAS PGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTG TGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGT SSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPG
AG1620	GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGAS PGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSS TPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTAS SSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGAS PGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGP GTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTG TGPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSST
AG1716	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT

【０１５５】

【表２－１７】

XTEN名	アミノ酸配列
	GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPS GATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSS TPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGP GSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTAS SSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSS PSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTAS SSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTP GSGTASSSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPG
AG1812	GSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGTP GSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSP GTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTP GSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSP GASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP GSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASP
AG1908	GSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSS PSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSP GTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSG

【０１５６】

【表２－１８】

XTEN名	アミノ酸配列
	TASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTP GSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSS TPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGP GASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG TGPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSP
AG2004A	GSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPS GATGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGAS PGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSP GSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTP GSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG TGPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSS TPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGP GASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASP
AE72B	SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPG
AE72C	TSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APG
AE108A	TEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTS
AE108B	GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP
AE144A	STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGS

【０１５７】

【表２－１９】

XTEN名	アミノ酸配列
AE144B	SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG
AE180A	TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS
AE216A	PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE252A	ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE
AE288A	TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA
AE324A	PESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA
AE360A	PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE396A	PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTST

【０１５８】

【表２－２０】

XTEN名	アミノ酸配列
	EPSEGSAPGTSTEPS
AE432A	EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEPATS
AE468A	EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE504A	EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPA GSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPS
AE540A	TPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP
AE576A	TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGS

【０１５９】

【表２－２１】

XTEN名	アミノ酸配列
	PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA
AE612A	GSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE648A	PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE684A	EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS
AE720A	TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS

【０１６０】

【表２－２２】

XTEN名	アミノ酸配列
	PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTE
AE756A	TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSES
AE792A	EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS
AE828A	PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG

【０１６１】

【表２－２３】

XTEN名	アミノ酸配列
	SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AG72A	GPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGT ASS
AG72B	GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTAS SSP
AG72C	SPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGA
AG108A	SASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPG TPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASP
AG108B	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS
AG144A	PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSS TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGS GTASSS
AG144B	PSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG SPGASP
AG180A	TSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGS
AG216A	TGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGT GPGSSTPSG
AG252A	TSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS

【０１６２】

【表２－２４】

XTEN名	アミノ酸配列
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPG
AG288A	TSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGTPGS
AG324A	TSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGT PGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPS ASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTP
AG360A	TSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGA SPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTP SGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGS STPSGATGSPGASPG
AG396A	GATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGAS PGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSS PSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT
AG432A	GATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSS TPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGAS PGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGP GTPGSGTASSSPGSSTPS
AG468A	TSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGS STPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGS

【０１６３】

【表２－２５】

XTEN名	アミノ酸配列
	GTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGS SPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPG
AG504A	TSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGS STPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGS GTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGS SPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSAST GTGPGTPGSGTASSSPGSSTP
AG540A	TSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGA SPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGS SPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSS TGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPG
AG576A	TSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGT PGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGT PGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGSSTPSGATGSPGASPG
AG612A	STGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSP SASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGT GPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSG ATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSP SASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG

【０１６４】

【表２－２６】

XTEN名	アミノ酸配列
	SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTS STGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTS
AG648A	GTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGA SPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTP SGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGA SPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPS ASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGS SPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTP
AG684A	TSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGS STPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGT PGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGA TGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPS ASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPG
AG720A	TSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGS SPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSAST GTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTP SGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGS SPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPG TSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGA SPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPG
AG756A	TSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS

【０１６５】

【表２－２７】

XTEN名	アミノ酸配列
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGT PGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGT PGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPG
AG792A	TSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGT PGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGT PGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPG
AG828A	TSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGT PGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGT PGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTP
AE869	GSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS

【０１６６】

【表２－２８】

XTEN名	アミノ酸配列
	TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGR
AE144_R1	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TESASR
AE288_R1	SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPSASR
AE432_R1	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTESASR
AE576_R1	SAGSPTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPSASR

【０１６７】

【表２－２９】

XTEN名	アミノ酸配列
AE864_R1	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTESASR
AF864_R1	SAGSPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTST PESGSASPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPG STSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPES GSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPG STSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSPSGESST APGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSSTA ESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPG STSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSA SPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESP SGTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSSASR
AG864_R1	SAGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSP SASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSP SASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSST

【０１６８】
【表２－３０】

XTEN名	アミノ酸配列
	PSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGT ASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASSASR

【０１６９】
ＸＴＥＮが、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）、およびプロリン（Ｐ）から選択される４、５、または６種のアミノ酸からなるそのアミノ酸の１００％未満、または表１からの配列モチーフ、または表２、３、および２２～２５のＸＴＥＮ配列からなる配列の１００％未満を有するいくつかの実施形態において、ＸＴＥＮの他のアミノ酸残基は、他の１４の天然Ｌアミノ酸のいずれかから選択されるが、ＸＴＥＮ配列が、少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または少なくとも約９９％親水性アミノ酸を含

有するように、親水性アミノ酸から選好的に選択される。個別のアミノ酸またはグリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）およびプロリン（Ｐ）以外のアミノ酸の短い配列は、ＸＴＥＮに組み込まれ得、コードヌクレオチドによって制限部位の組込みを許す等の必要とされる特性を達成するか、またはペイロード成分への結合もしくは切断配列の組込みを促進し得る。以下により完全に記載される例示的な一実施形態として、本発明は、１～約２０、または１～約１５、または１～約１０、または１～５個のリジン残基を組み込むＸＴＥＮを提供し、反応性リジンは、本明細書に記載されるように、架橋剤またはペイロードに結合するために利用される。以下により完全に記載される別の実施形態において、ＸＴＥＮは、１～約２０、または１～約１５、または１～約１０、または１～５個のシステイン残基を組み込み、反応性システインは、本明細書に記載されるように、架橋剤またはペイロードに結合するために利用される。別の実施形態において、ＸＴＥＮは、１～約２０個のシステインおよびリジン残基を組み込み、これらのリジンおよびシステインは、本明細書に記載されるように、異なる架橋剤またはペイロードに結合するために利用される。別の実施形態において、ＸＴＥＮは、プロリン残基が続かない１、２、３、４、５個、またはそれ以上のアルギニン残基を組み込み、本明細書において以下により完全に記載される、ＸＴＥＮセグメントを形成するように、トリプシンによって切断され得る切断配列を提供する。グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、グルタミン酸塩（Ｅ）およびプロリン（Ｐ）ではないＸＴＥＮアミノ酸は、ＸＴＥＮ配列全体に散在するか、配列モチーフ内またはそれらの間に位置するか、または例えば、Ｎ末端もしくはＣ末端、またはそれらの付近にあるＸＴＥＮ配列の１つ以上の短い伸長に濃縮されるかのいずれかである。疎水性アミノ酸がポリペプチドに構造を与えるため、本発明は、共役構築物において利用されるＸＴＥＮ中の疎水性アミノ酸の含有量は、典型的に、５％未満、または２％未満、または１％未満の疎水性アミノ酸含有量である。ＸＴＥＮの構築においてあまり好まれない疎水性残基としては、トリプトファン、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、およびメチオニンが挙げられる。さらに、以下のアミノ酸：メチオニン（酸化を回避するため）、アスパラギン、およびグルタミン（脱アミド化を回避するため）の５％未満、または４％未満、または３％未満、または２％未満、または１％未満を含有するか、または含有しないように、ＸＴＥＮ配列を設計することができる。他の実施形態において、共役構築物において使用されるＸＴＥＮ成分中のメチオニンおよびトリプトファンのアミノ酸含有量は、典型的に、５％未満、または２％未満、および最も好ましくは１％未満である。他の実施形態において、対象のＸＴＥＮ共役体のＸＴＥＮは、正電荷を持つ１０％未満のアミノ酸残基、または正電荷を持つ約７％未満、または約５％未満、または約２％未満を有する配列を有し、メチオニンおよびトリプトファン残基の合計は、２％未満となり、アスパラギンおよびグルタミン残基の合計は、総ＸＴＥＮ配列の５％未満となる。

３．　システインおよびリジン操作されたＸＴＥＮ配列

別の態様において、本発明は、定義された数の組み込まれたシステインまたはリジン残基を持つＸＴＥＮ、それぞれ「システイン操作されたＸＴＥＮ」および「リジン操作されたＸＴＥＮ」を提供する。本発明の目的は、システインのチオール基またはリジンのεアミノ基と、ＸＴＥＮ骨格に共役されるペイロードまたは架橋剤上の反応基との間の共役を許すように、定義された数のシステインおよび／またはリジン残基を持つＸＴＥＮを提供することである。前述の一実施形態において、本発明のＸＴＥＮは、約１～約１００個のリジン残基、または約１～約７０個のリジン残基、または約１～約５０個のリジン残基、または約１～約３０個のリジン残基、または約１～約２０個のリジン残基、または約１～約１０個のリジン残基、または約１～約５個のリジン残基、または１～約３個のリジン残基、または代替として、単一リジン残基のみを有する。前述の別の実施形態において、本発明のＸＴＥＮは、約１～約１００個のシステイン残基、または約１～約７０個のシステイン残基、または約１～約５０個のシステイン基、または約１～約３０個のシステイン残基、または約１～約２０個のシステイン残基、または約１～約１０個のシステイン残基、または約１～約５個のシステイン残基、または１～約３個のシステイン残基、または代替

として、単一システイン残基のみを有する。前述の別の実施形態において、本発明のＸＴＥＮは、約１～約１０個のリジン残基、および約１～約１０個のシステイン残基を有する。前述のリジンおよび／またはシステイン含有ＸＴＥＮを使用して、ＸＴＥＮ、任意の架橋剤、プラス対象における状態の処置において有用なペイロードを含む共役体を構築することができ、ＸＴＥＮ成分に結合されたペイロード剤の分子の最大数は、リジン、システイン、またはＸＴＥＮに組み込まれた反応性側基（例えば、末端アミノまたはチオール）を持つ他のアミノ酸の数によって決定される。

【０１７０】

一実施形態において、本発明は、システイン操作されたＸＴＥＮを提供し、ＸＴＥＮの１つ以上のアミノ酸をコードするヌクレオチドは、システインアミノ酸と置き換えられ、システイン操作されたＸＴＥＮ遺伝子を形成する。別の実施形態において、本発明は、システイン操作されたＸＴＥＮを提供し、１つ以上のシステインアミノ酸をコードするヌクレオチドは、ＸＴＥＮコード遺伝子に挿入され、システイン操作されたＸＴＥＮ遺伝子を形成する。他の例において、１つ以上のシステインをコードするコドンを含む約９～約１４個のアミノ酸の１つ以上のモチーフをコードするオリゴヌクレオチドは、ＸＴＥＮモチーフまたは全長ＸＴＥＮをコードする他のオリゴとフレーム内で結合され、システイン操作されたＸＴＥＮ遺伝子を形成する。１つ以上のシステインが、ＸＴＥＮ遺伝子の形成中にＸＴＥＮ配列に挿入される前述の一実施形態において、システインをコードするヌクレオチドは、ＸＴＥＮにおいて使用されるアミノ酸をコードするコドンに結合され、本明細書に記載される方法を使用するか（実施例６１および図４０～４１参照）、または標準分子生物学技法によって、定義された位置にシステイン（複数可）を持つシステイン－ＸＴＥＮモチーフを形成することができ、これらのモチーフは、全長システイン操作されたＸＴＥＮをコードする遺伝子に後次に組み立てられる。そのような場合、例えば、単一システインをコードするヌクレオチドが、表１から選択されるモチーフをコードするＤＮＡに付加される場合、得られたモチーフは、１３個のアミノ酸を有するが、２つのシステインを組み込むことは、１４個のアミノ酸等を有するモチーフをもたらす。他の場合、システイン－モチーフは、デノボで形成することができ、システインをコードするヌクレオチドを、ＸＴＥＮにおいて使用される１つ以上のアミノ酸残基をコードするヌクレオチド（例えば、Ｇ、Ｓ、Ｔ、Ｅ、Ｐ、Ａ）に定義された位置で結合することによって、既定長および数のシステインアミノ酸であり得、コードするモチーフは、本明細書に記載され、図７～８に示されるように、他のＸＴＥＮをコードするモチーフ配列を用いて、全長ＸＴＥＮをコードする遺伝子にアニールすることによって後次に組み立てられる。リジン操作されたＸＴＥＮが、本発明の複合体を形成するために利用される場合、上記の手法は、システインの代わりにリジンをコードするコドンを用いて行われる。したがって、前述によって、約９～１４個のアミノ酸残基を含み、１つ以上の反応性アミノ酸、すなわちシステインまたはリジンを有し得る新たなＸＴＥＮモチーフを形成することができる。単一システインまたはリジンを含有する操作されたＸＴＥＮにおいて使用するのに適したモチーフの非限定例は、以下の通りである。

ＧＧＳＰＡＧＳＣＴＳＰ
ＧＡＳＡＳＣＡＰＳＴＧ
ＴＡＥＡＡＧＣＧＴＡＥＡＡ
ＧＰＥＰＴＣＰＡＰＳＧ
ＧＧＳＰＡＧＳＫＴＳＰＧＡＳＡＳＫＡＰＳＴＧしかしながら、本発明は、ＸＴＥＮに組み込むための、表５および表１１に示されるもの等の異なる長さのモチーフを企図する。

【０１７１】

１つ以上のシステインおよび／またはリジモチーフを持つＸＴＥＮをコードする遺伝子が、既存のＸＴＥＮモチーフまたはセグメントから構築されるような場合、遺伝子は、長さの短いＸＴＥＮおよび長いＸＴＥＮの双方をコードする既存の「構築ブロック」ポリヌクレオチド（例えば、ＡＥ４８、ＡＥ１４４、ＡＥ２８８、ＡＥ４３２、ＡＥ５７６、ＡＥ８６４、ＡＭ４８、ＡＭ８７５、ＡＥ９１２、ＡＧ８６４）、またはシステインおよび

／またはリジンを含有するモチーフをコードするヌクレオチドとフレーム内で融合され得る、実施例１～４および表２２～２５の３６’ｍｅｒをコードするヌクレオチドを結合することによって設計および構築することができるか、または代替として、システインおよび／またはリジンをコードするヌクレオチドは、例えば、表４および５の島をコードするヌクレオチドを使用して、既存のＸＴＥＮ配列（以下および実施例においてより完全に記載される）にＰＣＲされ、操作されたＸＴＥＮを構築することができ、反応性システインおよび／またはリジンは、所望の量で配列中の１つ以上の設計された位置に配置される。そのように操作されたＸＴＥＮの非限定例は、表３に提供される。したがって、一実施形態において、本発明は、最適に整列されたとき、表３から選択される配列または配列のフラグメントに対して、少なくとも約８０％の配列同一性、または少なくとも約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、または約９９％の配列同一性を有するか、または同一であるＸＴＥＮ配列を提供する。しかしながら、システインまたはリジン残基を包含するＸＴＥＮを創製するためのシステインまたはリジン操作された方法の適用は、正確な組成物、または前述の実施形態の組成物同一性の範囲に制約されることを意味しない。当業者には理解されるように、ＸＴＥＮに組み込まれるシステインまたはリジン残基の正確な位置および数は、記載されるように、本発明から逸脱することなく変動し得る。

【０１７２】

【表３－１】

【表３】　システインおよびリジン操作されたＸＴＥＮ

名称	アミノ酸配列
セグメント１	AGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA
	PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA
	PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA
	PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG
	PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA
	PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA
	PTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES

【０１７３】

【表３－２】

名称	アミノ酸配列
	GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTST
	EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSE
	TPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPR
セグメント２	ATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS
	APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES
	GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS
	APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST
	EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTST
	EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSE
	TPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント３	ATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS
	APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES
	GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS
	APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST
	EEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS
	ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS
	TEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS
	ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE
	SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPE
	SGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGS
	ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント４	ATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS
	APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES
	GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES

【０１７４】

【表３－３】

名称	アミノ酸配列
	GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント５	ATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント６	ATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTETAEAAGCGTAEAAPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSTAEAAGCGTAEAAAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSTAEAAGCGTAEAAPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATTAEAAGCGTAEAAPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS

【０１７５】

【表３－４】

名称	アミノ酸配列
	PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAG CGTAEAAR
セグメント７	ATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEETAEAAG CGTAEAAGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント８	ATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTAEAAGC GTAEAAESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSTAEAAGCGTAEAAE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSTAEAAGCGTAEAAAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTTAEAAGCGTAEAASTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATAEAAGCGTAEAATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPETAEAAGCGTAEAASGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント９	ATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS

【０１７６】

【表３－５】

名称	アミノ酸配列
	APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPR
セグメント10	AGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PTAEAAGCGTAEAAR
セグメント11	ATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPR
セグメ	AGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA

【０１７７】

【表３－６】

名称	アミノ酸配列
ント 12	PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTTAEAAGCGTAEAAEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATTAEAAGCGTAEAASGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPR
セグメ ント 13	AGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメ ント 14	AGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGGKPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS

【０１７８】

【表３－７】

名称	アミノ酸配列
	PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPR
セグメント15	AGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGGKPGR
セグメント16	AGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGGKPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント17	AGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESA TPESGPGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG

【０１７９】

【表３－８】

名称	アミノ酸配列
	TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGGKPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント18	AGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGGKPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGGKPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント19	AGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEGGKPGPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSGGK PGAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSGGKPGPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATGGKPGPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント20	AGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP

【０１８０】

【表３－９】

名称	アミノ酸配列
	SEGSAPGGKPGGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGGKPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGGKPGGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント21	AGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSGGKPGESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSGGKPGEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSGGKPGAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTGGKPGSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPAGGKPG TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPEGGKPGSGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント22	AGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPAT

【０１８１】

【表３－１０】

名称	アミノ酸配列
	SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPR
セグメント23	AGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGGKPGR
セグメント24	AGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGGKPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPR
セグメント25	AGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTGGKPGEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATGGKPGSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG

【０１８２】

【表３－１１】

名称	アミノ酸配列
	TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPR
セグメント26	AGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGGKPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGGKPGR
セグメント27	AEATTAAGGAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT SESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPR
セグメント28	AEATTAAGGATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG

【０１８３】

【表３－１２】

名称	アミノ酸配列
	TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG
	TSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG
	TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG
	SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG
	TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG
	TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG
	TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG
	SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG
	SEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPG
	TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント29	AEATTAAGGATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG
	TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEG
	TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG
	TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG
	TSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG
	TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG
	SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP
	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE
	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP
	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETP
	GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP
	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP
	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント30	AEATTAAGGATAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG
	TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEG
	TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG
	TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG
	TSESATPESGPGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETP
	GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP
	GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP
	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE
	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSET
	PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG
	PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG
	PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA

【０１８４】

【表３－１３】

名称	アミノ酸配列
	PGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント31	ATGTATSEGSPEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPR
セグメント32	ATGTATSEGSPETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント33	ATGTATSEGSPETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST

【０１８５】

【表３－１４】

名称	アミノ酸配列
	EEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント34	ATGTATSEGSPETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント35	EPTAATTGESAGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPR
セグメント36	EPTAATTGESAGTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA

【０１８６】

【表３－１５】

名称	アミノ酸配列
	PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント37	EPTAATTGESAGTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント38	EPTAATTGESAGTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR

【０１８７】

【表３－１６】

名称	アミノ酸配列
セグメント39	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPR
セグメント40	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント41	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE

【０１８８】

【表３－１７】

名称	アミノ酸配列
	SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント42	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント43	ATGTATSEGSPEEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPR
セグメント44	ATGTATSEGSPEEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP

【０１８９】

【表３－１８】

名称	アミノ酸配列
	ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント45	ATGTATSEGSPEEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント46	ATGTATSEGSPEEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメ	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA

【０１９０】

【表３－１９】

名称	アミノ酸配列
ント47	PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPRPRPRPRP
セグメント48	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAARPRPRPRP
セグメント49	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS

【０１９１】

【表３－２０】

名称	アミノ酸配列
	ETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAARPRPRPRP
セグメント50	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAARPRPRPR P
セグメント51	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPR
セグメント52	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES

【０１９２】

【表３－２１】

名称	アミノ酸配列
	GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント53	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント54	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメ	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST

【０１９３】

【表３－２２】

名称	アミノ酸配列
ント55	EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント56	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント57	AEATTAAGGAEEEGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP

【０１９４】

【表３－２３】

名称	アミノ酸配列
	ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント58	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGGKPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント59	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント60	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント61	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG

【０１９５】

【表３－２４】

名称	アミノ酸配列
	PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント62	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント63	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント64	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント65	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント66	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント67	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE

【０１９６】

【表３－２５】

名称	アミノ酸配列
	EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント68	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント69	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGGKPGR
セグメント70	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント71	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメント72	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメ	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA

【０１９７】

【表３－２６】

名称	アミノ酸配列
ント 73	PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGGKPGR
セグメ ント 74	AEATTAAGGAEEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGGKPGR
セグメ ント 75	AGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGT GPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPR
セグメ ント 76	ATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGT GPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGT GPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメ ント 77	ATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG

【０１９８】

【表３－２７】

名称	アミノ酸配列
	SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGT GPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント78	ATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント79	ATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPTAEAAGCGTAEAAGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGA TGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPTAEAAGCGTAEAAGSSTPSGATGSPGSSPSAS TGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSAS

【０１９９】

【表３－２８】

名称	アミノ酸配列
	TGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSAS TGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント80	ATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTAEAAGCGTAEAATSSTGSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSPSASTGTTAEAAGCGTAEAAGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGA TGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTTAEAAGCGTAEAAPGSGT ASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSG ATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAS TGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSTAEAAGCGTAEAASTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAG CGTAEAAR
セグメント81	ATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSG ATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGT ASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPTAEAAG CGTAEAAGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPS ASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPG TSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント82	ATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASTAEAAGC GTAEAAPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGTAEAAGCGTAEAAA TGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS

【０２００】

【表３－２９】

名称	アミノ酸配列
	TGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGTAEAAGCGTAEAASPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSG ATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGATAEAAGCGTAEAASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPTAEAAGCGTAEAASGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTAEAAGCGTAEAATGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSST PSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSST PSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント83	ATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGT GPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGT GPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPR
セグメント84	AGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PTAEAAGCGTAEAAR

【０２０１】

【表３－３０】

名称	アミノ酸配列
セグメント85	ATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGT GPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPR
セグメント86	AGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTTAEAAGCGTAEAAPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSTAEAAGCGTAEAAGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPR
セグメント87	AGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGT GPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS

【０２０２】

【表３－３１】

名称	アミノ酸配列
	SPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント88	AGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PGGKPGGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPR
セグメント89	AGGKPGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGGKPGR
セグメント90	AGGKPGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSG

【０２０３】

【表３－３２】

名称	アミノ酸配列
	TASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG ASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント91	AGGKPGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPG TPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGA TGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGA TGSPGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント92	AGGKPGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGGKPGGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPG TPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG ASPGTSSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGGKPGGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTP GSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSS TPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSS TPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメ	AGGKPGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA

【０２０４】

【表３－３３】

名称	アミノ酸配列
ント93	STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGGGKPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGGK PGGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGA TGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTGGKPGPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGAS PGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTP GSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSGGKPGSTG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント94	AGGKPGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSAST GTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGA TGSPGASPGTSSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGAS PGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGGKPGGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント95	AGGKPGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASGGKPGPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGGGKPGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSAST GTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGGGKPGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSS TPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGAGGKPGSPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPGGKPG SGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPG

【０２０５】

【表３－３４】

名称	アミノ酸配列
	TSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGGGKPGTGPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント96	AGGKPGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPR
セグメント97	AGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PGGKPGR
セグメント98	AGGKPGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT

【０２０６】

【表３－３５】

名称	アミノ酸配列
	SSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG ASPGTSSTGSPR
セグメント99	AGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTGGKPGPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGGKPGGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG ASPGTSSTGSPR
セグメント100	AGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PGGKPGGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGGKPGR
セグメント	AEATTAAGGAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGS SPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGA

【０２０７】

【表３－３６】

名称	アミノ酸配列
101	SPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGS SPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGA SPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGT PGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGA SPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPG TPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPG TPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPR
セグメント102	AEATTAAGGATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG SSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPG TPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPG TPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント103	AEATTAAGGATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG SSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGP GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP

【０２０８】

【表３－３７】

名称	アミノ酸配列
	GASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSP
	GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント104	AEATTAAGGATAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPG
	SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPG
	ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPG
	SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPG
	ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP
	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP
	GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP
	GSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSP
	GASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG
	PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTG
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント105	ATGTATSEGSPEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP
	GSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSP
	GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP
	GSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP
	GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGP
	GTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP
	GASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS
	PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPR
セグメント106	ATGTATSEGSPETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGS
	PGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS

【０２０９】

【表３－３８】

名称	アミノ酸配列
	PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント107	ATGTATSEGSPETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGS
	PGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGT
	GPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント108	ATGTATSEGSPETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG
	SPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT
	GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG
	TGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTG
	TGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG
	TGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント109	EPTAATTGESAGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP
	GSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSP
	GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP

【０２１０】

【表３－３９】

名称	アミノ酸配列
	GSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP
	GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGP
	GTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP
	GASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS
	PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPR
セグメント110	EPTAATTGESAGTAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGS
	PGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS
	PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント111	EPTAATTGESAGTAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS
	PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS
	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS
	PGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGS
	PGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGT
	GPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS

【０２１１】

【表３－４０】

名称	アミノ酸配列
	SPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント112	EPTAATTGESAGTAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG TGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント113	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPR
セグメント114	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG

【０２１２】

【表３－４１】

名称	アミノ酸配列
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント115	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTG TGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTAS SSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント116	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSAST GTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント117	ATGTATSEGSPEEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST

【０２１３】

【表３－４２】

名称	アミノ酸配列
	GSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG TGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGA TGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSS TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPR
セグメント118	ATGTATSEGSPEEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTA SSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGA TGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGA TGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSS TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント119	ATGTATSEGSPEEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTA SSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGA TGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSG ATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGT ASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSAS TGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGT ASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR

【０２１４】

【表３－４３】

名称	アミノ酸配列
セグメント120	ATGTATSEGSPEEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTA SSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTS STGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSG ATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSA STGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント121	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPRPRPRPRP
セグメント122	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG

【０２１５】

【表３－４４】

名称	アミノ酸配列
	SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG
	SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG
	SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAARPRPRPRP
セグメント123	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG
	SPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG
	SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT
	GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSST
	GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTAS
	SSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTG
	TGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST
	GSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTAS
	SSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAARPRPRPRP
セグメント124	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST
	GSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST
	GSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT
	GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSST
	GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGA
	TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST
	GTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSAST
	GTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSAST
	GTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAARPRPRPR
	P
セグメント125	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS
	PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
	PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS

【０２１６】

【表３－４５】

名称	アミノ酸配列
	PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG
	PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS
	PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG
	SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG
	SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG
	SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG
	SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPR
セグメント126	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG
	SPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG
	SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG
	SPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG
	SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTG
	SPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG
	SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント127	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS
	SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG
	SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTG
	SPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATG
	SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT
	GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSST
	GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTAS
	SSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTG
	TGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST
	GSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTAS
	SSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR

【０２１７】

【表３－４６】

名称	アミノ酸配列
セグメント128	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSAST GTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント129	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTP SGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTP SGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSP SASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASP GTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPG SGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント130	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGA

【０２１８】

【表３－４７】

名称	アミノ酸配列
	TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSAST GTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSAST GTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント131	AEATTAAGGAEEEGGKPGGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG SSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG SSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPG ASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSS TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント132	AEATTAAGGAEEETAEAAGCGTAEAAGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTG SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGGKPGGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTP SGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTP SGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPG TSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSP SASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASP GTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPG SGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント133	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG

【０２１９】

【表３－４８】

名称	アミノ酸配列
	PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント134	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント135	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント136	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント137	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント138	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR

【０２２０】

【表３－４９】

名称	アミノ酸配列
セグメント139	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント140	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPTAEAAGCGTAEAAR
セグメント141	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント142	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント143	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント144	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント145	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS

【０２２１】

【表３－５０】

名称	アミノ酸配列
	PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTG PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント146	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTG PGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS PGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント147	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント148	AEATTAAGGAEEEGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGS PGASPGTSSTGSPGGKPGR
セグメント149	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP GGGSPAGSCTSPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPG
セグメント150	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE

【０２２２】

【表３－５１】

名称	アミノ酸配列
	EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGASASCAPSTGGGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPG
セグメント151	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GGGSPAGSCTSPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPG
セグメント152	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGPEPTCPAPSGGGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST

【０２２３】

【表３－５２】

名称	アミノ酸配列
	EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
セグメント153	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GGGSPAGSCTSPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGGGSPAGSCTSPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
セグメント154	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGASASCAPSTGGGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGASASCAPS TGGGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEG SAPG
セグメント155	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGGGSPAGSCTSPGGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPST

【０２２４】

【表３－５３】

名称	アミノ酸配列
	GGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTA PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSA PGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PG
セグメント156	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGGASASCAPSTGGGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGPEPTGPAPS GGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTA PGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PGASASGAPSTGGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAP GTSPSGESSTAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAP GSTSSTAESPGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPG
セグメント157	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGGPEPTCPAPSGGGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPST GGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTA

【０２２５】

【表３－５４】

名称	アミノ酸配列
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSA PGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PG
セグメント158	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGGPEPTCPAPSGGGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPST GGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTA PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSA PGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGGPEPTCPAPSGGMAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG
セグメント159	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP GGGSPAGSKTSPGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPG
セグメント160	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET

【０２２６】

【表３－５５】

名称	アミノ酸配列
	PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGASASKAPSTGGGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPG
セグメント161	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GGGSPAGSKTSPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPG
セグメント162	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGASASKAPSTGGGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS

【０２２７】

【表３－５６】

名称	アミノ酸配列
	APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
セグメント163	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GGGSPAGSKTSPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGGGSPAGSKTSPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
セグメント164	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGGSPAGSKTSPGGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGGGSPAGSKT SPGGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEG SAPG
セグメント165	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGGGSPAGSKTSPGGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPST GGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTA

【０２２８】

【表３－５７】

名称	アミノ酸配列
	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSA PGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PG
セグメント166	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGGASASKAPSTGGGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGPEPTGPAPS GGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTA PGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PGASASGAPSTGGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAP GTSPSGESSTAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAP GSTSSTAESPGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPG
セグメント167	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGGASASKAPSTGGGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPST GGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTA PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET

【０２２９】

【表３－５８】

名称	アミノ酸配列
	PGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSA PGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PG
セグメント168	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGGASASKAPSTGGGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPST GGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTA PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSA PGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGGASASKAPSTGGMAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPG
セグメント169	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GGGSPAGSCTSPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGGGSPAGSKTSPGGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
セグメント170	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGGSPAGSCTSPGGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGGGSPAGSCT

【０２３０】

【表３－５９】

名称	アミノ酸配列
	SPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGS APGGGSPAGSCTSPGGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAPGGGSPAGSCTSPGGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPG
セグメント171	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGGGSPAGSKTSPGGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGGGSPAGSKT SPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGS APGGGSPAGSKTSPGGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAPGGGSPAGSKTSPGGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPG
セグメント172	SAGSPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAG CGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASR
セグメント173	SAGSPGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA GPTKPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPTKPGTSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAG CGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASR

【０２３１】

【表３－６０】

名称	アミノ酸配列
セグメント174	SAGSPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAASASR
セグメント175	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPTAEAAGCGTAEAAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTAEAAGCGTAEAASTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPATAEAAGCGTAEAASPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATTAEAAGCGTAEAASETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGTAEAAG CGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTTAEAAGCGTAEAAAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESTAEAAGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGTAEAAGCGTAEAATEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASR
セグメント176	SAGSPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAG CGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASR
セグメント177	SAGSPTAEAAGCGTAEAAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTAEAAGCGTAEAASTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPATAEAAGCGTAEAASPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATTAEAAGCGTAEAASETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGTAEAAG CGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTTAEAAGCGTAEAAAGSPTSTEEGSPAG

【０２３２】

【表３－６１】

名称	アミノ酸配列
	SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESTAEAAGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGTAEAAGCGTAEAATEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASR
セグメント178	SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPSASR
セグメント179	GSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGR
セグメント180	GSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPTAEAAGKPGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGK
セグメント181	SAGSPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA

【０２３３】

【表３－６２】

名称	アミノ酸配列
	TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPSASR
セグメント182	CGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGR
セグメント183	MKNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPSASRSAHHHHHHHHH
セグメント184	MKNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTAEAAGCGTAEAAPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTAEAAGCGTAEAASTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPATAEAAGCGTAEAASPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATTAEAAGCGTAEAAS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTTAEAAGCGTAEAAAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESTAEA AGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGTAEAAGCGTAEAATEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASRSAHHHHHHHH

【０２３４】

【表３－６３】

名称	アミノ酸配列
セグメント185	MKNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTAEAAGCGTAEAASTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPATAEAAGCGTAEAASPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATTAEAAGCGTAEAAS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTTAEAAGCGTAEAAAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESTAEA AGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGTAEAAGCGTAEAATEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASRSAHHHHHHHH
セグメント186	GSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPTAEAAGKPGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGK
セグメント187	SAGSPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA

【０２３５】

【表３－６４】

名称	アミノ酸配列
	TPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPSASR
セグメント188	SAGSPTEGTSTEPSEGSAPGTSESTAEAAGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGTAEAAGCGTAEAATEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASR
セグメント189	SAGSPTPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASR
セグメント190	SAGSPTGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAG CGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESTAEAAGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASR
セグメント191	SAGSPTPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESTAEAAGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGTAEAAGCGTAEAATEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASR
セグメント192	SAGSPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGCTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPES GSASPGSTSCSPSGEAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPETSPSGESCTAPGSTSASR
セグメント193	SAGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGCAGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSG ATGSPGSSTCSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTACSSPGSSSASR
セグメント194	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT

【０２３６】

【表３－６５】

名称	アミノ酸配列
	PESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTESASK
セグメント195	SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTACSEGSAPSASR
セグメント196	SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSCASASR
セグメント197	SAGSPGSCAGSPTSTEEGTSESACPESGPGTSTEPSEGSCPGSPAGSPTSTEEGTCTEPSEGSAPGTSTEPC SGSAPGTSESATPESCPGSEPATSGSETPGSCPATSGSETPGSPAGSCTSTEEGTSESATPESCPGTESASR
セグメント198	SAGSPTGCGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSC TPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSCGSAPSASR
セグメント199	SAGSPTGCGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSCTPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPCSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESCTPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSC TPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGCSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETCGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGCAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSCGSAPSASR

【０２３７】

別の実施形態において、本発明は、リジン島として定義される、より長い配列の一部としてリジンの挿入を提供する。リジン島の例は、表４に示される。ＸＴＥＮ中の全てのリジン残基を同様または同一の配列と隣接させる利益は、それが各リジンに対し、より均一の化学反応性をもたらすことである。別の利点は、ペプチドマッピングを行い、ペイロード結合の程度を測定する能力に由来する。例としては、表４の島Ｉ＿Ｌ６、Ｉ＿Ｌ７、およびＩ＿Ｌ８が挙げられる。これらの島は、ＧｌｕＣプロテアーゼを使用してペプチドマッピングを促進する、グルタミン酸塩残基を含む。別の実施形態において、本発明は、システイン島として定義される、より長い配列の一部としてシステインの挿入を提供する。システイン島の例は、表５に示される。ＸＴＥＮ中の全てのシステイン残基を同様または同一の配列と隣接させる利益は、それが各システインに対し、より均一の化学反応性をもたらすことである。別の利点は、ペプチドマッピングを行い、ペイロード共役の程度を測定する能力に由来する。例としては、表５の島Ｉ＿Ｃ４、Ｉ＿Ｃ７、Ｉ＿Ｃ８、およびＩ＿Ｃ９が挙げられる。これらの島は、ＧｌｕＣプロテアーゼを使用してペプチドマッピングを促進する、グルタミン酸塩残基を含む。これらの島は、上記および実施例に記載されるように、従来のＰＣＲ法によって既存のＸＴＥＮをコードする構築物に挿入することができる。これらの島をコードするオリゴヌクレオチドは、従来のＰＣＲ法によって既存のＸＴＥＮをコードする構築物に挿入することができる。例えば、既存の全長ＸＴＥＮ遺伝子が、１つ以上の反応性システインまたはリジン残基をコードするヌクレオチドで修飾される一実施形態において、システインまたはリジンをコードし、ＸＴＥＮの１つ以上の短い配列に対する部分的相同性を呈し、それにハイブリダイズすることができるオリゴヌクレオチドを形成することができ、ＸＴＥＮ遺伝子の既存のコドンのシステインまたはリジンコドンの組換え事象および置換をもたらす（一般方法の説明については、例えば、実施

例６および７を参照されたい）。例示的な一実施形態において、組換えは、Ｉ＿Ｃ１島のアミノ酸配列ＧＧＳＰＡＧＳＣＴＳＰとの置換をもたらす。しかしながら、オリゴヌクレオチドは、システイン（またはリジン）をモチーフの異なる位置に配置するか、または第２のシステイン（またはリジン）をモチーフに含むように設計することができる。システインまたはリジンをコードするオリゴヌクレオチドは、所与の配列セグメントに異なる地点で、既知のＸＴＥＮ配列に沿ってハイブリダイズし、ＸＴＥＮをコードする遺伝子へのそれらの挿入を許すように設計することができる。したがって、本発明は、複数のＸＴＥＮ遺伝子構築物が、ＸＴＥＮ配列内の異なる位置に挿入されるシステインまたはリジンを用いて、ＸＴＥＮ配列内の制限部位の選択および所与の位置に適切であり、同じＸＴＥＮ配列への複数の挿入をもたらす設計されたオリゴヌクレオチドの使用を含む、システインまたはリジンをコードするオリゴヌクレオチドの設計によって形成され得ることを企図する。ＸＴＥＮの既知の配列を考慮して、１つ以上のそのようなオリゴヌクレオチドの設計および選択、ならびに本発明の方法の適切な使用によって、全長ＸＴＥＮに挿入された置換反応性システインまたはリジン残基の潜在的数を推定し、次いで、得られたＸＴＥＮ遺伝子を配列決定することによって確認することができる。

【０２３８】

【表４】

【表４】　リジン島の例

指定子	アミノ酸配列
I_L1	GGSPAGSKPTSP
I_L2	GASASKPAPSTG
I_L3	PKP
I_L4	PPKPP
I_L5	GGKPG
I_L6	EGGKPGES
I_L7	EGGSPAGSKPTSPE
I_L8	EGASASKPAPSTGE

【０２３９】

【表５】

【表５】　システイン島の例

指定子	配列
I_C1	GGSPAGSCTSP
I_C2	GASASCAPSTG
I_C3	GPEPTCPAPSG
I_C4	TAEAAGCGTAEAA
I_C5	GECEP
I_C6	GRPCRP
I_C7	GETSPAGSCTSPTET
I_C8	TESGRPCRPSET
I_C9	GPEPTCPAPSEG

【０２４０】

ＸＴＥＮは、図１Ｄに示されるように、共役のためにリジンおよびシステイン残基の双方を含むように設計することができる。これは、システインまたはリジンに付着した官能基またはリンカーと反応するように調整された共役方法を使用して、２つの異なるペイロードを同じＸＴＥＮポリマーに共役することを可能にする。そのような混合ペイロードは、単一組成物中で対象に投与されるとき、付加的および／または相乗性薬理学的効果を有することができる。代替として、混合ペイロードは、ファーマコフォアを対象における所望の位置に送達するために、標的部分および活性ペイロードの組合せであり得る。リジンおよびシステイン残基の数および位置を制御することによって、共役されたペイロードの数および位置を制御することができる。これは、得られたＸＴＥＮ－ペイロード共役体に

おけるペイロードの相対能力または選択性を調整することを可能にする。

【０２４１】

本発明の設計、選択、および調製方法は、求電子性官能基と反応する、操作されたＸＴＥＮの創製を可能にする。本明細書に提供される対象の共役体を製造する方法は、図１に概略的に示されるように、指定された部位において定量化様式で付加されたリンカーまたはペイロード分子を持つ、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体、ＸＴＥＮ－架橋剤共役体、およびＸＴＥＮ－アジド／アルキン反応物共役体の形成を可能にする。ペイロード、架橋剤、およびアジド／アルキン反応物は、部位特異的および効率的にＸＴＥＮのＮ末端もしくはＣ末端、チオール反応性試薬を用いてシステイン操作されたＸＴＥＮに、またはアミン反応性試薬を用いて本発明のリジン操作されたＸＴＥＮに、および以下により完全に記載されるように、ＸＴＥＮのＮ末端におけるαアミノ基に結合され、次いで、精製され、例えば、実施例においてより具体的に記載される非限定方法を使用して、図４０に概略的に示されるように特徴付けられる。

４．　配列の長さ

別の態様において、本発明は、組成物に組み込むための可変長のＸＴＥＮを提供し、このＸＴＥＮ配列（複数可）の長さは、組成物中で達成される特性または機能に基づいて選択される。意図される特性または機能に応じて、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、短いか、中間長のＸＴＥＮ、またはより長いＸＴＥＮ配列、あるいは担体として機能し得る短い、中間、またはより長いＸＴＥＮの多量体を含む。限定することが意図されないが、ＸＴＥＮまたはＸＴＥＮのフラグメントは、約６～約９９個のアミノ酸残基の短いセグメント、約１００～約３９９個のアミノ酸残基の中間長、および約４００～約１０００個および最大約３０００個のアミノ酸残基のより長い長さを含む。したがって、対象の共役体に組み込むための共役パートナーとして利用されるＸＴＥＮは、約６、または約１２、または約３６、または約４０、または約４８、または約７２、または約９６、または約１４４、または約２８８、または約４００、または約４３２、または約５００、または約５７６、または約６００、または約７００、または約８００、または約８６４、または約９００、または約１０００、または約１５００、または約２０００、または約２５００、または最大約３０００個のアミノ酸残基の長さを持つＸＴＥＮまたはＸＴＥＮのフラグメントを包含する。他の場合、ＸＴＥＮ配列は、約６～約５０、約５０～約１００、約１００～１５０、約１５０～２５０、約２５０～４００、約４００～約５００、約５００～約９００、約９００～１５００、約１５００～２０００、または約２０００～約３０００個のアミノ酸残基の長さであり得る。対象のＸＴＥＮ－ペイロード共役体に組み込まれるＸＴＥＮの正確な長さは、共役体の生物学的活性に悪影響を及ぼすことなく変動し得る。一実施形態において、ＸＴＥＮのうちの１つ以上は、ＸＴＥＮファミリー配列のうちの１つ、例えば、ＡＤ、ＡＥ、ＡＦ、ＡＧ、ＡＭ、ＡＱ、ＢＣ、またはＢＤから選択され得る。いくつかの実施形態において、対象の共役体を形成するために利用されるＸＴＥＮは、表２、表３、および表２２～２５の配列のうちのいずれか１つから選択されるＸＴＥＮを含み、直接または本明細書に開示される架橋剤を介して、ペイロード成分に結合され得る。他の実施形態において、対象の共役体を形成するために利用される１つ以上のＸＴＥＮは、個別に、相当する長さの配列と最適に整列されるとき、表２、３、２２～２５から選択されるＸＴＥＮ、またはそのフラグメントと比較して、少なくとも約８０％の配列同一性、または代替として８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有するＸＴＥＮ配列を含む。いくつかの実施形態において、対象の共役体は、２、３、４、またはそれ以上のＸＴＥＮ配列を含み、そのＸＴＥＮ配列中の残基の累積長は、約１００超～約３０００、または約４００～約２０００、または約８００～１０００個のアミノ酸残基であり、ＸＴＥＮは、同一であり得るか、または配列または長さが異なり得る。本明細書において使用される場合、複数のＸＴＥＮが共役体に組み込まれるとき、累積長は、アミノ酸残基にその全長を包含することが意図される。

【０２４２】

以下により完全に記載されるように、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体が、ＸＴＥＮの長さを選択することにより設計される方法、および架橋剤反応物またはペイロードと結合させて、物理化学的特性（例えば、安定性または可溶性）を付与するか、またはＸＴＥＮ－ペイロード共役体が対象に投与されるとき、活性の標的半減期または保持をもたらす方法が開示される。

【０２４３】

ＸＴＥＮは、組成物中の担体として使用され、本発明は、非反復的、非構造化ポリペプチドの長さを増加することが、ＸＴＥＮの非構造化性質を強化し、それに対応して、ＸＴＥＮ担体を含む構築物の物理化学的および薬物動態特性を強化するという発見を利用する。一般に、共役体に組み込まれる約４００個の残基より長い累積長を持つ単量体として、または多量体としてのＸＴＥＮは、より短い、例えば、約２８０個の残基より短い累積長と比較して、より長い半減期をもたらす。実施例により完全に記載されるように、ＸＴＥＮの長さの比例的増加は、単一ファミリー配列モチーフ（表１の４つのＡＥモチーフ）の反復順序によって形成される場合であっても、ＧＯＲアルゴリズムによって決定されるように、より短いＸＴＥＮ長と比較して、より高いパーセンテージのランダムコイル形成、またはＣｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズムによって決定されるように、低減したαらせんもしくはβシートの含有量を持つ配列をもたらす。さらに、非構造化ポリペプチド融合パートナーの長さを増加させることは、実施例に記載されるように、より短い配列長を持つ非構造化ポリペプチドパートナーを持つポリペプチドと比較して、終末相半減期の不均衡な増加を持つ構築物をもたらす。ＸＴＥＮが主に担体として機能するいくつかの実施形態において、本発明は、２、３、４、またはそれ以上のＸＴＥＮを含むＸＴＥＮ共役組成物を包含し、ＸＴＥＮタンパク質の累積ＸＴＥＮ配列長は、約１００、２００、４００、５００、６００、８００、９００、または１０００～約３０００個超のアミノ酸残基であり、この構築物は、ＸＴＥＮに結合されないペイロードと比較して、対照に投与されるとき、および相当する用量で投与されるときに、強化された薬物動態特性を呈する。前述の一実施形態において、２つ以上のＸＴＥＮ配列は、それぞれ表２、表３、または表２２～２５のうちのいずれか１つから選択される配列に対して少なくとも約８０％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、または９８％以上の同一性を呈し、担体配列（複数可）の残りがある場合は、少なくとも９０％の親水性アミノ酸を含有し、全体配列の約２％未満は、疎水性または芳香族アミノ酸またはシステインからなる。ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の強化された薬物動態特性は、ＸＴＥＮに結合されないペイロードと比較して、以下により完全に記載される。

５．　ＸＴＥＮ前駆体からのＸＴＥＮセグメント

別の態様において、本発明は、より長い「ドナー」ＸＴＥＮ配列から短長または中間長のＸＴＥＮを創製するための方法を提供し、より長いドナーＸＴＥＮ配列は、Ｎ末端またはＣ末端で切断されるか、またはセグメントは、切断配列を含むＸＴＥＮのタンパク質分解によって形成され、それにより短長または中間長のＸＴＥＮをもたらす。非限定例において、８６４個のアミノ酸残基のＡＧ８６４配列を切断して、１４４個の残基を持つＡＧ１４４、２８８個の残基を持つＡＧ２８８、５７６個の残基を持つＡＧ５７６、または他の中間長さを生じさせることができ、一方、ＡＥ８６４配列を切断して、複数のＡＥ１４４配列、２８８個の残基を持つＡＥ２８８配列、または５７６個の残基を持つＡＥ５７６、または他のより短い長さか、もしくは中間長を生じさせることができる。同様に、より長い「ドナー」配列をコードするＤＮＡは、短長または中間長のＸＴＥＮとの共役において使用するために意図されるシステインまたはリジン残基を組み込むように操作することができる。そのような手法は、本明細書に記載されるＸＴＥＮ実施形態のうちのいずれか、または表２、３、２１、および２２に列挙される配列のうちのいずれかとともに利用し、所望の長さのＸＴＥＮをもたらすことができる。

【０２４４】

別の態様において、本発明は、ＸＴＥＮが均一長の２、３、４、５、または６個のより短いＸＴＥＮに切断することによって処理され得るように、定義された間隔で配列内部に

組み込まれた切断配列を持つＸＴＥＮを提供する。図９６Ａに示されるように、単量体ＸＴＥＮは、２つの内部切断配列とともに設計され、全ての切断配列の切断をもたらすのに有効な条件下、プロテアーゼで処置されるとき、均一長の３つのＸＴＥＮ配列をもたらす。さらに、ＸＴＥＮは、得られたＸＴＥＮセグメントが、残りの切断配列を含めて、同一アミノ酸配列も有するように、配列とともに設計される。一実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮ配列の内部に１、２、３、４、または５個のアルギニン（Ｒ）残基を含み、同一のＸＴＥＮセグメントを架橋するＸＴＥＮ配列に沿って均一の間隔を置いて配置される、定義された配列を持つＸＴＥＮを提供し、トリプシンを用いた処置は、同一の長さおよび配列を有するように、ＸＴＥＮセグメントへのＸＴＥＮの切断をもたらす。前述の実施形態において、アルギニン残基は、隣接するＰ１’位にプロリン残基を有しない。したがって、トリプシンを用いた前述の処置によって、１つの内部アルギニンを持つＸＴＥＮは、２つの同一ＸＴＥＮセグメントをもたらし、２つの内部アルギニンを持つＸＴＥＮは、３つの同一ＸＴＥＮセグメントをもたらす等である。別の実施形態において、前述の実施形態の各アルギニンは、リジン残基で置換される。別の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮ配列の内部に１、２、３、４、または５個の切断配列を含み、ＸＴＥＮ配列に沿って均一の間隔を置いて配置される、定義された配列を持つＸＴＥＮを提供し、各切断配列は、ＳＡＳＲＳＡであり、トリプシンを用いた処置は、同一の長さおよび配列を有するように、ＸＴＥＮセグメントへのＸＴＥＮの切断をもたらす。別の実施形態において、本発明は、表６に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を持つＸＴＥＮを提供する。別の実施形態において、表６に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を持つＸＴＥＮを提供し、このＸＴＥＮは、第１および第２の親和性タグをさらに含み、各親和性タグは、それぞれＸＴＥＮのＮ末端およびＣ末端の切断配列によってＸＴＥＮに結合され、各切断配列は、トリプシンによって切断されることができ、第１の親和性タグは、第２の親和性タグとは異なり、それぞれが、独立して、表７に記載される親和性タグからなる群から選択される。前述の実施形態は、図９６Ｂに示され、２つの内部切断配列、およびそれぞれ切断配列によってＸＴＥＮに結合されるＮ末端およびＣ末端親和性タグを持つＸＴＥＮのプロテアーゼを用いた処置は、均一長の３つのＸＴＥＮセグメントへの構築物の切断、および２つの親和性タグの遊離をもたらし、得られた調製物は、後次に、本明細書において以下に記載されるように、実質的に均質なＸＴＥＮに処理され得る。そのような均一な切断配列を含むＸＴＥＮの変化形、および配列中のそれらの分布は、本発明によって企図される。

【０２４５】

【表６－１】

【表６】　内部切断配列を持つ前駆体ＸＴＥＮ

XTEN名	アミノ酸配列
AE864_R2 (2x AE432_R1)	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTESASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE

【０２４６】

【表６－２】

XTEN名	アミノ酸配列
	SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTSTEEGTESASR
AE864_R3 (3x AE288_R1)	SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPSASRSAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPSASRSAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPSASR
AE864_R6 (6x AE144_ R1)	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTE SASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTESASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGTESASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTESASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTESASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTESASR
セグメント200 (3x セグメント195)	SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTACSE GSAPSASRSAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGS

【０２４７】

【表６－３】

XTEN名	アミノ酸配列
	EPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTACSEGSAPSASRSAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTACSEGSAPSASR
セグメント201 (3x セグメント196)	SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSCASASRSAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSCASASRSAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSCASASR

【０２４８】

６．　正味電荷

他の実施形態において、ＸＴＥＮポリペプチドは、正味電荷を持つアミノ酸残基の組込みによって付与され、ＸＴＥＮ配列中に低パーセンテージの疎水性アミノ酸を含有するか、または含有しない、非構造化特徴を有する。全体正味電荷および正味電荷密度は、ＸＴＥＮ配列中の正または負のいずれかの電荷アミノ酸の含有量を修正することによって制御され、正味電荷は、典型的に、対向する電荷を持つ残基によって相殺されるそれらの残基を超えて、電荷状態に寄与するポリペプチド中のアミノ酸のパーセンテージとして表される。いくつかの実施形態において、共役体のＸＴＥＮの正味電荷密度は、＋０．１以上、または－０．１以下の電荷／残基であり得る。本明細書におけるタンパク質またはペプチドの「正味電荷密度」とは、正味電荷をタンパク質中のアミノ酸の総数で割ったものを意味する。他の実施形態において、ＸＴＥＮの正味電荷は、約０％、約１％、約２％、約３％、約４％、約５％、約６％、約７％、約８％、約９％、約１０％、約１１％、約１２％、約１３％、約１４％、約１５％、約１６％、約１７％、約１８％、約１９％、または約２０％以上であり得る。正味電荷に基づいて、いくつかのＸＴＥＨは、１．０、１．５、２．０、２．５、３．０、３．５、４．０、４．５、５．０、５．５、６．０、またはさらに６．５の等電点（ｐＩ）を有する。一実施形態において、ＸＴＥＮは、１．５～４．５の等電点を有し、生理的条件下で正味の負電荷を担持する。

【０２４９】

ヒトまたは動物における大部分の組織および表面は、正味の負電荷を有し、いくつかの実施形態において、ＸＴＥＮ配列は、組成物を含有するＸＴＥＮと、血管、健常組織、または様々な受容体等の様々な表面との間の非特異的相互作用を最小化するために、正味の負電荷を有するように設計される。特定の理論に拘束されないが、ＸＴＥＮは、個別に正味の負電荷を担持し、ＸＴＥＮポリペプチドの配列全体に分散されるＸＴＥＮポリペプチドの個別のアミノ酸間の静電反発に起因して、オープン構造を採用することができる。いくつかの実施形態において、ＸＴＥＮ配列は、セリン、アラニン、トレオニン、プロリン、またはグリシン等の他の非電荷残基によって分離される電荷残基の少なくとも９０％～９５％を用いて設計され、より均一な電荷の分配、より良好な発現または精製動作をもたらす。ＸＴＥＮの伸長された配列長さにおける正味の負電荷のそのような均一分配は、ポリマーの非構造化構造にも寄与し、順に、流体力学半径の有効な増加をもたらすことがで

きる。好適な実施形態において、対象ＸＴＥＮの負電荷は、グルタミン酸残基の組込みによって付与される。一般に、グルタミン残基は、ＸＴＥＮ配列全体で均一に間隔を置いて配置される。場合によっては、ＸＴＥＮは、２０ｋＤａのＸＴＥＮ当たり約１０～８０、または約１５～６０、または約２０～５０個のグルタミン残基を含有することができ、非常に類似したｐＫａを有する電荷残基を持つＸＴＥＮをもたらし得、これが産物の電荷均質性を増加させ、その等電点を鋭敏にすることができ、得られたＸＴＥＮ－ペイロードの物理化学的特性を強化する故に、精製手順を簡素化する。例えば、負電荷を持つＸＴＥＮが所望される場合、ＸＴＥＮは、ＡＥファミリー配列から単独で選択され得、組み込まれたグルタミン酸に起因して、約１７％の正味電荷を有するか、または所望の程度の正味電荷を提供するために、可変比率の表１のグルタミン酸含有モチーフを含むことができる。ＡＥ　ＸＴＥＮの非限定例としては、表２および２１のＡＥ３６、ＡＥ４２、ＡＥ１４４、ＡＥ２８８、ＡＥ４３２、ＡＥ５７６、ＡＥ６２４、ＡＥ８６４、およびＡＥ９１２配列、またはそれらのフラグメントが挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態において、表２または３のＸＴＥＮ配列は、所望の正味の負電荷を達成するために、追加のグルタミン酸残基を含むように修飾することができる。したがって、一実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮ配列が、約１％、２％、４％、８％、１０％、１５％、１７％、２０％、２５％、またはさらに約３０％のグルタミン酸を含有するＸＴＥＮを提供する。場合によっては、ＸＴＥＮは、２０ｋＤａのＸＴＥＮ当たり約１０～８０、または約１５～６０、または約２０～５０個のグルタミン残基を含有することができ、非常に類似したｐＫａを有する電荷残基を持つＸＴＥＮをもたらし得、これが産物の電荷均質性を増加させ、その等電点を鋭敏にすることができ、得られたＸＴＥＮ共役組成物の物理化学的特性を強化する故に、精製手順を簡素化する。一実施形態において、本発明は、正味の負電荷を達成するために、グルタミン酸に加えて、ＸＴＥＮへの最大５％のアスパラギン酸残基の組込みを企図する。

【０２５０】

特定の理論に拘束されないが、より高い正味の負電荷を持つＸＴＥＮ－ペイロード共役体のＸＴＥＮは、血管、組織、または様々な受容体等の様々な負に電荷された表面との非特異的相互作用をあまり有しないことが予想される。反対に、低い正味電荷を持つ（または持たない）ＸＴＥＮ－ペイロード共役体のＸＴＥＮは、血管系または組織中の関連付けられた共役体の活性を増強することができる、より高程度の表面との相互作用を有すると考えられる。

【０２５１】

他の実施形態において、正味電荷が所望されない場合、ＸＴＥＮは、ＡＧ　ＸＴＥＮ成分、例えば、表１のＡＧモチーフ、または正味電荷を有しない表１のそれらのＡＭモチーフ等から選択することができる。ＡＧ　ＸＴＥＮの非限定例としては、表２および２２の３６、４２、１４４、２８８、５７６、および８６４　ＡＧファミリー配列、またはそれらのフラグメントが挙げられるが、これらに限定されない。別の実施形態において、ＸＴＥＮは、所与の使用に最適であると見なされる正味電荷を有するか、または所与の物理化学的特性を維持するために、変化する比率のＡＥおよびＡＧモチーフを含むことができる。

【０２５２】

本発明の共役体のＸＴＥＮは、一般に、正に電荷されたアミノ酸を有しないか、または低含有量で有する。いくつかの実施形態において、ＸＴＥＮは、正電荷を持つ約１０％未満のアミン酸残基、または正電荷を持つ約７％未満、または約５％未満、または約２％未満、または約１％未満のアミノ酸残基を有し得る。しかしながら、本発明は、リジンのεアミンとＸＴＥＮ骨格に共役されるペイロードまたは架橋剤上の反応基との共役を許すように、リジン等の正電荷を持つ定義された数のアミノ酸が、ＸＴＥＮに組み込まれる、構築物を企図する。前述の一実施形態において、対象の共役体のＸＴＥＮは、約１～約１００個のリジン残基、または約１～約７０個のリジン残基、または約１～約５０個のリジン残基、または約１～約３０個のリジン残基、または約１～約２０個のリジン残基、または約１～約１０個のリジン残基、または約１～約５個のリジン残基、または１～約３個のリ

ジン残基、または代替として、単一リジン残基のみを有する。前述のリジン含有ＸＴＥＮを使用して、ＸＴＥＮ、任意の架橋剤、プラス対象における状態の処置において有用なペイロードを含む共役体を構築することができ、ＸＴＥＮ成分に結合されたペイロード剤の分子の最大数は、ＸＴＥＮに組み込まれた反応性側基（例えば、末端アミノ）を持つリジンの数によって決定される。

７．　低い免疫原性

別の態様において、本発明は、低程度の免疫原性を有するか、または実質的に非免疫原性であるＸＴＥＮ組成物を提供する。いくつかの因子は、ＸＴＥＮ（例えば、非反復配列）の低い免疫原性、非構造化構造、高程度の可溶性、低程度の自己凝集またはその欠失、配列内の低程度のタンパク質分解部位またはその欠失、およびＸＴＥＮ配列中の低程度のエピトープまたはその欠失に寄与し得る。

【０２５３】

構造的エピトープは、タンパク質抗原の複数の不連続アミノ酸配列で構成される、タンパク質表面の領域によって形成される。タンパク質の正確な折り畳みは、これらの配列を、十分に定義された安定した空間構成、または宿主液性免疫系によって「外来」として認識され得るエピトープに持ち込み、そのタンパク質に対する抗体の産生または細胞媒介性免疫反応の活性化をもたらす。後者の場合、個体におけるタンパク質への免疫反応は、その個別のＨＬＡ－ＤＲアロタイプのペプチド結合特異性の機能である、Ｔ細胞エピトープ認識によって大きく影響を受ける。Ｔ細胞の表面上の同種Ｔ細胞受容体によるＭＨＣクラスＩＩペプチド錯体の係合は、ＣＤ４分子等のある他の共受容体の架橋と一緒に、Ｔ細胞内の活性化状態を誘導することができる。活性化は、Ｂ細胞等の他のリンパ球をさらに活性化して抗体を産生するか、または全細胞性免疫反応としてＴキラー細胞を活性化させる、サイトカインの放出をもたらす。

【０２５４】

ペプチドが、ＡＰＣ（抗原提示細胞）の表面上の提示のために所与のＭＨＣクラスＩＩ分子に結合する能力は、多数の因子、最も顕著にはその一次配列に依存する。一実施形態において、より低程度の免疫原性は、抗原提示細胞における抗原処理に耐えるＸＴＥＮ配列を設計することによって、および／またはＭＨＣ受容体に良好に結合しない配列を選択することによって達成される。本発明は、ＭＨＣＩＩ受容体との結合を低減するとともに、Ｔ細胞受容体または抗体結合のためのエピトープ形成を回避し、低程度の免疫原性をもたらすように設計された実質的に非反復的なＸＴＥＮポリペプチドとのＸＴＥＮ－ペイロード、ＸＴＥＮ－架橋剤、およびＸＴＥＮクリック化学反応物共役体を提供する。免疫原性の回避は、ＸＴＥＮ配列の構造柔軟性の結果、すなわち、アミノ酸残基の選択および順序による二次構造の欠失に少なくとも部分的に起因し得る。例えば、水溶液中、または構造エピトープをもたらし得る生理的条件下で、小さく折り畳まれた構造を適合させる傾向が低い配列が特に興味深い。従来の治療実践および投薬を使用して、ＸＴＥＮを含むポリペプチドの投与は、一般に、ＸＴＥＮ配列に対する中和抗体の形成をもたらさず、共役体中のペイロードの免疫原性も低減する。

【０２５５】

一実施形態において、対象ポリペプチドにおいて利用されるＸＴＥＮ配列は、ヒトＴ細胞によって認識されるエピトープを実質的に含まないことがある。免疫原性の低いタンパク質を生成することを目的とするそのようなエピトープの消失は、以前に開示されており、例えば、参照により本明細書に組み込まれる、第ＷＯ９８／５２９７６号、第ＷＯ０２／０７９２３２号、および第ＷＯ００／３３１７号を参照されたい。ヒトＴ細胞エピトープのアッセイが、説明されている（Ｓｔｉｃｋｌｅｒ，Ｍ．，ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ，２８１：９５－１０８）。Ｔ細胞エピトープまたは非ヒト配列を生成せずに、オリゴマー化され得るペプチド配列が特に興味深い。これは、Ｔ細胞エピトープの存在について、および６～１５－ｍｅｒ、特にヒトではない９－ｍｅｒ配列の発生について、これらの配列の直接反復を試験すること、次いで、エピトープ配列を消失または破壊するようにＸＴＥＮ配列の設計を改変することによって達成される。い

くつかの実施形態において、ＸＴＥＮ配列は、ＭＨＣ受容体に結合することが予測されるＸＴＥＮのエピトープ数の制限によって、実質的に非免疫原性である。ＭＨＣ受容体に結合することができるエピトープの数の低減とともに、Ｔ細胞活性化ならびにＴ細胞ヘルパー機能の可能性の同時低減、Ｂ細胞活性化または上方調節の低減、および抗体産生の低減が存在する。低程度の予測されたＴ細胞エピトープは、実施例４６に示されるように、例えば、ＴＥＰＩＴＯＰＥ（Ｓｔｕｒｎｉｏｌｏ，Ｔ．，ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ，１７：５５５－６１）等のエピトープ予測アルゴリズムによって決定することができる。タンパク質内の所与のペプチドフレームのＴＥＰＩＴＯＰＥスコアは、Ｓｔｕｒｎｉｏｌｏ，Ｔ．ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １７：５５５）に開示されるように、複数の最も一般的なヒトＭＨＣ対立遺伝子に対するそのペプチドフレームの結合のK_d（解離定数、親和性、オフレート）のログである。スコアは、少なくとも２０ログ超、約１０～約－１０の範囲であり（$10e^{10}K_d$～$10e^{-10}K_d$の結合定数に対応する）、Ｍ、Ｉ、Ｌ、Ｖ、Ｆ等のＭＨＣ上のペプチドディスプレイ中にアンカー残基として機能する疎水性アミノ酸を回避することによって低減される。いくつかの実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロード、ＸＴＥＮ－架橋剤、またはＸＴＥＮ－クリック化学反応物共役体に組み込まれるＸＴＥＮ成分は、予測されたＴ細胞エピトープを、約－５、もしくは－６、もしくは－７、もしくは－８、もしくは－９のＴＥＰＩＴＯＰＥ閾値スコアで、または－１０のＴＥＰＩＴＯＰＥスコアで有しない。本明細書において使用される場合、「－９」のスコアは、－５のスコアよりもストリンジェントなＴＥＰＩＴＯＰＥ閾値である。

８．　増加した流体力学半径

別の態様において、融合パートナーとして有用な対象ＸＴＥＮは、ＸＴＥＮを有しないペイロードと比較して、対応する見掛けの分子量の増加をＸＴＥＮ－ペイロード組成物に付与する特性である、高い流体力学半径を有する。実施例２６に詳述されるように、治療タンパク質配列へのＸＴＥＮの結合は、ＸＴＥＮに結合されていない治療タンパク質と比較して、増加した流体力学半径、増加した見掛けの分子量、および増加した見掛けの分子量因子を有し得る組成物をもたらす。例えば、長い半減期が所望される治療適用において、高い流体力学半径を持つ１つ以上のＸＴＥＮがペイロードに共役される組成物は、共役体の流体力学半径を、約３～５ｎｍ（約７０ｋＤａの見掛けの分子量に対応する）の糸球体細孔径を超えて有効に拡大することができ（Ｃａｌｉｃｅｔｉ．２００３．Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃ ａｎｄ ｂｉｏｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ ｏｆ ｐｏｌｙ（ｅｔｈｙｌｅｎｅ ｇｌｙｃｏｌ）－ｐｒｏｔｅｉｎ ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ．Ａｄｖ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ Ｒｅｖ ５５：１２６１－１２７７）、対応する終末相半減期の増加を伴う循環タンパク質の腎クリアランスの低減、および他の強化された薬物動態特性をもたらす。タンパク質の流体力学半径は、その分子量によるとともに、形状またはコンパクト性を含む、その構造によって付与される。特定の理論に拘束されないが、ＸＴＥＮは、ＸＴＥＮに組み込まれた電荷残基の個別の電荷間の静電反発によるとともに、二次構造を付与する可能性を欠く配列中の特定のアミノ酸によって付与される固有の柔軟性に起因して、オープン構造を採用することができる。ＸＴＥＮポリペプチドのオープンな伸長された非構造化構造は、典型的な球状タンパク質等の二次または三次構造を有する、相当する配列長および／または分子量のポリペプチドと比較して、より大きな比例流体力学半径を有する。流体力学半径を決定するための方法は、米国特許第６，４０６，６３２号および同第７，２９４，５１３号に記載されるように、例えば、サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）の使用によって、当該技術分野において周知である。実施例２６は、ＸＴＥＮ長の増加が、流体力学半径、見掛けの分子量、および／または見掛けの分子量因子の比例増加をもたらし、したがって、ＸＴＥＮ－ペイロードを見掛けの分子量または流体力学半径の所望のカットオフ値に調整することを許すことを実証する。したがって、ある実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロードは、得られた共役体が、少なくとも約５ｎｍ、または少なくとも約８ｎｍ、または少なくとも約１０ｎｍ、または約１２ｎｍ、または約１５ｎｍ、または約２０ｎｍ、または約３０ｎｍ以上の流体力学半径を有する

ことができるように、ＸＴＥＮによって構成され得る。前述の実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体中のＸＴＥＮによって付与される大きな流体力学半径は、得られた共役体のクリアランスの低減、終末相半減期の増加、および平均滞留時間の増加をもたらすことができる。実施例に記載されるように、ＸＴＥＮ含有組成物の分子量が、サイズ排除クロマトグラフィー分析に由来するとき、低程度の二次構造に起因するＸＴＥＮのオープン構造は、それらが組み込まれる共役体の見掛けの分子量の増加をもたらす。一実施形態において、本発明は、見掛けの分子量の増加が、以下により完全に記載されるように、直鎖状様式で、または三量体もしくは四量体分岐構造としてのいずれかでの所与の長さの単一ＸＴＥＮの結合のみならず、比例的に短い長さの２、３、４個またはそれ以上のＸＴＥＮの結合によって達成され得るという発見を利用する。いくつかの実施形態において、ペイロードおよび１つ以上のＸＴＥＮを含むＸＴＥＮは、少なくとも約４００ｋＤ、または少なくとも約５００ｋＤ、または少なくとも約７００ｋＤ、または少なくとも約１０００ｋＤ、または少なくとも約１４００ｋＤ、または少なくとも約１６００ｋＤ、または少なくとも約１８００ｋＤ、または少なくとも約２０００ｋＤの見掛けの分子量を呈する。したがって、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、その共役体の実際の分子量よりも約１．３倍大きいか、または約２倍大きいか、または約３倍大きいか、または約４倍大きいか、または約８倍大きいか、または約１０倍大きいか、または約１２倍大きいか、または約１５倍、または約２０倍大きい見掛けの分子量を呈する。一実施形態において、本明細書に開示される実施形態の単離されたＸＴＥＮ－ペイロード複合体は、約１．３、または約２、または約３、または約４、または約５、または約６、または約７、または約８、または約１０、または約１５よりも大きい生理的条件下で、見掛けの分子量因子を呈する。別の実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロードは、生理的条件下で、共役体の実際の分子量に対して約３～約２０、または約５～約１５、または約８～約１２、または約９～約１０の見掛けの分子量因子を有する。一般に、対象ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の増加した見掛けの分子量は、因子の組合せによって組成物の薬物動態特性（活性クリアランスの低減、腎クリアランスの低減、ならびに毛細血管および静脈接合を通じた損失の低減を含む）を強化する。

９．　組成物および実質的に均質な調製物としてＸＴＥＮを精製する方法

本発明の目的は、ＸＴＥＮの組成物、および本明細書に記載されるＸＴＥＮの長さおよび組成物の高レベルの純度および長さの均一性を持つＸＴＥＮを含む調製物を製造する方法を提供することである。

【０２５６】

組換えＸＴＥＮタンパク質、または通常、任意の球状タンパク質のような宿主細胞中にＸＴＥＮを含む組換え融合タンパク質の発現は、一部分が所望のタンパク質長の切断異形である、異なる化合物の混合をもたらす。切断は、宿主細胞中の翻訳の早期終了、ｍＲＮＡ不安定性、またはタンパク質分解の結果であり得る。球状タンパク質は、一般に、それらの３次元構造への効率的または完全な折り畳みを有するが、切断された異形は有しないため、典型的な精製および回収プロセスは、高レベルの産物均質性が球状タンパク質の所与の調製において達成されるように、切断された異形を成功裏に分離および除去することができる。しかしながら、ＸＴＥＮ等のタンパク質ポリマーは、それらの非構造化性質を前提として、一般に３次元構造を欠くことにおいて固有である。上述の理由のうちの１つ以上に起因して、全長ＸＴＥＮの均質な調製物を得ることは困難であった。これは、不完全または切断されたＸＴＥＮ鎖が、それらの物理化学的特性において、ほんのわずかに所望の全長配列と異なるためであり、球状タンパク質の精製に十分な伝統的プロセスは、全長配列の実質的に均質な調製物を得るために、切断されたＸＴＥＮの発現産物からの除去において有効ではない。ペイロードに結合されたＸＴＥＮを含む本発明の対象ＸＴＥＮは、塩分別、イオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、ヒドロキシアパタイト吸着クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、またはゲル電気泳動等のタンパク質に使用される従来の手段によって中程度の均質性に精製され得るが、これらの方法は単独で、ＸＴＥＮが配列長において実質的に均質である調製物をもたら

さない。

【０２５７】

本明細書に提供される対象方法は、１つまたは複数の単純な精製ステップを介してＸＴＥＮの実質的に均質な調製物の産生を許す。一実施形態において、本発明のそのような方法のいずれかの実践は、融合タンパク質として、ＸＴＥＮのＮ末端およびＣ末端のいずれかまたは双方に位置する親和性タグをさらに含むように設計されたＸＴＥＮを利用することができ、発現された産物が、全長発現ポリペプチドを選択的に捕捉するための精製方法に供され、それにより切断されたＸＴＥＮ副産物を除去することができる（図４１～４２参照）。ＸＴＥＮの末端に付加され得る親和性タグの非限定例は、表７に提示される。実質的に均質なＸＴＥＮを達成するための設計、発現、および精製方法の非限定例は、実施例に記載される。

【０２５８】

いくつかの実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮのＮ末端またはＣ末端のいずれかに結合された１つの親和性タグ（例えば、限定されないが、表７のタグ）に直接融合されたＸＴＥＮを持つ、実質的に均質なポリペプチド組成物を提供する。他の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮのＮ末端またはＣ末端のいずれかに結合された切断配列によって、１つの親和性タグ（例えば、限定されないが、表７のタグ）に直接融合されたＸＴＥＮを持つ、実質的に均質なポリペプチド組成物を提供する。他の実施形態において、本発明は、図４１に示されるように、ＸＴＥＮのＮ末端および／またはＣ末端に結合された１つまたは２つの異なる親和性タグ（例えば、限定されないが、表７のタグ）に直接融合されたＸＴＥＮを持つ、実質的に均質なポリペプチド組成物を提供する。他の実施形態において、本発明は、１つまたは２つの切断配列（例えば、限定されないが、表８または表９の切断配列）に融合され、順に、図４１に示されるように、ＸＴＥＮのＮ末端もしくはＣ末端、またはＮ末端およびＣ末端の双方に結合された異なる親和性タグ（例えば、限定されないが、表７のタグ）にそれぞれ融合されたＸＴＥＮを持つ、実質的に均質なポリペプチド組成物を提供する。さらに他の実施形態において、本発明は、タンパク質のＮ末端に融合されたヘルパー配列（例えば、限定されないが、表１２の配列）をさらに含む、ＸＴＥＮのＮ末端および／またはＣ末端に結合された１つまたは２つの異なる親和性タグ（例えば、限定されないが、表７のタグ）に直接融合されたＸＴＥＮを持つ実質的に均質なポリペプチド組成物を提供する。本明細書に記載されるタンパク質の文脈において使用される場合、「実質的に均質な」とは、調製物のポリペプチド配列の少なくとも約８５％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはさらにそれ以上が、同一の配列長を有することを意味する。パーセント値は、ＨＰＬＣによって分析された調製物のクロマトグラムの面積パーセンテージ、またはＳＤＳ－ＰＡＧＥ、もしくはタンパク質の純度を評価するために当該技術分野において既知の他のそのような標準手順によって分析された調製物の走査の面積パーセンテージに基づく。

【０２５９】

一実施形態において、本発明は、式Ｉ：

【０２６０】

【化１６】

$$(HS)-(AT1)-(CS1)-(XTEN) \quad I$$

【０２６１】

の構成を有する実質的に均質なポリペプチドを提供し、式中、ＨＳは、ヘルパー配列であり、ＡＴ１は、第１の親和性タグであり、ＣＳ１は、第１の切断配列であり、ＸＴＥＮは、伸長組換えポリペプチドである。

【０２６２】

別の実施形態において、本発明は、式ＩＩ：

【０２６３】
【化１７】
(HS) － (CS1) － (XTEN) － (CS2) － (AT1)　　ＩＩ

【０２６４】
の構成を有する実質的に均質なポリペプチドを提供し、式中、ＨＳは、ヘルパー配列であり、ＡＴ１は、第１の親和性タグであり、ＣＳ１は、第１の切断配列であり、ＣＳ２は、第２の切断配列であり、ＸＴＥＮは、伸長組換えポリペプチドである。
【０２６５】
別の実施形態において、組成物は、式ＩＩＩ：
【０２６６】
【化１８】
(HS) － (AT1) － (CS1) － (XTEN) － (CS2) － (AT2)　ＩＩＩ

【０２６７】
の構成を有し、式中、ＨＳは、ヘルパー配列であり、ＡＴ１は、第１の親和性タグであり、ＡＴ２は、第２の親和性タグであり、ＣＳ１は、第１の切断配列であり、ＣＳ２は、第２の切断配列であり、ＸＴＥＮは、伸長組換えポリペプチドである。
【０２６８】
親和性タグを含むポリペプチド構築物は、親和性タグに結合されていないＸＴＥＮと比較して、親和性タグが結合するクロマトグラフィー基質の使用により、実質的に均質な長さに精製されることができるという有利な特性を有する。いくつかの実施形態において、精製の方法において使用されるクロマトグラフィー基質のカテゴリーは、表７に記載されるクロマトグラフィー基質から選択され、表に示される対応する親和性タグに結合されるＸＴＥＮの精製に利用される。当業者には理解されるように、クロマトグラフィー基質のカテゴリーは、異なるマトリックスまたは樹脂に結合された異なる化学基を包含することができ、例えば、アニオン交換基質は、樹脂に結合された第４級トリメチルアンモニウムおよびジエチルアミノエチルを含み、カチオン交換基質は、樹脂に結合されたスルホ、またはスルホプロピル、またはカルボキシメチル、またはリン酸基を含み、ＨＩＣ基質は、樹脂に結合されたエチル、イソプロピル、ブチル、フェニル、またはオクチル基を含み、ＩＭＡＣ基質は、樹脂に結合されたイミノ二酢酸およびニトリロ酢酸基を含む。前述の基質は、例示の目的で列挙され、本発明を実施するために用いられ得る基質の範囲を限定することは意図されない。
【０２６９】
いくつかの実施形態において、本発明は、プロテアーゼによって切断されることができる切断配列（例えば、限定されないが、表８の切断配列）によって第１の親和性タグ、または第１および第２の親和性タグを含むポリペプチドから調製された実質的に均質なＸＴＥＮを提供し、この調製物は、プロテアーゼで処置され、切断配列を切断し、ポリペプチドからＸＴＥＮを放出し、実質的に均質なＸＴＥＮを結合し、次いで溶出し、次いで回収するためのクロマトグラフィーステップが続く。前述の一実施形態において、プロテアーゼはトリプシンであり、切断配列は、トリプシンによって切断されることができ、それらの非限定例は、表１１および１５に列挙される。前述の別の実施形態において、プロテアーゼはＴＥＶであり、切断配列は、ＴＥＶによって切断されることができる。前述の別の実施形態において、切断されたＸＴＥＮは、ＭａｃｏＣａｐ　ＳＰクロマトグラフィー基質に結合することに続いて、塩または緩衝溶液（例えば、限定されないが、リン酸ナトリウム／ＮａＣｌ）を用いた溶出によって精製され、実質的に均質なＸＴＥＮをもたらす。ＸＴＥＮおよび／またはＸＴＥＮを含むポリペプチドの文脈において使用される場合、「実質的に精製された」調製物とは、所与の調製物の個別の分子の少なくとも約８５％、およびより好ましくは少なくとも約９０％、およびより好ましくは少なくとも約９１％、およびより好ましくは少なくとも約９２％、およびより好ましくは少なくとも約９３％、お

よびより好ましくは少なくとも約９４％、およびより好ましくは少なくとも約９５％、またはそれ以上が、同一配列長、言い換えれば、同数のアミノ酸を有することを意味する。長さの均質性のアッセイに利用され得る方法としては、質量分光法、サイズ排除クロマトグラフィー／ＨＰＬＣ、またはＳＤＳ－ＰＡＧＥに続く銀染色が挙げられ、これらの方法を個別に、または集合的に使用して、均質性の程度を定量化することができる。精製のために最適化された親和性タグ配列を持つＸＴＥＮを含むポリペプチドの精製のための一般化スキームは、図４１～４２に示される。精製後、タグは、タンパク質分解的に切断され得るか（図４１Ｂ）、または保持される（図４１Ｃ）。ＸＴＥＮは、図４２に示されるように、ＸＴＥＮの固有のアミノ酸組成物に起因して、汚染物質から精製され得る。

【０２７０】

一実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮを含むポリペプチドの実質的に精製された調製物を産生する方法を提供し、ＸＴＥＮおよび第１の親和性タグをコードする遺伝子を設計するステップと、配列を制御するために操作可能に連結されたコード遺伝子を含む宿主細胞を形質転換するのに適した発現ベクターを形成するステップと、宿主細胞を発現ベクターで形質転換するステップと、結合された親和性タグを持つＸＴＥＮの発現に適した条件下で宿主細胞を培養するステップと、粗発現産物を、親和性精製ステップを含む精製プロセスに供するステップと（この粗発現産物は、第１の親和性タグに選択的に結合する第１のクロマトグラフィー基質の上に負荷される）、クロマトグラフィー基質を洗浄し、このクロマトグラフィー基質に結合されていない物質を溶出するステップと、保持されたタンパク質を適切な条件下で溶出するステップと、溶出液を回収するステップとを含み、回収されたポリペプチドは、実質的に均質な長さである。別の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮを含むポリペプチドの実質的に均質な調製物を産生する方法を提供し、第１および第２の親和性タグを含むＸＴＥＮをコードする遺伝子を設計するステップと、配列を制御するために操作可能に結合されたコード遺伝子を含む宿主細胞を形質転換するのに適した発現ベクターを形成するステップと、宿主細胞を発現ベクターで形質転換するステップと、ポリペプチドの発現に適した条件下で宿主細胞を培養するステップと、粗発現産物を、親和性精製ステップを含む精製プロセスに供するステップと（この溶解物は、第１の親和性タグに選択的に結合する第１のクロマトグラフィー基質の上に負荷される）、クロマトグラフィー基質を洗浄し、このクロマトグラフィー基質に結合されていない物質を溶出するステップと、保持されたタンパク質を適切な条件下で溶出するステップと、溶出液を回収するステップと、第２の親和性タグを持つポリペプチドをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で、回収されたＸＴＥＮポリペプチドを第２のクロマトグラフィー基質の上に負荷するステップと、クロマトグラフィー基質を洗浄し、クロマトグラフィー基質に結合されていない物質を溶出するステップと、第２の親和性タグを持つＸＴＥＮポリペプチドを溶出するのに有効な条件下でＸＴＥＮポリペプチドを溶出するステップと、第１および第２の親和性タグを持つＸＴＥＮポリペプチドを含むポリペプチドを含有する溶出液を回収するステップを含み、回収されたポリペプチドは、実質的に均質な長さである。さらに別の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮを含むポリペプチドの実質的に均質な調製物を産生する方法を提供し、コードされたＸＴＥＮのＮ末端に切断配列によって結合された第１の親和性タグ、およびコードされたＸＴＥＮのＣ末端に切断配列によって結合された第２の親和性タグを含むＸＴＥＮをコードする遺伝子を設計するステップと、配列を制御するために操作可能に結合されたコード遺伝子を含む宿主細胞を形質転換するのに適した発現ベクターを形成するステップと、宿主細胞を発現ベクターで形質転換するステップと、ポリペプチドの発現に適した条件下で宿主細胞を培養するステップと、粗発現産物を、親和性精製ステップを含む精製プロセスに供するステップと（この溶解物は、第１の親和性タグに選択的に結合する第１のクロマトグラフィー基質の上に負荷される）、クロマトグラフィー基質を洗浄し、このクロマトグラフィー基質に結合されていない物質を溶出するステップと、保持されたタンパク質を適切な条件下で溶出し、溶出液を回収するステップと、第２の親和性タグを持つポリペプチドをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で、回収されたポリペプチドを第２のクロマトグラ

フィー基質の上に負荷するステップと、クロマトグラフィー基質を洗浄し、クロマトグラフィー基質に結合されていない物質を溶出するステップと、第２の親和性タグを持つポリペプチドを溶出するのに有効な条件下でポリペプチドを溶出するステップと、次いで、回収されたポリペプチドを、ポリペプチドからＸＴＥＮを放出するのに有効な条件下で、プロテアーゼで処置し、ＸＴＥＮを捕捉することができるが、親和性タグを捕捉することはできないクロマトグラフィー基質の上に物質を負荷するステップと、クロマトグラフィー基質を洗浄し、このクロマトグラフィー基質に結合されていない物質を溶出するステップと、ＸＴＥＮを溶出するステップと、ＸＴＥＮポリペプチドを含有する溶出液を回収するステップとを含み、回収されたＸＴＥＮは、実質的に均質な長さである。このパラグラフに記載される前述の方法の一実施形態において、第１および第２の親和性タグは、表７に記載される親和性タグの群から選択される。本方法の一実施形態において、融合タンパク質としてＸＴＥＮに結合された第１の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含み、ポリペプチドに結合するために使用されるクロマトグラフィー基質は、ＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰである。前述の方法の別の実施形態において、融合タンパク質としてＸＴＥＮの第１の末端に結合された第１の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含み、ＸＴＥＮの第２の末端に結合された第２の親和性タグは、配列ＨＨＨＨＨＨＨＨを含み、ポリペプチドに結合するために使用される第１のクロマトグラフィー基質は、ＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰであり、ポリペプチドに結合するために使用される第２のクロマトグラフィー基質は、固定化金属イオンアフィニティー（ＩＭＡＣ）基質である。前述の方法の別の実施形態において、融合タンパク質としてＸＴＥＮの第１の末端に融合された切断配列に融合された第１の親和性タグは、配列ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲまたはＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲを含み、ＸＴＥＮの第２の末端に融合された切断配列に融合された第２の親和性タグは、配列ＨＨＨＨＨＨまたはＨＨＨＨＨＨＨＨを含み、ポリペプチドに結合するために使用される第１のクロマトグラフィー基質は、ＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰであり、ポリペプチドに結合するために使用される第２のクロマトグラフィー基質は、固定化金属イオンアフィニティー（ＩＭＡＣ）基質であり、切断配列は、アルギニンまたはリジンを含み（限定されないが、表８および９の配列を含む）、トリプシンによって切断され、Ｍａｃｒｏｃａｐ　Ｑは、親和性タグから遊離されるＸＴＥＮに結合するために使用されるクロマトグラフィー基質であるか、または代替例において、遊離されたＸＴＥＮは、プロテアーゼ処置された調製物をカチオン交換、ＨＩＣ、および／またはＩＭＡＣのうちの１つ以上に通すことによって切断産物およびプロテアーゼを捕捉する、フロースルーとして捕捉され、ＸＴＥＮがフロースルー中に残り、次いで実質的に均質な調製物として回収される。

【０２７１】

本方法のステップの順序および特定の条件が、ＸＴＥＮ－親和性タグポリペプチドの組成物、ならびに切断された汚染物質の開始発現レベルおよび汚染の程度に応じて変化することは、当業者によって理解されるであろう。例えば、あるＸＴＥＮ組成物とともに、ＸＴＥＮに結合された単一親和性タグを使用することは、ポリペプチド分子が実質的に均質な長さである調製物を達成するのに十分である。そのような場合、一実施形態において、単一親和性タグは、表７に記載される親和性タグから選択される。他のＸＴＥＮ組成物とともに、第１および第２の親和性タグを使用することは、ポリペプチド分子が実質的に均質な長さである調製物を達成するのに十分であり、そのような場合、一実施形態において、第１および第２の親和性タグは異なり、それぞれが表７に記載される親和性タグから選択される。一旦、切断配列を含むポリペプチドが精製されると、回収されたポリペプチドは、タンパク質分解によって実質的に処置され、１つまたは２つの親和性タグを放出することができ、続いて、処置されたＸＴＥＮをクリマトグラフィー基質に通して、結合された親和性タグのないＸＴＥＮを回収することは、当業者によってさらに理解されるであろう。本方法の概略は図４２に示され、例示的な方法論は実施例に記載される。多くの異なるプロテアーゼは、親和性タグをＸＴＥＮに結合する配列に応じて、末端精製タグの放出に利用することができ、表９から選択されるプロテアーゼが挙げられるが、これに限定さ

れない。一実施形態において、プロテアーゼは、トリプシン、キモトリプシン、タバコエッチモザイクウイルスプロテアーゼ（ＴＥＶ）、ＦＸａ、およびエンテロキナーゼからなる群から選択される。別の実施形態において、ポリペプチドに組み込まれた切断配列は、切断され得るアルギニン残基と、トリプシンで処置することによって除去される親和性タグとを含み、それにより、クロマトグラフィーによって、例えば、アニオン交換（限定されないが、ＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑを含む）を使用する捕捉によって、実質的に精製された形態で実質的に回収されるか、またはフロースルーとして回収されるＸＴＥＮを放出し、非ＸＴＥＮ切断産物およびプロテアーゼは、ＨＩＣ、カチオン交換、またはＩＭＡＣクロマトグラフィーのうちの１つ以上によって捕捉され、実質的に均質なＸＴＥＮをフロースルー中に残す。

【０２７２】

【表７】

【表７】　親和性タグ、および親和性タグに結合するクロマトグラフィー基質カテゴリー

親和性タグアミノ酸配列	クロマトグラフィー基質
LYPYPYP, LYYYPP, WPWP, FPFPFP	HIC
$(Y)_n$, $(W)_n$, $(YP)_n$, $(WP)_n$, $(FP)_n$, $(LP)_n$　n=3-20	HIC
$(RP)_n$, $(KP)_n$, $(HP)_n$, $(H)_n$, $(R)_n$　n=3-20	カチオン交換,、IMAC
$(E)_n$, $(D)_n$, $(ED)_n$, $(EP)_n$, $(DP)_n$　n=3-20	アニオン交換
RPRPRPRPRP	カチオン交換
RPRPRPRPRPGR	カチオン交換
RPRPRPRPRPRPRP	カチオン交換
RPRPRPRPRPRPRPGR	カチオン交換
KPKPKPKPKP	カチオン交換
KPKPKPKPKPGR	カチオン交換
RPRPRPRPRPRPRPRPRP	カチオン交換
RPRPRPRPRPRPRPRPGR	カチオン交換
RPRPRPRPRPRPRPRPRPRP	カチオン交換
RPRPRPRPRPRPRPRPRPRPGR	カチオン交換
RPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRP	カチオン交換
RPRPKPRPKPRPKPRPKP	カチオン交換
PRPKPRPKPRPKPRPKPGR	カチオン交換
RPRPKPRPKPRPKPRPKPRPKP	カチオン交換
RPRPKPRPKPRPKPRPKPRPKPGR	カチオン交換
GSPYGYPYSYS, GSPWGSPTSTE, GSPAGSPTSTE,	HIC
GSPXGXPXSXS, GSPSGXPXSXS, GSPSGTPXSXS（式中、X = Ile, Leu, Val, Phe, Trp, またはTyr）	HIC
GSPXGXPXSXS, GSPSGXPXSXS, GSPSGTPXSXS（式中、X = Arg, Lys, またはHis）	カチオン交換、IMAC
HHHHHH, HHHHHHHH	IMAC
STRPSRRSRRG, STRRGTRRGTRRG,	カチオン交換
STRPSRGRARG, STRPSRRARG, STRPSRRRRG,	カチオン交換
STEPSEESEEG, STEEGTEEGTEEG,	アニオン交換
STEPSEGEAEG, STEPSEEAEG, STEPSEEEEG,	アニオン交換

【０２７３】

【表８】

【表８】　トリプシン切断配列

P4	P3	P2	P1	P1’	P2’
S	A	S	R	S	A
S	A	S	K	S	A
G	S	G	R	A	T
E	A	A	R	H	H
A	P	G	R	H	H
G	S	G	R	G	S
			R	X*	
			K	X*	

＊Ｘ＝プロリン以外の任意のＬアミノ酸

【０２７４】

【表９】

【表９】　プロテアーゼおよびプロテアーゼ切断配列

配列に作用するプロテアーゼ	例示的な切断配列	切断配列*
FXIa	KLTR↓AET	KD/FL/T/R/VA/VE/GT/GV
FXIa	DFTR↓VVG	KD/FL/T/R/VA/VE/GT/GV
FXIIa	TMTR↓IVGG	
カリクレイン	SPFR↓STGG	-/-/FL/RY/SR/RT/-/-
FVIIa	LQVR↓IVGG	
FIXa	PLGR↓IVGG	-/-/G/R/-/-/-/-
FXa	IEGR↓TVGG	IA/E/GFP/R/STI/VFS/-/G
FIIa（トロンビン）	LTPR↓SLLV	-/-/PLA/R/SAG/-/-/-
エラスターゼ-2	LGPV↓SGVP	-/-/-/VIAT/-/-/-/-
グランザイム-B	VAGD↓SLEE	V/-/-/D/-/-/-/-
MMP-12	GPAG↓LGGA	G/PA/-/G/L/-/G/-
MMP-13	GPAG↓LRGA	G/P/-/G/L/-/GA/-
MMP-17	APLG↓LRLR	-/PS/-/-/LQ/-/LT/-
MMP-20	PALP↓LVAQ	
TEV	ENLYFQ↓G	ENLYFQ/G/S
エンテロキナーゼ	DDDK↓IVGG	DDDK/IVGG
プロテアーゼ 3C (PreScission(商標))	LEVLFQ↓GP	LEVLFQ/GP
ソルターゼ A	LPKT↓GSES	L/P/KEAD/T/G/-/EKS/S
トリプシン	K↓X**またはR↓X	K/X またはR/X
トリプシン	R↓X**	SASRSA

↓切断部位を示す

＊スラッシュの前、間、または後の複数のアミノ酸の列挙は、その位置で置換され得る代替アミノ酸を示し、「－」は、任意のアミノ酸が対応するアミノ酸に置換され得、中間カラムに示されることを示す

＊＊ｘは、プロリン以外の任意のＬアミノ酸である

【０２７５】

別の実施形態において、ＸＴＥＮは、末端に結合され、精製を促進するために使用される一方または双方の親和性タグが、最終産物の一部として残り、プロテアーゼ放出ステップの要件を排除することができるように設計され得る。精製タグが薬物産物の一部として残るように設計される場合、顕著な免疫反応を引き起こさないタグ配列が選択される。免疫原性は、計算による予測アルゴリズムまたは実験的アッセイを使用して予測することができる。Ｔ細胞およびＢ細胞エピトープを回避する配列が好適である。捕捉を促進し、任意に共役構築物と関連付けられたままであり得るＸＴＥＮ配列の末端に組み込まれる配列

の非限定例は、表７に提供される。

１０．　ＸＴＥＮの増加した発現のための組成物

別の態様において、本発明は、ＸＴＥＮをコードするポリ核酸配列を含む構築物、および対照共役体において使用するためにＸＴＥＮを製造する方法を提供し、追加のコードポリヌクレオチドヘルパー配列は、ＸＴＥＮをコードするポリヌクレオチドの５’端に付加されるか、またはＸＴＥＮをコードする配列の５’端に結合された親和性タグをコードする配列の５’端に付加され、細菌等の形質転換された宿主細胞中のＸＴＥＮまたは親和性タグポリペプチドに結合された切断配列を持つＸＴＥＮの発現を強化および促進する。そのようなコードされたヘルパー配列の例は、表１０および実施例に提供される。一実施形態において、本発明は、表７に記載される配列の群から選択される第１の親和性タグのＮ末端に結合され、順に、本明細書に記載される切断配列に結合されるか、または表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するＸＴＥＮのＮ末端に直接結合されるかのいずれかである、表１０から選択される配列に対して少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するヘルパー配列を含むポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド配列構築物を提供する。本発明は、高い発現レベルでポリペプチドおよびＸＴＥＮの実質的に均質な調製物を産生するための方法において有用な構築物をコードする発現ベクターを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮと、第１および第２の親和性タグと、ヘルパー配列とを含むポリペプチドの実質的に均質な集団を産生するための方法を提供し、この方法は、発酵反応において、ＸＴＥＮを含むポリペプチドをコードするベクターと、第１および第２の親和性タグとを含む宿主細胞を、ポリペプチドを発現するのに有効な条件下で培養することを含み、発酵反応が６００ｎｍの波長で少なくとも１３０の光学密度に到達するとき、約２ｇ／Ｌ超、または約３ｇ／Ｌ超、または約４ｇ／Ｌ超、または約５ｇ／Ｌ超、または６ｇ／Ｌ超、または約７グラム／リットル（７ｇ／Ｌ）超のポリペプチドが、宿主細胞の粗発現産物の成分として産生されるようにする。一実施形態において、本方法は、ポリペプチドの第１の親和性タグをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で、ポリペプチドを第１のクロマトグラフィー基質の上に吸着させるステップと、ポリペプチドを溶出および回収するステップと、ポリペプチドの第２の親和性タグをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で、ポリペプチドを第２のクロマトグラフィー基質の上に吸着させるステップと、ポリペプチドを溶出するステップと、実質的に均質なポリペプチド調製物を回収するステップと、をさらに含む。前述の方法の一実施形態において、ベクターは、コードされたポリペプチドのＮ末端においてヘルパー配列をコードするヌクレオチドをさらに含み、ヘルパー配列は、表１０に記載される配列に対し少なくとも８０％、または少なくとも９０％、または少なくとも９５％の配列同一性を有する。他の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮと、第１および第２の親和性タグと、ヘルパー配列とを含むポリペプチドの実質的に均質な集団を産生するための方法を提供し、この方法は、発酵反応において、発酵反応が６００ｎｍの波長で少なくとも１３０の光学密度に到達するときに、約１０ミリグラム／グラムを超える乾燥重量宿主細胞濃度（ｍｇ／ｇ）、または少なくとも約２５０マイクロモル／Ｌ、または約３００マイクロモル／Ｌ、または約３５０マイクロモル／Ｌ、または約４００マイクロモル／Ｌ、または約４５０マイクロモル／Ｌ、または約５００マクロモル／Ｌの該ポリペプチドの濃度で、ポリペプチド産物を発現するのに有効な条件下で、ＸＴＥＮと第１および第２の親和性タグとを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を培養することを含む。前述の一実施形態において、この方法は、ポリペプチドの第１の親和性タグをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で、第１のクロマトグラフィー基質の上にポリペプチドを吸着させるステップと、ポリペプチドを

溶出および回収するステップと、ポリペプチドの第２の親和性タグをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で、ポリペプチドを第２のクロマトグラフィー基質の上に吸着させるステップと、ポリペプチドを溶出するステップと、実質的に均質なポリペプチド調製物を回収するステップと、をさらに含む。前述の方法の一実施形態において、ベクターは、コードされたポリペプチドのＮ末端においてヘルパー配列をコードするヌクレオチドをさらに含み、ヘルパー配列は、表１０に記載される配列に対し少なくとも８０％、または少なくとも９０％、または少なくとも９５％の配列同一性を有する。他の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮと、第１および第２の親和性タグと、ヘルパー配列とを含むポリペプチドの実質的に均質な集団を産生するための方法を提供し、この方法は、発酵反応において、発酵反応が６００ｎｍの波長で少なくとも１３０の光学密度に到達するときに、約１０ミリグラム／グラムを超える乾燥重量宿主細胞濃度（ｍｇ／ｇ）、または少なくとも約１５ｍｇ／ｇ、または少なくとも約２０ｍｇ／ｇ、または少なくとも約２５ｍｇ／ｇ、または少なくとも約３０ｍｇ／ｇ、または少なくとも約４０ｍｇ／ｇ、または少なくとも約５０ｍｇ／ｇの該ポリペプチドの濃度で、ポリペプチド産物を発現するのに有効な条件下で、ＸＴＥＮと第１および第２の親和性タグとを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を培養することを含む。前述の一実施形態において、本方法は、ポリペプチドの第１の親和性タグをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で、ポリペプチドを第１のクロマトグラフィー基質の上に吸着させるステップと、ポリペプチドを溶出および回収するステップと、ポリペプチドの第２の親和性タグをクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で、ポリペプチドを第２のクロマトグラフィー基質の上に吸着させるステップと、ポリペプチドを溶出するステップと、実質的に均質なポリペプチド調製物を回収するステップと、をさらに含む。前述の方法の一実施形態において、ベクターは、コードされたポリペプチドのＮ末端においてヘルパー配列をコードするヌクレオチドをさらに含み、このヘルパー配列は、表１０に記載される配列に対し少なくとも８０％、または少なくとも９０％、または少なくとも９５％の配列同一性を有する。別の実施形態において、このパラグラフの前述の方法の構築物は、親和性タグとＸＴＥＮとの間のプロテアーゼ切断配列をコードするヌクレオチドをさらに含み、この方法は、調製物の回収されたポリペプチドが、限定されないが、トリプシン等の切断配列を切断することができるプロテアーゼで処置され、それによりＸＴＥＮをポリペプチドから放出することと、ＸＴＥＮが、ＸＴＥＮを捕捉するのに有効な条件下で、クロマトグラフィー基質の上に吸着されることと、ＸＴＥＮが、実質的に均質なＸＴＥＮとして溶出および回収されることと、を提供する。

【０２７６】

【表１０－１】

【表１０】　細菌中のタンパク質発現、分泌、および処理を促進するヘルパー配列の例

アミノ酸配列*	位のアミノ酸**					
	X1	X2	X3	X4	X5	Z
ADAQKAADNKKP						
KTLVYCSEGSPE						
ENNAQTTNESAG						
KDTIALVVSTLN						
APKDNTWYTGA						
ADVPAGVTLAEK						
KIEEGKLVIWIN						
AEATTAAGGA						
ATGTATSEGSPE						
EPTAATTGESAG						
AETTAPAGST						
APTEATAGTGA						
AETPAGATGAE						
APEEGTAGGA						
SLSTEATAKIVSEFGRDAN						
ANPEQLEEQREETRLIIEE						
SASTEATAKAASEAGRDAN						
ANPEQAEEQREETR						
ANPEQAEEQREET						
ANPEQAEEQSEET						
KNPEQAEEQREET						
KNPEQAEEQSEET						

【０２７７】

【表１０－２】

アミノ酸配列*	位のアミノ酸**					
	X1	X2	X3	X4	X5	Z
KNPEQAEEQAEEQREET						
KNPEQAEEQAEEQSEET						
KNHEQAEEQAEEQSEET						
KKHEQAEEQAEEQSEET						
KKPEQAEEQAEEQREET						
KNHEQEKEKAEEQSEET						
KKQEQEEKKAEEQREET						
KNHEKDEKKAEEQSEET						
KKQEQEKEQAEEQREET						
KNPEQEKEKAEEQREET						
KKPEQEEKQAEEQREET						
KKQEQEKEQAEEQAESEREET						
KKQEQFKEQAEEQSQSQREET						
KKQEQEKEQAEEQSESEREET						
KKQEQEKEQAEEQAKAESEAEREET						
KKQEQEKEQAEEQSKSQAEAEREET						
KKQEQEKEQAEEQAQAQAEDEREET						
KKQEQEKEQAEEQSKSKAEDEREET						
KKQEQEKEQAEEQPEVQREET						
KKQEQFKEQAEEQVENPREET						
KKQEQEKEQAEEQELCEREET						
KKQEQEKEQAEEQGIDTREET						
KNPEQAEEQX1EET	S/R					
ANPEQAEEQX1EET	S/R					
KNPEQAEEQAEEQX1EET	S/R					
KX2X3EQAEEQAEEQX1EET	S/R	K/N	K/N/T/Q/H/P/E/D/A/R/S			
KX2(X3)$_{10}$QX1EET	S/R	K/N	K/N/T/Q/H/P/E/D/A/R/S			
KX2(X3)$_{7}$AEEQX1EET	S/R	K/N	K/N/T/Q/H/P/E/D/A/R/S			
KX2X3EQE(X3)$_{3}$AEEQREET		K/N	K/N/T/Q/H/P/E/D/A/R/S			

【０２７８】

【表１０－３】

アミノ酸配列*	位のアミノ酸**					
	X1	X2	X3	X4	X5	Z
KX2X3EQE(X3)$_3$AEE(X3)$_5$		K/N	K/N/T/Q/H/P/E/D/A/R/S			
KKQEQEKEQAEEQ(X4X5)$_2$REET				A/S	K/Q/E	
KKQEQEKEQAEEQ(X4X5)$_4$REET				A/S	K/Q/E	
KKQEQEKEQAEEQ(Z)$_4$REET						任意の
KX2(X3)$_n$、式中、n=10-40		K/N	K/N/T/Q/H/P/E/D/A/R/S			
(X3)$_n$、式中、n=10-50			K/N/T/Q/H/P/E/D/A/R/S			
KX2QEQEKEQAEEQ(X4X5)$_n$X1EET、式中、n=0-10	S/R	K/N		A/S	K/Q/E	
KX2(X3)$_n$(X4X5)$_m$X1EET、式中、n=5-20およびm=0-10	S/R	K/N	K/N/T/Q/H/P/E/D/A/R/S	A/S	K/Q/E	
KX2(X3)$_n$(Z)$_m$X1EET、式中、n=5-20およびm=0-20	S/R	K/N	K/N/T/Q/H/P/E/D/A/R/S			任意

＊式中、ｎまたはｍ＝０であり、隣接するアミノ酸は連続している

＊＊「／」によって分離される代替とともに、アミノ酸配列エントリーの所与の位置で利用され得るアミノ酸（複数可）を示す

【０２７９】

ＩＩＩ）．　ペイロード

本発明は、１つ以上のペイロード分子に結合されたＸＴＥＮ共役体に部分的に関する。ＸＴＥＮは、生物学的に活性なペプチド、タンパク質、ポリマー、薬理学的に活性な小分子、ポリ核酸、標的ペプチドおよびタンパク質、標的小分子、抗体および抗体フラグメント、および撮像小分子ペイロード、ならびに２、３、４、またはそれ以上の種類のペイロードを持つ組成物をもたらす、これらの種類のペイロードの組合せを含む、広範なペイロード分子に結合され得ることが企図される。本発明は、必要とする対象に体外から投与された治療的および診断的ペイロード、ならびに治療成分および標的成分を含み得るペイロードの組合せの終末相半減期を増加させることにおける長年の必要性に対応する。

【０２８０】

本発明のＸＴＥＮへの結合において使用するための薬理学的に活性なペイロード剤の機能別区分の非限定例は、以下のうちのいずれか１つ以上であり得る：睡眠薬および鎮静剤、精神賦活剤、精神安定、呼吸器系薬、抗けいれん薬、筋弛緩薬、抗パーキンソン病薬（ドーパミン拮抗薬）、鎮痛剤、抗炎症剤、抗不安薬（ａｎｘｉｏｌｙｔｉｃｓ）、食欲抑制剤、抗片頭痛薬、筋収縮薬、抗感染薬（抗生物質、抗ウイルス薬、抗真菌薬、ワクチン）、抗関節炎薬、抗マラリア薬、制吐薬、抗てんかん薬、気管支拡張剤、凝固因子、サイトカイン、ケモカイン、インターロイキン、成長因子、成長ホルモン、内分泌性ホルモン、外分泌性ホルモン、インスリン、グルコース調節ペプチド、抗癌剤、抗血栓剤、降圧剤、心臓脈管薬、抗不整脈薬、抗酸化薬、抗喘息薬、ホルモン剤（避妊薬を含む）、交感神経様作用薬、利尿薬、脂質調節薬、抗アンドロゲン剤、抗寄生虫薬、抗凝固剤、新生物薬、抗新生物薬、血糖降下薬、栄養剤および補給剤、成長補給剤、抗腸炎薬、ワクチン、抗体、診断薬、造影剤、および放射性造影剤。

【０２８１】

より具体的に、活性ペイロードは、多数の構造区分のうちの１つに分類され得、小分子薬、生物学的に活性なタンパク質（ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、組換えタンパク質、抗体、および糖タンパク質）、ステロイド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、脂肪、電解質等が挙げられるが、これらに限定されない。ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物の場合、ペイロードは、適切に反応性の官能基（天然アミノ基、ス

ルフィドリル基、カルボキシル基、アルデヒド基、ケトン基、アルケン基、アルキン基、アジド基、アルコール基、ヘテロシクルが挙げられるが、これらに限定されない）を有する薬理学的に活性な薬剤であり得るか、または代替として、本明細書に記載されるか、またはそうでなければ、そのような反応基を共役するために当該技術分野において有用であることが知られている共役方法のうちのいずれかを使用し、本発明のＸＴＥＮ、ＸＴＥＮ－架橋剤、またはＸＴＥＮ－クリック化学反応物のいずれかに連結するために適した前述の反応基のうちの少なくとも１つを含有するように修飾されることが特に企図される。特定の官能部分およびそれらの反応性は、Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，２ｎｄ　Ｅｄ．Ｔｈｏｍａｓ　Ｓｏｒｒｅｌｌ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｂｏｏｋｓ，Ｈｅｒｎｄｏｎ，ＶＡ（２００５）に記載されている。さらに、反応基を含有するか、または反応基を含有するように修飾された任意のペイロードは、ＸＴＥＮ、ＸＴＥＮ－架橋剤、またはＸＴＥＮ－クリック化学反応物のいずれかが結合される共役後の残基も含有することが理解されるであろう。

【０２８２】

ＸＴＥＮポリマー、ＸＴＥＮ－架橋剤、またはＸＴＥＮ－クリック化学反応物のいずれかへの共有結合に適した例示的なペイロードとしては、生物学的に活性なタンパク質、および活性を持つ薬理学的に活性な小分子薬が挙げられる。本発明の組成物に適した例示的な薬物は、公式米国薬局方、公式米国ホメオパシー薬局方、または公式国民医薬品集、医師用添付文書集（ＰＤＲ）、および米国食品医薬品局（ＦＤＡ）によって維持されるオレンジブックに記載されるように見出され得る。好適な薬物は、必要な反応性官能基を有するもの、または共役のための反応性官能基を提供するように容易に誘導体化され得るものであり、ＸＴＥＮに共役されるとき、非共役ペイロードの薬理学的活性の少なくとも一部を保持する。

１．　ペイロードとしての薬物

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される対象ＸＴＥＮ、ＸＴＥＮ－架橋剤、またはＸＴＥＮ－クリック化学反応物への共役のための薬物ペイロードは、本明細書に記載されるか、または表１１のペイロードから選択される１つ以上の薬剤、またはその薬学的に許容される塩、酸、または誘導体もしくはアゴニストである。一実施形態において、薬物は、本明細書に記載される対象ＸＴＥＮ、ＸＴＥＮ－架橋剤、またはＸＴＥＮ－クリック化学反応物に共役するための反応基を導入するように誘導体化される。別の実施形態において、共役のための薬物は、限定されないが、バリン－シトルリン－ＰＡＢ等の切断可能なリンカーを導入するように誘導体化され、リンカーは、対象に投与した後の循環または細胞内プロテアーゼによって切断されることができ、それによって薬物を共役体から遊離させる。

【０２８３】

【表１１－１】

【表１１】　ＸＴＥＮへの共役のための薬物

薬物
エルロチニブ；ボルテゾミブ；アリトレチノイン、アロプリノール、三酸化ヒ素、クロファラビン、デキシラゾキサン、 フルベストラント（Fulvestrant）；ステント（SU11248）、レトロゾール；メシル酸イマチニブ；PTK787／ZK 222584；ベンダムスチン；ロミデプシン（Romidepsin）；プララトレキサート（Pralatrexate）；カバジタキセル（XRP-6258）；エベロリムス（RAD-001）；アビラテロン；オキサリプラチン；5-FU（5-フルオロウラシル）、ロイコボリン、ラパマイシン；ラパチニブ；ロナファルニブ；ソラフェニブ；ゲフィチニブ；シクロスホスファミド；ブスルファン；インプロスルファン；ピポスルファン；ベンゾドーパ；カルボクオン；メツレドーパ；ウレドーパ；アルトレタミン；トリエチレンメラミン；トリエチレンホスホルアミド；トリエチレンチオホスホルアミド；トリメチロメラミン；プラタシン；プタラシノン；カンプトテシン；トポテカン；ブリオスタチン；カリスタチン；CC-1065；アドゼレシン；カリケアマイシン；オーリスタチン；モノメチルオーリスタチンＥ（MMAE）；モノメチルオールスタチンＦ（MMAF）；（バリン-シトルリン-PAB）-モノメチルオーリスタチンＥ；（バリン-シトルリン-PAB）-モノメチルオーリスタチンＦ；カルゼレシン；ビゼレシン；クリプトフィシン（特にクリプトフィシン１およびクリプトフィシン８）；ドラスタチン；デュオカルマイシン；エリウセロビン；パンクラチスタチン；サルコジクチイン；スポンジスタチン；クロラムブシル；クロルナファジン；コロホスファミド；エストラムスチン；イフォスファミド；メクロレタミン；塩酸メクロレタミン；メルファラン；ノブエンビキン；フェネステリン；プレドニムスチン；トロフォスファミド；ウラシルマスタード；カルムスチン；クロロゾトシン；フォテムスチン；ロムスチン；ニムスチン；ラニムスチン；カリケアミシン；ダイネミシン；ダイネミシンＡ；クロドロン酸塩；エスペラミシン；ネオカルジノスタチンクロモフォア；アクラシ

【０２８４】

【表１１－２】

薬物
ノマイシン；アントラマイシン；アザセリン；プレオマイシン；カクチノマイシン；カラビシン；カルミノマイシン；カルジノフィリン；クロモマイシン；ダクチノマイシン；ダウノルビシン；デトルビシン；デトルビシン；6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン；ドキソルビシン；モルホリノ-ドキソルビシン；レナリドミド、シアノモルホリノ-ドキソルビシン；（バリン-シトルリン-PAB）-ドキソルビシン；2-ピロリノ-ドキソルビシンおよびデオキシドキソルビシン；エピルビシン；エソルビシン；イダルビシン；マルセロマイシン；ミトマイシンC；ミコフェノール酸；ノガラマイシン；オリボマイシン；ペプロマイシン；ポトフィロマイシン；ピューロマイシン；ケラマイシン；ロドルビシン；ストレプトニグリン；ストレプトゾシン；ツベルシジン；ウベニメクス、ジノスタチン；ゾルビシン；5-フルオロウラシル（5-FU）；フデノプテリン（fdenopterin）；メトトレキセート、プテロプテリン（pteropterin）；トリメトレキセート；フルダラビン；6-メルカプトプリン；チアミプリン、アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、メクロレタミン；フロキシウリジン；カルステロン；プロピオン酸ドロモスタノロン；エピチオスタノール；メピチオスタン；テストラクトン；アミノグルテチミド；トリロスタン；フロリン酸；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ピサントレン；エダトレキセート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォルミチン（elformithine）；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；ガリウムニトレート；ヒドロキシウレア；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシノイズ、アンサミトシン；ミトグアゾン；モピダンモール（mopidanmol）；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ロソキサントロン；メトキサレン；ポドフィルリニック酸；2-エチルヒドラジン；プロカルバジン；ラゾキサン；リゾキシン；リバビリン；ジゾブジン；アシクロビル（acyclovir）；ガンシクロビル（gangcyclovir）；ビダラビン；イドキシウリジン；トリフルリジン；フォスカーネット；アマンタジン；リマンタジン；サクイナビル（saquinavir）；インジナビル；リトナビル；α-インターフェロンおよび他のインターフェロン；AZT；シゾフラン；スピロゲルマニウム；テニュアゾン酸；トリアジクオン；2，2′，2″-トリクロロトリエチルアミン；T-2トキシン；ベラキュリン（verracurin）A；ロリジンA；アングイジン（anguidine）；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン（gacytosine）；アラビノシド（「Ara-C」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド；エパクリタキセル；パクリタキセル；ドセタキセル；ドキセタキセル；イリノテカン；ペメトレキセド（pemetrexed）；クロランブシル；ゲムシタビン；6-チオグアニン；シスプラチン；カルボプラチン；ビンブラスチン；プラチナ；エトポシド；VP-16；イフォスファミド；ミトキサントロン；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート（edatrexate）；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ（xeloda）；イバンドロネート（ibandronate）；CPT-11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS 2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイン酸；カペシタビン；メスナ；リドカイン；ブピバカイン（bupivacaine）；メマンチン；キナクリン；ドネペジル；リバスチグミン；ガラ

【０２８５】

【表１１－３】

薬物
ンタミン；モルフィン；オキシコドン；ヒドロモルフォン；オキシモルフォン；メトポン；アポモルフィン；ノルモルフィン；エトリフィン；ブプレノルフィン；メペリジン；ロペルミド；アニレリジン；エトヘプタジン；ピミニジン；ベタプロジン；ジフェノキシレート；フェンタニル；スフェンタニル；アルフェンタニル；レミフェンタニル；レボルファノール；デキストロメトルファン；フェナゾシン；ペンタゾシン；シクラゾシン；メタドン；イソメタドン；プロポキシフェン；ナロキソン；ナルトレキソン；トレプロスチニル；N-メチルナロキソン；6-アミノ-14-ヒドロキシ-17-アリルノルデソモルフィン（allylnordesomorphine）；ナルトレンドール（naltrendol）；N-メチルナルトレキソン；ナルブフィン；ブトルファノール；シクラゾシン；ペンタゾシン；ナルメフェン；ナルトリンドール；ノルビナルトルフィミン（nor-binaltorphimine）；オキシロルファン；6-アミノ-6-デソキソ-ナロキソン；ペンタゾシン；レバロルファンメチルナルトレキソン（levallorphanmethylnaltrexone）；ブプレノルフィン；シクロルファン；レバロルファン；シクロスポリン；シクロスポリンA；ミコフェニレートモフェチル；シロリムス；タクロリムス；プレドニゾン；アザチオプリン；シクロホスファミド；プレドニゾン；アミノカプロン酸；クロロキン；ヒドロキシクロロキン；デキサメタゾン；クロラムブシル；ダナゾール；ブロモクリプチン；ニロチニブ（Nilotinib）（AMN107）；ネララビン（Nelarabine）、アミフォスチン、アミオダロン（amiodarone）、アミノカプロン酸、アミノ馬尿酸ナトリウム、アミノグルテチミド（aminoglutethimide）、アミノレブリン酸、アミノサリチル酸、アムサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アスパラギナーゼ、アントラシクリン、ベキサロテン（bexarotene）、ビカルタミド、ブレオマイシン、ブセレリン、ブスルファン、カベルゴリン、カペシタビン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシン、シラスタチンナトリウム、シスプラチン、クラドリビン、クロドロネート（clodronate）、シクロホスファミド、シプロテロン、シタラビン、カンプトテシン、13-シスレチノイン酸、オールトランスレチノイン酸；ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デフェロキサミン、デキサメタゾン、ジクロフェナク、ジエチルスチルベストロール、ドセタキセル、ドキソルビシン、エピルビシン、エストラムスチン、エトポシド、エキセメスタン、フェキソフェナジン（fexofenadine）、フルダラビン、フルドロコツチゾン、フルオロウラシル、フルオキシメステロン、フルタミド、ゲムシタビン、エピネフリン、L-ドーパ、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イフォスファミド、イマチニブ、イリノテカン、イトラコナゾール、酢酸ゴセレリン、レトロゾール、ロイコボリン、レバミゾール（levamisole）、リシノプリル（lisinopril）、ロボチロキシンナトリウム、メクロレタミン（mechlorethamine）、メドロキシプロゲステロン、メゲストロール、メルファラン、重酒石酸メタラミノール、メトクロプラミド、メキシレチン、ミトマイシン、ミトタン、ナロキソン、ニコチン、ニルタミド、オクトレオチド、パミドロネート（pamidronate）、ピルカマイシン、ポリフィマー、プレドニゾン、プロクロルペラジン、オンダンセトロン、ラルチトレキセド（raltitrexed）、シロリムス、タクロリムス、タモキシフェン、テモゾロミド、テストステロン、テトラヒドロカンナビノール、サリドマイド、チオグアニン、トポテカン、トレチノイン、バルルビシン、ビンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビン、

【０２８６】

【表１１－４】

薬物
ドラステロン、グラニセトロン；フォルモテロール（formoterol）、フルチカゾン（fluticasone）、ロイプロリド、ミダゾラム、アルプラゾラム、アンフォテリシン（amphotericin）B、ポドフィロトキシン、ヌクレオシド抗ウイルス剤、アロイルヒドラゾン、スマトリプタン；マクロリド、例えば、エリスロマイシン、オレアンドマイシン（oleandomycin）、トロレアンドマイシン（troleandomycin）、ロキシスロマイシン（roxithromycin）、クラリスロマイシン（clarithromycin）、ダペルシン、アジスロマイシン、フルリスロマイシン、ジリスロマイシン、ジョサマイシン（josamycin）、スピロマイシン、ミデカマイシン、ロイコマイシン、ミオカマイシン、ロキタマイシン（rokitamycin）、アンダジスロマイシン（andazithromycin）、およびスウィノリド（swinolide）A；フルオロキノロン、例えば、シプロフロキサシン（ciprofloxacin）、オフロキサシン、レボフロキサシン、トロバフロキサシン（trovafloxacin）、アラトロフロキサシン（alatrofloxacin）、モキシフロキシン（moxifloxicin）、ノルフロキサシン（norfloxacin）、エノキサシン（enoxacin）、グレパフロキサシン（grepafloxacin）、スニチニブ、ガチフロキサシン、ロメフロキサシン（lomefloxacin）、スパルフロキサシン（sparfloxacin）、テマフロキサシン（temafloxacin）、ペフロキサシン、アミフロキサシン、フレロキサシン、トスフロキサシン、プルリフロキサシン、イルロキサシン（irloxacin）、パズフロキサシン（pazufloxacin）、クリナフロキサシン、およびシタフロキサシン；アミノグリコシド、例えば、ゲンタマイシン、ネチルマイシン、パラメシン（paramecin）、トブラマイシン（tobramycin）、アミカシン（amikacin）、カナマイシン、ネオマイシン、およびストレプトマイシン、バンコマイシン、テイコプラニン、ラムポラニン（rampolanin）、ミデプラニン（mideplanin）、コリスチン、ダプトマイシン、グラミシジン、コリスチメタート；ポリミキシン、例えばポリミキシンB、カプレオマイシン、バシトラシン、ペネム；ペニシリン（ペニシリンG、ペニシリンV等のペニシラーゼ感受性薬を含む）；ペニシラーゼ抵抗性薬（メチシリン、オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フロキサシリン、ナフシリン等）；グラム陰性微生物活性薬（アンピシリン、アモキシシリン、およびヘタシリン、シリン（cillin）、およびガランピシリン（galampicillin）等）；抗シュードモナスペニシリン（カルベニシリン、チカルシリン、アズロシリン、メズロシリン、およびピペラシリン等）；セファロスポリン（セフポドキシム、セフプロジル、セフチブテン（ceftbuten）、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セファロチン、セファピリン、セファレキシン、セフラドリン（cephradrine）、セフォキシチン、セファマンドール、セファゾリン、セファロリジン、セファクロル、セファドロキシル、セファログリシン、セフロキシム、セファラニド、セフォタキシム、セファトリジン、セファセトリル、セフェピム、セフィキシム、セフォニシド、セフォペラゾン、セフォテタン、セフメタゾール、セフタジジム、ロラカルベフ、およびモキサラクタム、モノバクタム（アズトレオナム等）；およびカルバペネムス、例えばイミペネム、メロペネム、ペンタミジンイセチオネート、硫酸アルブテロール、リドカイン、硫酸メタプロテレノール、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、トリアムシノロンアセトアミド、ブデソニドアセトニド、フルチカゾン、臭化イプラトロピウム、フルニソリド、クロモリンナトリウム、および酒石酸エルゴタミン；タキサン、例

【０２８７】

【表１１－５】

薬物
えばパクリタキセル、SN-38、チルホスチン（tyrphostines）、20-epi-1，25ジヒドロキシビタミンD3、5-エチニルウラシル、アビラテロン、アシビシン（Acivicin）、アクラルビシン（Aclarubicin）、塩酸アコダゾール、AcrQnine、アシルフルベン、アデシペノール、アドラマイシン、アルデスロイキン（Aldesleukin）、ALL-TKアンタゴニスト、アンバムスチン、アミドックス、アンボマイシン（Ambomycin）、酢酸アメタントロン（Ametantrone Acetate）、アムルビシン、アンドログラフォリド、血管新生阻害剤、アンタゴニストD、アンタゴニストG、アントラレリックス、抗アンドロゲン、抗ドーセライジング（dorselizing）形態形成タンパク質-1、抗エストロゲン、代謝拮抗物質、抗ネオプラストン、抗エストロゲン、アンチセンスオリゴヌクレオチド、抗ベノム、アフィジコリングリシナート（aphidicolin glycinate）、アポトーシス遺伝子調節因子、アポトーシス調節因子、アプリン酸、ara-CDP-DL-PTBA、アルギニン脱アミノ酵素、アスペルリン（Asperlin）、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチン、アトルサクリン（atrsacrine）、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザセトロン、アザトキシン、アザチロシン、Azptepa:アゾトマイシン、バカチンIII誘導体、バラノール、バチマスタット（Batimastat）、BCR／ABLアンタゴニスト、ベンゾクロリン、ベンゾデパ（Benzodepa）、ベンゾイルスタウロスポリン、スタウロスポリン、β-アレチン、ベタクラマイシンB、ベタラクタム誘導体、ベタメタゾン、ベツリン酸、bFGF阻害剤、ビカルタミド（Bicalutamide）、塩酸ビサントレン（Bisantrene Hydrochloride）、ビサジリジニルスペルミン、ビスナフィド、ジメシル酸ビスナジド、ビストラテンA、硫酸ブレオマイシン、ブレフラート、ブレキナルナトリウム（Brequinar Sodium）、ブロミンエピアンドロステロン（bromine epiandrosterone）、ブロピリミン（Bropirimine）、ブドチタン、ブチオニンスルホキシミン（buthionine sulfoximine）、カルシポトリオール、カルホスチンC、カンプトテシン誘導体、カナリポックスIL-2、カペドタビン、カラセミド、カルベチマー（Carbetimer）、カルボキシアミド-アミノ-トリアゾール:カルボキシアミドトリアゾール、CaRestM3、CARN700、軟骨由来阻害剤、塩酸カルビシン、カゼインキナーゼ阻害剤（ICOS）、カスタノスペルミン、セクロピンB、セデフィンゴール（Cedefingol）、セトロレリックス、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミド、クロロトリアニセン、シカプロスト（cicaprost）、シロレマイシン（Cirolemycin）、シス-ポリフィリン、クロミフェン類似体、クロトリマゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コムブレタスタチンA4、コムブレタスタチン類似体、コナゲニン、クランベスシジン（crambescidin）816、クリスナトール、メシル酸クリスナトール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、クラシンA、シクロペンタントラキノン、シクロプラタム、シペマイシン、シタラビンオクフォスフェート（cytarabineocfosfate）、細胞溶解因子（cytolyticfactor）、シトスタチン、細胞毒性薬、塩酸ダウノルビシン、デシタビン、デヒドロジデムニン（dehydrodidemnin）B、デスロレリン、デキシフォスファミド、デキソルマプラチン（Dexormaplatin）、デクスラゾキサン（dexrmzoxane）、デクスベラパミル（dexverapamil）、デザグアニン（Dezaguanine）、メシル酸デザグアニン、DHEA、ジアジクオン、ジカルバジン、ジデムニン13、ジドックス、ジエチルノルスペルミン、ジヒドロ-5-アザシチジン:

【０２８８】

【表１１－６】

薬物
ジヒドロタキソール、9-ジオキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、ドコサノール、塩酸ドキソルビシン、ドロロキシフェン、クエン酸ドロロキシフェン、プロピオン酸ドロモスタノロン、ドロナビノール、デュアゾマイシン（Duazomycin）、デュオカニシン（duocannycin）SA、エブセレン、エコルスチン、エデルフォシン、エドロコロマブ、塩酸エフロミチン、エフロミチン、エレメン、エルサミトルシン、エミテフール（emitefur）、エンロプラチン、エピアンドロステロン、エピプロピジン、塩酸エピルビシン、エプリステリド、エルブロゾール（Erbulozole）、赤血球遺伝子治療、塩酸エソルビシン、エストラムスチン類似体、エストロゲンアゴニスト、エストロゲンアンタゴニスト、エタニダゾール、エチニロエストラジオール、ヨード化油1131、リン酸エトポシド、エトプリン、ファドロゾール（fadrozole）、塩酸ファドロゾール、ファザラビン（Fazarabine）、ファザラビン、フェンレチニド、フェンレチニド:フロキシウリジン、フィナステリド（finasteride）、フラボピリドール（flavopiridol）、フレゼラスチン、リン酸フルダラビン、塩酸フルオロダウノルビシン、フルロシタビン、ホルフェニメックス、ホルメスタン、フォスキドン（Fosquidone）、フォストリエシン、フォストリエシンナトリウム、ガドリニウムテキサフィリン（gadoliniumtexaphyrin）、ガロシタビン、ガニレリックス、ガラチナーゼ阻害剤:ゲムシタビン、塩酸ゲムシタビン、グルタチオン阻害剤、金Au198、ゴセレリン、ヘプスルファム、ヘレグリン、ヘキサメチレンビスアセトアミド、ヘキサメチルメラミン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン:モノホスホリル脂質A+マイコバクテリウム細胞壁k、ヒペリシン、イバンドロン酸、塩酸イダルビシン、イドキシフェン、イドラマントン、イルモフォシン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド（imiquimod）、免疫刺激ペプチド:インスリン様成長因子-1受容体阻害剤、インターフェロンアゴニスト、インターフェロンα-2a、インターフェロンα-2b、インターフェロンα-n1、インターフェロンα-n3、インターフェロンβ-1a、インターフェロンγ-1b、イオベングアン、ヨードドキソルビシン、イポメアノール、イプロプラチン、塩酸イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベンガゾール、イソホモハリコンドリンB、イタセトロン、ジャスプラキノリド、カハラリド（kahalalide）F、ラメラリン-ニトリアセテート、ランレオチド（lanreotide）、酢酸ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、硫酸レンチナン、レプトルスタチン、白血病阻害因子、白血球αインターフェロン、酢酸ロイプロリド、ロイプロリド+エストロゲン+プロゲステロン、ロイプロレリン、塩酸リアロゾール、直鎖ポリアミン類似体、脂溶性二糖ペプチド、脂溶性白金化合物、リソクリナミド（lissoclinamide）7、ロバプラチン、ロムプリシン、ロメトレキソール、ロメトレキソールナトリウム、ロニダミン、塩酸ロソキサントロン、ロバスタチン、ロキソルビン、ルプロリド、ルートテカン（lurtotecan）、ルテトルメテキサフィリン（lutetlumtexaphyrin）、リソフィリン、細胞膜溶解型ペプチド（lyticpeptide）、マイタンシン、マンノスタチンA、マリマスタット、マソプロコール（Masoprocol）、マスピン、マトリリシン阻害剤、マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤、メカプトプリン、塩酸メクロレタミン、酢酸メゲストロール、酢酸メレンゲストロール、メノガリル、メルバロン、メテレリン、メチオニナーゼ、メトロレタミン、メトプリン、メツレデパ（Meturedepa）、ミクロアルガル、ミフェプリ

【０２８９】

【表１１－７】

薬物
ストン、MIF阻害剤、ミルテフォシン、ミリモスチム、ミスマッチ二重鎖RNA、ミチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトグリリン、ミトグアゾン、ミトマルシン、ミトマイシン類似体、ミトナフィド、ミトスペル（Mitosper）、ミトトキシン線維芽細胞増殖因-サポリン、モファロテン、モルグラモスチム、モノクローナル抗体、多剤抵抗性遺伝子阻害剤、多腫瘍抑制剤1に基づく治療、マスタード抗癌剤、ムタマイシン、ミカペルオキシド（mycaperoxide）B、マイコバクテリア細胞壁抽出物、ウシ型結核菌（Mycobacterium bovis）、ミリアポロン、N-アセチルジナリン:N-置換ベンズアミド、ナファレリン、ナグレスチップ（nagrestip）、ナロキソン+ペンタゾシン、ナパビン、ナフテルピン、ナルトグラスチム、ネダプラチン、ネモルビシン、ネリドロン酸、中性エンドペプチダーゼ、ニサマイシン、酸化窒素調節剤、窒素マスタード誘導体、ニトロキシド抗酸化剤、ニトルリン、ノコダゾール:ノガラマイシン、O6-ベンジルグアニン、エストラジオール、オキセノン、オリゴヌクレオチド、オナプリストン:オンダンセトロン、オンダンセトロン、オラシン、経口サイトカイン誘導剤、オルマプラチン（Ormaplatin）、オサテロン、オキサウノマイシン、オキシスラン、パラウアミン、パルミトイルリゾキシン、パミドロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン:ペグアスパルガーゼ（pegaspargase）、ペグアスパルガーゼ、ペルデシン:ペントサンポリ硫酸ナトリウム、ペリオマイシン（Peliomycin）、ペンタムスチン、ペントロゾール、硫酸ペプロマイシン、ペルフルブロン、ペルフォスファミド、ペリリルアルコール、フェナジノマイシン、フェニル酢酸、ホスファターゼ阻害剤、ピシバニル、塩酸ピロカルピン、ピリトレキシム、塩酸ピロキサントロン、プラセチンA，プラセチンB、プラスミノゲン活性剤阻害剤、白金錯体、白金化合物、白金-トリアミン錯体、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマーナトリウム、塩酸プロカルバジン、プロピルビス-アクリドン、プロスタグランジンJ2、前立腺癌、プロテアソーム阻害剤、タンパク質A系免疫調節剤、タンパク質キナーゼC阻害剤、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、塩酸ピューロマイシン、プルプリン、ピラゾフリン、ピラゾアクリジン、ピリドキシル化ヘモグロビンポリオキシエチレン共役体、rafアンタゴニスト、ラモセトロン、ラスファルネシルタンパク質トランスフェラーゼ阻害剤、ras阻害剤:ras-GAP阻害剤、脱メチル化レテリプチン、レニウムRe186エチドロネート、リボプリン、リボザイム、RII レチンアミド、RM-131（グレリンアゴニスト）、RM-493（メラノコルチン型4受容体のアゴニスト）、ログレチミド、ロヒツキン、ロムルチド、ロキニメックス（roquinimex）、ルビギノンB1、ルボキシル、塩酸サフィンゴール、サフィンゴール、サイントピン:Sar CNU、サルコフィトールA、サルグラモスチム、Sdi1模倣体、セムスチン、老齢由来の阻害剤1、センスオリゴヌクレオチド、シグナル伝達阻害剤、シグナル伝達調節剤、シムトラゼン（Simtrazene）、一本鎖抗原結合タンパク質、ソブゾキサン、ボロカプテートナトリウム、フェニル酢酸ナトリウム、ソルベロール、ソマトメジン結合タンパク質、ソネルミン、スパルホサートナトリウム（Sparfosate Sodium）、スパルホス酸、スパルソマイシン（Sparsomycin）、塩酸スピロゲルマニウム、スピロムスチン、スピロムスチン:スプレノペンチン、スピロプラチン、スピカマイシンD、スクアラミン、幹細胞阻害剤、幹細胞分割阻害剤、スチピアミド（stipiamide）、ストロメ

【０２９０】

【表１１－８】

薬物
リシン阻害剤、塩化ストロンチウムSr89、スルフモシン、スロフェヌル（Sulofenur）、超活性血管作用性腸ペプチドアンタゴニスト、スラジスタ、スラミン、スワインソニン（swainsonine）、合成グリコサミノグリカン、タリソマイシン、タリムスチン、タモキシフェン、メチオジド、タウロムスチン、タザロテン、テコガランナトリウム（Tecogalan Sodium）、テガフール（Tegafur）、テルラピリリウム、テルノポルフィン、テロメラーゼ阻害剤、塩酸テロキサントロン（Teloxantrone Hydrochloride）、テモポルフィン、テルノゾロミド、テロキシロン、テトラクロロデカオキシド、テトラゾミン、タキソテレ（texotere）、タルブラスチン、チオコラリン、トロンボポエチン模倣体、チマルファシン、チモポエチン受容体アゴニスト、チモトリナン、甲状腺刺激ホルモン、チアゾフリン、チネチロチオプルプリン、チラパザミン、二塩酸チタノセン、塩酸トポテカン、トプセンチン、トレミフェン、クエン酸トレミフェン、全能性幹細胞因子、翻訳阻害剤、酢酸トレストロン、トリアセチルウリジン、トリシリビン、リン酸トリシリビン:トリメトレキサート、グルクロン酸トリメトレキサート、トリプトレリン、トリプトレリン:トロピセトロン、塩酸ツブロゾール、ツロステリド、チロシンキナーゼ阻害剤、UBC阻害剤、ウロデパ、尿生殖洞由来の成長阻害因子、ウロキナーゼ受容体アンタゴニスト、バプレオチド、バリオリンB、ベクター系、ベラレソール（velaresol）、ベノム、ベラミン、ベルジン、ベルレポルフィン、ベルテポルフィン、硫酸ビンプラスチン、硫酸ビンクリスチン、ビンデシン、硫酸ビンデシン、硫酸ビネビジン、硫酸ビングリシナート、硫酸ビンロイロシン、酒石酸ビノレルビン、硫酸ビンロシジン、ビンキサルチン、硫酸ビンゾリジン、ビタキシン、ボロゾール、ザノテロン、ザニプラチン、ジラスコルブ（zilascorb）、ジノスタチンスチマラマー、塩酸ゾルビシン、ウシ膵臓RNase、ヒト膵臓RNAse、哺乳類膵臓RNase、オンコナーゼ（onconase）、ランピルナーゼ、ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ラケルマイシン、リシン-A鎖、ゲロニン、エベロリムス、カルフィルゾミブ、ツブリシン、ツブリシンB、ツブリシンM、マイタンシノイドDM1、マイタンシノイドDM4、トリプトリド、SJG-136、アバジクオン、イロフルベン、イルジンS、トマイマイシン、ゾレドロネート（zoledronate）。

【０２９１】

２．　ペイロードとしての生物学的に活性なタンパク質

別の態様において、本発明は、ペイロードが、ペプチドまたはポリペプチドのいずれかとして、生物学的に活性なタンパク質である、ＸＴＥＮ－ペイロード組成物を提供する。ＸＴＥＮ－ペイロード共役体のいくつかの実施形態において、ペイロードは、１つ以上のＸＴＥＮに結合された融合タンパク質として組換え的に発現され得る任意の薬理学的に活性なペプチドまたはポリペプチドである。ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の他の実施形態において、ペイロードは、１つ以上のＸＴＥＮに共役され得る任意の薬理学的に活性なペプチドまたはポリペプチドである。共役体は、本明細書において以下に記載されるような構成であり得る。例示的なペプチドまたはポリペプチドペイロードは、類似体、アゴニスト、アンタゴニスト、阻害剤、および異性体を包含することを意味する。対象ペプチドおよびタンパク質は、合成、半合成、組換え、天然、グリコシル化、および非グリコシル化形態、ならびに得られた変異タンパク質が、親または天然タンパク質の活性の一部分を保持する限り、それらの生物学的に活性なフラグメント、配列変異体、種、変異体、ホモログ、および突然変異を包含することが理解されるであろう。

【０２９２】

生物学的に活性なタンパク質配列は、公的に入手可能なデータベース、特許、または参照文献、および当該技術分野において周知である他のそのようなソースから入手することができる。例えば、配列は、Ｕｎｉｖｅｒｓａｌ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｒｅｓｏｕｒｃｅ（ＵｎｉＰｒｏｔ）／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ、Ｅｕｒｏｐｅａｎ　Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ（ＥＢＩ）、ＳＩＢ　Ｓｗｉｓｓ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ　ｏｆ　Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ　Ｒｅｓｏｕｒｃｅ（ＰＩＲ）から入手することができる。Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ａｂｓｔｒａｃｔｓ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ（ＣＡＳ）レジストリー番号（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｓｏｃｉｅｔｙにより公表される）および／またはＧｅｎＢａｎｋ受入番号（例えば、ＡＡＡ－ＡＺＺ、ＨＡＡ－ＨＺＺ、ＪＡＡ－ＪＺＺ）、モデルタンパク質識別子は、Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃｅｎｔｅｒ　ｆｏｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ（Ｎ

ＣＢＩ）ウェブページを通じて入手可能（ワールドワイドウェブｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ上で入手可能）であり、関心対象のタンパク質のアミノ酸配列、またはそのタンパク質のフラグメントもしくは変異体を含む、ＣＡＳレジストリーまたはＧｅｎＢａｎｋデータベースにおけるエントリーに対応する。本明細書に提供されるそのような配列識別子の場合、これらのＣＡＳおよびＧｅｎＢａｎｋおよびＧｅｎＳｅｑ受入番号ならびに引用されるジャーナル刊行物（例えば、ＰｕｂＭｅｄ　ＩＤ番号（ＰＭＩＤ））のそれぞれと関連付けられる要約ページは、特にそこに記載されるアミノ酸配列に関して、それぞれ参照によりそれら全体が組み込まれる。

【０２９３】

一実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロード組成物は、組換え形態であるか、または共役形態であるかにかかわらず、表１２に記載されるペイロードから選択されるペプチドまたはポリペプチドを含むが、これらに限定されない生物学的に活性なペプチドまたはタンパク質、または生物学的に活性なタンパク質の活性の少なくとも一部分を保持するその配列変異体の１つ以上の分子を含む。「配列変異体」とは、生物学的に活性なタンパク質が、例えば、表１２に列挙される既知のペプチドまたはポリペプチドのそれに対し、最適に整列されたとき、少なくとも約８０％、または９０％、または９１％、または９２％、または９３％、または９４％、または９５％、または９６％、または９７％、または９８％、または９９％の配列同一性を呈することを意味する。

【０２９４】

【表１２－１】

【表１２】　ＸＴＥＮに結合するための生物学的に活性なタンパク質

タンパク質／ペプチド名
EPO、IFN-α、IFN-β、IFN-γ、コンセンサスIFN、第VII因子、第VIII因子、第IX因子、IL-1、IL-2、レミケード（インフリキシマブ）、リツキサン（リツキシマブ）、エンブレル（エタネルセプト）、シナジス（パリビズマブ）、レオプロ（アブシキシマブ）、Herceptin（トラスツジマブ）、tPA、セリザイム（イミグルセラーゼ）、B型肝炎ワクチン、rDNAse、α-1プロテイナーゼ阻害剤、C-ペプチド、フゼオン、G-CSF、GM-CSF、成長ホルモン、ソマトロピン、成長ホルモン放出ホルモン、インスリン、インスリン類似体、グルカゴン、GLP-1、GLP-2、FSH、TNF受容体、ウリカーゼ、VEGF、PTH、アスパリギナーゼ、アムドキソビル（DAPD）、アンチド、ベカプレルミン（becaplermin）、カルシトニン、シアノビリン、デニロイキンジフチトクス（denileukin diftitox）、エリスロポエチン（EPO）、セレダーゼ、セレザイム、α-グルコシダーゼ、コラーゲン、シクロスポリン、αデフェンシン、βデフェンシン、エキセンジン-4、顆粒球コロニー刺激因子（GCSF）、トロンボポエチン（TPO）、α-1プロテイナーゼ阻害剤、エルカトニン、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GMCSF）、フィブリノゲン、フィルグラスチム、成長ホルモンヒト成長ホルモン（hGH）、成長ホルモン放出ホルモン（GHRH）、GRO-β、GRO-β抗体、骨形態形成タンパク質、例えば、骨形態形成タンパク質-2、骨形態形成タンパク質-6、OP-1；酸性線維芽細胞成長因子、塩基性線維芽細胞成長因子、CD-40リガンド、ヘパリン、ヒト血清アルブミン、低分子量ヘパリン（LMWH）、インターフェロン、例えば、インターフェロンα、インターフェロンβ、インターフェロンγ、インターフェロンω、インターフェロンτ、コンセンサスインターフェロン；インターロイキンおよびインターロイキン受容体、例えば、インターロイキン-1受容体、インターロイキン-2、インターロイキン-2融合タンパク質、インターロイキン-1受容体アンタゴニスト、インターロイキン-3、インターロイキン-4、インターロイキン-4受容体、インターロイキン-6、インターロイキン-8、インターロイキン-12、インターロイキン-13受容体、インターロイキン-17受容体；ラクトフェリンおよびラクトフェリンフラグメント、黄体形成ホルモン放出ホルモン（LHRH）、インスリン、プロインスリン、インスリン類似体（例えば、米国特許第5，922，675号に記載されるモノアシル化インスリン）、アミリン、ソマトスタチン、ソマトスタチン類似体（オクトレオチドを含む）、バソプレッシン、卵胞刺激ホルモン（FSH）、インフルエンザワクチン、インスリン様成長因子（IGF）、インスリントロピン、マクロファージコロニー刺激因子（M-CSF）、プラスミノゲン活性剤、例えば、アルテプラーゼ、ウロキナーゼ、レテプラーゼ、ストレプトキナーゼ、パミテプラーゼ、ラノテプラーゼ、およびテネテプラーゼ；神経成長因子（NGF）、オステオプロテゲリン、血小板由来成長因子、組織成長因子、形質転換成長因子-1、血管内皮成長因子、白血病阻害因子、ケラチン生成細胞成長因子（KGF）、グリア成長因子（GGF）、T細胞受容体、CD分子／抗原、腫瘍壊死因子（TNF）、単球走化性タンパク質-1、内皮成長因子、副甲状腺ホルモン（PTH）、チモシンαI、チモシンαI IIb／IIIa阻害剤、チモシンβ10、チモシンβ9、チモシンβ4、α-1抗トリプシン、ホスホジエステラーゼ（PDE）化合物、VLA-4（最晩期抗原-4）、VLA-4阻害剤、ビスホスホネート、呼吸系発疹ウイルス抗体、嚢胞性線維症膜制御因子（CFTR）遺伝子、デオキシリボヌクレアーゼ（Dnase）、殺菌性／透過性増加タンパク質（BPI）、抗CMV抗体、エタネルセプト、アブシキシマブ、アフェリオモマ

【０２９５】

【表１２－２】

タンパク質／ペプチド名
ブ、バシリキシマブ、ダクリズマブ、インフリキシマブ、イブルモマブチルエクセタン（ibritumomab tiuexetan）、ミツモマブ（mitumomab）、ムロモナブ（muromonab）-CD3、ヨード131トシツモマブ共役体、オリズマブ、リツキシマブ、トラスツズマブ（ハーセプチン）、ボックストックス（boxtox）、ディスポート（Dysport）、アルグルコシダーゼα、ダプトマイシン、YH-16、コリオゴナドトロピンα、フィルグラスチム、セトロレリックス、インターロイキン-2、アルデスロイキン、テセロイキン、デニロイキンジフチトックス、インターフェロンα-n3（注入）、インターフェロンα-n1、DL-8234、インターフェロン、サントリー（Suntory）（γ-1a）、インターフェロンγ、チモシンα1、タソネルミン、DigiFab、ViperaTAb、EchiTAb、CroFab、ネシリチド、アバタセプト、アレファセプト、Rebif、エプトテルミンα、テリパラチド（骨粗鬆症）、カルシトニン（注入剤、骨疾患）、カルシトニン（鼻、骨粗鬆症）、エタネルセプト、ヘモグロビングルタマー250（ウシ）、ドロトレコギンα、コラゲナーゼ、カルペリチド、組換えヒト上皮成長因子（局所ゲル、創傷治癒）、DWP-401、ダルベポエチンα、エポエチンω、エポエチンβ、エポエチンα、デシルジン、レピルジン、ビバリルジン、ノナコグα、モノニン（Mononine）、エプタコグα（活性化）、組換え第VIII因子+VWF、リコネイト（Recombinate）、組換え第VIII因子、第VIII因子（組換え）、アルファナート（Alphanate）、オクトコグα、第VIII因子、パリフェルミン、インジキナーゼ、テネクテプラーゼ、アルテプラーゼ、パミテプラーゼ、レテプラーゼ、ナテプラーゼ、モンテプラーゼ、フォリトロピンα、rFSH、hpFSH、ミカファンギン（micafungin）、ペグフィルグラスチム、レノグラスチム、ナルトグラスチム、セルモレリン、グルカゴン、エクセナチド、プラムリンチド、イミグルセラーゼ、ガルスルファーゼ、ロイコトロピン、モルグラモスチム、酢酸トリプトレリン、ヒストレリン、酢酸ヒストレリン、デスロレリン、ナファレリン、ロイプロリド持続放出デポー（ATRIGEL）、ロイプロリドインプラント（DUROS）、ソマトロピン、Eutropin、KP-102プログラム、ソマトロピン、ソマトロピン、メカセルミン（成長障害）、エンフビルチド（enfuvirtide）、Org-33408、インスリングラルギン、インスリングルリジン、インスリン（吸入）、インスリンリスプロ、インスリンデテミル、インスリン（頬内、RapidMist）、メカセルミンリンファバート（mecasermin rinfabate）、アナキンラ（anakinra）、セルモロイキン、99mTc-アプシチド注入、ミエロピド（myelopid）、ベベータセロン（Betaseron）、酢酸グラチラマー、Gepon、オプレルベキン（oprelvekin）、ヒト白血球由来αインターフェロン、Bilive、インスリン（組換え）、組換えヒトインスリン、インスリンアスパルト、メカセルミン、Roferon-A、インターフェロン-α2、アルファフェロン（Alfaferone）、インターフェロンアルファコン-1、インターフェロンα、Avonexの組換えヒト黄体形成ホルモン、ドルナーゼα、トラフェルミン、ジコノチド、タルチレリン、ジボテルミンα、アトシバン、ペカプレルミン、エプチフィバチド（eptifibatide）、Zemaira、CTC-111、Shanvac-B、HPVワクチン（四価）、NOV-002、オクトレオチド、ランレオチド、アンセスチム、アガルシダーゼβ、アガルシダーゼα、ラロニダーゼ、プレザチド銅酢酸塩（局所ゲル）、ラスブリカーゼ、ラニビズマブ、Actimmune、PEG-イントロン、トリコミン（Tricomin）、組換えハウスダストダニアレルギー脱感作注入、組換えヒト副甲状腺ホルモン（PTH）1-84（sc、骨粗鬆症）、エポエ

【０２９６】

【表１２－３】

タンパク質／ペプチド名
チン δ、トランスジェニック抗トロンビン III、グランジトロピン、ビトラーゼ（Vitrase）、組換えインスリン、インターフェロン α（経口トローチ剤）、GEM-21S、パプレオチド、イズルスルファーゼ、オマパトリラト（omapatrilat）、組換え血清アルブミン、セルトリズマブペゴール、グルカルピダーゼ、ヒト組換えC1エステラーゼ阻害剤（血管性浮腫）、ラノテプラーゼ、組換えヒト成長ホルモン、エンフビルチド（無針注入、Biojector 2000）、VGV-1、インターフェロン（α）、ルシナクタント、アビプタジル（吸入、肺疾患）、イカチバント（icatibant）、エカランチド（ecallantide）、オミガナン、Aurograb、酢酸ペキシガナン、ADI-PEG-20、LDI-200、デガレリックス、シントレデキンベスドトックス（cintredekin besudotox）、FavId、MDX-1379、ISAtx-247、リラグルチド、テリパラチド（骨粗鬆症）、チファコギン（tifacogin）、AA-4500、T4N5リポソームローション、カツマキソマブ（catumaxomab）、DWP-413、ART-123、クリサリン（Chrysalin）、デスモテプラーゼ、アメジプラーゼ、コリフォリトロピン α、TH-9507、テヅグルチド（teduglutide）、Diamyd、DWP-412、成長ホルモン（持続放出注入）、組換えG-CSF、インスリン（吸入、AIR）、インスリン（吸入、Technosphere）、インスリン（吸入、AERx）、RGN-303、DiaPep277、インターフェロン β（C型肝炎ウイルス感染（HCV））、インターフェロン α-n3（経口）、ベラタセプト、経皮インスリンパッチ、AMG-531、MBP-8298、Xerecept、オペバカン（opebacan）、AIDSVAX、GV-1001、LymphoScan、ランピルナーゼ、リポキシサン（Lipoxysan）、ルスプルチド、MP52（β-リン酸トリカルシウム担体、骨再生）、メラノーマワクチン、シプリューセル（sipuleucel）-T、CTP-37、Insegia、ビテスペン（vitespen）、ヒトトロンビン（凍結、外科的出血）、トロンビン、TransMID、アルフィメプラーゼ、ウリカーゼ（Puricase）、テルリプレッシン、EUR-1008M、組換えFGF-1、BDM-E、ロチガプチド、ETC-216、P-113、MBI-594AN、デュラマイシン（吸入、嚢胞性繊維症）、SCV-07、OPI-45、エンドスタチン、アンジオスタチン、ABT-510、ボーマンバーク阻害剤濃縮物、XMP-629、99mTc-Hynic-Annexin V、カハラリド F、CTCE-9908、テベレリックス（長期放出）、オザレリックス、ロミデプシン、BAY-50-4798、インターロイキン-4、PRX-321、Pepscan、イボクタデキン、rhラクトフェリン、TRU-015、IL-21、ATN-161、シレンギチド、アルブフェロン、ビファシックス（Biphasix）、IRX-2、ωインターフェロン、PCK-3145、CAP-232、パシレオチド、huN901-DM1、卵巣癌免疫治療ワクチン、SB-249553、Oncovax-CL、OncoVax-P、BLP-25、CerVax-16、ネミフィチド、rAAT（吸入）、rAAT（皮膚科学）、CGRP（吸入、喘息）、pegsunercept、チモシン β-4、プリチデプシン、GTP-200、ラモプラニン、GRASPA、OBI-1、AC-100、サケカルシトニン（経口、エリゲン）、カルシトニン（経口、骨粗鬆症）、エキサモレリン、カプロモレリン、カルデバ（Cardeva）、ベラフェルミン、1311-TM-601、KK-220、TP-10、ウラリチド、デベレスタット、ヘマチド、クリサリン（Chrysalin）（局所）、rNAPc2、組換え第VIII因子（PEG化リポソーム）、bFGF、PEG化組換えスタフィロキナーゼ変異体、V-10153、SonoLysis Prolyse、NeuroVax、CZEN-002、島細胞新生療法、rGLP-1、BIM-51077、LY-548806、エキセナチド、AVE-0010、GA-GCB、アボレリン、AOD-9604、酢酸リナクロチド、CETi-1、ヘモスパン（Hemospan）、VAL（注入用）、インスリン、組換えメチオニルヒトレプチン、ピトラキンラ（皮下注入、湿疹）、ピトラキンラ（吸入乾燥粉

【０２９７】

【表１２－４】

タンパク質／ペプチド名
末、喘息）、Multikine、RG-1068、MM-093、NBI-6024、AT-001、PI-0824、Org-39141、Cpn10（自己免疫疾患／炎症）、タラクトフェリン（局所）、rEV-131（眼科）、rEV-131（呼吸器系疾患）、経口組換えヒトインスリン（糖尿病）、RPI-78M、CYT-99007、CTLA4-Ig、DTY-001、バラテグラスト、インターフェロンα-n3（局所）、IRX-3、RDP-58、タウフェロン、胆汁塩活性化リパーゼ、ペリスパーゼ（Merispase）、アルカリンホスファターゼ、EP-2104R、メラノタン（Melanotan）-II、ブレメラノチド、ATL-104、組換えヒトマイクロプラスミン、AX-200、SEMAX、ACV-1、Xen-2174、CJC-1008、ジノルフィンA、SI-6603、LAB GHRH、AER-002、BGC-728、マラリアワクチン（ビロソーム、PeviPRO）、ALTU-135、パルボウイルスB19ワクチン、インフルエンザワクチン（組換えノイラミニダーゼ）、マラリア／HBVワクチン、アントラックスワクチン、Vacc-5q、Vacc-4x、HIVワクチン（経口）、HPVワクチン、Tat Toxoid、YSPSL、CHS-13340、PTH（1-34）リポソームクリーム（Novasome）、オスタポリン-C、PTH類似体（局所、乾癬）、MBRI-93．02、MTB72Fワクチン（結核）、MVA-Ag85Aワクチン（結核）、FAR-404、BA-210、組換えブラークF1Vワクチン、AG-702、OxSODrol、rBetV1、Der-p1／Der-p2／Der-p7アレルゲン標的ワクチン（ホコリダニアレルギー）、PR1ペプチド抗原（白血病）、変異rasワクチン、HPV-16 E7リポペプチドワクチン、迷路ワクチン（腺癌）、CMLワクチン、WT1-ペプチドワクチン（癌）、IDD-5、CDX-110、Pentrys、Norelin、CytoFab、P-9808、VT-111、イクロカプチド、テルベルミン、ルピントリビル、reticulose、rGRF、P1A、α-ガラクトシダーゼA、ACE-011、ALTU-140、CGX-1160、アンジオテンシン治療ワクチン、D-4F、ETC-642、APP-018、rhMBL、SCV-07（経口、結核）、DRF-7295、ABT-828、ErbB2特異的免疫毒素（抗癌）、DT388IL-3、TST-10088、PRO-1762、Combotox、コレシストキニン-B／ガストリン受容体結合ペプチド、111In-hEGF、AE-37、トランスツズマブ-DM1、アンタゴニストG、IL-12（組換え）、PM-02734、IMP-321、rhIGF-BP3、BLX-883、CUV-1647（局所）、L-19系放射免疫療法薬（癌）、Re-188-P-2045、AMG-386、DC／1540／KLHワクチン（癌）、VX-001、AVE-9633、AC-9301、NY-ESO-1ワクチン（ペプチド）、NA17 A2ペプチド、メラノーマワクチン（パルス抗原療法薬）、前立腺癌ワクチン、CBP-501、組換えヒトラクトフェリン（ドライアイ）、FX-06、AP-214、WAP-8294A2（注入用）、ACP-HIP、SUN-11031、ペプチドYY[3-36]（肥満、鼻腔内）、FGLL、アタシセプト、BR3-Fc、BN-003、BA-058、ヒト副甲状腺ホルモン1-34（経鼻、骨粗鬆症）、F-18-CCR1、AT-1001（セリアック病／糖尿病）、JPD-003、PTH（7-34）リポソームクリーム（Novasome）、デュラマイシン、CAB-2、CTCE-0214、エリスロポエチン、EPO-Fc、CNTO-528、AMG-114、JR-013、第XIII因子、アミノカンジン、PN-951、716155、SUN-E7001、TH-0318、BAY-73-7977、テペレリックス（即時放出）、EP-51216、hGH、OGP-I、シフビルチド、TV-4710、ALG-889、Org-41259、rhCC10、F-991、チモペンチン（肺疾患）、r（m）CRP、肝選択的インスリン、スバリン、L19-IL-2融合タンパク質、エラフィン、NMK-150、ALTU-139、EN-122004、rhTPO、トロンボポエチン受容体アゴニスト、AL-108、AL-208、神経成長因子アンタゴニスト（疼痛）、SLV-317、CGX-1007、INNO-105、経口テリパラチド（エリゲン）、GEM-OS1、AC-162352、PRX-302、LFn-p24融合ワクチン（Therapore）、EP-1043、hPTH（1-34）、768974、SYN-101、PGN-0052、アビスクミン、BIM-23190、エンカスチム、APC-8024、GI-5005、ACC-

【０２９８】

【表１２－５】

タンパク質／ペプチド名
001、TTS-CD3、TNF、デスモプレッシン、onercept、TP-9201、AC165198、アクチビン受容体IIA型、アデノシンデアミナーゼ、アジポチド、アフォスターゼα（アルカリンホスファターゼ）、αメラニン細胞刺激ホルモン、α-1抗トリプシン、α-ガラクトシダーゼ、アンジオテンシン、抗アンジオポエチン-1阻害剤、抗アンジオポエチン-2阻害剤、アポリポタンパク質A1、アルカリスト、アルギニンデイミナーゼ、アスパラギナーゼ、アチルモチン、AZD2820、ブラジキニン受容体アンタゴニスト、カルシトニン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド、センデリチド、コレシストキニン、繊毛神経向性因子（CNTF）、シリゲニチド、凝固第IX因子、凝固第VII因子、凝固第VIII因子、凝固第X因子、凝固第XIII因子、コラゲナーゼ、補体C1エステラーゼ阻害剤（conestat α）、補体因子C3阻害剤、補体因子C5阻害剤、コルチコトロピン放出因子、C-ペプチド、C型ナトリウム利尿ペプチド、デフェンシン、DiaPep277、ジフェンヒドラミン、エカランチド（Ecallantide）、エンドスタチン、エプチフィバチド、フィブリノゲン、線維芽細胞成長因子受容体アニストゴ、卵胞刺激ホルモン（FSH）、フォリスタチン、FP-1039（FGFトラップ）、フゼオン（Fuzeon）、ガストリン、グレリン（Ghrelin）、グレリンアンタゴニスト、GIP-1、GIP-1／GLP-1デュアルアゴニスト、グルカゴン、グルカゴン様ペプチド（GLP）1、グルカゴン様ペプチド（GLP）2、グルコセレブロシダーゼ（セレザイム）、グルタミン酸カルボキシペプチダーゼ（カルボキシペプチダーゼG2）、グルタミナーゼ、顆粒球コロニー刺激因子（GCSF）、成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン（GHRH）、ヘマチド、ヘパリナーゼ、ヒルジン、ヒト柔毛膜性生殖腺刺激ホルモン（hCG）、ヒトデオキシリボヌクレアーゼI、Humanin、ヒアルロニダーゼ、イカチバント、イデュロナート-2-スルファターゼ（エラプラーゼ）、INGAP（Exsulin）、インスリン、イリシン、KAI-4169、レビルジン（レフルダン）、白血病阻害因子、L-イデュロニダーゼ、LRP5阻害剤、LRP6阻害剤、黄体形成ホルモン（LH）、マクロファージ炎症性タンパク質2（GroBeta-T CXCケモカイン）、マンノース結合レクチン、メラノコルチン刺激ホルモン、メチオニナーゼ（METase）、ミロスチペン、MUC1阻害剤、ミオスタチン阻害剤、N-アセチルガラクトサミン4-スルファターゼ（ナグラザイム）、神経成長因子（セレブロリジン）、神経ペプチドY2、ニューロフィリン、NU206、オンコナーゼ（ランピルナーゼ）、Ontak（IL-2-トキシン）、オピオイド成長因子、オキシントモデュリン、オキシトシン、パリペリドン、膵臓ポリペプチド、PanCyte、副甲状腺ホルモン（PTH）、副甲状腺ホルモン関連タンパク質（PTHrP）、ペプチドYY（3-36）、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（PAL）、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ（PAH）、下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド（PACAP）、血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ、POT-4（APL-1）、プラムリンチド、P-セレクチン、リラキシン、rhDNase（Pulmozyme）、RNase、Sanvar、セクレチン、SN38、ソマトスタチン（オクトレオチド、パシレオチド、サンドスタチン等）、ソマバート（Somavert）（ヒト成長ホルモン受容体アンタゴニスト）、幹細胞成長因子、Sスーパーオキシドジスムターゼ、TACI、トロンビン阻害剤（直接）、トロンボモデュリン、トロンボポエチン（TPO）、サイモシンα1（サイマルファシン）、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、サイロトロピン放出ホルモン、チガポチド（Tigapotide）、組織プラスミノーゲン活性化因子（tPA）、TLN-232、トリペプチジルペプチダーゼ1、腫瘍壊死因子受容体、チロシンキナーゼ受容体（TrkA）、

【０２９９】

【表１２－６】

タンパク質／ペプチド名
UGP281、尿酸オキシダーゼ、ウリカーゼ、ウロコルチン２、ウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子、血管内皮成長因子（VEGF）阻害剤、血管作用性小腸ペプチド、バソプレッシン、フォンビルブランド因子（vWF）、ジコノチド（Prialt）、亜鉛プロトポルフィリン、副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）、CD25、インターロイキン-1受容体、インターロイキン-21、ABCF1、ACVR1、ACVR1B、ACVR2、ACVR2B、ACVRL1、ADORA2A、アグレカン、AGR2、AICDA、AIF1、AIG1、AKAP1、AKAP2、AMH、AMHR2、ANGPT1、ANGPT2、ANGPTL3、ANGPTL4、ANPEP、APC、APOC1、APRIL、AR、AZGP1（亜鉛-a-糖タンパク質）、A4インテグリン、B7、B7．1、B7．2、BAD、BAFF、BAG1、BAI1、BCL2、BCL6、BDNF、BLNK、BLR1（MDR15）、BlyS、BMP1、BMP2、BMP3B（GDF10）、BMP4、BMP6、BMP8、BMPR1A、BMPR1B、BMPR2、BPAG1（プレクチン）、BRCA1、C19またはf10（IL27w）、C3、C4A、C5、C5R1、CANT1、CASP1、CASP4、CAV1、CCBP2（D6／JAB61）、CCL1（1-309）、CCL11（エオタキシン）、CCL13（MCP-4）、CCL15（MIP-1d）、CCL16（HCC-4）、CCL17（TARC）、CCL18（PARC）、CCL19（MIP-3b）、CCL2（MCP-1）、MCAF、CCL20（MIP-3a）、CCL21（MIP-2）、SLC、エクソダス-2、CCL22（MDC／STC-1）、CCL23（MPIF-1）、CCL24（MPIF-2／エオタキシン-2）、CCL25（TECK）、CCL26（エオタキシン-3）、CCL27（CTACK／ILC）、CCL28、CCL3（MIP-1a）、CCL4（MIP-1b）、CCL5（RANTES）、CCL7（MCP-3）、CCL8（mcp-2）、CCNA1、CCNA2、CCND1、CCNE1、CCNE2、CCR1（CKR1／HM145）、CCR2（mcp-1RB／RA）、CCR3（CKR3／CMKBR3）、CCR4、CCR5（CMKBR5／ChemR13）、CCR6（CMKBR6／CKR-L3／STRL22／DRY6）、CCR7（CKR7／EBI1）、CCR8（CMKBR8／TER1／CKR-L1）、CCR9（GPR-9-6）、CCRL1（VSHK1）、CCRL2（L-CCR）、CD164、CD19、CD1C、CD20、CD200、CD-22、CD24、CD28、CD3、CD37、CD38、CD3E、CD3G、CD3Z、CD4、CD11a（LFA-1インテグリンαL）、CD40、CD40L、CD44、CD45RB、CD52、CD69、CD72、CD74、CD79A、CD79B、CD8、CD80、CD81、CD83、CD86、CD340、CDH1（E-カドヘリン）、CDH10、CDH12、CDH13、CDH18、CDH19、CDH20、CDH5、CDH7、CDH8、CDH9、CDK2、CDK3、CDK4、CDK5、CDK6、CDK7、CDK9、CDKN1A（p21Wap1／Cip1）、CDKN1B（p27Kip1）、CDKN1C、CDKN2A（p16INK4a）、CDKN2B、CDKN2C、CDKN3、CEBPB、CER1、CHGA、CHGB、キチナーゼ、CHST10、CKLFSF2、CKLFSF3、CKLFSF4、CKLFSF5、CKLFSF6、CKLFSF7、CKLFSF8；CLDN3；CLDN7（クラウジン-7）；CLN3；CLU（クルステリン）；cMET；CMKLR1；CMKOR1（RDC1）；CNR1；COL18A1；COL1A1；COL4A3；COL6A1；CR2；CRP；CSF1（M-CSF）；CSF2（GM-CSF）；CSF3（GCSF）；CTLA4；CTNNB1（b-カテニン）；CTSB（カテプシンB）；CX3CL1（SCYD1）；CX3CR1（V28）；CXCL1（GRO1）；CXCL10（IP-10）；CXCL11（I-TAC／IP-9）；CXCL12（SDF1）；CXCL13；CXCL14；CXCL16；CXCL2（GRO2）；CXCL3（GRO3）；CXCL5（ENA-78／LIX）；CXCL6（GCP-2）；CXCL9（MIG）；CXCR3（GPR9／CKR-L2）；CXCR4；CXCR6（TYMSTR／STRL33／Bonzo）；CYB5；CYC1；CYSLTR1；DAB2IP；DES；DKFZp451J0118；DNCL1；DPP4；E2F1；ECGF1；EDG1；EFNA1；EFNA3；EFNB2；EGF；EGFR；ELAC2；エラスターゼ；ENG；ENO1；ENO2；ENO3；EPHB4；EPO；ERBB-2（Her2）；EREG；ERK8；ESR1；ESR2；F3（TF）；FADD；FasL；FASN；FCER1A；FCER2；FCGR3A；FGF；FGF1（aFGF）；FGF10；FGF11；FGF12；FGF12B；FGF13；FGF14；FGF16；FGF17；FGF18；FGF19；FGF2（bFGF）；FGF20；FGF21；FGF22；FGF23；FGF3（int-2）；FGF4（HST）；FGF5；FGF6（HST-2）；FGF7（KGF）；FGF8；FGF9；FGFR3；FIGF（VEGFD）；FIL1

【０３００】

【表１２－７】

タンパク質／ペプチド名
(EPSILON) ; FIL1 (ZETA) ; FLJ12584 ; FLJ25530 ; FLRT1 (フィブロネクチン) ; FLT1 ; FOS ; FOSL1 (FRA-1) ; FY (DARC) ; GABRP (GABAa) ; GAGEB1 ; GAGEC1 ; GALNAC4S-6ST ; GATA3 ; GDF5 ; GFI1 ; GGT1 ; GM-CSF ; GNAS1 ; GNRH1 ; GPR2 (CCR10) ; GPR31 ; GPR44 ; GPR81 (FKSG80) ; GRCC10 (C10) ; GRP ; GSN (ゲルゾリン) ; GSTP1 ; HAVCR2 ; HDAC4 ; HDAC5 ; HDAC7A ; HDAC9 ; HER2 ; HGF ; HIF1A ; HIP1 ; ヒスタミンおよびヒスタミン受容体 ; HLA-A ; HLA-DRA ; HM74 ; HMOX1 ; HUMCYT2A ; ICEBERG ; ICOSL ; ID2 ; IFNA ; IFNA1 ; IFNA2 ; IFNA4 ; IFNA5 ; IFNA6 ; IFNA7 ; IFNB1 ; IFNγ ; IFNW1 ; IGBP1 ; IGF1 ; IGF1R ; IGF2 ; IGFBP2 ; IGFBP3 ; IGFBP6 ; IL-1 ; IL10 ; IL10RA ; IL10RB ; IL11 ; IL11RA ; IL-12 ; IL12A ; IL12B ; IL12RB1 ; IL12RB2 ; IL13 ; IL13RA1 ; IL13RA2 ; IL14 ; IL15 ; IL15RA ; IL16 ; IL17 ; IL17B ; IL17C ; IL17R ; IL18 ; IL18BP ; IL18R1 ; IL18RAP ; IL19 ; IL1A ; IL1B ; IL1F10 ; IL1F5 ; IL1F6 ; IL1F7 ; IL1F8 ; IL1F9 ; IL1HY1 ; IL1R1 ; IL1R2 ; IL1RAP ; IL1RAPL1 ; IL1RAPL2 ; IL1RL1 ; IL1RL2 ; IL1RN ; IL2 ; IL20 ; IL20RA ; IL21R ; IL22 ; IL22R ; IL22RA2 ; IL23 ; IL24 ; IL25 ; IL26 ; IL27 ; IL28A ; IL28B ; IL29 ; IL2RA ; IL2RB ; IL2RG ; IL3 ; IL30 ; IL3RA ; IL4 ; IL4R ; IL5 ; IL5RA ; IL6 ; IL6R ; IL6ST (糖タンパク質130) ; IL7 ; IL7R ; IL8 ; IL8RA ; IL8RB ; IL8RB ; IL9 ; IL9R ; ILK ; INHA ; INHBA ; INSL3 ; INSL4 ; IRAK1 ; IRAK2 ; ITGA1 ; ITGA2 ; ITGA3 ; ITGA6 (a6インテグリン) ; ITGAV ; ITGB3 ; ITGB4 (b4インテグリン) ; JAG1 ; JAK1 ; JAK3 ; JUN ; K6HF ; KAI1 ; KDR ; KITLG ; KLF5 (GC Box BP) ; KLF6 ; KLK10 ; KLK12 ; KLK13 ; KLK14 ; KLK15 ; KLK3 ; KLK4 ; KLK5 ; KLK6 ; KLK9 ; KRT1 ; KRT19 (ケラチン19) ; KRT2A ; KRTHB6 (毛髪特異的II型ケラチン) ; LAMA5 ; LEP (レプチン) ; LFA3 ; LIGHT ; Lingo-p75 ; Lingo-Troy ; LPS ; LTA (TNF-b) ; LTB ; LTB4R (GPR16) ; LTB4R2 ; LTBR ; MACMARCKS ; MAG またはOmgp ; MAP2K7 (c-Jun) ; MDK ; MIB1 ; ミドカイン ; MIF ; MIP-2 ; MKI67 (Ki-67) ; MMP2 ; MMP9 ; MS4A1 ; MSMB ; MT3 (メタロチオネクチン-III) ; MTSS1 ; MUC1 (ムチン) ; MYC ; MYD88 ; NCK2 ; ニューロカン ; NFKB1 ; NFKB2 ; NGFB (NGF) ; NGFR ; NgR-Lingo ; NgR-Nogo66 (Nogo) ; NgR-p75 ; NgR-Troy ; NME1 (NM23A) ; NOX5 ; NPPB ; NR0B1 ; NR0B2 ; NR1D1 ; NR1D2 ; NR1H2 ; NR1H3 ; NR1H4 ; NR1I2 ; NR1I3 ; NR2C1 ; NR2C2 ; NR2E1 ; NR2E3 ; NR2F1 ; NR2F2 ; NR2F6 ; NR3C1 ; NR3C2 ; NR4A1 ; NR4A2 ; NR4A3 ; NR5A1 ; NR5A2 ; NR6A1 ; NRP1 ; NRP2 ; NT5E ; NTN4 ; ODZ1 ; OPRD1 ; P2RX7 ; PAP ; PART1 ; PATE ; PAWR ; PCA3 ; PCNA ; PDGFA ; PDGFB ; PECAM1 ; PF4 (CXCL4) ; PGF ; PGR ; ホスファカン ; PIAS2 ; PIK3CG ; PLAU (uPA) ; PLG ; PLXDC1 ; PPBP (CXCL7) ; PPID ; PR1 ; PRKCQ ; PRKD1 ; PRL ; PROC ; PROK2 ; PSAP ; PSCA ; PTAFR ; PTEN ; PTGS2 (COX-2) ; PTNRAC2 (p21Rac2) ; RANKL ; RARB ; RGS1 ; RGS13 ; RGS3 ; RNF110 (ZNF144) ; ROBO2 ; RSV ; S100A2 ; SCGB1D2 (リポフィリンB) ; SCGB2A1 (マンマグロビン2) ; SCGB2A2 (マンマグロビン1) ; SCYE1 (内皮単球活性化サイトカイン) ; SDF2 ; SERPINA1 ; SERPINA3 ; SERPINB5 (マスピン) ; SERPINE1 (PAI-1) ; SERPINF1 ; SHBG ; SLA2 ; SLC2A2 ; SLC33A1 ; SLC43A1 ; SLIT2 ; SPP1 ; SPRR1B (Spr1) ; ST6GAL1 ; STAB1 ; STAT6 ; STEAP ; STEAP2 ; TB4R2 ; TBX21 ; TCP10 ; TDGF1 ; TEK ; TGFA ; TGFB1 ; TGFB111 ; TGFB2 ; TGFB3 ; TGFBI ; TGFBR1 ; TGFBR2 ; TGFBR3 ; TH1L ; THBS1 (トロンボスポンジン-1) ; THBS2 ; THBS4 ; THPO ; TIE (Tie-1) ; TIMP3 ; 組織因子 ; TLR10 ; TLR2 ; TLR3 ; TLR4 ; TLR5 ; TLR6 ; TLR7 ; TLR8 ; TLR9 ; TNF ; TNF-a ; TNFAIP2 (B94) ; TNFAIP3 ; TNFRSF11A ; TNFRSF1A ;

【０３０１】

【表１２－８】

タンパク質／ペプチド名
TNFRSF1B ; TNFRSF21 ; TNFRSF5 ; TNFRSF6 (Fas) ; TNFRSF7 ; TNFRSF8 ; TNFRSF9 ; TNFSF10 (TRAIL) ; TNFSF11 (TRANCE) ; TNFSF12 (APO3L) ; TNFSF13 (April) ; TNFSF13B ; TNFSF14 (HVEM-L) ; TNFSF15 (VEGI) ; TNFSF18 ; TNFSF4 (OX40リガンド) ; TNFSF5 (CD40リガンド) ; TNFSF6 (FasL) ; TNFSF7 (CD27リガンド) ; TNFSF8 (CD30リガンド) ; TNFSF9 (4-1BBリガンド) ; TOLLIP ; トール様受容体 (TLR1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12～TLR-13) ; TOP2A (トポイソメラーゼIia) ; TP53 ; TPM1 ; TPM2 ; TRADD ; TRAF1 ; TRAF2 ; TRAF3 ; TRAF4 ; TRAF5 ; TRAF6 ; TREM1 ; TREM2 ; TRPC6 ; TSLP ; TWEAK ; VAP1 ; VEGF ; VEGFB ; VEGFC ; ベルシカン ; VHLC5 ; VLA-1 ; VLA-4 ; XCL1 (リンフォタクチン) ; XCL2 (SCM-1b) ; XCR1 (GPR5／CCXCR1) ; YY1 ; ZFPM2。

【０３０２】

３．　ペイロードとしての例示的な生物学的に活性なタンパク質

対象組成物中のペイロードとして特異的に企図されるタンパク質性化合物は、以下のペプチドおよびタンパク質である。

【０３０３】
「Ｃ型ナトリウム利尿ペプチド」または「ＣＮＰ」は、配列ＧＬＳＫＧＣＦＧＬＫＬＤＲＩＧＳＭＳＧＬＧＣを有する２２個のアミノ酸ペプチドＣ型ナトリウム利尿ペプチド）ＣＮＰ）に切断されるＮＰＰＣ遺伝子によってコードされるヒトタンパク質（ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｎｏ．Ｐ２３５８２）、ならびに天然ペプチドの生物学的活性の少なくとも一部分を有する種およびその合成変化形を意味する。ＣＮＰは、Ｂ型ナトリウム利尿受容体（ＮＰＲＢ）の選択的アゴニストであり、軟骨性骨成長の有能な刺激因子であることが報告されている。ＣＮＰは、その受容体に結合し、細胞内シグナルを開始して、最終的に過剰活性ＦＧＦＲ３経路を阻害する。ＣＮＰの使用は、軟骨発育不全症、一般形態の骨格異形成症または短肢矮小発育症、および骨格発達に影響を及ぼす症候群（例えば、低軟骨形成症［ＨＣＨ］、ＡＣＨ、致死性異形成症［ＴＤ］）、皮膚（上皮母斑症、脂漏性角化症、黒色表皮腫を含む）、および癌（多発性骨髄腫［ＭＭ］、前立腺癌および膀胱癌、精上皮腫）を含むＦＧＦＲ３変異によって引き起こされるヒト障害に対して示されている（Ｆｏｌｄｙｎｏｖａ－Ｔｒａｎｔｉｒｋｏｖａ　Ｓ．Ｈｕｍ　Ｍｕｔａｔ．（２０１２）３３：２９）。ＣＮＰ－２２の半減期は、２．６分であることが報告され、中性エンドペプチダーゼによって急速に代謝され、クリアランス受容体によって取り除かれ（ＰｒｉｃｋｅｔｔＴ．，２００４，Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅ，１０６：５３５）、それによりその有用性を限定する。

【０３０４】
「黄体形成ホルモン放出ホルモン」または「ＬＨＲＨ」は、視索前視床下部前部において、９２アミノ酸プレプロホルモンから配列ｐｙｒｏＧｌｕ－Ｈｉｓ－Ｔｒｐ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｇｌｙ－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－ＮＨ２を有する直鎖状デカペプチド最終産物に処理されるＧＮＲＨ１遺伝子によってコードされるヒトタンパク質（ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｎｏ．Ｐ０１１４８）、ならびに天然ペプチドの生物学的活性の少なくとも一部分を有する種およびその合成変化形を意味する。ＬＨＲＨは、下垂体／性腺軸の調節、およびしたがって生殖において中心的役割を果たす。ＬＨＲＨは、下垂体性腺刺激細胞上の高親和性受容体に対する結合、および後次のＦＳＨおよびＬＨの放出を通じてその効果を発揮する。ＬＨＲＨは、視床下部および下垂体の外側にある器官において見出され、高パーセンテージのある癌組織がＬＨＲＨ結合部位を有するため、および性ステロイドが乳癌および前立腺癌の発達に関係していたため、ＬＨＲＨアゴニストによるホルモン療法は、またはエストロゲン依存性乳癌、卵巣癌、子宮内膜癌、膀胱癌、およびアンドロゲン依存性前立腺癌等の性ステロイド依存性状態の処置に対し承認されているか、または考慮されている。半減期は４分未満であることが報告されているため（Ｒｅｄｄｉｎｇ　ＴＷ，ｅｔａｌ．Ｔｈｅ　Ｈａｌｆ－ｌｉｆｅ，Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ　ａｎｄ　Ｅｘｃｒｅｔｉｏｎ　ｏｆ　Ｔｒｉｔｉａｔｅｄ　Ｌｕｔｅｉｎｉｚｉｎｇ　Ｈｏｒｍｏｎｅ－Ｒｅｌｅａｓｉｎｇ　Ｈｏｒｍｏｎｅ（ＬＨ－ＲＨ）ｉｎ　Ｍａｎ．Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌ．Ｍｅｔａｂ．（１９７３）３７：６２６－６３１）、治療薬としてのその有用性は限定される。

【０３０５】
「シレンジタイド」とは、配列Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ－Ｄｐｈｅ－ＮｍｅＶａｌまたは化学名２－［（２Ｓ，５Ｒ，８Ｓ，１１Ｓ）－５－ベンジル－１１－｛３－［（ジアミノメチリデン）アミノ］プロピル｝－７－メチル－３，６，９，１２，１５－ペンタオキソ－８－（プロパン－２－イル）－１，４，７，１０，１３－ペンタアザシクロペンタデカン－２－イル］酢酸（ＣＡＳ　Ｎｏ．１８８９６８－５１－６）を有する合成環状ＲＧＤペンタペプチドを意味する。シレンジタイドは、血管新生（新たな血管を形成する）において重要なαｖインテグリンに対し選択的である。そのようなリガンドの結合は、インテグリンを活性化し、腫瘍細胞浸潤、転移、増殖、生存および血管新生を調節する。したがって、シレンジタイドの使用は、血管新生を阻害することによる膠芽腫の処置について調査中である（Ｂｕｒｋｅ　Ｐ，ｅｔ　ａｌ．Ｃｉｌｅｎｇｉｔｉｄｅ　ｔａｒｇｅｔｉｎｇ　ｏｆ　αｖβ３　ｉｎｔｅｇｒｉｎ　ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ｓｙｎｅｒｇｉｚｅｓ　ｗｉｔ

h radioimmunotherapy to increase efficacy and apoptosis in breast cancer xenografts".Cancer Res（２００２）６２（１５）：４２６３－４２７２）。シレンジタイドは、３～５時間の短い半減期、および最大薬物濃度を１５ｍｇ／ｍｌに限定する不良な可溶性を有するため（O'Donnell PH.A phase I study of continuous infusion cilengitide in patients with solid tumors.Invest New Drugs（２０１２）３０：６０４）、治療薬としてのその有用性は限定される。

【０３０６】

「成長ホルモン放出ホルモン」または「ＧＨＲＨ」（成長ホルモン放出因子、ＧＲＦ、ＧＨＲＦ、ソマトリベリン、またはソマトグリニンとしても知られる）は、配列ＹＡＤＡＩＦＴＮＳＹＲＫＶＬＧＱＬＳＡＲＫＬＬＱＤＩＭＳＲＱＱＧＥＳＮＱＥＲＧＡＲＡＲＬを有する視床下部弓状核中で産生される４４アミノ酸ペプチドホルモン、ならびに生物学的に活性な１～２９アミノ酸切断ペプチドＹＡＤＡＩＦＴＮＳＹＲＫＶＬＧＱＬＳＡＲＫＬＬＱＤＩＭＳＲを含む、天然ペプチドの生物学的活性の少なくとも一部分を有する種およびその合成変化形を意味する。ＧＨＲＨは、神経分泌神経末端から放出され、視床下部－下垂体門脈系によって下垂体前葉に運ばれ、ＧＨＲＨ受容体に作用して、脈動的成長ホルモン放出を刺激する。ＧＨＲＨ類似体テサモレリンは、高度に活性な抗レトロウイルス療法下でのＨＩＶ患者のリポジストロフィーの処置について承認された薬物であり、悪液質、成長ホルモン欠乏患者における腹部肥満、ある慢性疾患に関連した筋肉消耗、中度の認知障害、および成長ホルモン欠乏患者における成長ホルモン置換での使用についても考慮される。半減期は１５分未満であることが報告されているため（Ｃｈａｐｍａｎ ＩＭ.Ｊ Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌ（１９９１）１２８：３６９－３７４）、治療薬としてのその有用性は限定される。

【０３０７】

「ペプチドＹＹ」および「ＰＹＹ」とは、ヒトペプチドＹＹポリペプチド（ＵｎｉＰｒｏｔ Ｎｏ．Ｐ１００８２）、合成異形および種、ならびに成熟ＰＹＹの生物学的活性の少なくとも一部分を有する非天然配列を意味する。本明細書において使用される場合、「ＰＹＹ」は、ヒト全長３６アミノ酸ペプチドの主要形態、PYY_{1-36}、およびＰＰ折り畳み構造モチーフを有する優占循環形態PYY_{3-36}（「ＰＹＹ３－３６」）の双方を含む。ＰＹＹ３－３６は、配列ＩＫＰＥＡＰＧＥＤＡＳＰＥＥＬＮＲＹＹＡＳＬＲＨＹＬＮＬＶＴＲＱＲＹ－ＮＨ２を有する。ＰＹＹは、食後のヒトの腸内で特殊化した内分泌細胞（Ｌ細胞）によって産生され、胃の運動を阻害し、結腸中の水および電解質吸収を増加させる。ＰＹＹは、膵臓分泌も抑制し得る。天然に存在するＰＹＹ３－３６は、非選択的Y_1、Y_2、およびY_5アゴニストである。本発明のＰＰＹ含有融合タンパク質は、糖尿病のグルコース調節、インスリン抵抗障害、および肥満の処置における特定の使用を見出し得る。ＰＹＹの類似体は、米国特許第５，６０４，２０３号、同第５，５７４，０１０号、および同第７，１６６，５７５号に記載されるように調製された。半減期は１時間未満であることが報告され（Ａｄｄｉｓｏｎ ＭＬ.Ａ ｒｏｌｅ ｆｏｒ ｍｅｔａｌｌｏｅｎｄｏｐｅｐｔｉｄａｓｅｓ ｉｎ ｔｈｅ ｂｒｅａｋｄｏｗｎ ｏｆ ｔｈｅ ｇｕｔ ｈｏｒｍｏｎｅ，ＰＹＹ ３－３６.Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌｏｇｙ（２０１１）１５２（１２）：４６３０－４６４０）、典型的に、１日３回鼻腔内経路によって投与されるため、治療薬としてのその有用性は限定される。

【０３０８】

「レプチン」とは、Ｏｂ（Ｌｅｐ）遺伝子によってコードされる天然に存在するレプチン（ＵｎｉｔＰｒｏｔ Ｎｏ．Ｐ４１１５９）、合成異形および種、ならびに成熟レプチンの生物活性の少なくとも一部分を有する非天然配列変化形を意味する。レプチンは、配列ＶＰＩＱＫＶＱＤＤＴＫＴＬＩＫＴＩＶＴＲＩＮＤＩＳＨＴＱＳＶＳＳＫＱＫＶＴＧＬＤＦＩＰＧＬＨＰＩＬＴＬＳＫＭＤＱＴＬＡＶＹＱＱＩＬＴＳＭＰＳＲＮＶＩＱＩＳＮＤＬＥＮＬＲＤＬＬＨＶＬＡＦＳＫＳＣＨＬＰＷＡＳＧＬＥＴＬＤＳＬＧＧＶＬＥＡＳＧＹ

ＳＴＥＶＶＡＬＳＲＬＱＧＳＬＱＤＭＬＷＱＬＤＬＳＰＧＣを有し、残基９７と１４７との間にジスルフィド架橋を有する。レプチンは、食欲、代謝、および体重を含む、エネルギー摂取およびエネルギー消費を調節することにおいて主要な役割を果たす。本発明のレプチン含有ポリペプチドは、糖尿病のグルコース調節、インスリン抵抗障害、肥満、先天性／後天性リポジストロフィー、ＨＡＡＲＴ誘導性リポジストロフィー、視床下部性無月経の処置における特定の使用を見出し得る。レプチンは、米国特許第７，１１２，６５９号に記載されるようにクローン化され、レプチン類似体およびフラグメントは、米国特許第５，５２１，２８３号、米国特許第５，５３２，３３６号、第ＰＣＴ／ＵＳ９６／２２３０８号、および第ＰＣＴ／ＵＳ９６／０１４７１号に記載されるようにクローン化された。市販の形態、メトレレプチンは、８～３０分であると報告される半減期を有し（Ｋｌｅｉｎ Ｓ．，ｅｔ ａｌ．Ａｄｉｐｏｓｅ ｔｉｓｓｕｅ ｌｅｐｔｉｎ ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ａｎｄ ｐｌａｓｍａ ｌｅｐｔｉｎ ｋｉｎｅｔｉｃｓ ｉｎ ｈｕｍａｎｓ．Ｄｉａｂｅｔｅｓ（１９９６）４５：９８４－９８７）、現在のレプチン療法の大部分は、１日当たり１回～２回の投与を必要とするため、治療薬としてのその有用性が限定される。

【０３０９】

「プラムリンチド」とは、配列ＫＣＮＴＡＴＣＡＴＮＲＬＡＮＦＬＶＨＳＳＮＮＦＧＰＩＬＰＰＴＮＶＧＳＮＴＹ－ＮＨ２を有する合成アミリン模倣体、およびプラムリンチドまたは天然アミリンの生物学的活性の少なくとも一部分を有する配列変異体を意味する。プラムリンチドは、ラットアミリン配列からのアミノ酸が、ヒトアミリン配列中のアミノ酸と置換される配列を有する。アミリンは、典型的に１００インスリン：１アミリンのモル比で、脈動的様式でインスリンと共放出される膵臓ｂ細胞によって分泌された３７ａａペプチドである。アミリンは、胃内容排出、グルカゴン分泌を阻害し、飽満および食事終了を促進するように機能する（Ｋｏｎｇ ＭＦ，ｅｔ ａｌ．Ｉｎｆｕｓｉｏｎ ｏｆ ｐｒａｍｌｉｎｔｉｄｅ，ａ ｈｕｍａｎ ａｍｙｌｉｎ ａｎａｌｏｇｕｅ，ｄｅｌａｙｓ ｇａｓｔｒｉｃ ｅｍｐｔｙｉｎｇ ｉｎ ｍｅｎ ｗｉｔｈ ＩＤＤＭ．Ｄｉａｂｅｔｏｌｏｇｉａ．（１９９７）４０：８２－８８）。プラムリンチドは、Ｔ１ＤおよびＴ２Ｄにおけるインスリン療法の補助剤として使用され、血糖制御の改善およびインスリン要求性の低減を示し、体重の適度な低減も実証する（Ｎｅａｒｙ ＭＴ，Ｂａｔｔｅｒｈａｍ ＲＬ．Ｇｕｔ ｈｏｒｍｏｎｅｓ：Ｉｍｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ｔｒｅａｔｍｅｎｔ ｏｆ ｏｂｅｓｉｔｙ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ＆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ（２００９）１２４：４４－５６）。プラムリンチドは、２０分であると報告される半減期を有し（ＭｃＱｕｅｅｎ，Ｊ．Ｐｒａｍｌｉｎｔｉｄｅ ａｃｅｔａｔｅ．Ａｍ．Ｊ．Ｈｅａｌｔｈ－Ｓｙｓｔｅｍ Ｐｈａｒｍａｃｙ（２００５）２２：２３６３－２３７２）、１日２回～３回の投与を必要とするため、治療薬としてのその有用性が限定される。

【０３１０】

「オキシトシン」とは、配列ＣＹＩＱＮＣＰＬＧ－ＮＨ２および残基１と６との間にジスルフィド架橋を有する哺乳類ホルモンペプチド（ＵｎｉＰｒｏｔ Ｎｏ．Ｐ０１１７８）、およびピトシン等の合成異形を意味する。オキシトシンは、主に脳内の神経修飾物質として作用し、ヒト下垂体後葉によって放出され、離れて作用する唯一の既知のホルモンである、バソプレッシンの構造に非常に類似した構造を有する。オキシトシンは、乳腺および子宮において発現される特定の高親和性オキシトシン受容体によって媒介される子宮収縮特性、したがって、分娩および授乳においてその役割を有する。本発明のオキシトシン含有ポリペプチドは、自閉症、脆弱Ｘ症候群、慢性日常の頭痛、および男性不妊の処置における特定の使用を見出し得る。

【０３１１】

「リラクシン」とは、１８５アミノ酸前駆体タンパク質（ＵｎｉＰｒｏｔ Ｎｏ．Ｐ０４０９０）から形成されたジスルフィド架橋によって結合された２４および２９アミノ酸の２つのペプチド鎖のヘテロ二量体であるタンパク質ホルモンを意味し、Ｂ鎖は配列ＤＳ

ＷＭＥＥＶＩＫＬＣＧＲＥＬＶＲＡＱＩＡＩＣＧＭＳＴＷＳを有し、Ａ鎖は配列ＱＬＹＳＡＬＡＮＫＣＣＨＶＧＣＴＫＲＳＬＡＲＦＣを有し、Ｂ１０－Ａ１０とＢ２３－Ａ２４との間にジスルフィド架橋を有し、合成および組換え異形を含む。リラクシンは、女性では月経周期および妊娠中の黄体によって、男性では前立腺によって産生される。リラキシンは、妊娠に対する母としての生理的反応の多くを変性し、全身および腎血管拡張剤として作用し、心保護剤および抗線維化剤である。リラキシンは、リラキシン受容体（ＧＰＣＲ）に結合し、ｃＡＭＰを増加させ、ＰＫＣ、ＰＩ３ＫおよびエンドセリンＢ型受容体を活性化して、一酸化窒素産生の増加をもたらし、リラキシン誘導性ＶＥＧＦ発現において役割を果たし得る、ＭＡＰＫを活性化する。本発明のリラキシン含有ポリペプチドは、急性非代償性心不全（ＡＤＨＦ）の処置における特定の使用を見出し得る。ヒトにおけるリラキシンの報告された半減期は１０分未満であるため（Ｄｓｃｈｉｅｔｚｉｇ Ｔ，ｅｔ ａｌ．Ｉｎｔｒａｖｅｎｏｕｓ ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ ｈｕｍａｎ ｒｅｌａｘｉｎ ｉｎ ｃｏｍｐｅｎｓａｔｅｄ ｈｅａｒｔ ｆａｉｌｕｒｅ：ａ ｓａｆｅｔｙ，ｔｏｌｅｒａｂｉｌｉｔｙ，ａｎｄ ｐｈａｒｍａｃｏｄｙｎａｍｉｃ ｔｒｉａｌ．Ｊ Ｃａｒｄ Ｆａｉｌ．２００９；１５：１８２－１９０）、治療薬としての非修飾タンパク質の有用性は限定される。

【０３１２】

「センデリチド」および「ＣＤ－ＮＰ」とは、配列ＧＬＳＫＧＣＦＧＬＫＬＤＲＩＧＳＭＳＧＬＧＣＰＳＬＲＤＰＲＰＮＡＰＳＴＳＡを有し、残基６と２２との間にジスルフィド架橋を持つ、ヒガシグリーンマンバ（Ｄｅｎｄｒｏａｓｐｉｓ ａｎｇｕｓｔｉｃｅｐｓ）ナトリウム利尿ペプチド－（２４－３８）－ペプチドを持つヒトＣ型ナトリウム利尿ペプチド－（３２－５３）－ペプチド（ＣＮＰ－２２）を意味する。キメラペプチドは、受容体グアニリルシクラーゼ（ＧＣ）－ＡおよびＧＣ－Ｂの活性化を介して血管保護およびＲＡＡＳ抑制作用を有し、腎強化および心除荷を増強し得る一方で最小現の降圧効果を有する。したがって、器官急性非代償性心不全（ＡＤＨＦ）および急性心筋梗塞（ＡＭＩ）等の心腎臓疾患の処置における、特に「後急性」治療期間の間の使用を有し得る。

【０３１３】

「ペギネサチド」または「ヘマチド」は、リジンにおいて分岐ポリエチレングリコールと結合される、配列ＧｌｙＧｌｙＬｅｕＴｙｒＡｌａＣｙｓＨｉｓＭｅｔＧｌｙＰｒｏＩｌｅＴｈｒ１ＮａｌＶａｌＣｙｓＧｌｎＰｒｏＬｅｕＡｒｇＳａｒＬｙｓを有する２つの合成２１アミノ酸ペプチドからなるペプチドである。ペギネサチドは、エリスロポエチン特性を有するエリスロポエチンの新規の類似体であり、透析を受けていない患者における慢性腎疾患（ＣＫＤ）に起因する貧血の処置としての医学的用途に開発されている。

【０３１４】

「オキシントモデュリン」または「ＯＸＭ」とは、ヒトオキシントモデュリン、成熟オキシントモデュリンの生物学的活性の少なくとも一部分を有する合成異形およびその配列変異体を意味する。オキシントモデュリンは、配列ＨＳＱＧＴＦＴＳＤＹＳＫＹＬＤＳＲＲＡＱＤＦＶＱＷＬＭＮＴＫＲＮＲＮＮＩＡを有する３７アミノ酸ペプチドであり、結腸中の腸Ｌ細胞から食後に産生され、グルカゴンの２９アミノ酸配列に続いて、８アミノ酸カルボキシ末端伸長を含有する。オキシントモデュリンは、グルカゴン受容体およびＧＬＰ－１Ｒの双方におけるアゴニストであり、その食欲減退作用は、恐らく後者の受容体を介して媒介される。ＯＸＭは、食欲を抑制することが発見された。本発明のＯＸＭ含有ポリペプチドは、糖尿病のグルコース調節、インスリン抵抗障害、肥満の処置における特定の使用を見出し得、減量治療として使用することができる。天然のオキシントモデュリンは、ヒト血漿中で約１２分の半減期を有することが報告されているため（交差反応グルカゴンアッセイにより測定；Ｓｃｈｊｏｌｄａｇｅｒ ＢＴ．Ｏｘｙｎｔｏｍｏｄｕｌｉｎ：ａ ｐｏｔｅｎｔｉａｌ ｈｏｒｍｏｎｅ ｆｒｏｍ ｔｈｅ ｄｉｓｔａｌ ｇｕｔ．Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ ａｎｄ ｅｆｆｅｃｔｓ ｏｎ ｇａｓｔｒｉｃ ａｃｉｄ ａｎｄ ｉｎｓｕｌｉｎ ｓｅｃｒｅｔｉｏｎ ｉｎ ｍａｎ．Ｅｕｒ Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｎｖｅｓｔ．（１９８８）１８（５）：４９９－５０３．）、治療薬とし

ての非修飾タンパク質の有用性は限定される。

【０３１５】

「ＰＯＴ４」または「ＡＰＬ－１」とは、配列Ｈ－Ｉｌｅ－［Ｃｙｓ－Ｖａｌ－Ｖａｌ－Ｇｌｎ－Ａｓｐ－Ｔｒｐ－Ｇｌｙ－Ｈｉｓ－Ｈｉｓ－Ａｒｇ－Ｃｙｓ］－Ｔｈｒ－ＮＨ２を有する合成環状ペプチドを意味する。ＰＯＴ４は、コンプスタチンよりも強力なＣ３補体阻害剤であり、天然Ｃ３の、その活性フラグメントＣ３ａおよびＣ３ｂへの切断を阻害し、８時間の延長された循環インビボ半減期を有する。加齢黄斑変性（ＡＭＤ）、発作性夜間ヘモグロビン尿症（ＰＮＨ）、喘息、およびＣＯＰＤ等の疾患におけるＶＥＧＦ等の血管新生因子の炎症、損傷、および上方調節を回避するための使用について考慮される。

【０３１６】

「インターフェロン－λ」、「ＩＦＮ－λ」、「インターロイキン－２９」、および「ＩＬ－２９」とは、配列ＧＰＶＰＴＳＫＰＴＴＴＧＫＧＣＨＩＧＲＦＫＳＬＳＰＱＥＬＡＳＦＫＫＡＲＤＡＬＥＥＳＬＫＬＫＮＷＳＣＳＳＰＶＦＰＧＮＷＤＬＲＬＬＱＶＲＥＲＰＶＡＬＥＡＥＬＡＬＴＬＫＶＬＥＡＡＡＧＰＡＬＥＤＶＬＤＱＰＬＨＴＬＨＨＩＬＳＱＬＱＡＣＩＱＰＱＰＴＡＧＰＲＰＲＧＲＬＨＨＷＬＨＲＬＱＥＡＰＫＫＥＳＡＧＣＬＥＡＳＶＴＦＮＬＦＲＬＬＴＲＤＬＫＹＶＡＤＧＮＬＣＬＲＴＳＴＨＰＥＳＴを有するＩＬ２９遺伝子によってコードされるヒトインターロイキン（ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｎｏ．Ｑ８ＩＵ５４（２０－２００））、成熟ＩＬ－２９の生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形、およびその配列変異体を意味する。ＩＩＩ型インターフェロン、ＩＬ－２９は、Ｉ型ＩＦＮ（ＩＦＮＡＲ１／ＩＦＮＡＲ２受容体錯体）とは異なるヘテロ二量体受容体錯体（ＩＬ－１０Ｒ２およびＩＬ－２８Ｒα受容体鎖）を通じてシグナル伝達し、抗ウイルス免疫において重要な役割を果たす。顕著に、ＩＬ－２９受容体は、肝細胞上、ＨＣＶ感染の原発部位で高度に発現されるが、免疫または骨髄細胞上では著しく発現されない。ペグ化異形は、５０～７０時間の推定半減期を有する。

【０３１７】

「インターフェロン－β」または「ＩＦＮ－β」とは、配列ＭＳＹＮＬＬＧＦＬＱＲＳＳＮＦＱＣＱＫＬＬＷＱＬＮＧＲＬＥＹＣＬＫＤＲＭＮＦＤＩＰＥＥＩＫＱＬＱＱＦＱＫＥＤＡＡＬＴＩＹＥＭＬＱＮＩＦＡＩＦＲＱＤＳＳＳＴＧＷＮＥＴＩＶＥＮＬＬＡＮＶＹＨＱＩＮＨＬＫＴＶＬＥＥＫＬＥＫＥＤＦＴＲＧＫＬＭＳＳＬＨＬＫＲＹＹＧＲＩＬＨＹＬＫＡＫＥＹＳＨＣＡＷＴＩＶＲＶＥＩＬＲＮＦＹＦＩＮＲＬＴＧＹＬＲＮを有するＩＦＮＢ１遺伝子によってコードされるヒトタンパク質、ならびに成熟ＩＦＮ－βの生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。ＩＦＮ－βは、線維芽細胞およびマクロファージを含む様々な細胞型によって産生され、ウイルス感染および他の生物学的誘導物質に応答する抗ウイルス、抗増殖、および免疫調節活性を媒介する。ヒト細胞の表面上の特定の受容体へのＩＦＮ－βの結合は、細胞内事象のカスケード反応を開始し、多数のインターフェロン誘導遺伝子産物、例えば、２’，５’－オリゴアデニル酸シンセターゼ、β２－マイクログロブリン、およびネオプテリンの発現をもたらす。これらの遺伝子産物は、臨床設定においてバイオマーカーとして日常的に使用される。ＩＦＮ－βは、再発寛解型ＭＳ、二次進行性ＭＳ、一次進行性ＭＳ、若年発症型ＭＳ、およびＭＳを示唆する最初のエピソードからなる症候群を含む、様々な形態の多発性硬化症（ＭＳ）の処置において使用される。市販形態のＩＦＮ－βは、４～６７時間の報告された半減期を有し、頻繁な投与を必要とするため、治療薬としてのそれらの有用性は限定される。

【０３１８】

「Ｃ－ペプチド」とは、配列ＥＡＥＤＬＱＶＧＱＶＥＬＧＧＧＰＧＡＧＳＬＱＰＬＡＬＥＧＳＬＱを有するヒト膵臓タンパク質、および天然Ｃ－ペプチドの生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。Ｃ－ペプチドは、Ｎ末端Ｂ鎖とＣ末端Ａ鎖との間に存在するプロインスリンの中間セグメントであり、成熟インスリンが形成および分泌されると、プレプロインスリンから切断される。循環するＣ－ペプチドは、Ｇ－タンパク質に結合される可能性がある受容体に結合し、シグ

ナルは、ＭＡＰＫ、ＰＬＣγ、およびＰＫＣ等のＣａ２＋依存性細胞内シグナル伝達経路を起動し、転写因子の範囲ならびにｅＮＯＳおよびＮａ＋Ｋ＋ＡＴＰａｓｅ活性の上方調節をもたらす。Ｃ－ペプチドは、糖尿病性合併症および糖尿病性腎症における使用について考慮される。報告された半減期は約３０分であるため（Ｍａｔｔｈｅｗｓ ＤＲ．Ｔｈｅ ｈａｌｆ－ｌｉｆｅ ｏｆ ｅｎｄｏｇｅｎｏｕｓ ｉｎｓｕｌｉｎ ａｎｄ Ｃ－ｐｅｐｔｉｄｅ ｉｎ ｍａｎ ａｓｓｅｓｓｅｄ ｂｙ ｓｏｍａｔｏｓｔａｔｉｎ ｓｕｐｐｒｅｓｓｉｏｎ．Ｃｌｉｎ Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌ（Ｏｘｆ）．（１９８５）２３（１）：７１－７９）、治療薬としての非修飾タンパク質の有用性は限定される。

【０３１９】

「グレリン」とは、配列ＧＳＳＦＬＳＰＥＨＱＲＶＱＱＲＫＥＳＫＫＰＰＡＫＬＱＰＲを有するヒトホルモン、切断異形、天然の処理された２７または２８アミノ酸配列および相同配列を含む、天然グレリンの生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。グレリンは、飽満を誘導するか、または天然の処理された２７または２８アミノ酸配列および相同配列を含む、成熟グレリンの生物学的活性の少なくとも一部分を有する種および非天然配列変異体を誘導する。グレリンは、主に、ヒト胃の基底部内膜のＰ／Ｄ１細胞、および空腹を刺激し、レプチンに対応するホルモンであると見なされる膵臓のε細胞によって産生される。グレリンレベルは、食前に増加し、食後に減少し、食物摂取の増加をもたらし、視床下部のレベルで及ぼされる作用によって脂肪量を増加させることができる。グレリンは、成長ホルモンの放出も刺激する。グレリンは、ｎ－オクタン酸によってセリン残基においてアシル化され、このアシル化は、ＧＨＳ１ａ受容体への結合、ならびにグレリンのアゴニスト活性およびＧＨ放出能力に不可欠である。本発明のグレリン含有ポリペプチドは、例えば、消化管運動障害におけるＧＩ管の運動を選択的に刺激するか、胃内容排出を加速させるか、または成長ホルモンの放出を刺激するように、アゴニストとしての特定の使用を見出し得る。本発明は、アンタゴニストとして作用する、グレリンの非アシル化形態および配列変異体も企図する。例えば、米国特許第７，３８５，０２６号に記載される、配列置換または切断された変異体を持つグレリン類似体は、グルコース恒常性改善、インスリン抵抗の処置、および肥満、癌悪質液、術後腸閉塞、腸疾患、および消化管障害の処置のためのアンタゴニストとして使用するためのＸＴＥＮに対する融合パートナーとして特定の使用を見出し得る。グレリンの単離および特性化は報告されており（Ｋｏｊｉｍａ Ｍ，ｅｔ ａｌ．，Ｇｈｒｅｌｉｎ ｉｓ ａ ｇｒｏｗｔｈ－ｈｏｒｍｏｎｅ－ｒｅｌｅａｓｉｎｇ ａｃｙｌａｔｅｄ ｐｅｐｔｉｄｅ ｆｒｏｍ ｓｔｏｍａｃｈ．Ｎａｔｕｒｅ．１９９９；４０２（６７６２）：６５６－６６０）、合成類似体は、米国特許第６，９６７，２３７号に記載されるように、ペプチド合成によって調製された。グレリンは１０～３０分の報告された終末相半減期を有するため（Ａｋａｍｉｚｕ Ｔ，ｅｔ ａｌ．Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ，ｓａｆｅｔｙ，ａｎｄ ｅｎｄｏｃｒｉｎｅ ａｎｄ ａｐｐｅｔｉｔｅ ｅｆｆｅｃｔｓ ｏｆ ｇｈｒｅｌｉｎ ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎ ｉｎ ｙｏｕｎｇ ｈｅａｌｔｈｙ ｓｕｂｊｅｃｔｓ．Ｅｕｒ Ｊ．Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌｏｇｙ（２００４）１５０（４）：４４７－４５５）、治療薬としての非修飾タンパク質の有用性は限定され、天然オクタノイル側基の代わりにオクチル側基を持つ天然セリンアミノ酸を３位置に持つ類似体は、追加の抵抗性をプロテアーゼに付与し得る。

【０３２０】

「アクチビン結合タンパク質」または「ＦＳＨ抑制タンパク質（ＦＳＰ）」としても知られる「フォリスタチン」は、ヒトにおいてＦＳＴ遺伝子によりコードされるタンパク質を意味する。本明細書において使用される場合、「フォリスタチン」は、相同体、種変異体、配列変異体、およびそのフラグメントを含む。ヒトにおける成熟タンパク質形態は、３１５個のアミノ酸を有し、ＦＳ－３１５と称され、クローン化された（米国特許第５，０４１，５３８号および同第５，１８２，３７５号）。フォリスタチンは、２つの潜在的Ｎ－グリコシル化部位、ＡｓｎＳＳおよびＡｓｎ２５９を含有するが、これらの部位における変異に続いて、組換え産物を、それらがＦＳＨ分泌を阻害する能力、およびアクチビ

ンに結合する能力について検証することは、非変異組換えｈＦＳ－３１５として類似の特定を有する各変異体をもたらしたことが実証され、フォリスタチン分子のグリコシル化が、これらの機能に影響を及ぼさないことを示唆する（Ｉｎｏｕｙｅ，Ｓ．，ｅｔ ａｌ．Ｓｉｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｍｕｔａｇｅｎｅｓｉｓ ｏｆ ｈｕｍａｎ ｆｏｌｌｉｓｔａｔｉｎ．ＢＢＲＣ（１９９１）１７９（１）：３５２－３５８）。ブタフォリスタチンは、ＵｅｎｏらのＰＮＡＳ：ＵＳＡ ８４：８２８２－８２８６（１９８７）に開示され、ウシフォリスタチンは、ＲｏｂｅｒｔｓｏｎらのＢｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．１４９：７４４－７４９（１９８７）に開示されている。骨形態形成タンパク質、およびアクチビンおよびミオスタチン等の成長／分化因子は、骨、軟骨、腱／靭帯、筋肉、神経系、および様々な器官を含む、様々な組織の成長、形成、分化、および維持を誘導する能力を有するため、フォリスタチンおよびフォリスタチンアゴニストによるそれらの中性化は、治療的価値を有する（米国特許第５，５４５，６１６号、同第５，０４１，５３８号、および第ＡＵ９６７５０５６号）。対象に投与されるフォリスタチンは循環から急速に排除され、ラットにおいて２時間余りの終末相半減期を有するため（Ｋｏｇｕｒｅ Ｋ，ｅｔ ａｌ．Ｉｎｔｒａｖｅｎｏｕｓ ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎ ｏｆ ｆｏｌｌｉｓｔａｔｉｎ：ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｔｏ ｔｈｅ ｌｉｖｅｒ ａｎｄ ｅｆｆｅｃｔ ｏｎ ｌｉｖｅｒ ｒｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ａｆｔｅｒ ｐａｒｔｉａｌ ｈｅｐａｔｅｃｔｏｍｙ．Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ．（１９９６）２４（２）：３６１－３６６）、治療薬としての非修飾タンパク質の有用性は限定される。

【０３２１】

「血管活性腸管ペプチド」および「ＶＩＰ」とは、配列ＨＳＤＡＶＦＴＤＮＹＴＲＬＲＫＱＭＡＶＫＫＹＬＮＳＩＬＮ－ＮＨ２を有するＶＩＰ遺伝子残基によりコードされる２８アミノ酸ペプチドホルモン（ＵｎｉＰｒｏｔ Ｎｏ．Ｐ０１２８２（１２５－１５２））、および天然ＶＩＰの生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形、およびその配列変異体を意味する。ＶＩＰペプチドは、腸、膵臓、および脳内の視床下部の視交叉上核を含む、多くの組織中で産生される。ＶＩＰは、心臓内の収縮性を刺激し、血管拡張を引き起こし、グリコーゲン分解を増加させ、動脈血圧を低下させ、気管支、胃、および胆嚢の平滑筋を弛緩させる。濃度の変化は、心筋線維症、心不全、心筋症、および肺高血圧と関連付けられ、呼吸器系におけるその欠乏は、肺疾患の病原因子であると見なされる（Ｓａｉｄ ＳＩ，２００７，Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｏｎ，１１５：１２６０；Ｓａｉｄ ＳＩ，２００８，Ａｎｎ ＮＹ Ａｃａｄ Ｓｃｉ，１１４４：１４８；Ｐｅｔｋｏｖ Ｖ ｅｔ．ａｌ．，２００３，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｎｖｅｓｔ，１１１：１３３９）。ＶＩＰは、抵抗性高血圧、一次肺動脈高血圧（ＰＡＨ）、喘息、ＣＯＰＤ、糖尿病、勃起不全、および女性の性的不全を処置することにおける使用について考慮される。その半減期は約１分であることが報告されているため（Ｄｏｍｓｃｈｋｅ Ｓ，ｅｔ ａｌ．Ｖａｓｏａｃｔｉｖｅ ｉｎｔｅｓｔｉｎａｌ ｐｅｐｔｉｄｅ ｉｎ ｍａｎ：ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ，ｍｅｔａｂｏｌｉｃ ａｎｄ ｃｉｒｃｕｌａｔｏｒｙ ｅｆｆｅｃｔｓ．Ｇｕｔ（１９７８）１９：１０４９－１０５３）、治療薬としての非修飾タンパク質の有用性は限定される。

【０３２２】

「フゼオン」とは、ＣＤ４＋Ｔ細胞のＨＩＶの融合に関与するウイルスタンパク質であるＨＩＶのｇｐ４１に由来し、配列ＹＴＳＬＩＨＳＬＩＥＥＳＱＮＱＱＥＫＮＥＱＥＬＬＥＬＤＫＷＡＳＬＷＮＷＦを有する、３６アミノ酸ペプチド、ならびに天然ｇｐ４１の結合活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。フゼオンおよびその多量体または関連ペプチドとの共役体は、抵抗性形態のＨＩＶ感染を処置することにおいて使用されるか、または使用について考慮されている。フゼオンは、患者において３．８時間の半減期を有し、頻繁な注入投与を必要とするため、その有用性は限定される。

【０３２３】

「ＫＡＩ－４１６９」とは、腎疾患患者および骨障害（ＣＫＤ－ＭＢＤ）患者における

二次性副甲状腺機能亢進症（ＳＨＰＴ）の処置のためにＫＡＩ　Ｐｈａｒｍａにより開発中のヒト細胞表面カルシウム感知受容体（ＣａＳＲ）のペプチドアゴニストを意味する。

【０３２４】

「パシレオチド」とは、クッシング病の処置に使用される、化学名［（３Ｓ，６Ｓ，９Ｓ，１２Ｒ，１５Ｓ，１８Ｓ，２０Ｒ）－９－（４－アミノブチル）－３－ベンジル－１２－（１Ｈ－インドール－３－イルメチル）－２，５，８，１１，１４，１７－ヘキサオキソ－１５－フェニル－６－［（４－フェニルメトキシフェニル）メチル］－１，４，７，１０，１３，１６－ヘキサザビシクロ［１６．３．０］ヘニコサン－２０－イル］Ｎ－（２－アミノエチル）カルバミン酸塩を有するソマトスタチン類似体を意味する。パシレオチドは、成長ホルモン、ＩＧＦ－１および副腎皮質刺激ホルモンの分泌を抑制する、ソマトスタチン－Ｒ－亜型Ｒ１、２、３、および５に対し高い結合親和性を持つ多重受容体ソマトスタチン類似体である。クッシング病の処置に加えて、末端肥大症、神経内分泌疾患、肝疾患、症候性多嚢胞肝疾患、神経内分泌腫瘍、リンパ脈管筋腫症、先天性インスリン過剰症、再発性または進行性髄膜腫、および他の内分泌障害における使用についても考慮される。市販の形態は、１２～１７時間の報告された半減期を有するため（Ｐｅｔｅｒｓｅｎｎ，Ｓ．ｅｔ　ａｌ．Ｔｏｌｅｒａｂｉｌｉｔｙ　ａｎｄ　Ｄｏｓｅ　Ｐｒｏｐｏｒｔｉｏｎａｌ　Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ　ｏｆ　Ｐａｓｉｒｅｏｔｉｄｅ　Ａｄｍｉｎｉｓｔｅｒｅｄ　ａｓ　ａ　Ｓｉｎｇｌｅ　Ｄｏｓｅ　ｏｒ　Ｔｗｏ　Ｄｉｖｉｄｅｄ　Ｄｏｓｅｓ　ｉｎ　Ｈｅａｌｔｈｙ　Ｍａｌｅ　Ｖｏｌｕｎｔｅｅｒｓ：Ａ　Ｓｉｎｇｌｅ－Ｃｅｎｔｅｒ，Ｏｐｅｎ－Ｌａｂｅｌ，Ａｓｃｅｎｄｉｎｇ－Ｄｏｓｅ　Ｓｔｕｄｙ．　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ（２０１２）３４：６７７－６８８）、その有用性は限定される。

【０３２５】

「イリシン」とは、配列ＤＳＰＳＡＰＶＮＶＴＶＲＨＬＫＡＮＳＡＶＶＳＷＤＶＬＥＤＥＶＶＩＧＦＡＩＳＱＱＫＫＤＶＲＭＬＲＦＩＱＥＶＮＴＴＴＲＳＣＡＬＷＤＬＥＥＤＴＥＹＩＶＨＶＱＡＩＳＩＱＧＱＳＰＡＳＥＰＶＬＦＫＴＰＲＥＡＥＫＭＡＳＫＮＫＤＥＶＴＭＫＥを有するＦＮＤＣ５遺伝子によりコードされるタンパク質の切断産物、および天然イリシンの生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。イリシンは、筋肉運動の有益な効果を媒介し、核受容体ＰＰＡＲＡの活性化を通じてＵＣＰ１発現を上方調節することにより、白色脂肪組織の褐色化を誘導する。軽度に増加したイリシンレベルは、エネルギー消費の増加、体重の減少、および食事誘導性インスリン抵抗の改善をもたらすことが示された（Ｂｏｓｔｒｏｍ　Ｐ，２０１２，Ｎａｔｕｒｅ，４８１：４６３）。イリシンは、肥満、糖尿病、および代謝障害を処置することにおける使用について考慮される。

【０３２６】

「ＴＸＡ１２７」および「ＰａｎＣｙｔｅ」は、配列ＮＲＶＹＩＨＰを有するＴＸＡ１２７を持つアンジオテンシン（１～７）の類似体であり、ＰａｎＣｙｔｅは、第４および第７の残基をそれぞれｄＡｌａおよびＡｌａと結合する環状類似体であり、分解に対してさらに抵抗性があり、より長い半減期を有するという結果を伴う。これらの類似体は、ＭＡＳ受容体に結合し、骨髄中の早期造血前駆細胞を刺激し、血管拡張、抗栄養、抗線維化、ナトリウム利尿、抗炎症、抗血栓作用も有する。化合物は、血液癌、例えば、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、ホジキンリンパ腫（ＨＬ）、または非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、および多発性骨髄腫のある患者に対する幹細胞移植に続く血小板回収の加速における使用、ならびに肺線維症、急性肺傷害、肺動脈高血圧、および腎臓と肝臓の線維症を処置することにおける使用について考慮される。

【０３２７】

「インターロイキン－７」および「ＩＬ－７」とは、配列ＤＣＤＩＥＧＫＤＧＫＱＹＥＳＶＬＭＶＳＩＤＱＬＬＤＳＭＫＥＩＧＳＮＣＬＮＮＥＦＮＦＦＫＲＨＩＣＤＡＮＫＥＧＭＦＬＦＲＡＡＲＫＬＲＱＦＬＫＭＮＳＴＧＤＦＤＬＨＬＬＫＶＳＥＧＴＴＩＬＬＮＣＴ

ＧＱＶＫＧＲＫＰＡＡＬＧＥＡＱＰＴＫＳＬＥＥＮＫＳＬＫＥＱＫＫＬＮＤＬＣＦＬＫＲＬＬＱＥＩＫＴＣＷＮＫＩＬＭＧＴＫＥＨを有するＩＬ７遺伝子によりコードされるヒトインターロイキン（ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｎｏ．Ｐ１３２３２（２６－１７７））、および天然ＩＬ－７の生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。ＩＬ－７ＩＬ－７は、ＣＤ４／ＣＤ８　Ｔ細胞の拡張を含む、リンパ前駆細胞への多分化能（多能性）造血幹細胞の分化を刺激する。ＩＬ－７は、ＴＧＦ－Ｂ拮抗作用を通じて抑制性／調節性Ｔ細胞およびＴ細胞アネルギーの産生を限定し、セントラルメモリーＴ細胞の産生を支持する。ＩＬ－７は、ＨＩＶ、腫瘍学、移植、ＨＢＶおよびＨＣＶ感染におけるリンパ球減少を処置すること、ならびに微小残存病変または進行した腫瘍を処置することにおける使用について考慮され、免疫再構築または免疫療法の強化において役割を有し得る。ヒトにおけるＩＬ－７の報告された半減期は約１０時間であるため（Ｓｐｏｒｔｅ’ｓ，Ｃ．ｅｔ　ａｌ．Ｐｈａｓｅ　Ｉ　Ｓｔｕｄｙ　ｏｆ　Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ　Ｈｕｍａｎ　Ｉｎｔｅｒｌｅｕｋｉｎ－７　Ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎ　ｉｎ　Ｓｕｂｊｅｃｔｓ　ｗｉｔｈ　Ｒｅｆｒａｃｔｏｒｙ　Ｍａｌｉｇｎａｎｃｙ．Ｃｌｉｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　２０１０；１６：７２７－７３５）、非修飾形態でのその有用性は限定される。

【０３２８】

「線維芽細胞成長因子１８」または「ＦＧＦ－１８」とは、配列ＥＥＮＶＤＦＲＩＨＶＥＮＱＴＲＡＲＤＤＶＳＲＫＱＬＲＬＹＱＬＹＳＲＴＳＧＫＨＩＱＶＬＧＲＲＩＳＡＲＧＥＤＧＤＫＹＡＱＬＬＶＥＴＤＴＦＧＳＱＶＲＩＫＧＫＥＴＥＦＹＬＣＭＮＲＫＧＫＬＶＧＫＰＤＧＴＳＫＥＣＶＦＩＥＫＶＬＥＮＮＹＴＡＬＭＳＡＫＹＳＧＷＹＶＧＦＴＫＫＧＲＰＲＫＧＰＫＴＲＥＮＱＱＤＶＨＦＭＫＲＹＰＫＧＱＰＥＬＱＫＰＦＫＹＴＴＶＴＫＲＳＲＲＩＲＰＴＨＰＡを有するＦＧＦ１８遺伝子によりコードされるヒトタンパク質（ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｎｏ．Ｏ７６０９３（２８－２０７））、ならびに天然ＦＧＦ－１８の生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。ＦＧＦ－１８は、線維芽細胞成長因子（ＦＧＦ）ファミリーのタンパク質メンバーである。ＦＧＦファミリーメンバーは、広い分裂促進性および細胞生存活性を有し、胚発育、細胞成長、形態形成、組織修復、腫瘍成長、および浸潤を含む、多様な生物学的プロセスに関与する。このタンパク質は、ＰＣ１２細胞中で神経突起伸長を誘導できることがインビトロで示された。ＦＧＦ－１８は、軟骨細胞および骨芽細胞（骨および軟骨を産生および維持する細胞）の増殖を刺激し、その使用は、例えば、膝関節における軟骨の修復および生成について考慮される（Ｅｌｌｓｗｏｒｔｈ　ＪＬ．Ｆｉｂｒｏｂｌａｓｔ　ｇｒｏｗｔｈ　ｆａｃｔｏｒ－１８　ｉｓ　ａ　ｔｒｏｐｈｉｃ　ｆａｃｔｏｒ　ｆｏｒ　ｍａｔｕｒｅ　ｃｈｏｎｄｒｏｃｙｔｅｓ　ａｎｄ　ｔｈｅｉｒ　ｐｒｏｇｅｎｉｔｏｒｓ．Ｏｓｔｅｏａｒｔｈｒｉｔｉｓ　Ｃａｒｔｉｌａｇｅ（２００２）１０：３０８－３２０）。

【０３２９】

「α－メラニン細胞刺激ホルモン」または「α－ＭＳＨ」は、ＡＣＴＨ（１～１３）からタンパク質切断産物として生成された１３アミノ酸ペプチドであり、順に、配列Ｎ－Ａｃ－ＳＹＳＭＧＦＲＷＧＬＰＶを有するプロオピオメラノコルチン（ＰＯＭＣ）の切断産物、および天然α－ＭＳＨの生物学的活性の少なくとも一部分を有する、合成　異形およびその配列変異体である。α－ＭＳＨは、メラノコルチン受容体ＭＣ１、ＭＣ３、ＭＣ４、およびＭＣ５の非選択的アゴニストであるが、ＭＣ２のではない（ＡＣＴＨに排他的である）。α－ＭＳＨは、メラニン細胞を刺激し、光保護効果を有するメラニンを産生および放出し、それは脳内でシグナルを送り、食欲および性的興奮に対する効果を有する。赤芽球増殖性プロトポルフィリン症（ＥＰＰ、太陽に不耐）、非分節性白斑症（皮膚脱色）、光線性角化症（ＡＫ、日光角化症、皮膚癌の前駆体）、多形性光発疹（ＰＬＥ／ＰＭＬＥ）、術後腎損傷、勃起不全、および性的不全を処置することにおける使用について考慮される。その半減期はわずか数秒であるため、非修飾形態でのその有用性は限定される。

【０３３０】

「エンドスタチン」とは、配列ＨＳＨＲＤＦＱＰＶＬＨＬＶＡＬＮＳＰＬＳＧＧＭＲＧＩＲＧＡＤＦＱＣＦＱＱＡＲＡＶＧＬＡＧＴＦＲＡＦＬＳＳＲＬＱＤＬＹＳＩＶＲＲＡＤＲＡＡＶＰＩＶＮＬＫＤＥＬＬＦＰＳＷＥＡＬＦＳＧＳＥＧＰＬＫＰＧＡＲＩＦＳＦＤＧＫＤＶＬＲＨＰＴＷＰＱＫＳＶＷＨＧＳＤＰＮＧＲＲＬＴＥＳＹＣＥＴＷＲＴＥＡＰＳＡＴＧＱＡＳＳＬＬＧＧＲＬＬＧＱＳＡＡＳＣＨＨＡＹＩＶＬＣＩＥＮＳＦＭＴＡＳＫを有するＸＶＩＩＩ型コラーゲンに由来する、天然に存在する２０－ｋＤａ　Ｃ末端フラグメント（ＵｎｉＰｒｏｔ．Ｎｏ．Ｐ３９０６０（１５７２－１７５４））、ならびに天然エンドスタチンの生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。エンドスタチンは、血管新生阻害剤であり、塩基性線維芽細胞成長因子（ｂＦＧＦ／ＦＧＦ－２）およびＶＥＧＦ等の成長因子の血管新生促進作用を緩衝し得る。ある癌における使用について考慮される。その半減期は１３時間であるため（Ｔｈｏｍａｓ，ＪＰ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｈａｓｅ　Ｉ　Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃ　ａｎｄ　Ｐｈａｒｍａｃｏｄｙｎａｍｉｃ　Ｓｔｕｄｙ　ｏｆ　Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ　Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｄｏｓｔａｔｉｎ　ｉｎ　Ｐａｔｉｅｎｔｓ　Ｗｉｔｈ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｓｏｌｉｄ　Ｔｕｍｏｒｓ．Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌ．（２００３）２１：２２３－２３１）、非修飾形態でのその有用性は限定される。

【０３３１】

「ヒューマニン」とは、配列ＭＡＰＲＧＦＳＣＬＬＬＬＴＳＥＩＤＬＰＶＫＲＲＡを有するＭＴ－ＲＮＲ２遺伝子によりコードされるペプチド（ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｎｏ．Ｑ８ＩＶＧ９（１－２４））、ならびに天然ヒューマニンの生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。ヒューマニンは、アルツハイマー病（ＡＤ）、ＡＤ特異的傷害、プリオン誘導アポトーシス、および化学誘導神経損傷と関連付けられる細胞死に対する神経保護において役割を有する（Ｈａｓｈｉｍｏｔｏ，Ｙ，Ａ　ｒｅｓｃｕｅ　ｆａｃｔｏｒ　ａｂｏｌｉｓｈｉｎｇ　ｎｅｕｒｏｎａｌ　ｃｅｌｌ　ｄｅａｔｈ　ｂｙ　ａ　ｗｉｄｅ　ｓｐｅｃｔｒｕｍ　ｏｆ　ｆａｍｉｌｉａｌ　Ａｌｚｈｅｉｍｅｒ‘ｓ　ｄｉｓｅａｓｅ　ｇｅｎｅｓ　ａｎｄ　Ａβ．ＰＮＡＳ（２００１）９８：６３３６－６３４１）。より最近では、ヒューマニンは、インスリン作用の改善および血糖値の低下を助けることが発見された（Ｍｕｚｕｍｄａｒ　ＲＨ，Ｈｕｍａｎｉｎ：Ａ　Ｎｏｖｅｌ　Ｃｅｎｔｒａｌ　Ｒｅｇｕｌａｔｏｒ　ｏｆ　Ｐｅｒｉｐｈｅｒａｌ　Ｉｎｓｕｌｉｎ　Ａｃｔｉｏｎ．ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ（２００９）４：ｅ６３３４）。ヒューマニンは、アルツハイマー病、糖尿病、および血管／心血管疾患を処置することにおける使用について考慮される。

【０３３２】

「グルカゴン」とは、配列ＨＳＱＧＴＦＴＳＤＹＳＫＹＬＤＳＲＲＡＱＤＦＶＱＷＬＭＮＴを有するヒトグルカゴングルコース調節ペプチド、ならびに天然グルカゴンの生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。「グルカゴン」という用語は、本明細書において使用される場合、グルカゴンのペプチド模倣体も含む。天然グルカゴンは、膵臓によって産生され、血糖値が過度に低下し始めるときに放出され、肝臓が貯蔵されたグリコーゲンをグルコースに変換し、それを血流中に放出するようにする。血液からグルコースを摂取するように体細胞にシグナルを送るグルカゴンの作用はインスリンの作用と反対であるが、グルカゴンは、血流中に新たに入手可能なグルコースが取り込まれ、インスリン依存性組織により使用され得るように、インスリンの放出も刺激する。本発明のグルカゴン含有ポリペプチドは、現存肝グリコーゲン貯蔵を持つ個体の血糖値を増加させること、および糖尿病のグルコース恒常性を維持することにおいて特定の使用を見出し得る。グルカゴンは、米国特許第４，８２６，７６３号に開示されるようにクローン化された。

【０３３３】

「グルカゴン様タンパク質－１」または「ＧＬＰ－１」とは、ヒトグルカゴン様ペプチド－１、および天然ＧＬＰ－１の生物学的活性の少なくとも一部分を有するその配列変異体を意味する。「ＧＬＰ－１」という用語は、配列ＨＤＥＦＥＲＨＡＥＧＴＦＴＳＤＶＳ

ＳＴＬＥＧＱＡＡＬＥＦＩＡＷＬＶＫＧＲＧ、ＧＬＰ－１（７－３７）、およびＧＬＰ－１（７－３６）アミドを有するヒトＧＬＰ－１（１－３７）を含む。ＧＬＰ－１は、インスリン分泌を刺激するが、高血糖の期間中のみである。インスリンと比較したＧＬＰ－１の安全性は、この特性、および分泌されるインスリンの量が高血糖の程度に比例するという観察により強化される。ＧＬＰ－１（７－３７）ＯＨの生物学的半減期は、わずか３～５分である（米国特許第５，１１８，６６６号）。本発明のＧＬＰ－１含有ポリペプチドは、糖尿病およびインスリン抵抗性障害のグルコース調節の処置において特定の使用を見出し得る。ＧＬＰ－１は、米国特許第５，１１８，６６６号に記載されるようにクローン化され、誘導体が調製された。

【０３３４】

「グルカゴン様タンパク質－２」または「ＧＬＰ－２」とは、本明細書において集合的に、配列ＨＡＤＧＳＦＳＤＥＭＮＴＩＬＤＮＬＡＡＲＤＦＩＮＷＬＩＱＴＫＩＴＤを有するヒトグルカゴン様ペプチド－２、ヒトＧＬＰ－２の種相同体、および限定されないが、成熟配列の２位でアラニンと置換され、ＨＧＤＧＳＦＳＤＥＭＮＴＩＬＤＮＬＡＡＲＤＦＩＮＷＬＩＱＴＫＩＴＤ（「２Ｇ」）をもたらすグリシン、ならびに２位でアラニンと置換されるＶａｌ、Ｇｌｕ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ、Ｌｅｕ、またはＩｌｅを持つ変異体等の変異体を含む、成熟ＧＬＰ－２の生物学的活性の少なくとも一部分を有する非天然配列変異体を意味する。ＧＬＰ－２または配列変異体は、米国特許第５，７８９，３７９号、同第５，８３４，４２８号、同第５，９９０，０７７号、同第５，９９４，５００号、同第６，１８４，２０１号、同第７，１８６，６８３号、同第７，５６３，７７０号、米国出願第２００２００２５９３３号、および同第２００３０１６２７０３号に記載されるように、単離、合成、特性化、またはクローン化された。

【０３３５】

「インスリン」とは、ヒトインスリンまたは相同体、種変異体、またはその配列変異体を意味し、限定されないが、５８０８Ｄａの分子量を持つ５１個のアミノ酸、および１１０個のアミノ酸のプロインスリン前駆体からなる成熟ヒトインスリンタンパク質を含む。前駆体タンパク質は、ジスルフィド結合により一緒に結合された配列ＧＩＶＥＱＣＣＴＳＩＣＳＬＹＱＬＥＮＹＣＮを持つＡ鎖、および配列ＦＶＮＱＨＬＣＧＳＨＬＶＥＡＬＹＬＶＣＧＥＲＧＦＦＹＴＰＫＴを持つＢ鎖を有する成熟インスリンに処理される。

【０３３６】

「第ＸＩＩＩ因子Ａ鎖」、「ＦＸＩＩＩＡ」、または「Ｆ１３Ａ」とは、配列
ＳＥＴＳＲＴＡＦＧＧＲＲＡＶＰＰＮＮＳＮＡＡＥＤＤＬＰＴＶＥＬＱＧＶＶＰＲＧＶＮＬＱＥＦＬＮＶＴＳＶＨＬＦＫＥＲＷＤＴＮＫＶＤＨＨＴＤＫＹＥＮＮＫＬＩＶＲＲＧＱＳＦＹＶＱＩＤＦＳＲＰＹＤＰＲＲＤＬＦＲＶＥＹＶＩＧＲＹＰＱＥＮＫＧＴＹＩＰＶＰＩＶＳＥＬＱＳＧＫＷＧＡＫＩＶＭＲＥＤＲＳＶＲＬＳＩＱＳＳＰＫＣＩＶＧＫＦＲＭＹＶＡＶＷＴＰＹＧＶＬＲＴＳＲＮＰＥＴＤＴＹＩＬＦＮＰＷＣＥＤＤＡＶＹＬＤＮＥＫＥＲＥＥＹＶＬＮＤＩＧＶＩＦＹＧＥＶＮＤＩＫＴＲＳＷＳＹＧＱＦＥＤＧＩＬＤＴＣＬＹＶＭＤＲＡＱＭＤＬＳＧＲＧＮＰＩＫＶＳＲＶＧＳＡＭＶＮＡＫＤＤＥＧＶＬＶＧＳＷＤＮＩＹＡＹＧＶＰＰＳＡＷＴＧＳＶＤＩＬＬＥＹＲＳＳＥＮＰＶＲＹＧＱＣＷＶＦＡＧＶＦＮＴＦＬＲＣＬＧＩＰＡＲＩＶＴＮＹＦＳＡＨＤＮＤＡＮＬＱＭＤＩＦＬＥＥＤＧＮＶＮＳＫＬＴＫＤＳＶＷＮＹＨＣＷＮＥＡＷＭＴＲＰＤＬＰＶＧＦＧＧＷＱＡＶＤＳＴＰＱＥＮＳＤＧＭＹＲＣＧＰＡＳＶＱＡＩＫＨＧＨＶＣＦＱＦＤＡＰＦＶＦＡＥＶＮＳＤＬＩＹＩＴＡＫＫＤＧＴＨＶＶＥＮＶＤＡＴＨＩＧＫＬＩＶＴＫＱＩＧＧＤＧＭＭＤＩＴＤＴＹＫＦＱＥＧＱＥＥＥＲＬＡＬＥＴＡＬＭＹＧＡＫＫＰＬＮＴＥＧＶＭＫＳＲＳＮＶＤＭＤＦＥＶＥＮＡＶＬＧＫＤＦＫＬＳＩＴＦＲＮＮＳＨＮＲＹＴＩＴＡＹＬＳＡＮＩＴＦＹＴＧＶＰＫＡＥＦＫＫＥＴＦＤＶＴＬＥＰＬＳＦＫＫＥＡＶＬＩＱＡＧＥＹＭＧＱＬＬＥＱＡＳＬＨＦＦＶＴＡＲＩＮＥＴＲＤＶＬＡＫＱＫＳＴＶＬＴＩＰＥＩＩＩＫＶＲＧＴＱＶＶＧＳＤＭＴＶＴＶＱＦＴＮＰＬＫＥＴＬＲＮＶＷＶＨＬＤＧＰＧＶＴＲＰＭＫＫＭＦＲＥＩＲＰＮＳＴＶＱＷＥＥＶＣＲＰＷＶＳＧＨＲＫＬＩＡＳＭＳＳＤＳＬＲＨＶＹＧＥＬＤＶＱＩＱＲＲＰＳＭを有する凝固タンパク質（ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｎｏ．Ｐ００４８８（２－７

３２））、および天然ＦＸＩＩＩＡの生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。第ＸＩＩＩ因子は、凝固カスケードにおける最後の酵素であり、新たに形成される血栓中でフィブリン分子を互いに架橋するのに関与する。フィブリンモノマー間に分子間共有結合を形成することにより、およびα－２抗プラスミン、フィブリノゲン、フィブロネクチン、コラーゲン、および他のタンパク質を架橋することにより、フィブリン塊の機械的強度を強化し、タンパク質分解から保護し、細胞外マトリックスに対する安定性を提供する。血漿ＦＸＩＩＩは、一緒に非共有結合され、フィブリノゲンに結合された２Ａサブユニットおよび２Ｂサブユニットからなるヘテロ四量体として循環する。Ａサブユニットの構造を安定化させ、Ａサブユニットをタンパク質分解から保護すると考えられるＢサブユニットは、通常、遊離ＦＸＩＩＩ－Ｂサブユニットとして血漿中に過剰に存在する。ＦＸＩＩＩ欠乏の患者の大部分は、ＦＸＩＩＩ－Ａサブユニットに変異を有し、ＦＸＩＩＩ－Ｂサブユニットの変異を持つ患者の症例はほとんど報告されていない（Ｍｉｋｋｏｌａ，Ｈ，１９９６，Ｓｅｍｉｎ Ｔｈｒｏｍｂ Ｈｅｍｏｓｔ，２２：３９３；Ｉｃｈｉｎｏｓｅ Ａ，１９９６，Ｓｅｍｉｎ Ｔｈｒｏｍｂ Ｈｅｍｏｓｔ，２２：３８５）。ＦＸＩＩＩＡは、血友病および関連する凝固障害、先天性ＦＸＩＩＩ欠乏、および慢性肝疾患に起因する後天性ＦＸＩＩＩ欠乏、炎症性腸疾患、および術後出血を処置することにおいて使用されるか、または使用について考慮されている。

【０３３７】

「第Ｘ因子」または「ＦＸ」とは、配列ＧＲＰＬＨＬＶＬＬＳＡＳＬＡＧＬＬＬＬＧＥＳＬＦＩＲＲＥＱＡＮＮＩＬＡＲＶＴＲＡＮＳＦＬＥＥＭＫＫＧＨＬＥＲＥＣＭＥＥＴＣＳＹＥＥＡＲＥＶＦＥＤＳＤＫＴＮＥＦＷＮＫＹＫＤＧＤＱＣＥＴＳＰＣＱＮＱＧＫＣＫＤＧＬＧＥＹＴＣＴＣＬＥＧＦＥＧＫＮＣＥＬＦＴＲＫＬＣＳＬＤＮＧＤＣＤＱＦＣＨＥＥＱＮＳＶＶＣＳＣＡＲＧＹＴＬＡＤＮＧＫＡＣＩＰＴＧＰＹＰＣＧＫＱＴＬＥＲＲＫＲＳＶＡＱＡＴＳＳＳＧＥＡＰＤＳＩＴＷＫＰＹＤＡＡＤＬＤＰＴＥＮＰＦＤＬＬＤＦＮＱＴＱＰＥＲＧＤＮＮＬＴＲＩＶＧＧＱＥＣＫＤＧＥＣＰＷＱＡＬＬＩＮＥＥＮＥＧＦＣＧＧＴＩＬＳＥＦＹＩＬＴＡＡＨＣＬＹＱＡＫＲＦＫＶＲＶＧＤＲＮＴＥＱＥＥＧＧＥＡＶＨＥＶＥＶＶＩＫＨＮＲＦＴＫＥＴＹＤＦＤＩＡＶＬＲＬＫＴＰＩＴＦＲＭＮＶＡＰＡＣＬＰＥＲＤＷＡＥＳＴＬＭＴＱＫＴＧＩＶＳＧＦＧＲＴＨＥＫＧＲＱＳＴＲＬＫＭＬＥＶＰＹＶＤＲＮＳＣＫＬＳＳＳＦＩＩＴＱＮＭＦＣＡＧＹＤＴＫＱＥＤＡＣＱＧＤＳＧＧＰＨＶＴＲＦＫＤＴＹＦＶＴＧＩＶＳＷＧＥＧＣＡＲＫＧＫＹＧＩＹＴＫＶＴＡＦＬＫＷＩＤＲＳＭＫＴＲＧＬＰＫＡＫＳＨＡＰＥＶＩＴＳＳＰＬＫを有する凝固タンパク質（ＵｎｉＰｒｏｔ Ｎｏ．Ｐ００７４２（２－４８８））、および天然ＦＸの生物学的活性の少なくとも一部分を有する組換えおよび合成異形およびその配列変異体を意味する。第Ｘ因子は、第ＩＸ因子（その共因子である第ＶＩＩＩ因子とともに、内因性Ｘａｓｅとして知られる錯体を形成する）および第ＶＩＩ因子（その共因子である組織因子とともに、外因性Ｘａｓｅとして知られる錯体を形成する）の双方により第Ｘａ因子に活性化される。第Ｘ因子は、最終の共通（またはトロンビン）経路の最初のメンバーである。第Ｘ因子は、第Ｘ因子欠乏、血友病ＡおよびＢ（ＦＶＩＩＩおよびＦＩＸ補充療法に対する阻害性抗体を発育させているＦＶＩＩＩおよびＦＩＸ患者に起因してバイパス戦略を使用する）、経口抗凝固剤過剰投与に起因する出血または原因不明の重篤な出血のある患者を処置するため、およびビタミンＫの欠失、アミロイド症、深刻な肝疾患、および抗凝固剤の使用（例えば、ワルファリン）により引き起こされた後天性ＦＸ欠乏を発症する患者の緊急処置に使用される。成熟第Ｘ因子の半減期は４０～４５時間であるが、活性化第Ｘ因子（Ｆｘａ）の血漿半減期は、１～２分未満であり（（Ｂｕｎｃｅ ＭＷ，２００８，Ｂｌｏｏｄ，１１７：２９０））、非修飾形態でのその有用性を限定し、抗トロンビンＩＩＩおよびＴＦＰ１により急速に不活性化される。

４． ペイロードとしての核酸

本発明は、ＸＴＥＮ共役体中のペイロードとしての核酸の使用も企図する。一実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供し、ペイロードは、アプタマー

、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム核酸、ＲＮＡ干渉核酸、およびアンチジーン核酸からなる群から選択される。治療薬として使用されるそのような核酸は、当該技術分野において既知である（Ｅｄｗｉｎ　Ｊａｒａｌｄ，Ｎｕｃｌｅｉｃ　ａｃｉｄ　ｄｒｕｇｓ：ａ　ｎｏｖｅｌ　ａｐｐｒｏａｃｈ．Ａｆｒｉｃａｎ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｖｏｌ．３（１２）：６６２－６６６，２００４；Ｊｏａｎｎａ　Ｂ．Ｏｐａｌｉｎｓｋａ．Ｎｕｃｌｅｉｃ－ａｃｉｄ　ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ：ｂａｓｉｃ　ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ　ａｎｄ　ｒｅｃｅｎｔ　ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ．Ｎａｔｕｒｅ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　１：５０３－５１４，２００２）。

ＩＶ）．　ＸＴＥＮ架橋剤およびＸＴＥＮ－ペイロード共役体、ならびにそのような共役体を製造する方法

本発明は、部分的に、本明細書に記載されるように、ペイロードが共役される共役パートナーとして有用なＸＴＥＮ－架橋剤共役組成物の高度に精製された調製物に関する。本発明は、ＸＴＥＮ－架橋剤共役パートナーを使用して、１つ以上のＸＴＥＮに結合されたペイロードの高度に精製された調製物にも関する。本発明は、本明細書に記載されるＸＴＥＮのいずれかとペイロードとの結合により形成されるＸＴＥＮ－ペイロード共役体を製造する、組成物および方法、ならびにＸＴＥＮを架橋剤と共役することにより形成される組成物を製造する反応組成物および方法、または本明細書に記載される他の化学的方法を包含する。特に、「ＸＴＥＮ－ペイロード」および「ＸＴＥＮ－架橋剤」という用語は、反応物共役パートナーの共役後に残る結合された反応産物（架橋剤、クリック化学反応物、または本明細書に記載される他の方法の反応産物を含む）を包含することが意図される。

【０３３８】

いくつかの実施形態において、対象の共役体を形成するために利用されるＸＴＥＮは、表２、表３、および表２２～２５の配列のうちのいずれか１つから選択され、直接または本明細書に開示される架橋剤を介して、ペイロード成分に結合され得るＸＴＥＮを含む。他の実施形態において、対象の共役体を形成するために利用される１つ以上のＸＴＥＮは、個別に、相当する長さの配列と最適に整列されるとき、表２、３、２２～２５から選択されるＸＴＥＮ、またはそのフラグメントと比較して、少なくとも約８０％の配列同一性、または代替として８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有するＸＴＥＮ配列を含む。一実施形態において、対象の共役体は、第１および第２のＸＴＥＮ配列を含む多量体であり、ＸＴＥＮは同じであるか、または異なり、それぞれは、個別に、相当する長さの配列と最適に整列されるとき、表２、３、２２～２５から選択されるＸＴＥＮ、またはそのフラグメントと比較して、少なくとも約８０％の配列同一性、または代替として８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有するＸＴＥＮ配列を含む。別の実施形態において、対象の共役体は、第１、第２、および第３のＸＴＥＮ配列を含む多量体であり、ＸＴＥＮは同じであるか、または異なり、それぞれは、個別に、相当する長さの配列と最適に整列されるとき、表２、３、２２～２５から選択されるＸＴＥＮ、またはそのフラグメントと比較して、少なくとも約８０％の配列同一性、または代替として８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有するＸＴＥＮ配列を含む。さらに別の実施形態において、対象の共役体は、３、４、５、６、またはそれ以上のＸＴＥＮ配列を含む多量体であり、ＸＴＥＮは同じであるか、または異なり、それぞれは、個別に、表２、３、２２～２５から選択されるＸＴＥＮ、またはそのフラグメントと比較して、少なくとも約８０％の配列同一性、または代替として８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有するＸＴＥＮ配列を含

む。これらの多量体共役体において、ＸＴＥＮ配列中の残基の累積長は、約２００超～約３０００個、または約４００～約１０００個のアミノ酸残基であり、ＸＴＥＮは同一であり得るか、または配列もしくは長さが異なり得る。本明細書において使用される場合、累積長は、複数のＸＴＥＮが共役体に組み込まれるとき、アミノ酸残基に全長を包含することが意図される。

【０３３９】

一態様において、本発明は、小分子ペイロード薬物に共有結合され、ＸＴＥＮ－薬物共役体（「ＸＴＥＮ－Ｄ」）をもたらす、ＸＴＥＮの組成物を提供する。別の態様において、本発明は、生物学的に活性なタンパク質のペイロード（ペプチドまたはポリペプチドを包含する）に共有結合され、ＸＴＥＮ－ペプチド／ポリペプチド共役体（「ＸＴＥＮ－Ｐ」）をもたらす、ＸＴＥＮの組成物を提供する。別の態様において、本発明は、ペイロードペプチドまたはポリペプチドに組換え的に結合され、ＸＴＥＮ－ペプチド／ポリペプチド組換え融合タンパク質（「ＸＴＥＮ－ＰＲ」）をもたらす、１つ以上のＸＴＥＮの組成物を提供する。別の態様において、本発明は、１つ以上の薬物、および生物学的に活性であり得るか、または標的部分であり得る１つ以上のタンパク質のペイロードに結合された１つ以上のＸＴＥＮの組成物を提供する。特に、本発明は、ペイロード薬物および／またはタンパク質の投与が、対象における疾患または状態の処置、改善、または予防に有用であることが当該技術分野において既知である、状態の処置に有用な単離されたＸＴＥＮ－Ｄ、ＸＴＥＮ－Ｐ、ＸＴＥＮ－ＰＲ、およびＸＴＥＮ－Ｄ－Ｐ組成物を提供する。ＸＴＥＮ－Ｄ共役体は、一般に、以下の成分：１）ＸＴＥＮ；２）架橋剤；および３）ＸＴＥＮが、直接または本明細書に記載される市販の架橋剤等の架橋剤の使用によるか、またはクリック化学反応物の使用によるかのいずれかで、化学的に共役されるペイロードのうちの１つ以上を含むか、または場合によっては、本明細書に記載されるような架橋剤を使用せずに、ＸＴＥＮ中の反応基とペイロードとの間の共役により形成され得る。ＸＴＥＮ－Ｐは、一般に、以下の成分：１）ＸＴＥＮ；２）架橋剤；および３）生物学的に活性なタンパク質ペイロードのうちの１つ以上を含み、一般に、架橋剤またはクリック化学反応物を使用する共役によっても形成される。ＸＴＥＮ－ＰＲ共役体は、一般に、以下の成分：１）１つ以上のＸＴＥＮ；２）スペーサー配列、および３）ペイロードのうちの１つ以上を含む。ＸＴＥＮ－Ｄ－Ｐは、一般に、以下の成分：１）ＸＴＥＮ；２）任意のリンカー；３）生物学的に活性なタンパク質、および４）薬物のうちの１つ以上を含み、ペイロードは、一般に、上述されるように、架橋剤またはクリック化学反応物を使用する共役により形成される。しかしながら、前述の種類の組成物のいくつかの場合、組成物は、架橋剤を使用せずに形成され得るが、但し、それらの組成物が他の方法で化学的に反応性であることを条件とする。

【０３４０】

ペイロードへのＸＴＥＮの共役は、ＸＴＥＮに結合されないペイロードと比較して、得られる組成物にいくつかの利点を付与する。以下により完全に記載されるように、強化された特徴の非限定例としては、全体可溶性および代謝安定性の増加、循環中のタンパク質分解に対する感受性の低減、免疫原性の低減、皮下的または筋肉内投与されたときに吸収率の低減、腎臓によるクリアランスの低減、基質との相互作用の強化、毒性の低減、ペイロードの標的送達、および薬物動態特性の強化が挙げられる。ＸＴＥＮに結合されていないペイロードと比較して、強化された共役体の薬物動態特性としては、より長い終末相半減期（例えば、２倍、３倍、４倍、またはそれ以上）、曲線下面積（ＡＵＣ）の増加（例えば、２５％、５０％、１００％、またはそれ以上）、より低い分布容積、皮下または筋肉内注入後のより遅い吸収（同様の経路により投与されなければならないペイロードの市販形態と比較して利点）（Ｃｍａｘがより低くなり、順に、ペイロードの悪影響の低減をもたらし、集合的に、対象に投与された共役組成物が治療的活性を提供する期間の増加をもたらす）が挙げられる。いくつかの実施形態において、共役組成物は、投与されたＸＴＥＮ－ペイロードが、皮下的または筋肉内投与されたときにデポーとして作用するように、活性ペイロードの持続放出を許す切断配列（以下により完全に記載される）を含む。特

に、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、本明細書に開示される改善された特性のうちの１つ以上、またはそれらの任意の組合せを呈することができると企図される。これらの強化された特性の結果として、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、ＸＴＥＮに結合されていない、相当する様式で投与されるペイロードと比較して、少ない投薬頻度、より適合した投薬、および／または毒性の低減を許す。そのようなＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、本明細書に記載されるように、必要とする対象へのペイロードの投与により影響されるか、改善されるか、または予防されることが当該技術分野において知られている、ある状態を処置するための有用性を有する。

１．　共役のための架橋剤およびアジド／アルキンクリック化学反応物

別の態様において、本発明は、ＸＴＥＮ－ペイロード共役組成物を調製するために利用され得るＸＴＥＮ－架橋剤共役体をもたらす、架橋剤に共役されたＸＴＥＮに関する。特に、本明細書に記載されるＸＴＥＮ－架橋剤共役パートナーは、少なくとも１つのチオール、アミノ、カルボキシル、アルデヒド、もしくはアルコールを担持するペイロード剤または表面、または当該技術分野において既知の通り、本明細書に記載される成分間の反応に使用可能であり、適切な任意の他の反応基への共役に有用である。

【０３４１】

別の態様において、本発明は、対象のＸＴＥＮ－ペイロード組成物を調製するために利用され得る共役体をもたらす、ＸＴＥＮ－架橋剤反応物およびＸＴＥＮ－クリック化学アジド／アルキン反応物の共役体を製造する方法に関する。特に、ＸＴＥＮ－架橋剤およびＸＴＥＮ－アジド／アルキン反応物を製造するための本明細書に記載される方法は、ペイロード剤または反応表面が、少なくとも１つのチオール、アミノ、カルボキシル、アルデヒド、アルケン、アルキン、複素環、アルコール、または反応に使用可能な他の反応基を担持する場合に有用である。

【０３４２】

実質的に均質なＸＴＥＮの調製物を含む、ＸＴＥＮの例示的な実施形態は上述されている。本発明は、ある望ましい薬物動態、化学的、および薬学的特性、特に以下に記載される他の特性を組成物に付与する「担体」として機能するように、ペイロードが共役され得るプラットフォームとしてさらに機能するＸＴＥＮを提供する。他の実施形態において、本発明は、発現ベクターに組み込まれ、対象のＸＴＥＮ－ペイロード組換え融合タンパク質の発現および回収に適した宿主に組み込まれ得る、ペプチドまたはポリペプチドペプロードをコードする遺伝子に結合され得る、ＸＴＥＮをコードするポリヌクレオチドを提供する。

【０３４３】

いくつかの実施形態において、本明細書において上述されるＸＴＥＮ成分は、架橋剤と反応し得る定義された数の反応性アミノ酸残基を組み込むように操作されるか、またはペイロードへの共役に使用され得る反応基をさらに含有することができる。一実施形態において、本発明は、システイン操作されたＸＴＥＮを提供し、それぞれが反応性チオール基を含有し、架橋剤に共役されて、ＸＴＥＮ－架橋剤共役体をもたらす。別の実施形態において、本発明は、リジン操作されたＸＴＥＮを提供し、それぞれが、正電荷の親水性εアミノ基を含有し、架橋剤に共役され、ＸＴＥＮ－架橋剤共役体をもたらす。システイン操作されたＸＴＥＮの実施形態において、それぞれは、約１～約１００個のシステインアミノ酸、または１～約５０個のシステインアミノ酸、または１～約４０個のシステインアミノ酸、または１～約２０個のシステインアミノ酸、または１～約１０個のシステインアミノ酸、または１～約５個のシステインアミノ酸、または９個のシステイン、または３個のシステイン、または共役に使用可能な単一のシステインアミノ酸を含む。リジン操作されたＸＴＥＮの実施形態において、それぞれは、約１～約１００個のリジンアミノ酸、または１～約５０個のリジンアミノ酸、または１～約４０個のリジンアミノ酸、または１～約２０個のリジンアミノ酸、または１～約１０個のリジンアミノ酸、または１～約５個のリジンアミノ酸、または９個のシステイン、または３個のシステイン、または共役に使用可能な単一のリジンアミノ酸を含む。別の実施形態において、操作されたＸＴＥＮは、前述

の数の範囲のシステイン残基およびリジン残基の双方を含む。

【０３４４】

一般に、ＸＴＥＮシステインチオール基は、アミンまたはヒドロキシル基よりも求電子性共役試薬に対してより反応性、すなわち、より求核性である。さらに、システイン残基は、一般に、所与のタンパク質中により少数で見出されるため、同じタンパク質内に複数の共役をもたらす可能性が低い。システイン残基は、遺伝子操作技術によりタンパク質に導入され、リガンドへの共有結合を形成するか、または新たな分子内ジスルフィド結合を創製した（Ｂｅｔｔｅｒ ｅｔ ａｌ（１９９４）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．１３：９６４４－９６５０；Ｂｅｒｎｈａｒｄ ｅｔ ａｌ（１９９４）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．５：１２６－１３２；Ｇｒｅｅｎｗｏｏｄ ｅｔ ａｌ（１９９４）Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １：２４７－２５５；Ｔｕ ｅｔ ａｌ（１９９９）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ ＵＳＡ ９６：４８６２－４８６７；Ｋａｎｎｏ ｅｔ ａｌ（２０００）Ｊ．ｏｆ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，７６：２０７－２１４；Ｃｈｍｕｒａ ｅｔ ａｌ（２００１）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９８（１５）：８４８０－８４８４；米国特許第６，２４８，５６４号）。

【０３４５】

一実施形態において、本発明は、架橋剤に共役されたシステイン操作されたＸＴＥＮを含む単離された組成物を提供し、架橋剤は、スルフヒドリル反応性ホモ二官能性またはヘテロ二官能性架橋剤から選択される。別の実施形態において、本発明は、架橋剤に共役されたリジン操作されたＸＴＥＮを含む単離された組成物を提供し、架橋剤は、アミン反応性ホモ二官能性またはヘテロ二官能性架橋剤から選択される。架橋は、共有結合により２つ以上の分子を化学的に結合するプロセスである。このプロセスは、タンパク質および他の生体分子とのその併用を参照して、共役または生体共役とも呼ばれる。例えば、反応性結合部位を遮断または曝露するか、機能を不活性化するか、または官能基を変更して架橋のための新たな標的を形成するために、タンパク質を修飾して、Ｎ末端およびＣ末端、ならびにタンパク質およびペプチド上のアミノ酸側鎖を改変することができる。

【０３４６】

一態様において、本発明は、化学的に活性なアミノ酸残基またはそれらの誘導体（例えば、Ｎ末端αアミン基、リジンのεアミン基、システインのチオール基、Ｃ末端カルボキシル基、グルタミン酸およびアスパラギン酸のカルボキシル基）を使用して達成されるＸＴＥＮポリマーへの部位特異的共役のための方法を提供する。第１級αおよびεアミノ基との反応に適した官能基は、クロロシアヌル酸塩、ジクロロトレアジン、トレジレート、ベンゾトリアゾール炭酸塩、ｐ－ニトロフェニル炭酸塩、トリクロロフェニル炭酸塩、アルデヒド、混合無水物、カルボニルイミダゾール、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル、Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミドエステルである（Ｈａｒｒｉｓ，Ｊ．Ｍ．，Ｈｅｒａｔｉ，Ｒ．Ｓ．Ｐｏｌｙｍ．Ｐｒｅｐｒ．（Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，Ｄｉｖ．Ｐｏｌｙｍ．Ｃｈｅｍ），３２（１），１５４－１５５（１９９１）；Ｈｅｒｍａｎ，Ｓ．，ｅｔ ａｌ．Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｃｈｅｍ．Ｐｈｙｓ．１９５，２０３－２０９（１９９４）；Ｒｏｂｅｒｔｓ，Ｍ．Ｊ．ｅｔ．ａｌ．Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｒｅｖｉｅｗｓ，５４，４５９－４７６（２００２））。Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル（ＮＨＳ－エステルおよびそれらの可溶性類似体スルホ－ＮＨＳ－エステル）は、一般にタンパク質共役に使用される（図２参照）。ＮＨＳ－エステルは、生理的ｐＨで比較的効率的な結合を持つ第１級アミンとの反応時に、安定したアミド産物を生じる。共役反応は、典型的に、５０～２００ｍＭのリン酸塩、重炭酸塩／炭酸塩、ＨＥＰＥＳ、またはホウ酸塩緩衝液中（ｐＨ７～９）、４℃～室温で０．５～２時間行われる。ＮＨＳ－エステルは、通常、タンパク質に対して２～５０倍のモル過剰で使用される。典型的に、試薬の濃度は、０．１～１０ｍＭで変動し得るが、最適タンパク質濃度は、５０～１００μＭである。

【０３４７】

別の方法において、ＸＴＥＮポリペプチドが単一Ｎ末端αアミノ基のみを有するならば

、ＸＴＥＮは、意図的に組み込まれたリジン残基の追加のεアミノ基（複数可）を含有するように操作することができ、それらの例示的な配列は表３に提供される。αおよびεアミノ基は、異なるｐＫａ値を有する（Ｎ末端アミノ酸のαアミノ基に対し約７．６～８．０、リジンのεアミノ基に対し約１０～１０．５）。そのようなｐＫａ値の有意な差は、アミノ基の選択的修飾に使用することができる。全ての第１級アミンの脱プロトン化は、ｐＨ８．０を越えるｐＨで発生する。この環境において、異なるアミンの求核特性は、それらの反応性を決定する。脱プロトン化されるとき、リジンの求核性の高いεアミノ基は、一般に、αアミノ基よりも求電子剤に対して反応性が高い。一方、より低いｐＨ（例えばｐＨ６）で、より酸性のαアミノ基は、一般に、εアミノ基よりも脱プロトン化され、反応の順序は逆である。例えば、ＦＤＡ認証薬物Ｎｅｕｌａｓｔａ（ペグフィルグランスチム）は、２０ｋＤａ　ＰＥＧ－アルデヒドの共有結合により修飾された顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）である。タンパク質のＮ末端アミノ酸の特異的修飾は、内部リジンのεアミノ基と比較して、より低いｐＫａのαアミノ基を利用することにより達成された（Ｍｏｌｉｎｅａｕｘ，Ｇ．Ｃｕｒｒ．Ｐｈａｒｍ．Ｄｅｓ．１０，１２３５－１２４４（２００４），米国特許第５，８２４，７８４号）。

【０３４８】

システイン残基を含むＸＴＥＮポリペプチドは、本明細書に記載される組換え方法を使用して（例えば、実施例参照）、または当該技術分野において既知の標準方法により遺伝子的に操作され得る。チオール基への共役は、高度に特異的な反応を使用して実行することができ、架橋剤により接合された単一共役種の形成をもたらす。システインチオール基との反応に適した官能基は、Ｎマレイミド、ハロアセチル、およびピリジルジスルフィドである。マレイミド基は、反応混合物のｐＨがｐＨ６．５～７．５であるとき、スルフヒドリル基と特異的に反応し、可逆的ではない安定したチオエーテル結合を形成する（図３参照）。中性ｐＨで、マレイミドは、アミンよりも１，０００倍速くスルフヒドリルと反応するが、ｐＨが８．５を越えて上昇すると、反応は第１級アミンを好む。マレイミドは、チロシン、ヒスチジン、またはメチオニンと反応しない。反応溶液の場合、チオールは、それらが結合部位について競合するため、マレイミドと併用される反応緩衝液から排除されなければならない。反応における過剰なマレイミドは、遊離チオールを付加することにより反応の最後に急冷することができるが、ＥＤＴＡは、スルフヒドリルの参加を最小化するように、結合緩衝液中に含めることができる。

【０３４９】

別の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮのスルフヒドリル基またはペイロードを架橋し、対象の共役体を調製するのに有用なハロアセチル試薬の使用を企図する。最も一般に使用されるハロアセチル試薬は、生理的ｐＨでスルフヒドリル基と反応するヨードアセチル基を含有する。ヨードアセチル基とスルフヒドリルとの反応は、ヨードのチオールとの求核置換によって進行し、安定したチオエーテル結合を産生する（図４参照）。ｐＨ８．３でスルフヒドリル基の数をわずかに超えるヨードアセチル基を使用することは、スルフヒドリル選択性を保証する。過剰のヨードアセチル基が使用される場合、ヨードアセチル基は、他のアミノ酸と反応することができる。イミダゾールは、ｐＨ６．９～７．０でヨードアセチル基と反応することができるが、インキュベーションは、１週間よりも長い間進めなければならない。ヒスチジル側鎖アミノ基は、それぞれｐＨ５およびｐＨ７以上で、ヨードアセチル基と非プロトン化形態で反応する。別の実施形態において、スルフヒドリル基に有用な架橋剤は、ピリジルジスルフィドである。ピリジルジスルフィドは、広いｐＨ範囲（最適ｐＨは４～５）にわたってスルフヒドリル基と反応し、ＸＴＥＮをペイロードに結合するジスルフィド結合を形成する（図５参照）。ジスルフィドとして、これらの試薬を使用して調製される共役体は切断可能である。反応中、ジスルフィド交換は、分子の－ＳＨ基と２－ピリジルジチオール基との間で発生する。結果として、ピリジン－２－チオンが放出される。これらの試薬は、架橋剤として、スルフヒドリル基をタンパク質に導入するために使用することができる。ジスルフィド交換は、生理的ｐＨで行われ得るが、反応速度が遅い。

【０３５０】
活性合成ペプチドまたはポリペプチドを含むＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、化学的に活性なアミノ酸残基またはそれらの誘導体、例えば、Ｎ末端αアミノ基、リジンのεアミノ基、システインのチオール基、Ｃ末端アミノ酸のカルボキシル基、アスパラギン酸またはグルタミン酸のカルボキシル基を使用して調製することができる。各ペプチドは、第１級アミノ酸配列にかかわらず、Ｎ末端αアミノ基を含有する。必要な場合、Ｎ末端αアミノ基は、活性ペプチド／ポリペプチドの化学的合成時に、保護／ブロックされたままであり得る。合成ペプチド／ポリペプチドは、天然であり得るか、または共役のために特異的に置換され得るかのいずれかである、追加のリジンのεアミノ基（複数可）を含有してもよい。上記の通り、αおよびεアミノ基は、異なるｐＨで選択的に修飾され得る。合成ペプチド中のαまたはεアミノ基のいずれかを選択的に修飾するための別の手法は、二炭酸ジ－ｔｅｒｔ－ブチル（BOC_2）を用いたアミノ基の可逆的保護である。例えば、バプレオチドペプチド（合成ソマトスタチン類似体）の選択的ＢＯＣ保護は、ｐＨ６（α基保護）またはｐＨ８．５（ε基保護）での修飾により達成される。次いで、残りの遊離アミノ基は、ＰＥＧ－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドまたはＰＥＧ－アルデヒドにより特異的に修飾された。最後に、ＢＯＣ保護は、モノ修飾ペプチドに対する酸処理により除去された（Ｍｏｒｐｕｒｇｏ，Ｍ．ｅｔ ａｌ．Ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ Ａｌｋｙｌａｔｉｏｎ ａｎｄ Ａｃｙｌａｔｉｏｎ ｏｆ α ａｎｄ ε Ａｍｉｎｏ Ｇｒｏｕｐｓ ｗｉｔｈ ＰＥＧ ｉｎ ａ Ｓｏｍａｔｏｓｔａｔｉｎ Ａｎａｌｏｇｕｅ：Ｔａｉｌｏｒｅｄ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｆｏｒ Ｏｐｔｉｍｉｚｅｄ Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ．Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．２００２．１３：１２３８－１２４３）。

【０３５１】
システインは、概して、天然ペプチドおよびタンパク質配列中に、リジンよりも豊富に含まれていないため、共役のための部位としてのシステインの使用は、反応中のＸＴＥＮ－架橋剤分子への複数共役の可能性を低減する。共役時のペプチド／タンパク質脱活性化の可能性も低減する。さらに、システイン部位への共役は、十分に定義された方法で実行できる場合が多く、単一種ＸＴＥＮポリマー－ペプチドまたはＸＴＥＮポリマー－ポリペプチド共役体の形成をもたらす。場合によっては、システインは、共役されるペプチドのアミノ酸配列中で不在であり得る。そのような場合、システイン残基は、標準方法を使用して、組み換え的または合成的のいずれかで、ペプチドのＮ末端またはＣ末端に付加することができる。代替として、選択されたアミノ酸は、システインに対し、化学的または遺伝子的に修飾することができる。一例として、システインに対するセリン修飾は、保存的変異であると見なされる。チオール基をシステイン欠失ペプチドに導入するための別の手法は、２－イミノチオラン（Ｔｒａｕｔ試薬）、ＳＡＴＡ（Ｎ－スクシンイミジルＳ－アセチルチオ酢酸塩）、ＳＡＴＰ（Ｎ－スクシンイミジルＳ－アセチルチオプロピオン酸塩）、ＳＡＴ－PEO_4－Ａｃ（Ｎ－スクシンイミジルＳ－アセチル（チオテトラエチレングリコール））、ＳＰＤＰ（Ｎ－スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオン酸塩）、ＬＣ－ＳＰＤＰ（スクシンイミジル６－（３’－［２－ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ヘキサン酸塩）等のチオール化試薬を使用する、リジンεアミノ基の化学修飾である（以下により完全に記載される）。固有のチオール基は、一端ペプチドに導入されると、上記の通り、Ｎ－マレイミド、ハロアセチル、およびピリジルジスルフィド等のスルフヒドリル反応性を含む化合物により選択的に修飾することができる。

【０３５２】
ＸＴＥＮポリペプチドとペプチド、タンパク質、または少分子薬ペイロードとの間の共役は、当該技術分野において既知であり、使用可能な方法、例えば、Ｒ．Ｆ．Ｔａｙｌｏｒ（１９９１）"Ｐｒｏｔｅｉｎ ｉｍｍｏｂｉｌｉｚａｔｉｏｎ．Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ"，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ Ｉｎｃ．，Ｎ．Ｙ．；Ｇ．Ｔ．Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９９２）"Ｉｍｍｏｂｉｌｉｚｅｄ Ａｆｆｉｎｉｔｙ Ｌｉｇａｎｄ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ"，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ；Ｇ．Ｔ．Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ（２００８）"Ｂｉｏｃｏ

njugate Techniques", 2nd. ed. Elsevier, Inc., S. S. Wong (1991) "Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking", CRC Press, Boca Raton. に記載される方法等に従い、市販のゼロ長、ホモまたはヘテロ二官能性、および多官能性架橋剤化合物を含む、多様な結合化学により達成され得る。開示の共役体を調製する際に使用するための適切な架橋剤は、Sigma－Aldrich、ThermoFisher Scientific（Pierce Protein Research Products）、Invitrogen、ProteoChem、G－Biosciences等の企業から市販されている。架橋剤の好適な実施形態は、チオール反応性官能基またはアミノ反応性官能基を含む。例示的な架橋剤の一覧は、表１３に提供される。

【０３５３】

【表１３－１】

【表１３】　例示的な架橋剤

架橋剤
マレイミド、ハロアセチル、ピリジルジスルフィド、ハロアセチル、ピリジルジスルフィド、ABH（*p*-アジドベンゾイルヒドラジド）、AMAS（*N*-（α-マレイミドアセトキシ）-スクシンイミドエステル）、ANB-NOS（*N*-5-アジド-2-ニトロベンジルオキシ-スクシンイミド）、APDP（*N*-（4-[*p*-アジドサリチルアミド]ブチル）-3′-（2′-ピリジルジチオ）プロピオンアミド、ASBA（4-（*p*-アジドサリチルアミド）-ブチルアミン）、BASED（ビス（β-[4-アジドサリチルアミド]エチル）ジスル

【０３５４】

【表１３－２】

架橋剤
フィド）、BMB（1，4-ビス-マレイミドブタン）、BMDB（1，4 ビスマレイミジル-2，3-ジヒドロキシブタン）、BMH（ビス-マレイミドヘキサン）、BMOE（ビス-マレイミドエタン）、BMPH（*N*-（β-マレイミドプロピオン酸）ヒドラジド）、BMPS（*N*-（β-マレイミドプロピルオキシ）スクシンイミドエステル）、BM（PEG）$_2$（1，8-ビス-マレイミドジエチレン-グリコール）、BM（PEG）$_3$（1，11-ビス-マレイミドトリエチレングリコール）、BS^{2}G（ビス（スルホスクシンイミジル）グルタル酸塩）、BS^3（スルホ-DSS）（ビス（スルホスクシンイミジル）スベル酸塩）、BS[PEG]$_5$（ビス（NHS）PEG5）、BS（PEG）$_9$（ビス（NHS）PEG9）、BSOCOES（ビス（2-[スクシンイミドキシカルボニルオキシ]エチル）スルホン）、C6-SANH（C6-スクシンイミジル 4-ヒドラジノニコチン酸アセトンヒドラゾン）、C6-SFB（C6-スクシンイミジル 4-ホルミル安息香酸塩）、DCC（*N*，*N*-ジシクロヘキシルカルボジイミド）、DFDNB（1-5-ジフルオロ-2，4-ジニトロベンゼン）、DMA（ジメチルアジプイミド酸塩）、DMP（ジメチルピメルイミド酸塩）、DMS（ジメチルスベルイミド酸塩）、DPDPB（1，4-ジ-（3′-[2′ ピリジルジチオ]プロピオンアミド）ブタン）、DSG（ジスクシンイミジルグルタル酸塩）、DSP（ジチオビス（スクシンイミジルプロピオン酸塩）、Lomant 試薬）、DSS（ジスクシンイミジルスベル酸塩）、DST（ジスクシンイミジル酒石酸塩）、DTBP（ジメチル 3，3′-ジチオビスプロピオンイミド酸塩）、DTME（ジチオビス-マレイミドエタン）、DTSSP（スルホ-DSP）（3，3′-ジチオビス（スルホスクシンイミジルプロピオン酸塩））、EDC（1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩）、EGS（エチレングリコールビス（スクシンイミジルコハク酸塩））、EMCA（*N*-ε-マレイミドカプロン酸）、EMCH（*N*-（ε-マレイミドカプロン酸）ヒドラジド）、EMCS（*N*-（ε-マレイミドカプロイルオキシ）スクシンイミドエステル）、GMBS（*N*-（γ-マレイミドブチリルオキシ）スクシンイミドエステル）、KMUA（*N*-κ-マレイミドウンデカン酸）、KMUH（*N*-（κ-マレイミドウンデカン酸）ヒドラジド）、LC-SDA（NHS-LC-ジアジリン）、LC-SMCC（スクシンイミジル 4-（*N*-マレイミドメチル）シクロヘキサン-1-カルボキシ-（6-アミドカプロン酸塩））、LC-SPDP（スクシンイミジル 6-（3′-[2-ピリジルジチオ]プロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、MBS（*m*-マレイミドベンゾイル-*N*-ヒドロキシスクシンイミドエステル）、MPBH（4-（4-N-マレイミドフェニル）-酪酸ヒドラジド）、NHS-ASA（*N*-ヒドロキシスクシンイミジル-4-アジドサリチル酸）、PDPH（3-（2-ピリジルジチオ）プロピオニルヒドラジド）、PMPI（*N*-（*p*-マレイミドフェニル）イソシアン酸塩）、SADP（スクシンイミジル（4-アジドフェニルジチオ）プロピオン酸塩）、SAED（スクシミジル 2-[7-アジド-4-メチルクマリン-3-アセトアミド]エチル-1，3′-ジチオプロピオン酸塩）、SAND（スクシンイミジル-2-（m-アジド-*o*-ニトロベンズアミド）エチル 1，3′-ジチオプロピオン酸塩）、SANH（スクシンイミジル 4-ヒドラジノニコチン酸アセトンヒドラゾン）、SANPAH（*N*-スクシンイミジル 6-（4′-アジド-2′-ニトロフェニルアミノ）ヘキサン酸塩）、SASD（スクシンイミジル-2-（p-アジドサリチルアミド）エチル-1，3-ジチオプロピオン酸塩）、SBAP（スクシンイミジル 3-（ブロモアセトアミド）プロピオン酸塩）、SDA（NHS-ジアジリン）、SDAD（NHS-SS-ジアジリン）、SFAD（スクシンイミジル（ペルフルオロアジドベンズアミド）エチル 1，3′-ジチオプロピオン酸塩）、SFB（スクシンイミジル 4-ホルミル安息香酸塩）、SHTH

【０３５５】

【表１３－３】

架橋剤
（スクシンイミジル 4-ヒドラジドテレフタル酸塩）、SIA（*N*-スクシンイミジルヨード酢酸塩）、SIAB（*N*-スクシンイミジル（4-ヨードアセチル）アミノ安息香酸塩）、SMPB（スクシンイミジル 4-（p-マレイミドフェニル）酪酸塩）、SMCC（スクシンイミジル 4-（*N*-マレイミド-メチル）シクロヘキサン-1-カルボン酸塩）、$SM[PEG]_2$（NHS-PEG2-マレイミド）、$SM[PEG]_4$（NHS-PEG4-マレイミド）、$SM(PEG)_6$（NHS-PEG6-マレイミド）、$SM[PEG]_8$（NHS-PEG8-マレイミド）、$SM[PEG]_{12}$（NHS-PEG12-マレイミド）、$SM(PEG)_{24}$（NHS-PEG24-マレイミド）、SMPB（スクシンイミジル 4-（*p*-マレイミド-フェニル）酪酸塩）、SMPH（スクシンイミジル-6-（β-マレイミドプロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、SMPT（4-スクシンイミジルオキシカルボニル-メチル-α-（2-ピリジルジチオ）トルエン）、SPB（スクシンイミジル-（4-ソラレン-8-イルオキシ）酪酸塩）、SPDP（*N*-スクシンイミジル 3-（2-ピリジルジチオ）プロピオン酸塩）、スルホ-DST（スルホスクシンイミジル酒石酸塩）、スルホ-EGS（エチレングリコールビス（スルホ-スクシンイミジルコハク酸塩））、スルホ-EMCS（*N*-（ε-マレイミドカプロイルオキシ）スルホスクシンイミドエステル）、スルホ-GMBS（*N*-（γ-マレイミドブチルオキシ）スルホスクシンイミドエステル）、スルホ-HSAB（*N*-ヒドロキシスルホスクシンイミジル-4-アジド安息香酸塩）、スルホ-KMUS（*N*-（κ-マレイミドウンデカノイルオキシ）スルホスクシンイミドエステル）、スルホ-LC-SDA（スルホ-NHS-LC-ジアジリン）、スルホ-LC-SMPT（スルホスクシンイミジル 6-（α-メチル-α-[2-ピリジルジチオ]-トルアミド）ヘキサン酸塩）、スルホ-LC-SPDP（スルホスクシンイミジル 6-（3′-[2-ピリジルジチオ]プロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、スルホ-MBS（*m*-マレイミドベンゾイル-*N*-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル）、スルホ-NHS-LC-ASA（スルホスクシンイミジル（4-アジド-サリチルアミド）ヘキサン酸塩）、スルホ-SADP（スルホスクシンイミジル（4-アジドフェニルジチオ）プロピオン酸塩）、スルホ-SAED（スルホスクシミジル 2-[7-アジド-4-メチルクマリン-3-アセトアミド]エチル-1，3′-ジチオプロピオン酸塩）、スルホ-SAND（スルホスクシンイミジル-2-（m-アジド-*o*-ニトロベンズアミド）エチル 1，3′-ジチオプロピオン酸塩）、スルホ-SANPAH（スルホスクシンイミジル 6-（4′-アジド-2′-ニトロフェニルアミノ）ヘキサン酸塩）、スルホ-SASD（スルホスクシンイミジル-2-（p-アジドサリチルアミド）エチル-1，3-ジチオプロピオン酸塩）、スルホ-SDA（スルホ-NHS-ジアジリン）、スルホ-SDAD（スルホ-NHS-SS-ジアジリン）、スルホ-SFAD（スルホスクシンイミジル（ペルフルオロアジドベンズアミド）エチル 1，3′-ジチオプロピオン酸塩）、スルホ-SIAB（スルホスクシンイミジル（4-ヨード-アセチル）アミノ安息香酸塩）、スルホ-SMCC（スルホスクシンイミジル 4-（*N*-マレイミドメチル）シクロヘキサン-1-カルボン酸塩）、スルホ-SMPB（スルホスクシンイミジル 4-（*p*-マレイミドフェニル）酪酸塩）、THPP（β-（トリス[ヒドロキシメチル]ホスフィン）プロピオン酸（ベタイン））、TMEA（*トリス*-（2-マレイミドエチル）アミン）、TSAT（*トリス*-（スクシンイミジルアミノ三酢酸塩））、3-プロパルギルオキシプロパン酸、NHS エステル、アセチレン-PEG-NHS エステル、ジベンジルシクロオクチン、（DBCO）-NHS エステル、DBCO-PEG-NHS エステル、シクロオクチン（COT）-NHS エステル、COT-PEG-NHS エステル、COT-PEG-ペンタフルオロフェニル（PFP）エステル、BCOT-NHS エステル、BCOT-PEG-NHS エステル、BCOT-PEG-ペンタフルオロフェニル（PFP）エ

【０３５６】

【表１３－４】

架橋剤
ステル、アセチレン-PEG4-マレイミド、DBCO-マレイミド、COT-マレイミド、BCOT-マレイミド、3-アジド-プロピオン酸、NHS エステル、6-アジド-ヘキサン酸、NHS エステル、3-アジド-プロピオン酸、PFP エステル、6-アジド-ヘキサン酸、PFP エステル、アジド-PEG-NHS エステル、アジド-PEG-PFP エステル、アジド-PEG-マレイミド、N-（5-アミノペンチル）マレイミド、アミノペンチル-マレイミド

【０３５７】

架橋剤の非限定例は、ＡＢＨ（ｐ－アジドベンゾイルヒドラジド）、ＡＭＡＳ（Ｎ－（α－マレイミドアセトキシ）－スクシンイミドエステル）、ＡＮＢ－ＮＯＳ（Ｎ－５－アジド－２－ニトロベンジルオキシ－スクシンイミド）、ＡＰＤＰ（Ｎ－（４－［ｐ－アジドサリチルアミド］ブチル）－３’－（２’－ピリジルジチオ）プロピオンアミド）、ＡＳＢＡ（４－（ｐ－アジドサリチルアミド）－ブチルアミン）、ＢＡＳＥＤ（ビス（β－［４－アジドサリチルアミド］エチル）ジスルフィド）、ＢＭＢ（１，４－ビス－マレイミドブタン）、ＢＭＤＢ（１，４ビスマレイミジル－２，３－ジヒドロキシブタン）、ＢＭ

Ｈ（ビス－マレイミドヘキサン）、ＢＭＯＥ（ビス－マレイミドエタン）、ＢＭＰＨ（Ｎ－（β－マレイミドプロピオン酸）ヒドラジド）、ＢＭＰＳ（Ｎ－（β－マレイミドプロピルオキシ）スクシンイミドエステル）、ＢＭ（ＰＥＧ）$_2$（１，８－ビス－マレイミドジエチレン－グリコール）、ＢＭ（ＰＥＧ）$_3$（１，１１－ビス－マレイミドトリエチレングリコール）、ＢＳ^{2}Ｇ（ビス（スルホスクシンイミジル）グルタル酸塩）、ＢＳ^3（スルホ－ＤＳＳ）（ビス（スルホスクシンイミジル）スベル酸塩）、ＢＳ［ＰＥＧ］$_5$（ビス（ＮＨＳ）ＰＥＧ５）、ＢＳ（ＰＥＧ）$_9$（ビス（ＮＨＳ）ＰＥＧ９）、ＢＳＯＣＯＥＳ（ビス（２－［スクシンイミドキシカルボニルオキシ］エチル）スルホン）、Ｃ６－ＳＡＮＨ（Ｃ６－スクシンイミジル４－ヒドラジノニコチン酸アセトンヒドラゾン）、Ｃ６－ＳＦＢ（Ｃ６－スクシンイミジル４－ホルミル安息香酸塩）、ＤＣＣ（Ｎ，Ｎ－ジシクロヘキシルカルボジイミド）、ＤＦＤＮＢ（１－５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン）、ＤＭＡ（ジメチルアジプイミド酸塩）、ＤＭＰ（ジメチルピメルイミド酸塩）、ＤＭＳ（ジメチルスベルイミド酸塩）、ＤＰＤＰＢ（１，４－ジ－（３’－［２’ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ブタン）、ＤＳＧ（ジスクシンイミジルグルタル酸塩）、ＤＳＰ（ジチオビス（スクシミジルプロピオン酸塩）、Ｌｏｍａｎｔ試薬）、ＤＳＳ（ジスクシンイミジルスベル酸塩）、ＤＳＴ（ジスクシンイミジル酒石酸塩）、ＤＴＢＰ（ジメチル３，３’－ジチオビスプロピオンイミド酸塩）、ＤＴＭＥ（ジチオビス－マレイミドエタン）、ＤＴＳＳＰ（スルホ－ＤＳＰ）（３，３’－ジチオビス（スルホスクシンイミジルプロピオン酸塩））、ＥＤＣ（１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩）、ＥＧＳ（エチレングリコールビス（コハク酸スクシンイミジル））、ＥＭＣＡ（Ｎ－ε－マレイミドカプロン酸）、ＥＭＣＨ（Ｎ－（ε－マレイミドカプロン酸）ヒドラジド）、ＥＭＣＳ（Ｎ－（ε－マレイミドカプロイルオキシ）スクシンイミドエステル）、ＧＭＢＳ（Ｎ－（γ－マレイミドブチリルオキシ）スクシンイミドエステル）、ＫＭＵＡ（Ｎ－κ－マレイミドウンデカン酸）、ＫＭＵＨ（Ｎ－（κ－マレイミドウンデカン酸）ヒドラジド）、ＬＣ－ＳＤＡ（ＮＨＳ－ＬＣ－ジアジリン）、ＬＣ－ＳＭＣＣ（スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシ－（６－アミドカプロン酸塩））、ＬＣ－ＳＰＤＰ（スクシンイミジル６－（３’－［２－ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、ＭＢＳ（ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル）、ＭＰＢＨ（４－（４－Ｎ－マレイミドフェニル）－酪酸ヒドラジド）、ＮＨＳ－ＡＳＡ（Ｎ－ヒドロキシスクシンイミジル－４－アジドサリチル酸）、ＰＤＰＨ（３－（２－ピリジルジチオ）プロピオニルヒドラジド）、ＰＭＰＩ（Ｎ－（ｐ－マレイミドフェニル）イソシアン酸塩）、ＳＡＤＰ（スクシンイミジル（４－アジドフェニルジチオ）プロピオン酸塩）、ＳＡＥＤ（スクシミジル２－［７－アジド－４－メチルクマリン－３－アセトアミド］エチル－１，３’－ジチオプロピオン酸塩）、ＳＡＮＤ（スクシンイミジル－２－（ｍ－アジド－ｏ－ニトロベンズアミド）エチル１，３’－ジチオプロピオン酸塩）、ＳＡＮＨ（スクシンイミジル４－ヒドラジノニコチン酸アセトンヒドラゾン）、ＳＡＮＰＡＨ（Ｎ－スクシンイミジル６－（４’－アジド－２’－ニトロフェニルアミノ）ヘキサン酸塩）、ＳＡＳＤ（スクシンイミジル－２－（ｐ－アジドサリチルアミド）エチル－１，３－ジチオプロピオン酸塩）、ＳＢＡＰ（スクシンイミジル３－（ブロモアセトアミド）プロピオン酸塩）、ＳＤＡ（ＮＨＳ－ジアジリン）、ＳＤＡＤ（ＮＨＳ－ＳＳ－ジアジリン）、ＳＦＡＤ（スクシンイミジル（ペルフルオロアジドベンズアミド）エチル１，３’－ジチオプロピオン酸塩）、ＳＦＢ（スクシンイミジル４－ホルミル安息香酸塩）、ＳＨＴＨ（スクシンイミジル４－ヒドラジドテレフタル酸塩）、ＳＩＡ（Ｎ－スクシンイミジルヨード酢酸塩）、ＳＩＡＢ（Ｎ－スクシンイミジル（４－ヨードアセチル）アミノ安息香酸塩）、ＳＭＰＢ（スクシンイミジル４－（ｐ－マレイミドフェニル）酪酸塩）、ＳＭＣＣ（スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミド－メチル）シクロヘキサン－１－カルボン酸塩）、ＳＭ［ＰＥＧ］$_2$（ＮＨＳ－ＰＥＧ２－マレイミド）、ＳＭ［ＰＥＧ］$_4$（ＮＨＳ－ＰＥＧ４－マレイミド）、ＳＭ（ＰＥＧ）$_6$（ＮＨＳ－ＰＥＧ６－マレイミド）、ＳＭ［ＰＥＧ］$_8$（ＮＨＳ－ＰＥＧ８－マレイミド）、ＳＭ［ＰＥＧ］$_{12}$（ＮＨＳ－ＰＥＧ１２－マレイミド）、ＳＭ（ＰＥＧ）$_{24}$（ＮＨＳ

－ＰＥＧ２４－マレイミド）、ＳＭＰＢ（スクシンイミジル４－（ｐ－マレイミド－フェニル）酪酸塩）、ＳＭＰＨ（スクシンイミジル－６－（β－マレイミドプロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、ＳＭＰＴ（４－スクシンイミジルオキシカルボニル－メチル－α－（２－ピリジルジチオ）トルエン）、ＳＰＢ（スクシンイミジル－（４－ソラレン－８－イルオキシ）酪酸塩）、ＳＰＤＰ（Ｎ－スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオン酸塩）、スルホ－ＤＳＴ（スルホジスクシンイミジル酒石酸塩）、スルホ－ＥＧＳ（エチレングリコールビス（スルホ－スクシンイミジルコハク酸塩））、スルホ－ＥＭＣＳ（Ｎ－（ε－マレイミドカプロイルオキシ）スルホスクシンイミドエステル）、スルホ－ＧＭＢＳ（Ｎ－（γ－マレイミドブトリルオキシ）スルホスクシンイミドエステル）、スルホ－ＨＳＡＢ（Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミジル－４－アジド安息香酸塩）、スルホ－ＫＭＵＳ（Ｎ－（κ－マレイミドウンデカノイルオキシ）スルホスクシンイミドエステル）、スルホ－ＬＣ－ＳＤＡ（スルホ－ＮＨＳ－ＬＣ－ジアジリン）、スルホ－ＬＣ－ＳＭＰＴ（スルホスクシンイミジル６－（α－メチル－α－［２－ピリジルジチオ］－トルアミド）ヘキサン酸塩）、スルホ－ＬＣ－ＳＰＤＰ（スルホスクシンイミジル６－（３’－［２－ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、スルホ－ＭＢＳ（ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル）、スルホ－ＮＨＳ－ＬＣ－ＡＳＡ（スルホスクシンイミジル（４－アジド－サリチルアミド）ヘキサン酸塩）、スルホ－ＳＡＤＰ（スルホスクシンイミジル（４－アジドフェニルジチオ）プロピオン酸塩）、スルホ－ＳＡＥＤ（スルホスクシンイミジル２－［７－アジド－４－メチルクマリン－３－アセトアミド］エチル－１，３’－ジチオプロピオン酸塩）、スルホ－ＳＡＮＤ（スルホスクシンイミジル－２－（ｍ－アジド－ｏ－ニトロベンズアミド）エチル１，３’－ジチオプロピオン酸塩）、スルホ－ＳＡＮＰＡＨ（スルホスクシンイミジル６－（４’－アジド－２’－ニトロフェニルアミノ）ヘキサン酸塩）、スルホ－ＳＡＳＤ（スルホスクシンイミジル－２－（ｐ－アジドサリチルアミド）エチル－１，３－ジチオプロピオン酸塩）、スルホ－ＳＤＡ（スルホ－ＮＨＳ－ジアジリン）、スルホ－ＳＤＡＤ（スルホ－ＮＨＳ－ＳＳ－ジアジリン）、スルホ－ＳＦＡＤ（スルホスクシンイミジル（ペルフルオロアジドベンズアミド）エチル１，３’－ジチオプロピオン酸塩）、スルホ－ＳＩＡＢ（スルホスクシンイミジル（４－ヨード－アセチル）アミノ安息香酸塩）、スルホ－ＳＭＣＣ（スルホスクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボン酸塩）、スルホ－ＳＭＰＢ（スルホスクシンイミジル４－（ｐ－マレイミドフェニル）酪酸塩）、ＴＨＰＰ（β－（トリス［ヒドロキシメチル］ホスフィン）プロピオン酸（ベタイン））、ＴＭＥＡ（トリス－（２－マレイミドエチル）アミン）、ＴＳＡＴ（トリス－（スクシンイミジルアミノ三酢酸塩））である。

【０３５８】

いくつかの実施形態において、架橋試薬を使用するＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、非天然スペーサーアームを導入する。しかしながら、天然ペプチド結合が好ましい場合、本発明は、反応が、カルボン酸基の活性化を介して作用するゼロ長架橋剤を使用して実行され得ることを示す。その実施形態において、反応選択性を達成するために、第１のポリペプチドは、遊離Ｃ末端カルボキシル基のみを含有する必要があるが、全てのリジン、グルタミン酸、およびアスパラギン酸側鎖は保護され、第２のペプチド／タンパク質Ｎ末端αアミンは、唯一の使用可能な非保護アミノ基である必要がある（任意のリジン、アスパラギン、またはグルタミンが保護されることを要する）。そのような場合、ＸＴＥＮ－ペイロードまたはＸＴＥＮ－架橋剤中の第１のポリペプチドとしてグルタミン酸を含まない表２のＸＴＥＮ　ＡＧファミリー配列の使用が好ましい。したがって、一実施形態において、本発明は、ＡＧ　ＸＴＥＮ配列を含むＸＴＥＮ－架橋剤およびＸＴＥＮ－ペイロードを提供し、これらの組成物は、ゼロ長架橋剤を使用してペイロードに共役される。実施形態において利用される例示的なゼロ長架橋剤としては、限定されないが、ＤＣＣ（Ｎ，Ｎ－ジシクロヘキシルカルボジイミド）およびＥＤＣ（１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩）が挙げられ、架橋剤を使用して、１つの分子のカルボキシル官能基を別の分子の第１級アミン、例えば、その官能基を持つペイロードに直接

共役する（図６参照）。スルホ－ＮＨＳ（Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミド）およびＮＨＳ（Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド）は、共役のための触媒として使用され、反応効率を高める（Ｇｒａｂａｒｅｋ Ｚ，Ｇｅｒｇｅｌｙ Ｊ．Ｚｅｒｏ－ｌｅｎｇｔｈ ｃｒｏｓｓｌｉｎｋｉｎｇ ｐｒｏｃｅｄｕｒｅ ｗｉｔｈ ｔｈｅ ｕｓｅ ｏｆ ａｃｔｉｖｅ ｅｓｔｅｒｓ．（１９９０）Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１８５（１），１３１－１３５）。ＥＤＣは、カルボン酸基と反応し、カルボキシル基を活性化して、活性Ｏ－アシルイソ尿素中間体を創製し、それが反応混合物中のアミノ基に結合するのを許す。Ｏ－アシルイソ尿素中間体は、水溶液中で不安定であり、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドを使用して、中間体の安定性を増加させない２ステップ共役手順において効果をなくす。この中間体は、第１級アミンと反応してアミド誘導体を形成する。架橋反応は、通常、ｐＨ４．５～５で行われ、多くの適用に対しわずか数分を要する。しかしながら、反応の収率は４．５～７．５のｐＨにおいて同様である。ＥＤＣの加水分解は、結合中の競合反応であり、温度、ｐＨ、および緩衝液組成に依存する。４－モルホリノエタンスルホン酸（ＭＥＳ）は、有効なカルボジイミド反応緩衝剤である。リン酸緩衝液は、ＥＤＣの反応効率を低減させるが、ＥＤＣの量を増加させることにより、低減された効率を補償することができる。トリス、グリシン、および酢酸緩衝液は、共役緩衝液として使用されないことがある。

【０３５９】

本発明は、３つのＸＴＥＮが三価架橋剤により結合され、三量体ＸＴＥＮ－架橋剤共役体をもたらす、組成物も提供する。三量体架橋剤は、第３級アミン、三置換メタン、もしくは１，３，５－三置換ベンゼン等の対称三価コア、またはＬｙｓＬｙｓジペプチドもしくはＧｌｕＧｌｕジペプチドもしくはＡｓｐＡｓｐジペプチドもしくはＣｙｓＣｙｓＣｙｓトリペプチド等の非対称三価分子を、スペーサーにより、標準共役技法を使用して、表１４に記載される様々な反応性側基に接続することにより形成することができる。一実施形態において、本発明は、３つのＸＴＥＮが、チオール反応性トリス－（２－マレイミドエチル）アミン（ＴＭＥＡ）、アミン反応性トリス－（スクシンイミジルアミノトリアセテート）（ＴＳＡＴ）、および表１４に記載される架橋剤からなる群から選択される三価架橋剤により共有結合される、組成物を提供する。

【０３６０】

【表１４】

【表１４】　三価架橋剤

三価架橋剤*			
三価コア	1群	2群	3群
第3級アミン	アジド	アジド	アジド
三置換メタン	アルキン	アルキン	アルキン
1,3,5-三置換ベンゼン	NHS	NHS	NHS
LysLys	マレイミド	マレイミド	マレイミド
GluGluGlu	ヨードアセチル	ヨードアセチル	ヨードアセチル
AspAspAsp	アジド	NHS	NHS
CysCysCys	アジド	アジド	NHS
	アジド	ヨードアセチル	ヨードアセチル
	アジド	アジド	ヨードアセチル
	アルキン	NHS	NHS
	アルキン	アルキン	NHS
	アルキン	ヨードアセチル	ヨードアセチル
	アルキン	アルキン	ヨードアセチル
	アルキン	マレイミド	マレイミド
	アルキン	アルキン	マレイミド
	NHS	マレイミド	マレイミド
	NHS	NHS	マレイミド
	NHS	アルキン	マレイミド

*三価コアの１つ＋１群のいずれか１つ＋２群のいずれか１つ＋３群のいずれか１つ

【０３６１】
他の実施形態において、ＸＴＥＮおよびペイロードは、広範な架橋剤群を使用して共役することができ、スペーサーアーム（直鎖状または分岐）およびタンパク質または他の分子上の特定の官能基（例えば、第１級アミン、スルフヒドリル等）に付着することができる２つ以上の反応性末端からなるものを含む。直鎖状架橋剤は、ホモ二官能性またはヘテロ二官能性であり得る。ホモ二官能性架橋剤は、１ステップ反応手順においてタンパク質を架橋するために使用される２つの同一の反応基を有する。アミン反応性ホモ二官能性架橋剤の非限定例は、ＢＳ２Ｇ（ビス（スルホスクシンイミジル）グルタル酸塩）、ＢＳ３（スルホ－ＤＳＳ）（ビス（スルホスクシンイミジル）スベル酸塩）、ＢＳ［ＰＥＧ］５（ビス（ＮＨＳ）ＰＥＧ５）、ＢＳ（ＰＥＧ）９（ビス（ＮＨＳ）ＰＥＧ９）、ＢＳＯＣＯＥＳ（ビス（２－［スクシンイミドキシカルボニルオキシ］エチル）スルホン）、ＤＦＤＮＢ（１－５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン）、ＤＭＡ（ジメチルアジプイミド酸塩）、ＤＭＰ（ジメチルピメルイミド酸塩）、ＤＭＳ（ジメチルスベルイミド酸塩）、ＤＳＧ（ジスクシンイミジルグルタル酸塩）、ＤＳＰ（ジチオビス（スクシミジルプロピオン酸塩）（Ｌｏｍａｎｔ試薬）、ＤＳＳ（ジスクシンイミジルスベル酸塩）、ＤＳＴ（ジスクシンイミジル酒石酸塩）、ＤＴＢＰ（ジメチル３，３’－ジチオビスプロピオンイミド酸塩）、ＤＴＳＳＰ（スルホ－ＤＳＰ）（３，３’－ジチオビス（スルホスクシンイミジルプロピオン酸塩））、ＥＧＳ（エチレングリコールビス（スクシンイミジルコハク酸塩））、スルホ－ＥＧＳ（エチレングリコールビス（スルホ－スクシンイミジルコハク酸塩））である。

【０３６２】
追加として、組成物中およびＸＴＥＮ－ペイロードおよび／またはＸＴＥＮ－架橋剤組成物を形成する方法に用いられるホモ二官能性架橋剤の例は、スルフヒドリル反応剤、例えば、ＢＭＢ（１，４－ビス－マレイミドブタン）、ＢＭＨ（ビス－マレイミドヘキサン）、ＢＭＤＢ（１，４ビスマレイミジル－２，３－ジヒドロキシブタン）、ＢＭＯＥ（ビス－マレイミドエタン）、ＢＭ（ＰＥＧ）２（１，８－ビス－マレイミドジエチレン－グリコール）、ＢＭ（ＰＥＧ）３（１，１１－ビス－マレイミドトリエチレングリコール）、ＤＰＤＰＢ（１，４－ジ－（３’－［２’ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ブタン）、ＤＴＭＥ（ジチオビス－マレイミドエタン）である。

【０３６３】
ペイロードに対する後次共役のためのＸＴＥＮ－架橋剤共役体の形成、ならびにＸＴＥＮ－ペイロード共役体の形成の場合、逐次反応を制御することができるため、ヘテロ二官能性架橋剤が好ましい。ヘテロ二官能性架橋剤は、２つの異なる反応基を有するため、組成物中のそれらの使用は、逐次２ステップ共役を可能にする。ヘテロ二官能性試薬は、より不安定な基を使用して、第１のタンパク質と反応する。一実施形態において、ＸＴＥＮ中の反応基に対するヘテロ二官能性架橋剤の共役は、ＸＴＥＮ－架橋剤共役体をもたらす。反応を完了し、過剰な未反応架橋剤を除去した後、修飾タンパク質（例えば、ＸＴＥＮ－架橋剤）を、架橋剤の第２の反応群と相互作用するペイロードに付加することができ、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。最も一般に使用されるヘテロ二官能性架橋剤は、一端にアミン反応基を含有し、もう一端にスルフヒドリル反応基を含有する。したがって、これらの架橋剤は、システインもしくはリジン操作されたＸＴＥＮ、またはＸＴＥＮのＮ末端のαアミノ基との併用に適している。ヘテロ二官能性架橋剤の非限定例は、ＡＭＡＳ（Ｎ－（α－マレイミドアセトキシ）－スクシンイミドエステル）、ＢＭＰＳ（Ｎ－（β－マレイミドプロピルオキシ）スクシンイミドエステル）、ＥＭＣＳ（Ｎ－（ε－マレイミドカプロイルオキシ）スクシンイミドエステル）、ＧＭＢＳ（Ｎ－（γ－マレイミドブチリルオキシ）スクシンイミドエステル）、ＬＣ－ＳＭＣＣ（スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシ－（６－アミドカプロン酸塩））、ＬＣ－ＳＰＤＰ（スクシンイミジル６－（３’－［２－ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、ＭＢＳ（ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル）、ＳＢＡＰ（スクシンイミジル３－（ブロモアセトアミド）プロピオン

酸塩）、ＳＩＡ（Ｎ－スクシンイミジルヨード酢酸塩）、ＳＩＡＢ（Ｎ－スクシンイミジル（４－ヨードアセチル）アミノ安息香酸塩）、ＳＭＰＢ（スクシンイミジル４－（ｐ－マレイミドフェニル）酪酸塩）、ＳＭＣＣ（スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミド－メチル）シクロヘキサン－１－カルボン酸塩）、ＳＭ［ＰＥＧ］$_2$（ＮＨＳ－ＰＥＧ２－マレイミド）、ＳＭ［ＰＥＧ］$_4$（ＮＨＳ－ＰＥＧ４－マレイミド）、ＳＭ（ＰＥＧ）$_6$（ＮＨＳ－ＰＥＧ６－マレイミド）、ＳＭ［ＰＥＧ］$_8$（ＮＨＳ－ＰＥＧ８－マレイミド）、ＳＭ［ＰＥＧ］$_{12}$（ＮＨＳ－ＰＥＧ１２－マレイミド）、ＳＭ（ＰＥＧ）$_{24}$（ＮＨＳ－ＰＥＧ２４－マレイミド）、ＳＭＰＢ（スクシンイミジル４－（ｐ－マレイミド－フェニル）酪酸塩）、ＳＭＰＨ（スクシンイミジル－６－（β－マレイミドプロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、ＳＭＰＴ（４－スクシンイミジルオキシカルボニル－メチル－α－（２－ピリジルジチオ）トルエン）、ＳＰＤＰ（Ｎ－スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオン酸塩）、スルホ－ＥＭＣＳ（Ｎ－（ε－マレイミドカプロイルオキシ）スルホスクシンイミドエステル）、スルホ－ＧＭＢＳ（Ｎ－（γ－マレイミドブトリルキシ）スルホスクシンイミドエステル）、スルホ－ＫＭＵＳ（Ｎ－（κ－マレイミドウンデカノイルオキシ）スルホスクシンイミドエステル）、スルホ－ＬＣ－ＳＭＰＴ（スルホスクシンイミジル６－（α－メチル－α－［２－ピリジルジチオ］－トルアミド）ヘキサン酸塩）、スルホ－ＬＣ－ＳＰＤＰ（スルホスクシンイミジル６－（３’－［２－ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、スルホ－ＭＢＳ（ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル）、スルホ－ＳＩＡＢ（スルホスクシンイミジル（４－ヨード－アセチル）アミノ安息香酸塩）、スルホ－ＳＭＣＣ（スルホスクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボン酸塩）、スルホ－ＳＭＰＢ（スルホスクシンイミジル４－（ｐ－マレイミドフェニル）酪酸塩）である。アミンおよびスルフヒドリル含有分子の共有結合を可能にするヘテロ二官能性架橋剤の例は、スルホ－ＳＭＣＣ（スルホスルホスクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボン酸塩）である。スルホ－ＳＭＣＣは、水性緩衝液中、最大１０ｍＭ濃度で調製され得るＳＭＣＣの水溶性類似体である。この架橋剤のスペーサーアーム中のシクロヘキサン環は、この環を含有しない同様の試薬と比較して、マレイミド基の加水分解率を減少させる。この特徴は、ＳＭＣＣまたはスルホ－ＳＭＣＣを用いてマレイミド活性化されたＸＴＥＮを凍結乾燥させ、スルフヒドリル含有分子への後の共役のために貯蔵されるようにする。したがって、一実施形態において、本発明は、最適に整列されたとき、表３から選択される配列もしくは配列のフラグメントに対し少なくとも約８０％の配列同一性、または少なくとも約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、または約９９％の配列同一性を有するか、または同一であるＸＴＥＮを有するＸＴＥＮ－架橋剤を提供し、ＸＴＥＮ－架橋剤は、ＸＴＥＮのαアミノ基またはリジン操作されたＸＴＥＮのεアミンに結合されたスルホ－ＳＭＣＣの１つ以上の架橋剤を有する。別の実施形態において、本発明は、最適に整列されたとき、表２から選択される配列もしくは配列のフラグメントに対し少なくとも約８０％の配列同一性、または約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、または約９９％の配列同一性を有するか、または同一であるＸＴＥＮを有するＸＴＥＮ－架橋剤を提供し、ＸＴＥＮ－架橋剤は、ＸＴＥＮのＮ末端のアミノ基に結合された１つのスルホ－ＳＭＣＣを有する。前述のヘテロ二官能性架橋剤は、単一アミンおよび単一システインを介して２つの分子を共役する。タンパク質中のジスルフィド架橋への部位特異的共役のために特別な種類の架橋剤が開発された（Ｂａｌａｎ Ｓ．ｅｔ ａｌ．Ｓｉｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ＰＥＧｙｌａｔｉｏｎ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎ ｄｉｓｕｌｆｉｄｅ ｂｏｎｄｓ ｕｓｉｎｇ ａ ｔｈｒｅｅ－ｃａｒｂｏｎ ｂｒｉｄｇｅ．（２００７）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．１８，６１－７６；Ｂｒｏｃｃｈｉｎｉ Ｓ．ｅｔ ａｌ．Ｄｉｓｕｌｆｉｄｅ ｂｒｉｄｇｅ ｂａｓｅｄ ＰＥＧｙｌａｔｉｏｎ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ．（２００８）Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｒｅｖｉｅｗｓ ６０，３－１２）。

最初に、リンカーは、アミン特異的４－［２，２－ビス［ｐ－トリルスルホニル）メチル］アセチル）安息香酸－ＮＨＳエステルとして合成される。この分子は、ＸＴＥＮ－ビス（スルホン）を生じるＸＴＥＮのアミノ基に共有結合され得る。後者の分子の５０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液中（ｐＨ７．８）のインキュベーションは、トルエンスルフィン酸の排除をもたらし、ＸＴＥＮ－α、β－不飽和β’－モノスルホンを生成する。得られた分子は、ジスルフィド架橋含有ペイロードと部位特異的に反応する。第１のステップにおいて、ジスルフィド架橋は、還元により２つのチオールに変換される。第２のステップにおいて、ＸＴＥＮ－モノスルホンは、２つのシステインをビスアルキル化し、化学的に安定な３炭素架橋をもたらす。同じα、β不飽和β’－モノスルホンは、ジスルフィド架橋に由来する２つのチオール基への共役のみならず、ポリヒスチジンタグへの共役にも使用することができる（Ｃｏｎｇ Ｙ．ｅｔ ａｌ．Ｓｉｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ＰＥＧｙｌａｔｉｏｎ ａｔ ｈｉｓｔｉｄｉｎｅ ｔａｇｓ．（２０１２）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．２３，２４８－２６３）。

【０３６４】

ＸＴＥＮ－架橋剤組成物を使用するスルホ－ＳＭＣＣとの共役は、通常、２ステッププロセスで行われる。一実施形態において、アミン含有タンパク質は、例えば、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ＝１００ｍＭリン酸ナトリウム、１５０ｍＭ塩化ナトリウム、ｐＨ７．２）または相当するアミンおよびスルフヒドリルを含まない緩衝液（ｐＨ６．５～７．５）の共役緩衝液中で調製される。１～５ｍＭまでＥＤＴＡを付加することは、二価金属をキレート化し、それによりスルフヒドリル含有タンパク質中のジスルフィド形成を低減する。アミン含有タンパク質の濃度は、使用される架橋剤モル過剰を決定する。一般に、１ｍｇ／ｍｌ未満のタンパク質試料は、４０～８０倍モル過剰を利用し、１～４ｍｇ／ｍｌのタンパク質試料は、２０倍モル過剰を利用し、５～１０ｍｇ／ｍｌのタンパク質試料は、架橋剤の５～１０倍モル過剰を利用する。反応混合物（アミン含有タンパク質および架橋剤）は、室温で３０分間、または４℃で２時間インキュベートされ、次いで、過剰な架橋剤は、共役緩衝液と平衡化した脱塩カラムを使用して除去される。ＸＴＥＮ－架橋剤を調製する場合、組成物はその時点で保持される。ＸＴＥＮ－架橋剤がペイロードに共役される実施形態において、スルフヒドリル含有ペイロードおよびＸＴＥＮ－架橋剤共役体は、最終共役体に望ましいモル比に対応するモル比で混合され（ＸＴＥＮの分子当たり１つ以上のアミノ基に共役される予想架橋剤の数を考慮する）、ペイロード上に存在する単一スルフヒドリル基と一致する。反応混合物は、室温で３０分間または４℃で２時間インキュベートされる。共役効率は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥに続いてタンパク質染色によるか、適切な分析クロマトグラフィー技法、例えば、逆相ＨＰＬＣまたはカチオン／アニオン交換クロマトグラフィーにより推定することができる。

【０３６５】

一実施形態において、本発明は、多価である架橋剤を使用して形成され、２、３、４、５、６、またはそれ以上のＸＴＥＮを有する組成物をもたらす、ＸＴＥＮ－架橋剤共役組成物を提供する。別の実施形態において、本発明は、多価である架橋剤を使用して形成され、１、２、３、４、５、６、またはそれ以上の異なるペイロードに結合された２、３、４、５、６、またはそれ以上のＸＴＥＮを有する組成物をもたらす、ＸＴＥＮ－架橋剤－ペイロード共役組成物を提供する。多価三官能性架橋剤の非限定例は、「Ｙ形」スルフヒドリル反応性ＴＭＥＡ（トリス－（２－マレイミドエチル）アミン）およびアミン反応性ＴＳＡＴ（トリス－（スクシンイミジルアミノ三酢酸塩）である。反応性部分の任意の組合せは、多価組成物に対し、直鎖状または分岐のいずれかの足場ポリマーを使用して設計され得る。図７に例が示され、構築物は、ホモまたはヘテロ官能性反応基の任意の組合せを有し得る。特に興味深いのは、図２１～２３および９７～１０５に概略的に示される三量体構成、ならびに図２１および１０５～１０６に示される四量体である。特定の理論に拘束されないが、三官能性リンカーにより結合された３つのＸＴＥＮを有する共役組成物は（順に、組み込まれたリジンまたはシステイン残基を介してＸＴＥＮに結合されたペイロードを持つ）、一価ＸＴＥＮ－ペイロード組成物と比較して、構築物の各「アーム」に

対し比例的に短いＸＴＥＮを利用することができ、同数のペイロードが、組み込まれたシステインもしくはリジン、または各ＸＴＥＮのＮ末端アミノ残基に結合され、得られた三量体ＸＴＥＮ－ペイロード組成物は、単量体ＸＴＥＮ－ペイロード組成物に相当する見掛けの分子量および流体力学半径を有するが、より低い粘度を有するため、小口径の針による対象への組成物の投与を補助し、等数のＸＴＥＮアミノ酸を有する単量体ＸＴＥＮ－ペイロード組成物と比較して、組成物の低減した立体障害および増加した柔軟性に起因して、ペイロードから等しいか、またはより優れた能力を提供する。

【０３６６】

一実施形態において、本発明は、三価架橋剤により結合された３つのＸＴＥＮを含む組成物を提供し、この組成物のタンパク質を約１００ｍｇ／ｍｌ含有する溶液は、等モル重量および濃度の対応する直鎖状ＸＴＥＮよりも少なくとも約５ｃＰ、または約６ｃＰ、または約７ｃＰ、または約８ｃＰ、または約９ｃＰ、または約１０ｃＰ低い粘度を有する。別の実施形態において、本発明は、四価架橋剤により結合された４つのＸＴＥＮを含む組成物を提供し、この組成物のタンパク質を約１００ｍｇ／ｍｌ含有する溶液は、等モル重量および濃度の対応する直鎖状ＸＴＥＮよりも少なくとも約５ｃＰ、または約６ｃＰ、または約７ｃＰ、または約８ｃＰ、または約９ｃＰ、または約１０ｃＰ低い粘度を有する。

【０３６７】

多価架橋剤を使用してそのような組成物を製造する方法は、本明細書において上述されるものに類似する反応条件を用いることができるが、例示的な方法および支持データは、以下の実施例に提供される。追加として、多価架橋剤は、リジンオリゴマーの修飾により容易に得ることができる。例えば、ペプチドＬｙｓ－Ｌｙｓは、各Ｌｙｓ残基において３つのアミノ基、１つのαアミノ基、および２つのεアミノ基を含む。これらのアミノ基は、１つのアミン反応基を有する二官能性架橋剤と反応させることにより、多くの他の反応基に変換され得る。例えば、Ｌｙｓ－ＬｙｓのＤＢＣＯ－ＮＨＳ架橋剤との反応は、３個のＤＢＣＯ基を担持する産物を生じる。Ｌｙｓ－ＬｙｓのＮＭａｌ－ＮＨＳ架橋剤との反応は、３つのＮＭａｌ基を担持する産物を生じる。同様の方法で、Ｌｙｓ－Ｌｙｓ－Ｌｙｓに基づく三価架橋剤、およびより長いリジンペプチドを使用することにより、より高原子価の架橋剤を得ることができる。

【０３６８】

架橋剤は、「ホモ二官能性」または「ヘテロ二官能性」のいずれかとして分類することができ、ホモ二官能性架橋剤は、２つ以上の同一反応基を有し、１ステップ反応手順において、官能基等を含有する分子にランダムに結合または重合するために使用され、ヘテロ二官能性架橋剤は、応答性標的官能基を有する分子の単一ステップ共役、または望ましくない重合または自己共役を最小限に抑える逐次（２ステップ）共役のいずれかを可能にする、異なる反応基を有する。ＸＴＥＮ架橋剤が調製され、逐次反応のための組成物として単離される好適な実施形態において、ＸＴＥＮ－架橋剤は、後次反応に使用可能な少なくとも１つの反応基をヘテロ二官能性架橋剤に結合される。

【０３６９】

一実施形態において、本発明は、ジスルフィド結合を持つ切断可能な架橋剤を利用して共役されるＸＴＥＮ架橋剤およびＸＴＥＮ－ペイロードを提供する。典型的に、切断は、β－メルカプトエタノール、ＤＴＴ、ＴＣＥＰ等のジスルフィド結合還元剤により影響を受けるが、特にそのような組成物は、内因性還元剤（例えば、システインおよびグルタチオン）を用いる条件により、徐放様式で内因的に切断可能であることが企図される。以下は、そのような架橋剤の非限定例である：ＡＰＤＰ（Ｎ－（４－［ｐ－アジドサリチルアミド］ブチルｌ）－３’－（２’－ピリジルジチオ）プロピオンアミド）、ＢＡＳＥＤ（ビス（β－［４－アジドサリチルアミド］エチル）ジスルフィド）、ＤＰＤＰＢ（１，４－ジ－（３’－［２’ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ブタン）、ＤＳＰ（ジチオビス（スクシミジルプロピオン酸塩）（Ｌｏｍａｎｔ試薬）、ＤＴＢＰ（ジメチル３，３’－ジチオビスプロピオンイミド酸塩）、ＤＴＭＥ（ジチオビス－マレイミドエタン）、ＤＴＳＳＰ（スルホ－ＤＳＰ）（３，３’－ジチオビス（スルホスクシンイミジルプロピオン酸塩）

）、ＬＣ－ＳＰＤＰ（スクシンイミジル６－（３’－［２－ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、ＰＤＰＨ（３－（２－ピリジルジチオ）プロピオニルヒドラジド）、ＳＤＡＤ（ＮＨＳ－ＳＳ－ジアジリン）、ＳＭＰＴ（４－スクシンイミジルオキシカルボニル－メチル－α－（２－ピリジルジチオ）トルエン）、ＳＰＤＰ（Ｎ－スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオン酸塩）、スルホ－ＬＣ－ＳＭＰＴ（スルホスクシンイミジル６－（α－メチル－α－［２－ピリジルジチオ］－トルアミド）ヘキサン酸塩）、スルホ－ＬＣ－ＳＰＤＰ（スルホスクシンイミジル６－（３’－［２－ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ヘキサン酸塩）、スルホ－ＳＡＥＤ（スルホスクシミジル２－［７－アジド－４－メチルクマリン－３－アセトアミド］エチル－１，３’－ジチオプロピオン酸塩）、スルホ－ＳＡＮＤ（スルホスクシンイミジル－２－（ｍ－アジド－ｏ－ニトロベンズアミド）エチル１，３’－ジチオプロピオン酸塩）、スルホ－ＳＤＡＤ（スルホ－ＮＨＳ－ＳＳ－ジアジリン）、スルホ－ＳＦＡＤ（スルホスクシンイミジル（ペルフルオロアジドベンズアミド）エチル１，３’－ジチオプロピオン酸塩。別の実施形態において、ＢＳＯＣＯＥＳ（ビス（２－［スクシンイミドキシカルボニルオキシ］エチル）スルホン）を含むＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、アルカリン条件下で切断され得る。別の実施形態において、ＤＳＴ（ジスクシンイミジル酒石酸塩）およびＢＭＤＢ（１，４ビスマレイミジル－２，３－ジヒドロキシブタン）を含むＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、過ヨウ素酸塩酸化により切断され得る。ＥＧＳ（エチレングリコールビス（スクシンイミジルコハク酸塩））およびスルホ－ＥＧＳ（エチレングリコールビス（スルホ－スクシンイミジルコハク酸塩））は、ヒドロキシラミンにより切断されるが、活性ペイロードが共役体から放出されるように、内因的に切断されることが予想される。

【０３７０】

一般に、上記の共役試薬は、架橋剤が、アミン、スルフヒドリル、およびカルボキシル等の、そうでなければ安定した不活性基と反応性であると仮定する。他の実施形態において、本発明は、生体高分子に対して安定および不活性であるが、一般に互いに対して高度に反応性である２つの官能基を用いたＸＴＥＮおよびペイロードの別個の修飾に基づく、共役の異なる手法を提供するいくつかの直交反応は、クリック化学の概念下で分類されており、良好な安定性特性を有するＸＴＥＮ－アジド／アルキン反応物を提供し、したがって、別個の反応におけるペイロードとの後次共役のための試薬として特に適している（Ｋｏｌｂ Ｈ．Ｃ．，Ｆｉｎｎ Ｍ．Ｇ．，Ｓｈａｒｐｌｅｓｓ Ｋ．Ｂ．Ｃｌｉｃｋ ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：ｄｉｖｅｒｓｅ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｆｕｎｃｔｉｏｎ ｆｒｏｍ ａ ｆｅｗ ｇｏｏｄ ｒｅａｃｔｉｏｎｓ．（２００１）Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．４０（１１），２００４－２０２１）。一般に、クリック化学は、（１）アルキン－アジド、（２）「ｅｎｅ」－チオール、および（３）アルデヒド－ヒドラジドを必要とする反応を含む反応概念として使用され、本発明の３つ全ての使用を企図する。一例は、図８に示されるように、１，４－二置換－１，２，３－トリアゾールを形成する、アジドへのアルキンのヒュスゲン１，３－双極性環状付加である。アジドおよびアルキン部分は、Ｎ末端α－アミノ基、リジンのε－アミノ基、およびシステインのスルフヒドリル基の化学修飾により、ペプチド／タンパク質もしくは薬物ペイロード、またはＸＴＥＮに導入することができる。表１５は、共役組成物の製造における使用に企図されるクリック化学反応物の非限定例を提供し、意図される共役体（およびＸＴＥＮまたはペイロード）の一成分は、表の反応物１と反応し、第２の成分（ペイロードまたはＸＴＥＮ）は、表のアジド反応物２と反応する。例えば、１つの分子は、アミン反応性アルキン、例えば、３－プロパルギルオキシプロパン酸、ＮＨＳエステル、アセチレン－ＰＥＧ４－ＮＨＳエステル、ジベンジルシクロオクチン（ＤＢＣＯ）－ＮＨＳエステル、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－ＮＨＳエステル、シクロオクチン（ＣＯＴ）－ＰＥＧ２－ＮＨＳエステル、ＣＯＴ－ＰＥＧ３－ＮＨＳエステル、ＣＯＴ－ＰＥＧ４－ＮＨＳエステル、ＣＯＴ－ＰＥＧ２－ペンタフルオロフェニル（ＰＦＰ）エステル、ＣＯＴ－ＰＥＧ３－ＰＦＰエステル、ＣＯＴ－ＰＥＧ４－ＰＦＰエステル、ＢＣＯＴ－ＰＥＧ２－ＮＨＳエステル、ＢＣＯＴ－ＰＥＧ３－ＮＨＳエステル、ＢＣＯＴ－ＰＥＧ４－ＮＨＳエステル、ＢＣＯＴ－ＰＥＧ２－ＰＦ

Ｐエステル、ＢＣＯＴ－ＰＥＧ３－ＰＦＰエステル、ＢＣＯＴ－ＰＥＧ４－ＰＦＰエステルを使用し、アルキン部分で修飾される。あるいは、分子は、スルフヒドリル反応性アルキン、例えば、アセチレン－ＰＥＧ４－マレイミド、ＤＢＣＯ－マレイミド、またはＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－マレイミドで修飾される。第２の分子は、アジド－ＰＥＧ２－ＮＨＳエステル、アジド－ＰＥＧ３－ＮＨＳエステル、アジド－ＰＥＧ４－ＮＨＳエステル、アジド－ＰＥＧ２－ＰＦＰエステル、アジド－ＰＥＧ３－ＰＦＰエステル、アジド－ＰＥＧ４－ＰＦＰエステル、またはアジド－ＰＥＧ４－マレイミドで修飾される。アジドおよびアルキン部分は、同義に使用することができ、それらは、生体分子および水性環境に対して生物学的に固有であり、安定し、かつ不活性である。混合されるとき、アジドおよびアルキン反応物は、任意の副反応なしに可逆的共有結合を形成する（Ｍｏｓｅｓ Ｊ．Ｅ．ａｎｄ Ｍｏｏｒｈｏｕｓｅ Ａ．Ｄ．Ｔｈｅ ｇｒｏｗｉｎｇ ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ ｃｌｉｃｋ ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ．（２００７）Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｒｅｖ．３６，１２４９－１２６２；Ｂｒｅｉｎｂａｕｅｒ Ｒ．ａｎｄ Ｋｏｈｎ Ｍ．Ａｚｉｄｅ－ａｌｋｙｎｅ ｃｏｕｐｌｉｎｇ：ａ ｐｏｗｅｒｆｕｌ ｒｅａｃｔｉｏｎ ｆｏｒ ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ．（２００３）ＣｈｅｍＢｉｏＣｈｅｍ ４（１１），１１４７－１１４９；Ｒｏｓｔｏｖｔｓｅｖ Ｖ．Ｖ．，Ｇｒｅｅｎ Ｌ．Ｇ．，Ｆｏｋｉｎ Ｖ．Ｖ．，Ｓｈａｒｐｌｅｓｓ Ｋ．Ｂ．Ａ ｓｔｅｐｗｉｓｅ Ｈｕｉｓｇｅｎ ｃｙｃｌｏａｄｄｉｔｉｏｎ ｐｒｏｃｅｓｓ：ｃｏｐｐｅｒ（Ｉ）－ｃａｔａｌｙｚｅｄ ｒｅｇｉｏｓｅｌｅｃｔｉｖｅ "ｌｉｇａｔｉｏｎ" ｏｆ ａｚｉｄｅｓ ａｎｄ ｔｅｒｍｉｎａｌ ａｌｋｙｎｅｓ．（２００２）Ａｎｇｅｗ Ｃｈｅｍ Ｉｎｔ Ｅｄ Ｅｎｇｌ．４１（１４），２５９６－２５９９）。一実施形態において、本発明は、第２のＸＴＥＮに共役された第１のＸＴＥＮを含む共役体を提供し、第１のＸＴＥＮは、表１５からのアルキン反応物１に結合され、第２のＸＴＥＮは、表１５からのアジド反応物２に結合され、次いで第１のＸＴＥＮおよび第２のＸＴＥＮは、アルキン反応物１およびアジド反応物２を反応させるのに有効な条件下で結合され、ＸＴＥＮ－ＸＴＥＮ共役体をもたらす。別の実施形態において、本発明は、ペイロードに共役された第１のＸＴＥＮを含む共役体を提供し、ＸＴＥＮは、表１５からのアルキン反応物１に結合され、ペイロードは、表１５からのアジド反応物２に結合され、次いでＸＴＥＮおよびペイロードは、アルキン反応物１およびアジド反応物２を反応させるのに有効な条件下で結合され、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。別の実施形態において、本発明は、ペイロードに共役された第１のＸＴＥＮを含む共役体を提供し、ＸＴＥＮは、表１５からのアジド反応物２に結合され、ペイロードは、表１５からのアルキン反応物１に結合され、次いでＸＴＥＮおよびペイロードは、アルキン反応物１およびアジド反応物２を反応させるのに有効な条件下で結合され、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。前述の実施形態において、反応を生じさせる条件は、本明細書に記載されるものであるか、またはそのような反応物の共役について当該技術分野で既知の反応条件である。本発明は、前述の共役体の様々な組合せ、例えば、ＸＴＥＮがクリック化学反応物により結合され、１つのＸＴＥＮが、クリック化学を使用してＸＴＥＮに共役されたペイロードの１つ以上の分子をさらに含むＸＴＥＮ－ＸＴＥＮ共役体、ＸＴＥＮがクリック化学反応物により結合され、１つのＸＴＥＮが、クリック化学を使用してＸＴＥＮに共役された第１のペイロードの１つ以上の分子をさらに含み、第２のＸＴＥＮが、クリック化学を使用してＸＴＥＮに共役された第２のペイロードの１つ以上の分子をさらに含むＸＴＥＮ－ＸＴＥＮ共役体も企図する。これらの組合せに対する追加の変化形は、当業者には容易に明らかとなるであろう。

【０３７１】

【表１５－１】

【表１５】　アルキンおよびアジドクリック化学反応物

アルキン反応物１	以下に付着される	アジド反応物２	以下に付着される
3-プロパルギルオキシプロパン酸，NHS エステル*	アミン	3-アジド-プロピオン酸，NHS エステル*	アミン
アセチレン-(オキシエチル)$_n$-NHS エステル*（式中、n は 1~10）	アミン	6-アジド-ヘキサン酸，NHS エステル*	アミン

【０３７２】

【表１５－２】

ジベンジルシクロオクチン (DBCO)-NHS エステル*	アミン	3-アジド-プロピオン酸，PFP エステル	アミン
DBCO-(オキシエチル)$_n$- NHS エステル*（式中、n は 1~10）	アミン	6-アジド-ヘキサン酸，PFP エステル	アミン
シクロオクチン（COT)-NHS エステル*	アミン	アジド-(オキシエチル)$_n$NHS エステル*（式中、n は 1~10）	アミン
COT-(オキシエチル)$_n$- NHS エステル*（式中、n は 1~10）	アミン	アジド-(オキシエチル)$_n$-PFP エステル*（式中、n は 1~10）	アミン
COT-(オキシエチル)$_n$- ペンタフルオロフェニル(PFP) エステル（式中、n は 1~10）	アミン	1-アジド-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-oic 酸 N-ヒドロキシスクシンイミドエステル	アミン
BCOT-NHS エステル*	アミン	アジド-(オキシエチル)$_n$-マレイミド（式中、n は 1~10）	チオール
BCOT-(オキシエチル)$_n$- NHS エステル*（式中、n は 1~10）	アミン		
BCOT-(オキシエチル)$_n$- ペンタフルオロフェニル(PFP) エステル（式中、n は 1~10）	アミン		
6-(11,12-ジデヒドロジベンゾ[b,f]アゾシン-5(6H)-イル)-6-オキソヘキサン酸 N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル	アミン		
アセチレン-(オキシエチル)$_n$-マレイミド（式中、n は 1~10）	チオール		
DBCO-マレイミド	チオール		
COT-マレイミド	チオール		
BCOT-マレイミド	チオール		

*ＮＨＳエステルまたはスルホ－ＮＨＳエステルのいずれかであり得る

【０３７３】

いくつかの実施形態において、ＸＴＥＮ－ＸＴＥＮ共役体およびＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、チオール－エン反応と呼ばれる遊離基反応、またはチオールマイケル付加と呼ばれるアニオン反応により進行するチオ－エン系クリック化学を使用して共役される（図９参照）（Ｈｏｙｌｅ Ｃ．Ｅ．ａｎｄ Ｂｏｗｍａｎ Ｃ．Ｎ．Ｔｈｉｏｌ－ｅｎｅ ｃｌｉｃｋ ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ．（２０１０）Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．４９，１５４０－１５７３）。特に、チオールマイケル付加は、ペイロードがタンパク質であるＸＴＥＮ－ペイロード共役体により適していると考えられる（Ｐｏｕｎｄｅｒ Ｒ．

Ｊ．ｅｔ．ａｌ．Ｍｅｔａｌ ｆｒｅｅ ｔｈｉｏｌ－ｍａｌｅｉｍｉｄｅ ’Ｃｌｉｃｋ’ ｒｅａｃｔｉｏｎ ａｓ ａ ｍｉｌｄ ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌｉｓａｔｉｏｎ ｓｔｒａｔｅｇｙ ｆｏｒ ｄｅｇｒａｄａｂｌｅ ｐｏｌｙｍｅｒｓ．（２００８）Ｃｈｅｍ Ｃｏｍｍｕｎ（Ｃａｍｂ）．４１，５１５８－５１６０）。少なくとも１つの分子は、１つの遊離チオール基を含む必要があるため、ペイロードがシステインを含有しない場合は、システイン操作されたＸＴＥＮを利用することができる。代替として、チオール基は、２－イミノチオラン（Ｔｒａｕｔ試薬）、ＳＡＴＡ（Ｎ－スクシンイミジルＳ－アセチルチオ酢酸塩）、ＳＡＴＰ（Ｎ－スクシンイミジルＳ－アセチルチオプロピオン酸塩）、ＳＡＴ－ＰＥＯ$_4$－Ａｃ（Ｎ－スクシンイミジルＳ－アセチル（チオテトラエチレングリコール））、ＳＰＤＰ（Ｎ－スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピロン酸塩）、ＬＣ－ＳＰＤＰ（スクシンイミジル６－（３’－［２－ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ヘキサン酸塩）等のチオール化試薬を使用する、ＸＴＥＮまたはペイロードペプチド／タンパク質のいずれかのＮ末端α－アミノ基またはリジンε－アミノ基の化学修飾により導入され得る。そのような方法は、当該技術分野において既知である（Ｃａｒｌｓｓｏｎ Ｊ．ｅｔ ａｌ．（１９７８）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．１７３，７２３－７３７；Ｗａｎｇ Ｄ．ｅｔ ａｌ．（１９９７）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．８，８７８－８８４；Ｔｒａｕｔ Ｒ．Ｒ．ｅｔ ａｌ．（１９７３）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ１２（１７），３２６６－３２７３；Ｄｕｎｃａｎ，Ｒ．Ｊ．Ｓ．ｅｔ．ａｌ．（１９８３）Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１３２．６８－７３；米国特許第５，７０８，１４６号）。チオール－マイケル付加反応の第２の成分は、（メタ）アクリレート、マレイミド、α、β－不飽和ケトン、フマル酸エステル、アクリロニトリル、ケイ皮酸塩、およびクロトン酸塩における電子欠乏炭素－炭素二重結合を持つ試薬を必要とする。Ｎ－マレイミドは、スルフヒドリル反応官能基として一般に使用され、市販のヘテロ二官能性架橋剤、例えば、ＡＭＡＳ（Ｎ－（α－マレイミドアセトキシ）－スクシンイミドエステル）、ＢＭＰＳ（Ｎ－（（β－マレイミドプロピルオキシ）スクシンイミドエステル）および上述されるその他を使用し、Ｎ末端α－アミノ基またはＬｙｓ ε－アミノ基修飾を介してペイロードタンパク質またはＸＴＥＮ分子に導入することができる。遊離チオールおよびマレイミド部分を含有する得られた２つの分子は、それぞれ、穏やかな条件下で安定した共有結合を創製し、マレイミドにより結合されたＸＴＥＮ－ペイロードをもたらす。

【０３７４】

他の実施形態において、ＸＴＥＮ－ＸＴＥＮ共役体およびＸＴＥＮペイロード共役体は、例えば、Ｇａｎｇｕｌｙらにより記載され、図１０に示されるように、ヒドラジドとアルデヒドとの間の反応に基づくクリック化学を利用して形成される（Ｇａｎｇｕｌｙ Ｔ．ｅｔ ａｌ．Ｔｈｅ ｈｙｄｒａｚｉｄｅ/ｈｙｄｒａｚｏｎｅ ｃｌｉｃｋ ｒｅａｃｔｉｏｎ ａｓ ａ ｂｉｏｍｏｌｅｃｕｌｅ ｌａｂｅｌｉｎｇ ｓｔｒａｔｅｇｙ ｆｏｒ Ｍ（ＣＯ）３（Ｍ＝Ｒｅ，９９ｍＴｃ）ｒａｄｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ．（２０１１）Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．４７，１２８４６－１２８４８）。例えば、ＸＴＥＮは、アルデヒド基を有するペイロードと混合され、所望のＸＴＥＮ－ペイロード共役体を生じる、ヒドラジンまたはヒドラジドを有するように修飾され得る。一実施形態において、本発明は、α－Ｎ末端アミノ基に導入された少なくとも１つのヒドラジンまたはヒドラジドを持つＸＴＥＮを提供するか、または代替として１つ以上のリジンε－アミノ基は、それが安定している見なされるため、標的ペイロードへの共役のための試薬として適切なＸＴＥＮを提供するように修飾される。芳香族ヒドラジンおよび芳香族アルデヒドから形成された、得られたビス‐アリールヒドラゾンは、９２℃および２．０～１０．０の広いｐＨ値に対し安定である（Ｓｏｌｕｌｉｎｋ，Ｉｎｃ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ－Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ Ｋｉｔ，Ｔｅｃｈｎｉｃａｌ Ｍａｎｕａｌ，Ｃａｔａｌｏｇ＃ Ｓ－９０１０－１）。反応における脱離基は水であり、結合を安定化するために還元剤（例えば、シアノボロヒドリド）を必要としない。ヒドラジン／ヒドラジドまたはアルデヒド部分で修飾された分子は、水性環境において良好な安定性を有し、特別な処理要件なしに活性状態を維持する。ＸＴＥＮ分子のアミノ基（複数可）は、ＮＨ

Ｓ－エステル／ヒドラジド、例えば、ＳＡＮＨ（スクシンイミジル４－ヒドラジノニコチン酸アセトンヒドラゾン）、Ｃ６－ＳＡＮＨ（Ｃ６－スクシンイミジル４－ヒドラジノニコチン酸アセトンヒドラゾン）、ＳＨＴＨ（スクシンイミジル４－ヒドラジドテレフタル酸塩酸塩）により修飾される。典型的な反応において、タンパク質は、修飾緩衝液（１００ｍＭリン酸塩、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．４）中の１～５ｍｇ／ｍｌ溶液として調製し、修飾剤は、５～２０倍モル過剰で付加し、反応は、室温で２時間実行する。別個に、ペイロード分子は、同様の条件下で、ＮＨＳ－エステル／アルデヒドＳＦＢ（スクシンイミジル４‐ホルミル安息香酸塩）またはＣ６－ＳＦＢ（Ｃ６－スクシンイミジル４‐ホルミル安息香酸塩）で修飾される。次いで、双方の修飾分子は、共役緩衝液（１００ｍＭリン酸塩、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ６．０）中に脱塩される。得られた成分は、１モル等量の限定タンパク質、および豊富に使用することができる１．５～２モル等量のタンパク質を使用して一緒に混合される。１００ｍＭリン酸塩、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ６．０中の１００ｍＭアニリンの触媒緩衝液を付加し、アニリンの最終濃度を１０ｍＭに調整し、反応を室温で２時間実行する。

【０３７５】

別の実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、アルデヒドと第１級アミノ基との間の反応に続いて、形成されたＳｃｈｉｆｆ塩基の水素化ホウ素ナトリウムまたはシアノ水素化ホウ素による還元により産生され得る。この方法の第１ステップとして、第１級α－アミノ基を持つＸＴＥＮ、またはε－アミノ基を持つＬｙｓ含有ＸＴＥＮ等のＸＴＥＮ分子は、０．１Ｍリン酸ナトリウム、０．１５Ｍ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．２等の無アミン結合緩衝液中の典型的なアミン－ＮＨＳ化学を使用し、ＮＨＳ－エステル／アルデヒドＳＦＢ（スクシンイミジル４‐ホルミル安息香酸塩）、Ｃ６－ＳＦＢ（Ｃ６－スクシンイミジル４‐ホルミル安息香酸塩）、またはＳＦＰＡ（スクシンイミジル４‐ホルミルフェノキシ酢酸塩）により修飾される。得られた修飾アルデヒド－ＸＴＥＮは、この時点でＸＴＥＮ－架橋剤組成物として保持され得るか、またはＸＴＥＮ－ペイロード共役体を創製するための試薬として使用され得るかのいずれかである。ＸＴＥＮ－ペイロードを製造するために、修飾されたアルデヒド－ＸＴＥＮは、反応性アミノ基を持つペイロード、および２０～１００ｍＭのシアノ水素化ホウ素等の軽度還元剤と混合される。反応混合物は、室温で６時間または４℃で終夜インキュベートする。次いで、未反応アルデヒド基は、５０～５００ｍＭのトリス・ＨＣｌ、ｐＨ７．４および２０～１００ｍＭのシアノ水素化ホウ素ナトリウムでブロックされ、共役された精製ＸＴＥＮ－ペイロードの分離を許す。

【０３７６】

他の実施形態において、本発明は、ペプチドまたはタンパク質ペイロードを含むＸＴＥＮペイロード共役体を提供し、ペイロードは、そのペイロードのペプチド／タンパク質Ｃ末端アシルアジドの反応性に基づく化学ライゲーションを介して共役される。例として、ペプチドまたはタンパク質が、ヒドロキシメチル安息香酸（ＨＭＢＡ）樹脂を用いた固相ペプチド合成（ＳＰＰＳ）を使用して産生されるとき、最終ペプチドは、多様な求核性試薬により樹脂から切断され、様々なＣ末端官能基を持つペプチドへのアクセスを付与することができる。一実施形態において、本方法は、ペプチドまたはタンパク質ヒドラジドを生じるペプチジル／タンパク質樹脂のヒドラジン分解を含む。次いで、希釈塩酸中の亜硝酸ナトリウムまたはｔｅｒｔ－亜硝酸ブチルを用いる、得られたアシルヒドラジドのニトロソ化は、アシルアジドの形成をもたらす。得られたカルボニルアジド（またはアシルアジド）は、ＸＴＥＮの第１級アミンと反応して、安定したアミド結合を形成することができ、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす活性化カルボキシレート基（エステル）である。代替実施形態において、第１級アミンは、ＸＴＥＮ　Ｎ末端のα－アミンまたはＸＴＥＮ配列中の操作されたリジン残基の１つ以上のε－アミンであり得る。共役反応において、アジド官能基は、図１１に示されるように、離脱基である。アミン基との共役反応は、電子欠乏カルボニル基における求核剤の攻撃により発生する（Ｍｅｉｅｎｈｏｆｅｒ，Ｊ．（１９７９）Ｔｈｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅｓ：Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｂｉｏｌｏｇｙ．Ｖｏｌ．１，Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ：Ｎ．Ｙ．；ｔｅｎ　Ｋｏｒ

tenaar P.B.W.et.al.Semisynthesis of horse heart cytochrome c analogues from two or three fragments.（1985）Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82，8279－8283） さらに他の実施形態において、本発明は、XTEN－架橋剤およびXTENペイロード共役体を提供し、共役は、直交タンパク質ライゲーションにより行われ、図12に示されるように、初期化学選択的捕捉の後に、分子内アシル再配置が続く。化学選択的捕捉は、N末端アミンで近位に配置された求核剤または求電子剤、およびC末端カルボキシルエステルで近位に位置する別の適合する求核剤または求電子剤も必要とする。この実施形態において、XTENは、図12のタンパク質1またはタンパク質2のいずれかとして機能し得ることが特に企図される。したがって、代替実施形態において、XTENは、適切な試薬と反応してC末端上でチオエステルを産生するか、またはN末端上のシステインを導入して、代替XTEN－架橋剤組成物を産生することができる。前述のXTEN－架橋剤共役体を使用してXTEN－ペイロードを製造することにおいて、エステルまたはチオエステルを形成する求核剤および求電子剤の対の化学選択的捕捉は、それぞれの反応物のN末端アミノ基およびC末端エステルをそのような近位に持ち込み、アミド結合を形成するように同時分子内アシル転移を許す。ほとんどの直交ライゲーション反応は、側鎖基の保護を必要とせず、生体環境に適合する穏やかな条件下で起こる（Tam J.P.，Xu J.，Eom K.D.Methods and strategies of peptide ligation.（2001）Biopolymers（Peptide Science）60，194－205）。

【0377】

別の実施形態において、共役体は、求電子剤としてC末端チオエステル、および求核剤としてN末端システインを必要とする天然型化学的ライゲーション（NCL）として知られる方法反応により形成することができる。この反応の結果は、XTEN－ペイロード共役体のライゲーション部位における天然アミド結合である（Dawson P.E.，Muir T.W.，Clark－Lewis I.，Kent S.B.Synthesis of proteins by native chemical ligation.（1994）Science 266，776－779；Tam J.P.；Lu Y.－A.；Liu C.F.；Shao，J.Peptide synthesis using unprotected peptides through orthogonal coupling methods.（1995）Proc.Natl.Acad.Sci.USA， 92，12485－12489；Johnson，E.C.B.；Kent，S.B.H.J.Insights into the mechanism and catalysis of the native chemical ligation reaction.（2006）J.Am.Chem.Soc.128，6640－6646；Kent S.B.（2009）Total chemical synthesis of proteins.（2009）Chem.Soc.Rev.38：338－351）。NCL反応におけるC末端成分の第1アミノ酸（図12にタンパク質2として示される）は、システインである。そのようなタンパク質は、第1の位置にシステインを持つXTEN、またはペプチド／タンパク質ペイロードを含む、従来の組換えタンパク質生合成により調製された任意の他のタンパク質であり得る。N末端成分（図13にペイロードとして示される）は、化学合成によりC末端チオエステルとして調製される。チオエステル合成方法の例は、当該技術分野において既知および使用可能であり、例えば、Li X.，Kawakami T.，Aimoto S.，Direct preparation of peptide thioesters using an Fmoc solid－phase method.（1998）Tetrahedron Lett.，39，8660－8672）、Ingenito R.，Bianchi E.，Fattori D.，Pessi A.Solid－phase synthesis of peptide C－terminal thioesters by Fmoc／tBu chemistry.（1999）J.Am.Chem.Soc.，121，1

１３６９－１１３７４）、Ｓｅｗｉｎｇ Ａ．，Ｈｉｌｖｅｒｔ Ｄ．Ｆｍｏｃ－ｃｏｍｐａｔｉｂｌｅ ｓｏｌｉｄ－ｐｈａｓｅ ｐｅｐｔｉｄｅ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ｌｏｎｇ Ｃ－ｔｅｒｍｉｎａｌ ｐｅｐｔｉｄｅ ｔｈｉｏｅｓｔｅｒｓ．（２００１）Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．４０，３３９５－３３９８、Ｂｒａｓｋ Ｊ．，Ａｌｂｅｒｉｃｉｏ Ｆ．，Ｊｅｎｓｅｎ Ｋ．Ｊ．，Ｆｍｏｃ ｓｏｌｉｄ－ｐｈａｓｅ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ｐｅｐｔｉｄｅ ｔｈｉｏｅｓｔｅｒｓ ｂｙ ｍａｓｋｉｎｇ ａｓ ｔｒｉｔｈｉｏｏｒｔｈｏｅｓｔｅｒｓ．（２００３）Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．，２００３，５，２９５１－２９５３、Ｏｌｌｉｖｉｅｒ Ｎ．，Ｂｅｈｒ Ｊ．－Ｂ．，Ｅｌ－Ｍａｈｄｉ Ｏ．，Ｂｌａｎｐａｉｎ Ａ．，Ｍｅｌｎｙｋ Ｏ．Ｆｍｏｃ－ｓｏｌｉｄ－ｐｈａｓｅ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ｐｅｐｔｉｄｅ ｔｈｉｏｅｓｔｅｒｓ ｕｓｉｎｇ ａｎ ｉｎｔｒａｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｎ，Ｓ－ａｃｙｌ ｓｈｉｆｔ．（２００５）Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．，７，２６４７－２６５０に記載されるものである。通常、α－アルキルチオエステルは、調製および貯蔵の容易さに起因して好ましい。しかしながら、それらはむしろ未反応であるため、ライゲーション反応は、チオール付加物を用いた原位置トランスチオエステル化により触媒され、最も一般的なチオール触媒は、２－メルカプトエタンスルホン酸塩（ＭＥＳＮａ）または４－メルカプトフェニル酢酸（ＭＰＡＡ）である。化学共役は、典型的に、数時間のうちに高収率で完了する。２０個の天然アミノ酸は全てＮ末端成分の最終残基として適しているが、グリシンおよびヒスチジンに対し、最高のライゲーション率が報告されており、表２の例示的なＸＴＥＮは、ほぼ全てがグリシンＮ末端ポリペプチドであるため、ＸＴＥＮはこの反応に対し特に適している（Ｈａｃｋｅｎｇ Ｔ．Ｍ．ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｂｙ ｎａｔｉｖｅ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｌｉｇａｔｉｏｎ：ｅｘｐａｎｄｅｄ ｓｃｏｐｅ ｂｙ ｕｓｉｎｇ ｓｔｒａｉｇｈｔｆｏｒｗａｒｄ ｍｅｔｈｏｄｏｌｏｇｙ．（１９９９）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９６，１００６８－１００７３）。この共役方法の他の実施形態において、直交ライゲーション反応は、（１）Ｎ末端ＢｒＡｌａまたはＮ末端アジリジンを持つＣ末端チオ酸（Ｔａｍ Ｊ．Ｐ．；Ｌｕ Ｙ．－Ａ．；Ｌｉｕ Ｃ．Ｆ．；Ｓｈａｏ，Ｊ．Ｐｅｐｔｉｄｅ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｕｓｉｎｇ ｕｎｐｒｏｔｅｃｔｅｄ ｐｅｐｔｉｄｅｓ ｔｈｒｏｕｇｈ ｏｒｔｈｏｇｏｎａｌ ｃｏｕｐｌｉｎｇ ｍｅｔｈｏｄｓ．（１９９５）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９２，１２４８５－１２４８９）、（２）Ｎ末端シス－ペルチオエステルを持つＣ末端チオ酸（Ｌｉｕ，Ｃ．Ｆ．，Ｒａｏ，Ｃ．，Ｔａｍ，Ｊ．Ｐ．（１９９６）Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，３７，９３３－９３６）、（３）Ｎ末端ホモシステインを持つＣ末端チオエステル（Ｔａｍ Ｊ．Ｐ．，Ｙｕ Ｑ．Ｍｅｔｈｉｏｎｉｎｅ ｌｉｇａｔｉｏｎ ｓｔｒａｔｅｇｙ ｉｎ ｔｈｅ ｂｉｏｍｉｍｅｔｉｃ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ｐａｒａｔｈｙｒｏｉｄ ｈｏｒｍｏｎｅｓ．（１９９８）Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ ４６（５），３１９－３２７）、および（４）Ｃ末端チオ酸およびＮ末端ヒス（Ｚｈａｎｇ Ｌ．，Ｔａｍ Ｊ．Ｐ．（１９９７）Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ．Ｌｅｔｔ．３８，３－６）を含む。この方法において、化学合成によるＣ末端チオエステルの調製は、ＮＣＬ反応におけるＮ末端成分のサイズを制約する。しかしながら、発現タンパク質ライゲーション（ＥＰＬ）法の使用は、化学合成の必要性により課されるペプチドα－チオエステルのサイズ制限を克服する（Ｍｕｉｒ Ｔ．Ｗ．；Ｓｏｎｄｈｉ Ｄ．；Ｃｏｌｅ Ｐ．Ａ．Ｅｘｐｒｅｓｓｅｄ ｐｒｏｔｅｉｎ ｌｉｇａｔｉｏｎ：ａ ｇｅｎｅｒａｌ ｍｅｔｈｏｄ ｆｏｒ ｐｒｏｔｅｉｎ ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ．（１９９８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９５，６７０５－６７１０；Ｍｕｉｒ Ｔ．Ｗ．Ｓｅｍｉｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｂｙ ｅｘｐｒｅｓｓｅｄ ｐｒｏｔｅｉｎ ｌｉｇａｔｉｏｎ．（２００３）Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．７２，２４９－２８９）。ＥＰＬ法は、タンパク質スプライシングに基づき、このプロセスでは、タンパク質が分子内再配置を受け、内部配列（インテイン）の突出および側部配列（エクステイン）の接合をもたらす。後者のプロセスは、エステルまたはチオエステル中間体の形成を必要とする。本発明を

実践する際に、市販の大腸菌タンパク質発現ベクターは、インテイン－キチン結合ドメイン（ＣＢＤ）配列と融合されたフレーム内で発現した、ＸＴＥＮ等の関心対象のタンパク質を産生するのを可能にする。この方法において、図１３に示されるように、前駆体タンパク質のインテイン部分の第１のシステイン残基の側鎖が、直ぐ上流の残基（つまり、例えば、ＸＴＥＮの最終残基）のペプチド結合を球核的に攻撃し、直鎖状チオエステル中間体を形成するとき、融合タンパク質は、Ｎ－Ｓシフトを受ける。化学ライゲーションステップは、タンパク質をチオフェノール（またはＭＥＳＮａおよびＭＰＡＡ等の他のチオール触媒）、およびシステイン含有合成ペプチドまたはタンパク質でインキュベートすることにより開始される。これは、例えば、ＸＴＥＮタンパク質の高反応性フェニルα－チオエステル誘導体の原位置生成をもたらし、次いで、合成ペプチド／タンパク質ペイロードと急速に結紮して、所望のＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。別の実施形態において、ＸＴＥＮ－チオエステル中間体は、２０ｍＭ　Ｎａ－ＨＥＰＥＳ（ｐＨ８．５）、５０～１０００ｍＭ　ＮａＣｌ、および１ｍＭ　ＥＤＴＡ（任意）中の５０ｍＭ　２－メルカプトエタンスルホン酸（ＭＥＳＮａ）により切断することができ、得られたＭＥＳＮａタグの付いたタンパク質は、精製され、５ｍＭ　ビス－トリス（ｐＨ６．５）、２５０ｍＭ　ＮａＣｌ中－８０℃で、上述される共役におけるＮ末端成分として、ＮＣＬ反応のＸＴＥＮ－架橋剤共役体として使用するまで貯蔵することができる。Ｃ末端成分は、Ｎ末端システインを持つ天然または合成のいずれかのペプチド／タンパク質を持つペイロードであり得る。

【０３７８】

さらに他の実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮ－架橋剤およびＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供し、ＸＴＥＮとペイロードとの間の共役は、天然型化学的ライゲーション（ＮＣＬ）等のトレースレスシュタウディンガーライゲーションによって行われ、ライゲーション部位において天然アミド結合をもたらす。この方法の利点において、システインは、ライゲーション接合部に必要とされない（Ｓａｘｏｎ，Ｅ．；Ａｒｍｓｔｒｏｎｇ，Ｃ．Ｒ．；Ｂｅｒｔｏｚｚｉ，Ｃ．Ｒ．Ａ "ｔｒａｃｅｌｅｓｓ"Ｓｔａｕｄｉｎｇｅｒ ｌｉｇａｔｉｏｎ ｆｏｒ ｔｈｅ ｃｈｅｍｏｓｅｌｅｃｔｉｖｅ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ａｍｉｄｅ ｂｏｎｄｓ．（２０００）Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．２，２１４１２１４３；Ｎｉｌｓｓｏｎ，Ｂ．Ｌ．；Ｋｉｅｓｓｌｉｎｇ，Ｌ．Ｌ．；Ｒａｉｎｅｓ，Ｒ．Ｔ．Ｓｔａｕｄｉｎｇｅｒ ｌｉｇａｔｉｏｎ：ａ ｐｅｐｔｉｄｅ ｆｒｏｍ ａ ｔｈｉｏｅｓｔｅｒ ａｎｄ ａｚｉｄｅ．（２０００）Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．２，１９３９－１９４１）。代わりに、Ｎ末端タンパク質１は、ジフェニルホスフィンメタンチオールを使用し、Ｃ末端チオエステルとして調製されるが（図１４参照）、Ｃ末端タンパク質２は、ジアゾ転移反応を介して生成され得るＮ末端アジドとして調製される（Ｃａｖｅｎｄｅｒ Ｃ．Ｊ．；Ｓｈｉｎｅｒ Ｖ．Ｊ．，Ｊｒ．（１９７２）Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．２２，３５６７－３５６９；Ｌｕｎｄｑｕｉｓｔ Ｊ．Ｔ．，ＩＶ，Ｐｅｌｌｅｔｉｅｒ Ｊ．Ｃ．Ｉｍｐｒｏｖｅｄ ｓｏｌｉｄ－ｐｈａｓｅ ｐｅｐｔｉｄｅ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｍｅｔｈｏｄ ｕｔｉｌｉｚｉｎｇ ａｌｐｈａ－ａｚｉｄｅ－ｐｒｏｔｅｃｔｅｄ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄｓ．（２００１）Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．３，７８１－７８３）。ホスフィン残基は、タンパク質２のアジドと反応し、窒素の排除後にイミノホスホランを形成する（シュタウディンガー反応）。その高度に求核性の窒素原子を持つ、得られたイミノホスホランは、アザ－イリドとして見なすこともできる。次いで、アザ－イリドの求核性窒素原子は、タンパク質１のカルボニル基を攻撃し、チオエステルを切断する。特に、ＸＴＥＮまたはペイロードのいずれかは、この反応においてタンパク質１またはタンパク質２のいずれかであり得ることが意図される。再配置されたＸＴＥＮ－ペイロード産物の加水分解は、最終的に天然アミドを産生し、ホスフィン成分をホスフィン（Ｖ）オキシドとして遊離させる。ビス（ｐ－ジメチルアミノエチルフェニル）ホスフィノメタンチオール、ジフェニルホスフィンメタンチオールの水溶性変異体は、水中の等モル基質の急速なライゲーションを媒介する（Ｔａｍ，Ａ．；Ｓｏｅｌｌｎｅｒ，Ｍ．Ｂ．；Ｒａｉｎｅｓ，Ｒ．Ｔ．Ｗａｔｅｒ－ｓｏｌｕｂｌｅ ｐｈｏｓｐｈｉｎｏｔｈｉｏｌｓ ｆｏｒ ｔｒａ

ｃｅｌｅｓｓ Ｓｔａｕｄｉｎｇｅｒ ｌｉｇａｔｉｏｎ ａｎｄ ｉｎｔｅｇｒａｔｉｏｎ ｗｉｔｈ Ｅｘｐｒｅｓｓｅｄ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｌｉｇａｔｉｏｎ．（２００７）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１２９，１１４２１１１－４３０）。

【０３７９】

別の実施形態において、本発明は、酵素的ライゲーションにより調製されたＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供する。トランスグルタミナーゼは、ペイロードペプチドまたはタンパク質のグルタミンのγ－カルボキシアミド基と、リジン操作されたＸＴＥＮ中のリジンのε－アミノ基との間のイソペプチド結合の形成を触媒し、それにより、ＸＴＥＮとペイロードとの間に分子間または分子内架橋剤を創製し（図１５参照）、組成物をもたらす酵素である（Ｌｏｒａｎｄ Ｌ，Ｃｏｎｒａｄ Ｓ．Ｍ．Ｔｒａｎｓｇｌｕｔａｍｉｎａｓｅｓ．（１９８４）Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｃｈｅｍ．５８（１－２），９－３５）。ライゲーションに対し成功裏に使用された酵素の非限定例は、第ＸＩＩＩａ因子（Ｓｃｈｅｎｓｅ Ｊ．Ｃ．，Ｈｕｂｂｅｌｌ Ｊ．Ａ．Ｃｒｏｓｓ－ｌｉｎｋｉｎｇ ｅｘｏｇｅｎｏｕｓ ｂｉｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ ｐｅｐｔｉｄｅｓ ｉｎｔｏ ｆｉｂｒｉｎ ｇｅｌｓ ｗｉｔｈ ｆａｃｔｏｒ ＸＩＩＩａ．（１９９９）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．１０（１）：７５－８１）、および組織トランスグルタミナーゼである（Ｃｏｌｌｉｅｒ Ｊ．Ｈ．，Ｍｅｓｓｅｒｓｍｉｔｈ Ｐ．Ｂ．Ｅｎｚｙｍａｔｉｃ ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｓｅｌｆ－ａｓｓｅｍｂｌｅｄ ｐｅｐｔｉｄｅ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ ｗｉｔｈ ｔｉｓｓｕｅ ｔｒａｎｓｇｌｕｔａｍｉｎａｓｅ．（２００３）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．１４（４），７４８－７５５；Ｄａｖｉｓ Ｎ．Ｅ．，Ｋａｒｆｅｌｄ－Ｓｕｌｚｅｒ Ｌ．Ｓ．，Ｄｉｎｇ Ｓ．，Ｂａｒｒｏｎ Ａ．Ｅ．Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ａｎｄ ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ａ ｎｅｗ ｃｌａｓｓ ｏｆ ｃａｔｉｏｎｉｃ ｐｒｏｔｅｉｎ ｐｏｌｙｍｅｒｓ ｆｏｒ ｍｕｌｔｉｖａｌｅｎｔ ｄｉｓｐｌａｙ ａｎｄ ｂｉｏｍａｔｅｒｉａｌ ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ．（２００９）Ｂｉｏｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ １０（５），１１２５－１１３４）。グルタミン基質配列ＧＱＱＱＬは、組織トランスグルタミナーゼに対し高い特異性を有することが知られている（Ｈｕ Ｂ．Ｈ．，Ｍｅｓｓｅｒｓｍｉｔｈ Ｐ．Ｂ．Ｒａｔｉｏｎａｌ ｄｅｓｉｇｎ ｏｆ ｔｒａｎｓｇｌｕｔａｍｉｎａｓｅ ｓｕｂｓｔｒａｔｅ ｐｅｐｔｉｄｅｓ ｆｏｒ ｒａｐｉｄ ｅｎｚｙｍａｔｉｃ ｆｏｒｍａｔｉｏｎ ｏｆ ｈｙｄｒｏｇｅｌｓ．（２００３）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．１２５（４７），１４２９８－１４２９９）。組織トランスグルタミナーゼ配列特異性は、アシルドナー（グルタミン）に対するよりもアシル受容体（リジン）に対して低いストリンジェンシーであった（Ｇｒｅｅｎｂｅｒｇ Ｃ．Ｓ．，Ｂｉｒｃｋｂｉｃｈｌｅｒ Ｐ．Ｊ．，Ｒｉｃｅ Ｒ．Ｈ．Ｔｒａｎｓｇｌｕｔａｍｉｎａｓｅｓ：ｍｕｌｔｉｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ ｃｒｏｓｓ－ｌｉｎｋｉｎｇ ｅｎｚｙｍｅｓ ｔｈａｔ ｓｔａｂｉｌｉｚｅ ｔｉｓｓｕｅｓ．（１９９１）ＦＡＳＥＢ Ｊ．１９９１，５，３０７１－３０７７）。

【０３８０】

酵素的に形成されたＸＴＥＮ－ペイロード組成物の代替実施形態において、黄色ブドウ球菌からのソルターゼＡトランスペプチダーゼ酵素を使用し、タンパク質１のトレオニン残基とグリシン残基との間の短い５アミノ酸認識配列ＬＰＸＴＧの切断を触媒し、後次にアシルフラグメントをタンパク質１のＮ末端オリゴグリシン求核剤に移す（図１６参照）。タンパク質２を官能化してオリゴグリシンを含有することにより、２つのタンパク質を部位特異的様式で酵素的に共役し、所望のＸＴＥＮ－ペイロード組成物をもたらすことが可能である。ソルターゼ認識部位（ＬＰＸＴＧ）を担持する（ポリ）ペプチドは、標準分子生物学クローニングプロトコルを使用して容易に製造することができる。この残基は、一般にソルターゼＡの天然基質中に見出されるため、認識部位のＸ位においてグルタミン酸を導入することは便利である（Ｂｏｅｋｈｏｒｓｔ Ｊ．，ｄｅ Ｂｅｅｎ Ｍ．Ｗ．，Ｋｌｅｅｒｅｂｅｚｅｍ Ｍ．，Ｓｉｅｚｅｎ Ｒ．Ｊ．Ｇｅｎｏｍｅ－ｗｉｄｅ ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｃｅｌｌ ｗａｌｌ－ｂｏｕｎｄ

proteins with LPxTG-like sorting motifs.（２００５）Ｊ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．１８７，４９２８－４９３４）。高レベルのトランスアシル化は、ソルターゼ切断部位を、基質のＣ末端（Ｐｏｐｐ Ｍ．Ｗ．，Ａｎｔｏｓ Ｊ．Ｍ．，Ｇｒｏｔｅｎｂｒｅｇ Ｇ．Ｍ．，Ｓｐｏｏｎｅｒ Ｅ．，Ｐｌｏｅｇｈ Ｈ．Ｌ．Ｓｏｒｔａｇｇｉｎｇ：Ａ ｖｅｒｓａｔｉｌｅ ｍｅｔｈｏｄ ｆｏｒ ｐｒｏｔｅｉｎ ｌａｂｅｌｉｎｇ．（２００７）Ｎａｔ．Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．３１１，７０７－７０８）および柔軟なループ内（Ｐｏｐｐ Ｍ．Ｗ．，Ａｒｔａｖａｎｉｓ－Ｔｓａｋｏｎａｓ Ｋ．，Ｐｌｏｅｇｈ Ｈ．Ｌ．Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ ｆｉｌｔｅｒｉｎｇ ｂｙ ｔｈｅ ａｃｔｉｖｅ－ｓｉｔｅ ｃｒｏｓｓｏｖｅｒ ｌｏｏｐ ｉｎ ＵＣＨＬ３ ｒｅｖｅａｌｅｄ ｂｙ ｓｏｒｔａｇｇｉｎｇ ａｎｄ ｇａｉｎ－ｏｆ－ｆｕｎｃｔｉｏｎ ｍｕｔａｔｉｏｎｓ．（２００９）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２８４（６），３５９３－３６０２）の双方に配置することにより達成することができる。Ｃ末端において標識されたタンパク質の場合、最小のＬＰＥＴＧタグ中のグリシンは、Ｃ末端に配置されないことが重要であり、少なくとも１つのさらなるＣ末端アミノ酸とのペプチド結合中に存在しなければならない。さらに、より良好な結合は、追加のグリシンを切断部位のＣ末端に付加することにより達成され、ＬＰＥＴＧＧを生じる（Ｐｒｉｔｚ Ｓ．，Ｗｏｌｆ Ｙ．，Ｋｒａｅｔｋｅ Ｏ．，Ｋｌｏｓｅ Ｊ．，Ｂｉｅｎｅｒｔ Ｍ．，Ｂｅｙｅｒｍａｎｎ Ｍ．Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｌｙ ａｃｔｉｖｅ ｐｅｐｔｉｄｅ ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄ－ｐｅｐｔｉｄｅ ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ ｂｙ ｓｏｒｔａｓｅ－ｍｅｄｉａｔｅｄ ｌｉｇａｔｉｏｎ．（２００７）Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．７２，３９０９－３９１２；Ｔａｎａｋａ Ｔ．，Ｙａｍａｍｏｔｏ Ｔ．，Ｔｓｕｋｉｊｉ Ｓ．，Ｎａｇａｍｕｎｅ Ｔ．Ｓｉｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｐｒｏｔｅｉｎ ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｎ ｌｉｖｉｎｇ ｃｅｌｌｓ ｃａｔａｌｙｚｅｄ ｂｙ ｓｏｒｔａｓｅ．（２００８）Ｃｈｅｍｂｉｏｃｈｅｍ ９５，８０２－８０７）。ソルターゼ媒介性トランスペプチド化に適合する求核剤は、遊離アミノ末端を持つ、長く伸びたグリシン残基の単一構造要件を有する。良好なトランスペプチド化は、１～５個のグリシンをどこかに含有する求核剤を用いて達成することができるが、好適な実施形態において、最大反応率は、２個または３個のグリシンが存在するときに得られる。

【０３８１】

タンパク質－タンパク質共役に関して、共役化学の様々な実施形態が記載されたが、本発明を実施する際に、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体のペイロード部分は、標的小分子薬中に存在する、アミン、スルフヒドリル、カルボキシル等の官能基に適用可能な共役方法において、小分子薬であり得ることが特に意図される。当業者であれば、官能性が、通常、アミノ、スルフヒドリル、およびカルボキシル基に限定されるタンパク質およびペプチドと比較して、さらにより広範な化学技法を適用できることを理解するであろう。薬物ペイロードは、官能基を通じてＸＴＥＮに共役され得、第１級アミノ基、アミノキシ、ヒドラジド、ヒドロキシル、チオール、チオール酸塩、コハク酸塩（ＳＵＣ）、スクシンイミジルコハク酸塩（ＳＳ）、スクシンイミジルプロピオン酸塩（ＳＰＡ）、スクシンイミジルブタン酸塩（ＳＢＡ）、スクシンイミジルカルボキシメチル酸塩（ＳＣＭ）、ベンゾトリアゾール炭酸塩（ＢＴＣ）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）、ｐ－ニトロフェニル炭酸塩（ＮＰＣ）が挙げられるが、これらに限定されない。薬物分子ペイロードの他の適した反応性官能基としては、アセタール、アルデヒド（例えば、アセトアルデヒド、プロピオンアルデヒド、およびブチルアルデヒド）、アルデヒド水和物、アルケニル、アクリル酸塩、メタクリル酸塩、アクリルアミド、活性スルホン、酸ハロゲン化物、イソシアン酸塩、イソチオシアン酸塩、マレイミド、ビニルスルホン、ジチオピリジン、ビニルピリジン、ヨードアセトアミド、エポキシド、グリオキサル、ジオン、メシル酸塩、トシル酸塩、およびトレシル酸塩が挙げられる。

【０３８２】

別の実施形態において、薬物ペイロードは、１つ以上の環原子がヘテロ原子、例えば、窒素、酸素、リン、または硫黄原子である複素環式環系を使用して、ＸＴＥＮ－架橋剤共

役体に共役され得る。複素環基は、少なくとも１個～２０個もの炭素原子、ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、およびＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む。この実施形態において、複素環は、３～７個の環員（２～６個の炭素原子、ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、およびＳから選択される１～３個のヘテロ原子）を有する単環、または７～１０個の環員（４～９個の炭素原子、ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、およびＳから選択される１～３個のヘテロ原子）を有する二環、例えば、ビシクロ［４，５］、［５，５］、［５，６］、または［６，６］系であり得る。複素環は、Ｐａｑｕｅｔｔｅ，Ｌｅｏ Ａ.″Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ Ｍｏｄｅｒｎ Ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｌｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ″，Ｗ．Ａ．Ｂｅｎｊａｍｉｎ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，（１９６８）、″Ｔｈｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｌｉｃ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ，Ａ ｓｅｒｉｅｓ ｏｆ Ｍｏｎｏｇｒａｐｈｓ″（Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９５０から現在）、特に第１３、１４、１６、１９、および２８巻に記載されている。共役に適した薬物中に見出され得る複素環の非限定例としては、ピリジル、ジヒドロピリジル、テトラヒドロピリジル（ピペリジル）、チアゾリル、テトラヒドロチオフェニル、酸化硫黄テトラヒドロチオフェニル、ピリミジニル、フラニル、チエニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、テトラゾリル、ベンゾフラニル、チアナフタレニル、インドリル、インドレニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンズイミダゾリル、ピペリジニル、４－ピペリドニル、ピロリジニル、２－ピロリドニル、ピロリニル、テトラヒドロフラニル、ビス－テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、ビス－テトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オクタヒドロキノリニル、アゾシニルトリアジニル、６Ｈ－１，２，５－チアジアジニル、２Ｈ，６Ｈ－１，５，２－ジチアジニル、チエニル、チアントレニル、ピラニル、イソベンゾフラニル、クロメニル、キサンテニル、フェノキサチニル、２Ｈ－ピロリル、イソチアゾリル、イソキサゾリル、ピラジニル、ピリダジニル、インドリジニル、イソインドリル、３Ｈ－インドリル、１Ｈ－インダゾリル、プリニル、４Ｈ－キノリジニル、フタラジニル、ナフチリジニル、キノキサリニル、キナゾリニル、シンノリニル、プテリジニル、４Ａｈ－カルバゾリル、カルバゾリル、β－カルボリニル、フェナントリジニル、アクリジニル、ピリミジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フラザニル、フェノキサジニル、イソクロマニル、クロマニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ピペラジニル、インドリニル、イソインドリニル、キヌクリジニル、モルホリニル、オキサゾリジニル、ベンゾトリアゾリル、ベンズイソキサゾリル、オキシンドリル、ベンゾキサゾリニル、およびイサチノイルが挙げられる。

【０３８３】

ペイロードとして薬物を持つＸＴＥＮ－ペイロード共役体のいくつかの実施形態において、薬物分子は、薬物およびＸＴＥＮに結合するための２つの反応部位を有する架橋剤により、リジンまたはシステイン操作されたＸＴＥＮ（例えば、表３の配列）に付着される。好適な架橋剤群は、循環中の加水分解に対し比較的安定であり、共役体から切断されるときに非毒性であるものである。さらに、架橋剤の使用は、薬物とＸＴＥＮとの間にさらに優れた柔軟性を持つ共役体の可能性を提供するか、またはＸＴＥＮが、ファルマコフォアとその結合部位との間の結合を干渉しないように、薬物とＸＴＥＮとの間に十分な空間を提供する。一実施形態において、架橋剤は、ＸＴＥＮ上に存在する求核基に対し反応性である求電子基を有する反応部位を有する。好適な求核剤としては、チオール、チオール酸塩、および第１級アミンが挙げられる。リジンまたはシステイン操作されたＸＴＥＮの求核基のヘテロ原子は、架橋剤上の求電子基に対して反応性であり、架橋剤単位への共有結合を形成し、ＸＴＥＮ－架橋剤共役体を形成する。架橋剤に有用な求電子基としては、限定されないが、マレイミドおよびハロアセトアミド基が挙げられ、 ＸＴＥＮへの付着に便利な部位を提供する。別の実施形態において、架橋剤は、共役が、ＸＴＥＮ－架橋剤とペイロード薬物との間に発生し、ＸＴＥＮ－薬物共役体をもたらすことができるように、薬物上に存在する求電子基に対して反応性である求核基を有する反応部位を有する。薬物上の有用な求電子基としては、ヒドロキシル、チオール、アルデヒド、アルケン、アル

カン、アジド、およびケトンカルボニル基が挙げられるが、これらに限定されない。架橋剤の求核基のヘテロ原子は、薬物上の求電子基と反応し、共有結合を形成することができる。架橋剤上の有用な求核基としては、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、カルボン酸ヒドラジン、およびアリールヒドラジドが挙げられるが、これらに限定されない。薬物上の求電子基は、架橋剤への付着に便利な部位を提供する。

【０３８４】

特定の実施形態において、対象のリジン操作されたＸＴＥＮのリジンεアミノ基への薬物の共役は、反応性薬物－Ｎ－ヒドロキシルスクシンイミド反応物、または薬物－スクシンイミジルプロピオン酸塩、薬物－スクシンイミジルブタン酸塩、または他の薬物－スクシンイミド共役体等のエステルを利用する。代替として、対象のリジン操作されたＸＴＥＮのリジン残基を使用し、２－イミノチオランとの反応を通じて遊離スルフヒドリル基を導入してもよい。代替として、対象のリジン操作されたＸＴＥＮの標的基質リジンは、活性薬剤との共役に使用可能な遊離ヒドラジドまたはアルデヒド基を有するヘテロ二官能性試薬に結合されてもよい。反応性エステルは、生理的ｐＨで共役することができるが、反応性の低い誘導体は、典型的に、より高いｐＨ値を必要とする。不安定なタンパク質ペイロードが使用されている場合は、低温が用いられてもよい。低温条件下で、より長い反応時間が共役反応に使用され得る。

【０３８５】

別の特定の実施形態において、本発明は、対象のリジン操作されたＸＴＥＮのリジン残基とのアミノ基共役を持つＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供し、共役は、Ｎ末端アミノ酸のα－アミノ基のｐＫａ値（約７．６～８．０）とリジンのε－アミノ基のｐＫａ（約１０）との間の差によって促進される。末端アミノ基の共役は、多くの場合、アミンに対してより選択的であり、したがって、例えば、ヒスチジンのイミダゾール基と反応する可能性が低い、反応性薬物－アルデヒド（例えば、薬物－プロピオンアルデヒドまたは薬物－ブチルアルデヒド）を用いる。さらに、アミノ残基は、コハク酸もしくは他のカルボン酸無水物、またはＮ，Ｎ’－ジスクシンイミジル炭酸塩（ＤＳＣ）、Ｎ，Ｎ’－カルボニルジイミダゾール（ＣＤＩ）、またはｐ－ニトロフェニルクロロギ酸塩と反応し、それぞれ活性化されたスクシンイミジル炭酸塩、イミダゾールカルバミン酸塩、またはｐ－ニトロフェニル炭酸塩を生じる。これらの薬剤との誘導体化は、リジニル残基の電荷を逆にする効果を有する。対象のＸＴＥＮの末端アミノ基への薬物－アルデヒドの共役は、典型的に、適切な緩衝液中で起こり、リジン残基のε－アミノ基とタンパク質のＮ末端残基のα－アミノ基のとの間のｐＫａ差を利用することを可能にする。この実施形態の方法において、連結のための反応は、約ｐＨ７～最大約８の範囲のｐＨを使用する。リジンεアミノ基の共役に有用な方法は、米国特許第４，９０４，５８４号および米国特許第６，０４８，７２０号に記載されている。

【０３８６】

当業者であれば、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の創製に使用される活性化方法および／または共役化学は、ＸＴＥＮポリペプチドの反応基ならびに薬物部分の官能基（例えば、アミノ、ヒドロキシル、カルボキシル、アルデヒド、スルフヒドリル、アルケン、アルカン、アジド等である）、薬物架橋剤反応物の官能基、またはＸＴＥＮ－架橋剤反応物の官能基に依存することに気付くであろう。薬物共役は、操作されたＸＴＥＮポリペプチド上の全ての使用可能な付着基、例えば、組み込まれたシステイン残基またはリジン残基上の特定の操作された付着基への共役に向けられ得る。共役が適切な反応部位に配向されるように反応物を制御するために、本発明は、共役反応中の保護基の使用を企図する。「保護基」は、ある反応条件下で、分子中の特定の化学反応性官能基の反応を回避またはブロックする部分である。保護基は、保護される化学反応基の種類、ならびに用いられる反応条件、ならびに分子中の追加の反応基の存在に応じて異なる。保護され得る官能基の非限定例としては、カルボン酸基、ヒドロキシル基、アミノ基、チオール基、およびカルボニル基が挙げられる。カルボン酸およびヒドロキシルの代表的な保護基としては、エステル（例えば、ｐ－メトキシベンジルエステル）、アミド、およびヒドラジド；アミノ基の場合

は、カルバミン酸塩（例えば、ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）およびアミド；ヒドロキシル基の場合は、エーテルおよびエステル；チオール基の場合は、チオエーテルおよびチオエステル；カルボニル基の場合は、アセタールおよびケタール等が挙げられる。そのような保護基は、当業者には周知であり、例えば、Ｔ．Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ ａｎｄ Ｇ．Ｍ．Ｗｕｔｓ，Ｐｒｏｔｅｃｔｉｎｇ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｔｈｉｒｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｗｉｌｅｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９９、およびそこに引用されている参照文献に記載されている。共役は、１ステップ、または段階的方法で（例えば、第ＷＯ９９／５５３７７号に記載される）、例えば、反応中間体架橋剤の付加を通じて、本明細書に開示される架橋剤、または薬物分子上の反応性官能基に結合されるポリペプチドのシステインまたはリジン残基への共役に有用であることが知られている架橋剤を使用して達成され得る。

【０３８７】

本発明のいくつかの実施形態において、架橋剤をシステイン操作されたＸＴＥＮに共役するための方法は、ＸＴＥＮが、ジチオトレイトール（ＤＴＴ）等の還元剤で前処理され、任意のシステインジスルフィド残基を還元して、高度に求核性のシステインチオール基（－CH_2SH）を形成することを提供し得る。還元剤は、脱塩等の任意の従来方法によって後次に除去される。したがって、還元されたＸＴＥＮは、例えば、Ｋｌｕｓｓｍａｎ ｅｔ ａｌ．（２００４）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ １５（４），７６５－７７３の共役方法に従い、求電子性官能基（例えば、マレイミドまたはα－ハロカルボニル）を持つ薬物－リンカー化合物または架橋剤試薬と反応する。システイン残基への架橋剤または薬物の共役は、典型的に、ｐＨ６～９の適切な緩衝液中、４℃～２５℃の範囲の温度で最長約１６時間起こる。代替として、システイン残基は誘導体化され得る。適切な誘導体化剤および方法は、当該技術分野において周知である。例えば、システイニル残基は、最も一般的に、ヨード酢酸またはヨードアセトアミド等のα－ハロ酢酸塩（および対応するアミン）と反応し、カルボキシメチルまたはカルボキシアミドメチル誘導体を生じる。システイニル残基も、ブロモトリフルオロアセトン、α－ブロモ－β－（４－イミドゾイル）プロピオン酸、クロロアセチルリン酸塩、Ｎ－アルキルマレイミド、３－ニトロ－２－ピリジルジスルフィド、メチル２－ピリジルジスルフィド、ｐ－クロロメルクリ安息香酸塩、２－クロロメルクリ－４－ニトロフェノール、またはクロロ－７－ニトロベンゾ－２－オキサ－１，３－ジアゾールとの反応によって誘導体化される。

【０３８８】

場合によっては、共役は、使用可能なＸＴＥＮ付着基のうちの可能な限り多くを、薬物または薬物－リンカー分子と反応させることを目的とする条件下で行われる。これは、ポリペプチドに関する薬物の適切なモル過剰により達成される。活性化薬物または薬物－リンカー分子：ポリペプチドの典型的なモル比は、最大約１０００：１、例えば、最大約２００：１、または最大約１００：１である。しかしながら、場合によって、この比率は、いくらか低い場合がある（例えば、最大約５０：１、１０：１、または５：１）。等モル比も使用され得る。

【０３８９】

実施形態において、開示のＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、ＸＴＥＮに結合されていない対応するペイロードと比較して、薬理活性の少なくとも一部分を保持する。一実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロードは、ＸＴＥＮに結合されていないペイロードの薬理活性の少なくとも約１％、または少なくとも約５％、または少なくとも約１０％、または少なくとも約２０％、または少なくとも約３０％、または少なくとも約４０％、または少なくとも約５０％、または少なくとも約６０％、または少なくとも約７０％、または少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９５％を保持する。

【０３９０】

一実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、ジスルフィド結合還元、ｐＨ依存性放出を含むリンカーの非特異的または酵素的加水分解によって、または表９のプロテアーゼを含む外因性もしくは内因性プロテアーゼによって、体内でペイロードを放出する

ように設計することができる。巨大分子は、受容体媒介性エンドサイトーシス、吸着性エンドサイトーシス、または液相エンドサイトーシスのいずれかを通じて細胞により吸収され得る（Ｊａｉｎ Ｒ．Ｋ．Ｔｒａｎｓｐｏｒｔ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ａｃｒｏｓｓ ｔｕｍｏｒ ｖａｓｃｕｌａｔｕｒｅ．（１９８７）Ｃａｎｃｅｒ Ｍｅｔａｓｔａｓｉｓ Ｒｅｖ．６（４），５５９－５９３；Ｊａｉｎ Ｒ．Ｋ．Ｔｒａｎｓｐｏｒｔ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，ｐａｒｔｉｃｌｅｓ，ａｎｄ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｓｏｌｉｄ ｔｕｍｏｒｓ．（１９９９）Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｅｎｇ．１，２４１－２６３；Ｍｕｋｈｅｒｊｅｅ Ｓ．，Ｇｈｏｓｈ Ｒ．Ｎ．，Ｍａｘｆｉｅｌｄ Ｆ．Ｒ．Ｅｎｄｏｃｙｔｏｓｉｓ．（１９９７）Ｐｈｙｓｉｏｌ．Ｒｅｖ．７７（３），７５９－８０３）。ＸＴＥＮ－ペイロードの細胞取り込み時に、ペイロードは、エンドソーム中の低いｐＨ値（ｐＨ５．０～６．５）およびリソソーム（ｐＨ４．５～５．０）、ならびにリソソーム酵素（例えば、エステラーゼおよびプロテアーゼ）によって放出され得る。酸感受性架橋剤の例は、チオール担持担体に結合され得る６－マレイミドドカプロイルヒドラゾンである。ヒドラゾンリンカーは、５未満のｐＨ値で急速に切断され、共役体の内在化に続いて、酸性ｐＨのエンドソームおよびリソソーム中のペイロードの放出を可能にする（Ｔｒａｉｌ Ｐ．Ａ．ｅｔ ａｌ．Ｅｆｆｅｃｔ ｏｆ ｌｉｎｋｅｒ ｖａｒｉａｔｉｏｎ ｏｎ ｔｈｅ ｓｔａｂｉｌｉｔｙ，ｐｏｔｅｎｃｙ，ａｎｄ ｅｆｆｉｃａｃｙ ｏｆ ｃａｒｃｉｎｏｍａ－ｒｅａｃｔｉｖｅ ＢＲ６４－ｄｏｘｏｒｕｂｉｃｉｎ ｉｍｍｕｎｏｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ．（１９９７）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５７（１），１００－１０５；Ｋｒａｔｚ Ｆ．ｅｔ ａｌ．Ａｃｕｔｅ ａｎｄ ｒｅｐｅａｔ－ｄｏｓｅ ｔｏｘｉｃｉｔｙ ｓｔｕｄｉｅｓ ｏｆ ｔｈｅ（６－ｍａｌｅｉｍｉｄｏｃａｐｒｏｙｌ）ｈｙｄｒａｚｏｎｅ ｄｅｒｉｖａｔｉｖｅ ｏｆ ｄｏｘｏｒｕｂｉｃｉｎ（ＤＯＸＯ－ＥＭＣＨ），ａｎ ａｌｂｕｍｉｎ－ｂｉｎｄｉｎｇ ｐｒｏｄｒｕｇ ｏｆ ｔｈｅ ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ ａｇｅｎｔ ｄｏｘｏｒｕｂｉｃｉｎ．（２００７）Ｈｕｍ．Ｅｘｐ．Ｔｏｘｉｃｏｌ．２６（１），１９－３５）。臨床的に承認されたｍＡｂ－薬物共役体、ゲムツズマブオゾガマイシン（Ｍｙｌｏｔａｒｇ（商標））は、細胞毒性抗生物質剤カリケアマイシンに化学的に結合されたＣＤ３３に対するヒト化ｍＡｂ Ｐ６７．６を含有する薬物－抗体共役体である。抗体と薬物との間のリンカーは、２つの不安定な結合（ヒドラゾンおよび立体障害のジスルフィド）を組み込む。酸感受性ヒドラゾン結合は、実際の切断部位であることが示された（Ｊａｒａｃｚ Ｓ．，Ｃｈｅｎ Ｊ．，Ｋｕｚｎｅｔｓｏｖａ Ｌ．Ｖ．，Ｏｊｉｍａ Ｉ．Ｒｅｃｅｎｔ ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ ｔｕｍｏｒ－ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ ｄｒｕｇ ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ．（２００５）Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．１３（１７），５０４３－５０５４）。

【０３９１】

ペイロードがジスルフィド結合によって結合されるそれらのＸＴＥＮ－ペイロード共役体の場合、ペイロードは、不安定なリンカー内のジスルフィド結合の還元によってＸＴＥＮから放出され得る。例えば、ｈｕＮ９０１－ＤＭ１は、小細胞肺癌の処置のためにＩｍｍｕｎｏＧｅｎ，Ｉｎｃ．によって開発された腫瘍活性化免疫療法プロドラッグである。プロドラッグは、微小管阻害剤メイタンシノイドＤＭ１で共役されたヒト化抗ＣＤ５６ ｍＡｂ（ｈｕＮ９０１）からなる。ＤＭ１の３．５～３．９分子の平均は、障害されたジスルフィド結合を介して各抗体に結合される。ジスルフィド結合は、血液中で安定しているが、ｈｕＭ９０１によって標的細胞に侵入するときに急速に切断され、したがって活性ＤＭ１を放出する（Ｓｍｉｔｈ Ｓ．Ｖ．Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ：ｈｕＮ９０１－ＤＭ１，ＩｍｍｕｎｏＧｅｎ．（２００５）Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．７（４），３９４－４０１）。ＤＭ１は、抗前立腺特異的膜抗原ｍＡｂであるＭｉｌｌｅｎｎｉｕｍ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ ＭＬＮ－５９１にも連結された。ＤＭ１は、内在化時の細胞内薬物放出を可能にするのと同時に、血清安定性を提供する障害されたジスルフィド結合を介して抗体に結合される（Ｈｅｎｒｙ Ｍ．Ｄ．ｅｔ ａｌ．Ａ ｐｒｏｓｔａｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｍｅｍｂｒａｎｅ ａｎｔｉｇｅｎ－ｔａ

rgeted monoclonal antibody－chemotherapeutic conjugate designed for the treatment of prostate cancer.（２００４）Cancer Res.６４（２１），７９９５－８００１）。

【０３９２】

担体ＸＴＥＮからのペイロードの放出は、短い切断可能なペプチドを、ペイロードとＸＴＥＮとの間のリンカーとして使用する組成物を創製することによって達成することができる。臨床的に評価された共役体の例は、ドキソルビシン－ＨＰＭＡ（Ｎ－（２－ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド）共役体であり、ドキソルビシンが、そのアミノ糖を通じて、カテプシンＢ等のリソソームプロテアーゼにより切断されるテトラペプチドスペーサーＧｌｙＰｈｅＬｅｕＧｌｙを介して、ＨＰＭＡコポリマーに結合される（Ｖａｓｅｙ Ｐ．Ａ．ｅｔ ａｌ．Ｐｈａｓｅ Ｉ ｃｌｉｎｉｃａｌ ａｎｄ ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃ ｓｔｕｄｙ ｏｆ ＰＫ１［Ｎ－（２－ｈｙｄｒｏｘｙｐｒｏｐｙｌ）ｍｅｔｈａｃｒｙｌａｍｉｄｅ ｃｏｐｏｌｙｍｅｒ ｄｏｘｏｒｕｂｉｃｉｎ］：ｆｉｒｓｔ ｍｅｍｂｅｒ ｏｆ ａ ｎｅｗ ｃｌａｓｓ ｏｆ ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ａｇｅｎｔｓ－ｄｒｕｇ－ｐｏｌｙｍｅｒ ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ．（１９９９）Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５（１），８３－９４）。開発の臨床段階に到達したペプチドリンカーとの担体－薬物共役体の他の例は、巨大分子白金錯体である。２つのＨＰＭＡ系薬物候補は、ＨＰＭＡコポリマー骨格からなり、複雑なアミノマロン酸白金錯体は、カテプシンＢ切断可能なペプチドスペーサーＧｌｙＰｈｅＬｅｕＧｌｙまたはトリペプチドスペーサーＧｌｙＧｌｙＧｌｙを通じて結合された（Ｒａｄｅｍａｋｅｒ－Ｌａｋｈａｉ Ｊ．Ｍ．ｅｔ ａｌ．Ａ Ｐｈａｓｅ Ｉ ａｎｄ ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ ｓｔｕｄｙ ｏｆ ｔｈｅ ｐｌａｔｉｎｕｍ ｐｏｌｙｍｅｒ ＡＰ５２８０ ｇｉｖｅｎ ａｓ ａｎ ｉｎｔｒａｖｅｎｏｕｓ ｉｎｆｕｓｉｏｎ ｏｎｃｅ ｅｖｅｒｙ ３ ｗｅｅｋｓ ｉｎ ｐａｔｉｅｎｔｓ ｗｉｔｈ ｓｏｌｉｄ ｔｕｍｏｒｓ．（２００４）Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１０（１０），３３８６－３３９５；Ｓｏｏｄ Ｐ．ｅｔ ａｌ．Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ａｎｄ ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ＡＰ５３４６，ａ ｎｏｖｅｌ ｐｏｌｙｍｅｒ－ｌｉｎｋｅｄ ｄｉａｍｉｎｏｃｙｃｌｏｈｅｘｙｌ ｐｌａｔｉｎｕｍ ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ａｇｅｎｔ．（２００６）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．１７（５），１２７０－１２７９）。

【０３９３】

高度に選択的な方法は、前立腺組織および前立腺癌においてほぼ優先的に発現される、前立腺特異的抗原（ＰＳＡ）プロテアーゼを介して前立腺癌を標的とするように開発された。パクリタキセルの新規のアルブミン結合プロドラッグ、ＥＭＣ－ＡｒｇＳｅｒＳｅｒＴｙｒＴｙｒＳｅｒＬｅｕ－ＰＡＢＣ－パクリタキセル（ＥＭＣ：ε－マレイミドカプロイル、ＰＡＢＣ：ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル）が合成された。このプロドラッグは、水溶性であり、内因性および外因性アルブミンに結合された。このプロドラッグのアルブミン結合形態は、パクリタキセル－ジペプチドＳｅｒ－Ｌｅｕ－ＰＡＢＣ－パクリタキセルを放出するＰＳＡによって切断された。ＰＡＢＣ自己排除リンカーの組込みに起因して、このジペプチドは、急速に分解され、パクリタキセルを最終切断産物として遊離させた（Ｅｌｓａｄｅｋ Ｂ．ｅｔ ａｌ．Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ｏｆ ａ ｎｏｖｅｌ ｐｒｏｄｒｕｇ ｏｆ ｐａｃｌｉｔａｘｅｌ ｔｈａｔ ｉｓ ｃｌｅａｖｅｄ ｂｙ ｐｒｏｓｔａｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｔｉｇｅｎ：ａｎ ｉｎ ｖｉｔｒｏ ａｎｄ ｉｎ ｖｉｖｏ ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ ｓｔｕｄｙ．（２０１０）Ｅｕｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ４６（１８），３４３４－３４４４）。

【０３９４】

自壊性スペーサーは、プロドラッグ送達系におけるそれらの有用性に起因して、多くの関心を集めている。いくつかの報告は、単一切断事象によって開始される、ドミノ様鎖フラグメント化を通じて、それらの単位の全てを放出することができる、線状自己排除系またはデンドリマー構造について説明している（Ｈａｂａ Ｋ．ｅｔ ａｌ．Ｓｉｎｇｌｅ

－ｔｒｉｇｇｅｒｅｄ ｔｒｉｍｅｒｉｃ ｐｒｏｄｒｕｇｓ．（２００５）Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．，Ｉｎｔ．Ｅｄ．４４，７１６－７２０；Ｓｈａｂａｔ Ｄ．Ｓｅｌｆ－ｉｍｍｏｌａｔｉｖｅ ｄｅｎｄｒｉｍｅｒｓ ａｓ ｎｏｖｅｌ ｄｒｕｇ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｐｌａｔｆｏｒｍｓ．（２００６）Ｊ．Ｐｏｌｙｍ．Ｓｃｉ．，Ｐａｒｔ Ａ：Ｐｏｌｙｍ．Ｃｈｅｍ．４４，１５６９－１５７８．Ｗａｒｎｅｃｋｅ Ａ．，Ｋｒａｔｚ Ｆ．２，４－Ｂｉｓ（ｈｙｄｒｏｘｙｍｅｔｈｙｌ）ａｎｉｌｉｎｅ ａｓ ａ ｂｕｉｌｄｉｎｇ ｂｌｏｃｋ ｆｏｒ ｏｌｉｇｏｍｅｒｓ ｗｉｔｈ ｓｅｌｆ－ｅｌｉｍｉｎａｔｉｎｇ ａｎｄ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｒｅｌｅａｓｅ ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ．（２００８）Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．７３，１５４６－１５５２；Ｓａｇｉ Ａ．ｅｔ ａｌ．Ｓｅｌｆ－ｉｍｍｏｌａｔｉｖｅ ｐｏｌｙｍｅｒｓ．（２００８）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．１３０，５４３４－５４３５）。一研究において、抗癌剤カンプトテシンの４つの分子、およびＰＥＧ５０００の２つの分子を持つ自壊性樹状プロドラッグが設計され、合成された。プロドラッグは、生理学的条件下で、ペニシリン－Ｇ－アミダーゼによって効果的に活性化され、遊離カンプトテシンは、反応媒体に放出され、細胞成長阻害を引き起こした（Ｇｏｐｉｎ Ａ．ｅｔ ａｌ．Ｅｎｚｙｍａｔｉｃ ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ ｏｆ ｓｅｃｏｎｄ－ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ｄｅｎｄｒｉｔｉｃ ｐｒｏｄｒｕｇｓ：ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ ｏｆ ｓｅｌｆ－ｉｍｍｏｌａｔｉｖｅ ｄｅｎｄｒｉｍｅｒｓ ｗｉｔｈ ｐｏｌｙ（ｅｔｈｙｌｅｎｅ ｇｌｙｃｏｌ）ｖｉａ ｃｌｉｃｋ ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ．（２００６）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．１７，１４３２－１４４０）。腫瘍細胞中に過剰発現されるプロテアーゼにより切断され、特定の酵素基質の組込みは、高度に効率的な癌細胞特異的樹状プロドラッグ活性化系を生成することができる。プロテアーゼにより切断可能なスペーサー配列の非限定例は、表９に列挙される。

【０３９５】

いくつかの実施形態において、本発明は、二量体、三量体、四量体、およびより高次の共有体を含む、ＸＴＥＮ－ペイロード構成を提供し、ペイロードは、本明細書において上述される不安定なリンカーを使用してＸＴＥＮに付着される。前述の一実施形態において、組成物は、標的細胞上のリガンドまたは受容体に組成物を送達するための標的化成分をさらに含む。別の実施形態において、本発明は、１つ、２つ、３つ、または４つのＸＴＥＮ－ペイロード組成物が、抗体または抗体フラグメントへの不安定なリンカーと共役され、限定されないが、腫瘍および他の癌の様々な処置等の臨床適応の標的療法において使用するための可溶性組成物を提供する、共役体を提供し、抗体は、標的化成分を提供し、次いで、標的細胞内で内在化されるときに、不安定なリンカーは、ＸＴＥＮ－ペイロードが組成物から解離するのを許し、意図される活性（例えば、腫瘍細胞中の細胞毒性）を生じさせる。したがって、本発明の組成物は、免疫共役体の一種である。

【０３９６】

非構造化特徴、および均一な組成物、およびＸＴＥＮの電荷は、共役反応に続いて、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の精製のために利用されることができる特性をもたらす。特に、有用性は、イオン交換によるＸＴＥＮ共役体の捕捉であり、これは未反応のペイロードおよびペイロード誘導体の除去を可能にする。特に、有用性は、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）による共役体の捕捉である。それらの親水性性質に起因して、ほとんどのＸＴＥＮポリペプチドは、ＨＩＣ樹脂への低い結合を示し、これはペイロードとカラム材料との間の疎水性相互作用に起因して、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の捕捉、および共役プロセス中のペイロードへの共役に失敗した非共役ＸＴＥＮからのそれらの分離を促進する。高純度のＸＴＥＮおよびＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、ほとんどの化学ポリマーまたは天然ポリマー、特にペグ化ペイロードと比較して、著しい利点を提供する。ほとんどの化学ポリマーおよび天然ポリマーは、ランダムまたは半ランダム重合により産生され、多くの相同体の生成をもたらす。そのようなポリマーは、産物中の標的実体の分画を増加させるための様々な方法によって分画され得る。しかしながら、富化後であっても、天然ポリマーおよびそれらのペイロード共役体のほとんどの調製物は、１０％未満の標的実体を含有する。Ｇ－ＣＳＦを持つＰＥＧ共役体の例は、［Ｂａｇａｌ，Ｄ．，ｅｔ

ａｌ．（２００８）Ａｎａｌ　Ｃｈｅｍ，８０：２４０８－１８］に記載されている。この刊行物は、治療使用に承認されるＰＥＧ共役体も、標的実体の少なくとも１０％の濃度で発生する１００個超の相同体を含有することを示す。

【０３９７】

ＰＥＧ等のランダムポリマーの複雑性は、共役および精製中の監視および品質制御にとって重大な障害である。対照的に、本明細書に記載される方法によって精製されたＸＴＥＮは、高レベルの純度および均一性を有する。さらに、本明細書に記載されるように創製された共役体は、日常的に、意図される標的の約８０％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％超を意図される構成で含有し、質量分析およびクロマトグラムの解釈を容易にする。

【０３９８】

２．　単量体ＸＴＥＮ－架橋剤、およびＸＴＥＮ－ペイロード構成

別の態様において、本発明は、ＸＴＥＮ－架橋剤共役体、および単一ＸＴＥＮを持つＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供し、共役体は異なる構成で設計される。そのような共役体の例示的な構成は以下の通りである。

【０３９９】

一実施形態において、本発明は、式ＩＶ：

【０４００】

【化１９】

【０４０１】

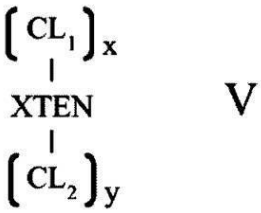
の構成を有する共役体を提供し、式中、独立して、各発生時に、ＣＬ１は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、ＸＴＥＮは、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列である。式ＩＶの共役体の一実施形態において、ＣＬ１は、表１３から選択される架橋剤である。式ＩＶの共役体の別の実施形態において、ｘは、前述の範囲を有し、表１３の架橋剤は、ＸＴＥＮの各システイン硫黄に結合される。式ＩＶの共役体の別の実施形態において、ｘは、前述の範囲を有し、架橋剤は、ＸＴＥＮの各リジンεアミノ基に結合される。式ＶＩの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、表１３の架橋剤は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合される。特定の成分を使用してＸＴＥＮに共役された架橋剤を含む前述の実施形態の組成物が、個別の反応物の反応産物を表し、したがって反応物の精密な組成物とは異なることは、当業者によって理解されるであろう。別の実施形態において、本発明は、式ＩＶの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ分子の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。

【０４０２】

別の実施形態において、本発明は、式Ｖ：

【０４０３】

【化２０】



【０４０４】

の構成を有する共役体を提供し、式中、独立して、各発生に対し、ＣＬ$_1$は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、ＣＬ$_2$は、ＣＬ$_1$とは異なる架橋剤であり、ｙは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であるが、但し、ｘ＋ｙ≧２を条件とし、ＸＴＥＮは、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列である。式Ｖの共役体の一実施形態において、ＣＬ$_1$およびＣＬ$_2$は、それぞれ、表１３に記載される架橋剤の群から選択される。式Ｖの共役体の一実施形態において、ｘは、前述の範囲を有し、各ＣＬ$_1$は、ＸＴＥＮの各リジンのεアミノ基に結合され、ｙは、前述の範囲を有し、各ＣＬ$_2$は、ＸＴＥＮの各システインの硫黄基に結合される。式Ｖの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、ＣＬ$_1$は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合され、各ＣＬ$_2$は、ＸＴＥＮのシステイン硫黄基に結合される。特定の成分を使用してＸＴＥＮに共役された架橋剤を含む前述の実施形態の組成物が、反応物の反応産物を表し、したがって反応物の精密な組成物とは異なることは、当業者によって理解されるであろう。別の実施形態において、本発明は、式Ｖの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ分子の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。

【０４０５】

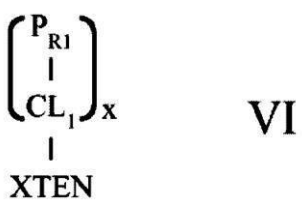
別の態様において、本発明は、定義された構成を有するＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供する。本発明は、ペイロードの反応性分子が、化学反応によって接合され得る、本明細書に記載の反応性ＸＴＥＮ－架橋剤共役パートナー組成物を利用する。

【０４０６】

一実施形態において、本発明は、式ＶＩ：

【０４０７】

【化２１】



【０４０８】

の構成を有する共役体を提供し、式中、独立して、各発生時に、Ｐ$_{R1}$は、ペイロードの単一原子残基であり、残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、

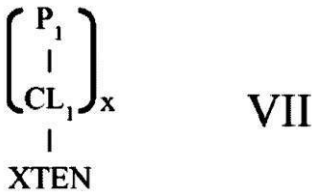
ＣＬ$_1$は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、ＸＴＥＮは、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列である。式ＶＩの共役体の一実施形態において、ペイロードの単一原子残基は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択されたペイロードに由来する。式ＶＩの共役体の一実施形態において、ＣＬ$_1$は、表１３から選択される架橋剤である。式ＶＩの共役体の一実施形態において、　各架橋剤は、ＸＴＥＮのシステイン硫黄に結合される。式ＶＩの共役体の別の実施形態において、各架橋剤は、ＸＴＥＮのリジンεアミノ基に結合される。式ＶＩの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、架橋剤は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合される。式ＶＩの共役体の別の実施形態において、ＣＬ$_1$は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。別の実施形態において、本発明は、式ＶＩの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ分子の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。

【０４０９】

別の実施形態において、本発明は、式ＶＩＩ：

【０４１０】

【化２２】



VII

【０４１１】

の構成を有する共役体を提供し、式中、独立して、各発生に対し、Ｐ$_1$は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択されるペイロードであり、ＣＬ$_1$は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、ＸＴＥＮは、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列である。式ＶＩＩの共役体の一実施形態において、ＣＬは$_1$、表１３から選択される架橋剤である。式ＶＩＩの共役体の一実施形態において、各架橋剤は、ＸＴＥＮのシステイン硫黄に結合される。式ＶＩＩの共役体の別の実施形態において、各架橋剤は、ＸＴＥＮのリジンεアミノ基に結合される。式ＶＩＩの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、架橋剤は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合される。一実施形態において、式ＶＩＩの共役体は、表２１に記載される共役体からなる群から選択される。式ＶＩＩの共役体の別の実施形態において、ＣＬ$_1$は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。特定の成分を使用してＸＴＥＮ－架橋剤に共役されたペイロードを含む前述の実施形態の組成物が、反応物の反応産物を表し、したがって反応物の精密な組成物とは異なることは、当

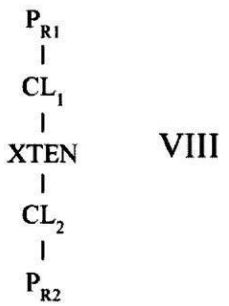
業者によって理解されるであろう。別の実施形態において、本発明は、式ＶＩＩＩの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ分子の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。

【０４１２】

別の実施形態において、本発明は、式ＶＩＩＩ：

【０４１３】

【化２３】



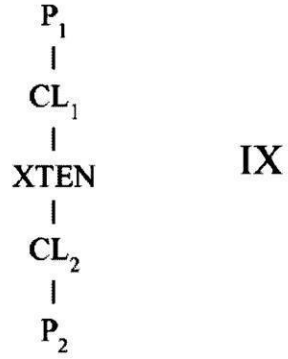
【０４１４】

の構成を有する共役体を提供し、式中、独立して、各発生時に、P_{R1}は、ペイロードの単一原子残基であり、この残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、P_{R2}は、ペイロードの単一原子残基であり、この残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、CL_1は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、CL_2は、CL_1とは異なる架橋剤であり、ｙは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であるが、但し、ｘ＋ｙ≧２を条件とし、ＸＴＥＮは、は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列である。式ＶＩＩＩの共役体の一実施形態において、ペイロードの単一原子残基は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択されたペイロードに由来する。式ＶＩＩＩの共役体の一実施形態において、CL_1およびCL_2は、それぞれ、表１３に記載される架橋剤の群から選択される。式ＶＩＩＩの共役体の一実施形態において、各CL_1は、ＸＴＥＮのリジンεアミノ基に結合され、各CL_2は、ＸＴＥＮのシステイン硫黄に結合される。式ＶＩＩＩの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、CL_1は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合され、CL_2は、ＸＴＥＮのシステイン硫黄またはリジンεアミノ基のいずれかに結合される。式ＶＩＩＩの共役体の別の実施形態において、CL_1は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。式ＶＩＩＩの共役体の別の実施形態において、C_2は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。別の実施形態において、本発明は、式ＶＩＩＩの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ分子の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。

【０４１５】

別の実施形態において、本発明は、式ＩＸ：

【０４１６】
【化２４】



IX

【０４１７】
の構成を有する共役体を提供し、式中、独立して、各発生時に、P_1は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択されるペイロードであり、P_2は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択され、P_1とは異なるペイロードであり、CL_1は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、CL_2は、CL_1とは異なる架橋剤であり、ｙは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であるが、但し、$x+y \geq 2$を条件とし、ＸＴＥＮは、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する配列である。式ＩＸの共役体の一実施形態において、ペイロードの単一原子残基は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択されたペイロードに由来する。式ＩＸの共役体の一実施形態において、CL_1およびCL_2は、それぞれ、表１３に記載される架橋剤の群から選択される。式ＩＸの共役体の一実施形態において、各CL_1は、ＸＴＥＮのリジンεアミノ基に結合され、各CL_2は、ＸＴＥＮのシステイン硫黄に結合される。式ＩＸの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、CL_1は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合され、CL_2は、ＸＴＥＮのシステイン硫黄またはリジンεアミノ基のいずれかに結合される。式ＩＸの共役体の別の実施形態において、CL_1は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。式ＩＸの共役体の別の実施形態において、C_2は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。一実施形態において、式ＩＸの共役体は、表２１に記載される共役体からなる群から選択される。別の実施形態において、本発明は、式ＩＸの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ分子の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。

３．　二量体、三量体、四量体、および多量体構成のＸＴＥＮ－架橋剤およびＸＴＥＮ－ペイロード共役体

一態様において、本発明は、異なる数のＸＴＥＮまたはＸＴＥＮ－ペイロード共役パートナーが、数値的に定義された構成（例えば、二量体、三量体、四量体、または多量体）で、リンカーにより接合される共役体を提供する。本明細書において使用される場合、「前駆体」は、共役反応において反応物として使用され、中間体または最終組成物をもたらす成分を含むことが意図され、任意の長さのＸＴＥＮセグメント（表２および３のＸＴＥ

Ｎ、または上記の様々な式で表されるＸＴＥＮを含む）、ＸＴＥＮ－架橋剤、ＸＴＥＮ－ペイロード－架橋剤セグメント、反応基を持つペイロード、リンカー、および本明細書に記載される他のそのような成分が挙げられるが、これらに限定されない。

【０４１８】

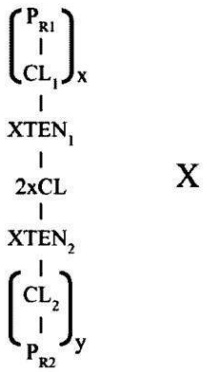
いくつかの実施形態において、本発明は、２つのＸＴＥＮまたはＸＴＥＮ－ペイロード前駆体セグメントが、二価架橋剤によって結合され、例えば、図１９Ｃおよび図２７Ｂに示される、二価構成をもたらす共役体を提供する。二価ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の一実施形態において、各ＸＴＥＮ－ペイロードは、生物学的に活性なペプチドまたはポリペプチドを含む単量体融合タンパク質であり得、各融合タンパク質前駆体セグメントは、Ｎ末端のα－アミノ基によって二価リンカーに結合され、二価共役体をもたらす。二価ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の別の実施形態において、各ＸＴＥＮ－ペイロード前駆体セグメントは、生物学的に活性なペプチドまたはポリペプチドを含む単量体融合タンパク質であり、各融合タンパク質は、Ｃ末端の二価リンカーに結合され、二価共役体をもたらす。二価ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の別の実施形態において、各ＸＴＥＮは、ＸＴＥＮに共役された１つ以上のペイロード（ペプチド、ポリペプチド、または薬物であり得る）を含み、各ＸＴＥＮ前駆体は、Ｎ末端の二価リンカーによって１つ以上の第２の異なるペイロード分子を含む他のＸＴＥＮ前駆体に結合され、二価共役体をもたらす。二価ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の別の実施形態において、各ＸＴＥＮは、ＸＴＥＮに共役された１つ以上のペイロード（ペプチド、ポリペプチド、または薬物であり得る）を含み、各ＸＴＥＮ前駆体は、Ｃ末端のカルボキシル基または修飾基によって１つ以上の第２の異なる二価リンカーによるペイロード分子を含む他のＸＴＥＮ前駆体に結合され（限定されないが、Ｃ末端におけるシステインの挿入によって修飾されたＸＴＥＮが挙げられる）、二価共役体をもたらす。このパラグラフの前述の実施形態において、本開示に照らして当業者によって理解されるように、結合される前駆体を創製するための異なる手法があり、例えば、リンカーを第１の前駆体ＸＴＥＮ－ペイロードに共役し、次いで、第２の反応を生じさせて第２のＸＴＥＮ－ペイロード前駆体の末端の反応基にその前駆体を接合させることである。代替として、ＸＴＥＮ末端の一方または双方は、次いで、クリック化学によって、または本明細書に記載されるか、もしくは例示される他の方法によって接合され得る前駆体として修飾されることができ、ＸＴＥＮの交差点を架橋するための残留原子をほとんど残さないか、または全く残さない。別の実施形態において、２つのＸＴＥＮ－ペイロード前駆体配列は、前駆体ＸＴＥＮ－ペイロード反応物の末端、またはその付近に導入されたシステインまたはチオール基を使用するジスルフィド架橋によって結合され、二価ＸＴＥＮ－ペイロード共役体をもたらす。そのような二価共役体の例示的な構成は以下の通りである。

【０４１９】

一実施形態において、本発明は、式Ｘ：

【０４２０】

【化２５】



X

【０４２１】

の構成を有する共役体を提供し、式中、独立して、各発生に対し、P_{R1}は、第１のペイ

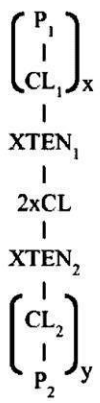
ロードの単一原子残基であり、この残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、P_{R2}は、第２のペイロードの単一原子残基であり、この残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、CL_1は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、CL_2は、CL_1とは異なる架橋剤であり、ｙは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であるが、但し、ｘ＋ｙ≧２を条件とし、２ｘＣＬは、代替として、二価架橋剤または表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物であり、$XTEN_1$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有するポリペプチドであり、$XTEN_2$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有するポリペプチドである。式Ｘの共役体の一実施形態において、CL_1およびCL_2は、それぞれ、表１３に記載される架橋剤の群から選択される。式Ｘの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、CL_1は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合される。式Ｘの共役体の別の実施形態において、CL_1は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。式Ｘの共役体の別の実施形態において、C_2は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。式Ｘの共役体の別の実施形態において、各CL_1は、$XTEN_1$のシステイン硫黄に結合され、各CL_2は、$XTEN_2$のシステイン硫黄に結合される。式Ｘの共役体の別の実施形態において、　各CL_1は、$XTEN_1$のリジンεアミノ基に結合され、各CL_2は、$XTEN_2$のリジンεアミノ基に結合される。式Ｘの共役体の別の実施形態において、各CL_1は、$XTEN_1$のシステイン硫黄に結合され、各CL_2は、$XTEN_2$のリジンεアミノ基に結合される。式Ｘの共役体の別の実施形態において、$XTEN_1$および$XTEN_2$は、同一である。式Ｘの共役体の別の実施形態において、$XTEN_1$および$XTEN_2$は、異なる。別の実施形態において、本発明は、式Ｘの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のＸＴＥＮ分子の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。

【０４２２】

別の実施形態において、本発明は、式ＸＩ：

【０４２３】

【化２６】



XI

【０４２４】

の構成を有する共役体を提供し、式中、独立して、各発生に対し、P_1は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードの群から選択される第１のペイロードであり、P_2は、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードの群から選択され、P_1とは異なる第１のペイロードであり、CL_1は、架橋剤であり、ｘは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であり、CL_2は、CL_1とは異なる架橋剤であり、ｙは、１～約１００、または１～約５０、または１～約４０、または１～約２０、または１～約１０、または１～約５の整数であるか、または９であるか、または３であるか、または２であるか、または１であるが、但し、ｘ＋ｙ≧２を条件とし、２ｘＣＬは、代替として、二価架橋剤、または表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物であり、$XTEN_1$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第１の実質的に均質なＸＴＥＮであり、$XTEN_2$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第１の実質的に均質なＸＴＥＮである。式ＸＩの共役体の一実施形態において、CL_1およびCL_2は、それぞれ、表１３に記載される架橋剤の群から選択される。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、ｘは１であり、CL_1は、ＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合される。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、CL_1は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、C_2は、表１５から選択される第１および第２のクリック化学反応物の反応産物である。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、各CL_1は、$XTEN_1$のシステイン硫黄に結合され、各CL_2は、$XTEN_2$のシステイン硫黄に結合される。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、各CL_1は、$XTEN_1$のリジンεアミノ基に結合され、各CL_2は、$XTEN_2$のリジンεアミノ基に結合される。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、各CL_1は、$XTEN_1$のシステイン硫黄に結合され、各CL_2は、$XTEN_2$のリジンεアミノ基に結合される。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、$XTEN_1$および$XTEN_2$は、同一である。式ＸＩの共役体の別の実施形態において、$XTEN_1$および$XTEN_2$は、異なる。一実施形態において、式ＸＩの共役体は、表２１に記載される共役体からなる群から選択される。別の実施形態において、本発明は、式ＸＩの共役体の調製物を提供し、この共役体の調製物のそれぞれ$XTEN_1$および$XTEN_2$分子

の少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％は、同一配列長を有する。

【０４２５】

他の実施形態において、本発明は、例えば、図２１～２３に示される、三量体構成を持つＸＴＥＮ－リンカーおよびＸＴＥＮ－リンカーペイロード共役体を提供する。

【０４２６】

本発明は、３つのＸＴＥＮ架橋剤共役体が三価リンカーにより結合され、三量体ＸＴＥＮ－架橋剤構成をもたらす、三量体共役体を提供する。一実施形態において、本発明は、式ＸＩＩ：

【０４２７】

【化２７】

$$(CL1)_x\text{-}(XTEN_1)\text{-}3xCL\text{-}(XTEN_2)\text{-}(CL2)_y$$
$$\qquad\qquad\qquad

ーによって結合され、例えば、図２１および９７～１０６に示される、三量体ＸＴＥＮ－ペイロード構成をもたらす三量体共役体を提供する。一実施形態において、本発明は、式ＸＩＩＩ：

【０４３０】

【化２８】

$$P_1\text{-}(CL1)_x\text{-}(XTEN_1)\text{-}3xCL\text{-}(XTEN_2)\text{-}(CL2)_y\text{-}P_2$$
$$\qquad\qquad\qquad

Ｅ）、モノメチルオーリスタチンＦ、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス外毒素、ＳＮ－３８、およびラケルマイシンからなる群から選択される。

【０４３２】

三量体ＸＴＥＮ共役組成物の別の実施形態において、組成物は、式ＸＩＶ：

【０４３３】

【化２９】

$$(CL1)_x\text{-}(XTEN_1)\text{-}3xCL\text{-}(XTEN_2)\text{-}(CL2)_y$$
$$\Big|$$
$$(XTEN_3) \qquad \text{XIV}$$

【０４３４】

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、３ｘＣＬは、三価架橋剤であり、ＣＬ１は、$XTEN_1$に共役された第１の架橋剤であり、ＣＬ２は、$XTEN_2$に共役された第２の架橋剤であり、ｘは、１～約１０の整数であり、ｙは、１～約１０の整数であるが、但し、ｘ＋ｙ≧２を条件とし、$XTEN_1$は、第１のＸＴＥＮであり、$XTEN_2$は、第２のＸＴＥＮであり、$XTEN_3$は、第３のＸＴＥＮであり、ＸＴＥＮは、表２に記載される配列からなる群から選択される。式ＸＩＶの三量体ＸＴＥＮ共役組成物の一実施形態において、組成物は、第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、をさらに含む。式ＸＩＶの三量体ＸＴＥＮ共役組成物の別の実施形態において、組成物は、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードと、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第２のＸＴＥＮの各第２の架橋剤に共役された第２のペイロードと、をさらに含み、このペイロードは、第１のペイロードと同じであるか、または異なる。前述の一実施形態において、第１のペイロードは、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的化部分であり、この標的化部分は、表１７～１９および２１に記載される標的化部分からなる群から選択され、第２のペイロードは、表６、表１８、および表２１に記載される薬物からなる群から選択される薬物である。前述の別の実施形態において、第１のペイロードは、ＬＨＲＨおよび葉酸塩からなる群から選択される標的化部分であり、第２のペイロードは、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、モノメチルオーリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、モノメチルオーリスタチンＦ、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス外毒素、ＳＮ－３８、およびラケルマイシンからなる群から選択される薬物である。前述の一実施形態において、第１のペイロードは、表１１の薬物および表１２のタンパク質からなる群から選択され、第２のペイロードが、第１のペイロードとは異なり、表１１の薬物および表１２のタンパク質からなる群から選択される。前述の別の実施形態において、第１のペイロードおよび第２のペイロードは、同一であり、表１１の薬物および表１２のタンパク質からなる群から選択される。三量体ＸＴＥＮ共役組成物の別の実施形態において、組成物は、式ＸＶ：

【０４３５】

【化３０】

$$(CL1)_x\text{-}(XTEN_1)\text{-}3xCL\text{-}(XTEN_2)$$
$$\Big|$$
$$(XTEN_3) \qquad \text{XV}$$

【０４３６】

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、３ｘＣＬは、三価架橋剤であり、ＣＬ１は、ＸＴＥＮ$_1$に共役された第１の架橋剤であり、ｘは、１～約１０の整数であり、ＸＴＥＮ$_1$は、第１のＸＴＥＮであり、このＸＴＥＮは、表３に記載される配列からなる群から選択され、ＸＴＥＮ$_2$は、第２のＸＴＥＮであり、このＸＴＥＮは、表２に記載される配列からなる群から選択され、ＸＴＥＮ$_3$は、第３のＸＴＥＮであり、このＸＴＥＮは、表２に記載される配列からなる群から選択される。式ＸＶとして構成された三量体ＸＴＥＮ共役組成物の一実施形態において、組成物は、第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードの単一原子残基をさらに含み、この残基は、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される。式ＸＶとして構成された三量体ＸＴＥＮ共役組成物の一実施形態において、組成物は、表６、７、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択される第１のＸＴＥＮの各第１の架橋剤に共役された第１のペイロードをさらに含む。

【０４３７】

三量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の別の実施形態において、各ＸＴＥＮ－ペイロードは、生物学的に活性なペプチドまたはポリペプチドを含む単量体融合タンパク質であり得、この融合タンパク質は、ＸＴＥＮのアミノ基またはチオール基において三価リンカーに結合される。三量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の別の実施形態において、各ＸＴＥＮ－ペイロードは、ＸＴＥＮに結合されたペイロードの共役体であり得、ＸＴＥＮに結合され、順にＸＴＥＮのＮ末端において三価リンカーに結合される、生物学的に活性なペプチドもしくはポリペプチド、または薬理学的に活性な小分子もしくは毒素であり得る。このパラグラフにおいて上記に記載される前述のＸＴＥＮ－リンカー－ペイロードの実施形態において、３つのペイロードは同一であり得るか、または異なり得る。三量体ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の一実施形態において、共役体は、少なくとも１つの生物学的に活性なタンパク質と、異なるＸＴＥＮに結合され、順に、ＸＴＥＮのＮ末端において三価リンカーに結合される、少なくとも１つの薬物とを含む。前述の構成の特定の実施形態において、少なくとも１つの生物学的に活性なタンパク質は、標的化部分であり、少なくとも１つの薬物は、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、モノメチルオーリスタチンＥ、モノメチルオーリスタチンＦ、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス外毒素、ＳＮ－３８、およびラケルマイシンが挙げられるが、これらに限定されない毒素である。ＸＴＥＮ中のチオールまたはεアミノ基の位置に応じて、ペイロードが、架橋されたＸＴＥＮの内部に存在するか（図２３Ｂに示される）、またはその末端に存在するか（図２３Ａに示される）を制御することができる。前述の実施形態において、例示的な非限定標的化部分としては、ＬＨＲＨ、葉酸塩、オクトレオチド、パシレオチド、ボンベシン、モノクローナル抗体、ｓｃＦＶ、セントリイン、ならびに表１７の抗体フラグメント、足場、および模倣体が挙げられる。そのような三量体共役体の例示的な構成は以下の通りである。

【０４３８】

本発明は、三量体構成を持つＸＴＥＮ－リンカーおよびＸＴＥＮ－リンカーペイロード共役体をさらに提供する。一実施形態において、本発明は、４つのＸＴＥＮ配列が、四価リンカーによって結合され、例えば、図２２Ｄに示される、四量体ＸＴＥＮ－架橋剤構成をもたらす共役体を提供する。四量体リンカーの非限定例としては、例えば、米国特許第７，５２４，８２１号に記載される四価－チオール、四価－Ｎ－マレイミドリンカー、または４つの反応基を持つ抗体もしくは抗体フラグメントが挙げられる。

【０４３９】

本発明は、４つのＸＴＥＮ架橋剤配列が四価リンカーにより結合され、四価ＸＴＥＮ－架橋剤構成をもたらす共役体を提供する。一実施形態において、本発明は、式ＸＶＩ：

【０４４０】

【化３１】

$$(CL_1)_v\text{-}(XTEN_1)\text{-}4xCL\text{-}(XTEN_2)\text{-}(CL_2)_x$$
$$\qquad\qquad\quad /\ \ \backslash$$
$$(CL_3)_y\text{-}(XTEN_3)\qquad (XTEN_4)\text{-}(CL_4)_z \qquad\qquad \text{XVI}$$

【０４４１】

の構成を有する四量体ＸＴＥＮ－架橋剤を提供し、式中、独立して、各発生時に、４ｘＣＬは、四価架橋剤であり、CL_1は、$XTEN_1$に共役された第１の架橋剤であり、CL_2は、$XTEN_2$に共役された第２の架橋剤であり、CL_3は、$XTEN_3$に共役された第３の架橋剤であり、CL_4は、$XTEN_4$に共役された第４の架橋剤であり、ｖは、１～約１０の整数であり、ｘは、１～約１０の整数であり、ｙは、１～約１０の整数であり、ｚは、１～約１０の整数であるが、但し、ｘ＋ｙ＋ｚ≧４を条件とし、$XTEN_1$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第１のＸＴＥＮであり、$XTEN_2$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第２のＸＴＥＮであり、　$XTEN_3$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第３のＸＴＥＮであり、$XTEN_1$、$XTEN_2$、および$XTEN_3$は、同じであるか、または異なるＸＴＥＮ配列であり、$XTEN_4$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第４のＸＴＥＮであり、$XTEN_1$、$XTEN_2$、$XTEN_3$、および$XTEN_4$は、同じであるか、または異なるＸＴＥＮ配列である。

【０４４２】

本発明は、４つのＸＴＥＮ－ペイロード前駆体配列が、四価リンカーによって結合され、例えば、図２２Ｃおよび１０５に示される、四量体ＸＴＥＮ－ペイロード構成をもたらす共役体を提供する。一実施形態において、本発明は、式ＸＶＩＩ：

【０４４３】

【化３２】

$$P_1\text{-}(CL_1)_v\text{-}(XTEN_1)\text{-}4xCL\text{-}(XTEN_2)\text{-}(CL_2)_x\text{-}P_2$$
$$\qquad\qquad\quad /\ \ \backslash$$
$$P_3\text{-}(CL_3)_y\text{-}(XTEN_3)\qquad (XTEN_4)\text{-}(CL_4)_z\text{-}P_4 \qquad\qquad \text{XVII}$$

【０４４４】

の構成を有する四量体ＸＴＥＮ－ペイロードを提供し、式中、独立して、各発生時に、４ｘＣＬは、四価架橋剤であり、P_1は、第１のＸＴＥＮの各架橋剤に共役され、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択され、Ｐ２は、第２のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第２のペイロードであり、表１１、１２、１８、およ

び２１に記載されるペイロードからなる群から選択され、このペイロードは、第１のペイロードと同じであるか、または異なり、P_3は、第３のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第３のペイロードであり、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択され、このペイロードは、第１または第２のペイロードと同じであるか、または異なり、P_4は、第４のＸＴＥＮの各架橋剤に共役された第４のペイロードであり、表１１、１２、１８、および２１に記載されるペイロードからなる群から選択され、このペイロードは、第１、第２、または第３のペイロードと同じであるか、または異なり、CL_1は、$XTEN_1$に共役された第１の架橋剤であり、CL_2は、$XTEN_2$に共役された第２の架橋剤であり、CL_3は、$XTEN_3$に共役された第３の架橋剤であり、CL_4は、$XTEN_4$に共役された第４の架橋剤であり、ｖは、１～約１０の整数であり、ｘは、１～約１０の整数であり、ｙは、１～約１０の整数であり、ｚは、１～約１０の整数であるが、但し、$x+y+z \geq 4$を条件とし、$XTEN_1$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第１のＸＴＥＮであり、$XTEN_2$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第２のＸＴＥＮであり、$XTEN_3$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第３のＸＴＥＮであり、$XTEN_1$、$XTEN_2$、および$XTEN_3$は、同じであるか、または異なるＸＴＥＮ配列であり、$XTEN_4$は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する第４のＸＴＥＮであり、$XTEN_1$、$XTEN_2$、$XTEN_3$、および$XTEN_4$は、同じであるか、または異なるＸＴＥＮ配列である。

【０４４５】

四価ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の別の実施形態において、各ＸＴＥＮ－ペイロードは、生物学的に活性なペプチドまたはポリペプチドを含む単量体融合タンパク質であり得、この融合タンパク質は、ＸＴＥＮのアミノ基またはチオール基において四価リンカーに結合される。四価ＸＴＥＮ－ペイロード共役体の別の実施形態において、各ＸＴＥＮ－ペイロードは、ペイロードの共役体であり得、ＸＴＥＮに結合され、順にＸＴＥＮのＮ末端によって四価リンカーに結合される、生物学的に活性なペプチドもしくはポリペプチド、または薬理学的に活性な小分子もしくは毒素であり得る。このパラグラフにおいて上記に記載される前述のＸＴＥＮ－リンカー－ペイロードの実施形態において、４つのペイロードは同一であり得るか、または異なり得る。前述の構成の特定の実施形態において、少なくとも１つの生物学的に活性なタンパク質は、標的化部分であり、少なくとも１つの薬物は、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ビンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシンＣ、エポチロン、ｈＴＮＦ、Ｉ１－１２、ボルテゾミブ、ランピルナーゼ、スードモナス外毒素、ＳＮ－３８、およびラケルマイシンが挙げられるが、これらに限定されない毒素である。ＸＴＥＮ中

のチオールまたはεアミノ基の位置に応じて、ペイロードが、架橋されたＸＴＥＮの内部に存在するか、またはその末端に存在するかを制御することができる。

４．　４つ以上のＸＴＥＮ－ペイロードを持つ多価構成

表３のＸＴＥＮを使用するとき、組成物は、システインまたはリジン操作された骨格に結合され、「くし形」多価構成をもたらすか、または図７に示されるように、複数の分岐前駆体を結合して「デンドリマー」構成を製造する、４つ以上のＸＴＥＮ－ペイロード分子を含有することが企図される。一実施形態において、多価構成共役体は、システインまたはリジン操作されたＸＴＥＮを、システインまたはリジン操作されたＸＴＥＮとの反応（図２４に例示される）に適切なリンカーを含むＸＴＥＮ－ペイロードと反応させることによって創製され、最終産物をもたらす。別の実施形態において、多価構成共役体は、システインまたはリジン操作されたＸＴＥＮを、システインまたはリジン操作されたＸＴＥＮに結合されたリンカーとの反応に適切な第１級もしくはεアミノ基またはシステインを含むＸＴＥＮ－ペイロードを持つリンカーと反応させることによって創製され、最終産物をもたらす。これらの実施形態において、最終産物の原子価は、反応性アミノ酸またはリンカーにかかわらず、ＸＴＥＮに組み込まれた反応基の数によって制御される。さらに、最終産物は、そのリガンドとの相互作用を改善するＸＴＥＮ末端の近く、または分岐点の近くのいずれかにペイロードを配置して、ペイロードを遮断し、リガンドとの相互作用の程度を低減するように設計できることが企図される。

５．　単量体ＸＴＥＮ骨格上の二重特異性ペイロード構成

別の態様において、本発明は、図２７Ａに示されるように、単一のシステインおよびリジン操作されたＸＴＥＮ骨格に結合され、二価共役体をもたらす、２つの異なるペイロード分子を含有する共役体を提供する。一実施形態において、二価構成共役体は、表３に具体的に提供されるもの等の操作されたＸＴＥＮを、システイン操作されたＸＴＥＮとの反応に適切なリンカーを含む第１のＸＴＥＮ－ペイロードと反応させることに続いて、リジン操作されたＸＴＥＮとの反応に適切なリンカーを含む第２のＸＴＥＮ－ペイロードとの第２の反応によって創製され、最終産物をもたらす。ペイロードの数および位置は、決定的な反応性チオールまたはアミノ基の配置とともに、操作されたＸＴＥＮの設計により制御される。一実施形態において、二価共役体は、第１のペイロードの単一分子と、リンカーによってシステイン－リジン操作されたＸＴＥＮに結合された第２のペイロードの単一分子と、を含む。別の実施形態において、二価共役体は、第１のペイロードの１個、または２個、または３個、または４個、または５個の分子と、リンカーによってシステイン－リジン操作されたＸＴＥＮに結合された第２のペイロードの単一分子と、を含む。別の実施形態において、二価共役体は、第１のペイロードの１個、または２個、または３個、または４個、または５個の分子と、リンカーによってシステイン－リジン操作されたＸＴＥＮに結合された第２のペイロードの１個、または２個、または３個、または４個、または５個の分子と、を含む。

【０４４６】

別の実施形態において、二価構成共役体は、表３もの等のシステインおよびリジン操作されたＸＴＥＮを、システイン操作されたＸＴＥＮとの反応に適切な第１のリンカーと反応させることに続いて、リジン操作されたＸＴＥＮとの反応に適切なリンカーとの第２の反応によって、次いで第１のペイロードを有するＸＴＥＮ－架橋剤骨格を、第１のリンカーと反応することができるチオール反応基と反応させることに続いて、第２の架橋剤と反応することができるアミノ基との第２のペイロードの反応によって創製され、最終産物をもたらす。

６．　スペーサーおよび遊離基を持つＸＴＥＮ－架橋剤およびＸＴＥＮ－ペイロード共役体

別の態様において、本発明は、組成物の官能性または特性を組み込むか、もしくは強化するように、または組成物の組立てもしくは製造の補助として設計される、ＸＴＥＮに組み込まれるか、またはそれに隣接した１つ以上のスペーサーとともに構成されたＸＴＥＮ－架橋剤およびＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供する。そのような特性としては、限定されないが、ペイロードの放出を許す、タンパク質分解的に切断されることができる配列

、または不安定な官能基の包含が挙げられるか、またはスペーサーをＸＴＥＮ配列とペイロード成分との間に導入し、ペイロード成分が、その標的リガンドと適切に相互作用し得るように、立体障害を減少させることができる。

【０４４７】

一実施形態において、１つ以上のスペーサーは、対象の共役体のリンカーに組み込まれる。スペーサーおよび望ましいスペーサーを特定する方法については、例えば、Ｇｅｏｒｇｅ，ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ １５：８７１－８７９を参照されたい（参照により本明細書に具体的に組み込まれる）。一実施形態において、スペーサーは、１～５０アミノ酸残基の長さ、または約１～２５残基、または約１～１０残基の長さである１つ以上のペプチド配列を含む。スペーサー配列は、切断部位を除いて、２０個の天然Ｌアミノ酸のうちのいずれかを含むことができ、好ましくは、残基の大半が立体的に障害されていない親水性アミノ酸であるというＸＴＥＮ様特性を有する。このスペーサーは、ポリグリシンもしくはポリアラニンであり得るか、または主にグリシン、セリン、およびアラニン残基の組合せの混合物である。一実施形態において、スペーサー配列は、表１５からの配列である。別の実施形態において、スペーサー配列は、ＧＰＥＧＰＳである。

【０４４８】

さらに、スペーサー配列は、Ｔ細胞エピトープの導入を回避するように設計され、これは、スペーサーにおいて利用される疎水性アミノ酸を回避するか、またはその数を限定することによって部分的に達成されることができ、エピトープの決定は、上記および実施例に記載される。

【０４４９】

一実施形態において、スペーサーは、共役体からのペイロードの放出を許す放出基を含む。別の実施形態において、架橋剤は、共役体からのペイロードの放出を許す放出基を含む。放出基は、そのような放出可能な付着を提供する任意の不安定な基であり得る。一実施形態において、放出基は、化学的に切断可能な結合または不安定な化学結合である。そのような結合は、典型的に、当業者に周知の方法によって、例えば、酸、塩基、酸化、還元、移動、または排除によって切断されてよい。特定の実施形態において、化学的に切断可能な結合は、修飾塩基、修飾糖、ジスルフィド結合、架橋剤またはスペーサーに組み込まれた化学的に切断可能な基を含む。これらの結合のいくつかの例は、ＰＣＴ第ＷＯ９６／３７６３０号および米国特許第７，１３２，５１９号に記載されている（参照により本明細書に組み込まれる）。本発明に包含される放出基は、酵素によって切断可能な基または結合も含む。酵素的に切断可能な放出基は、ホスホジエステルまたはアミド結合、ならびに制限エンドヌクレアーゼ認識部位を含む。一実施形態において、本発明は、１つ以上のペイロードを含む組成物を提供し、バリン－シトルリンの切断可能なリンカーは、ペイロードとＸＴＥＮとの間にあり、組成物が細胞内、例えば、腫瘍細胞内に内在化されるときに、カテプシンによる切断を許す。別の実施形態において、放出基は、ヌクレアーゼによって切断可能である。これらのヌクレアーゼは、典型的に、エキソヌクレアーゼまたは制限エンドヌクレアーゼであってよい。典型的なエキソヌクレアーゼとしては、二本鎖および一本鎖ポリ核酸双方に特異的なエキソヌクレアーゼが挙げられる。さらに、ある実施形態によって包含される制限エンドヌクレアーゼとしては、ＩＩＳ型およびＩＩ型制限エンドヌクレアーゼが挙げられる。他の実施形態において、放出基は、プロテアーゼによって切断可能な配列であってもよく、この配列は、表９に記載される配列から選択される。本発明の組成物に含めるのに適した配列に作用する典型的なプロテアーゼとしては、表９のプロテイナーゼを含む、エンドプロテイナーゼが挙げられる。

７．　ＸＴＥＮ－ペイロード構成のライブラリー

別の態様において、本発明は、ＸＴＥＮ－ペイロード前駆体のライブラリー、そのライブラリーを作製する方法、および図３４～３５に示されるように、ペイロードの最適な組合せならびに最適な比率を達成するために、ライブラリー前駆体を組合せ手法で合わせる方法を提供する。一実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮ－ペイロード前駆体のライブ

ラリーを創製するように、本明細書に記載されるものを含む、所与のペイロードの１個、または２個、または３個、または４個、または５個、または６個、または７個、または８個、または９個、または１０個、あるいはそれ以上の分子にそれぞれ結合された個別のＸＴＥＮライブラリーを提供する。この方法において、結合される一連のＸＴＥＮ－ペイロード前駆体は、リンカーにさらに共役され、次いで、共役を生じさせる条件下でリンカーと反応することができる他のＸＴＥＮ－ペイロード前駆体と後次に混合および反応し、ＸＴＥＮに結合されたペイロードの様々な順列および比率のライブラリーをもたらす。次いで、そのようなライブラリーは、最適な応答を提供する組成物を決定するために、所与の臨床適応（例えば、癌、代謝性障害、糖尿病）におけるパラメータを評価するために適したインビトロまたはインビボアッセイにおいてスクリーニングされる。例示的な一実施形態において、ペイロード前駆体の１つのカテゴリーは、表２０の腫瘍関連抗原に対し結合親和性を持つ、ペプチド（例えば、表１７の標的化部分）等の様々な標的分子を含み、前駆体の第２のカテゴリーは、細胞毒性薬または表９から選択される薬物等の１つ以上の薬物である。結合される前駆体の各カテゴリーは、リンカーにさらに共役され、図３６に示されるように、共役を生じさせる条件下でリンカーと反応することができる他のＸＴＥＮ－ペイロード前駆体と後次に混合および反応し、互いに異なる比率の様々な標的化部分および薬物順列のライブラリーをもたらす。ＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、１つのペイロード：別のペイロードの固定比を許すように設計され、例えば、２つの異なるペイロードの場合、１：１、または１：１．５、または１：２、または１：３、または２：３、または１：４、または１：５、または１：９である。同様の比率範囲は、３つ、４つ、５つ、またはそれ以上のペイロードを含むライブラリー共役体に適用される。

【０４５０】

他の実施形態において、ライブラリーは、共通の疾患の処置において有益な効果を有することが知られている３つ以上のペイロードを使用して構築される。一実施形態において、ライブラリーは、ＸＴＥＮに結合されたペイロードを含み、各ペイロードは、共通の疾患を改善するために生物学的に有効な薬物である。別の実施形態において、ライブラリーは、ＸＴＥＮに結合されたペイロードを含み、各薬物または生物製剤は、共通の疾患の異なる症状を処置するために有効である。別の実施形態において、ライブラリーは、ＸＴＥＮに結合されたペイロードを含み，各薬物または生物製剤は、共通の生物学的経路を介してそれらの治療効果を媒介する。ライブラリーの前述の実施形態において、共通の疾患は、癌、癌の支持療法、心血管、中枢神経系、内分泌疾患、消化管、血液学的、ＨＩＶ感染、ホルモン系、炎症、自己免疫疾患、感染症、代謝疾患、筋骨格系疾患、腎臓学的障害、眼科疾患、疼痛、および呼吸器から選択される。さらなる特殊性に応じて、ライブラリーが有益な効果を有することが知られているペイロードで構築される疾患は、表１６から選択される。そのような疾患の処置または予防における使用に適したペイロードは、本明細書に記載されるものを含むか（例えば、表１１、１２、１８、および２１のペイロード）、または一般にアクセス可能なデータベースにおいて見出され得るか、そうでなければ当業者に既知である。

【０４５１】

【表１６－１】

【表１６】　ペイロードが示される疾患

疾患		
軟骨形成不全	糖尿病性腎症	粘膜炎
末端肥大症	糖尿病性神経障害	多発性硬化症
AIDS	診断	筋ジストロフィー
アルツハイマー病	摂食障害	筋骨格系
貧血	骨髄性プロトポルフィリア	心筋梗塞／虚血
関節炎	消化器障害	好中球減少症
喘息	痛風	肥満

【０４５２】

【表１６－２】

疾患		
アテローム性動脈硬化症	成長ホルモン欠損症	変形性関節炎
自閉症	血友病	骨粗鬆症
自己免疫疾患	Ｂ型肝炎	疼痛
バッテン病	Ｃ型肝炎	パーキンソン病
骨／軟骨修復	遺伝性気腫	発作性夜間ヘモグロビン尿症
悪質液	HIV	フェニルケトン尿症
癌（全種）	高脂血症／脂質異常症	乾癬
心血管疾患	副甲状腺機能亢進症	肺動脈高血圧
化学療法起因性疾患	高血圧	肺高血圧
慢性腎疾患起因性合併症	低血糖症	放射線治療起因性疾患
凝固障害	副甲状腺機能低下症	敗血症
大腸炎	甲状腺機能低下症	性的不全
先天性インスリン過剰症	感染症	短腸症候群
鬱血性心不全	不妊症	脳卒中
COPD	炎症性疾患	血小板減少症
クローン病	リポジストロフィー	甲状腺疾患
嚢胞性線維症	リンパ球減少	移植
糖尿病 糖尿病起因性合併症	黄斑変性 代謝状態	ウイルス感染

【０４５３】

一実施形態において、図３７に示されるように、二重特異性共役体は、切断可能または不安定なリンカーによってＸＴＥＮに結合された薬物モジュールを有し、このリンカーは、対象への投与後（標的分子によって標的細胞における細胞内内在化時を含む）に切断され得るか、または解離し得る。別の実施形態において、薬物は、非切断可能なリンカーによってＸＴＥＮに結合されるが、共役体は、依然として分解の影響を受け易い。内在化すると、ＸＴＥＮはプロテアーゼによって切断され、そのリンカーに接続された薬物は遊離され、細胞毒性をもたらす。

【０４５４】

例示的な一実施形態において、標的分子は、ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ、ＧｎＲＨ、およびゴナンドトロピン放出ホルモンとして知られる）を黄体化し、薬物はドキソルビシンであり、ＬＨＲＨ：ドキソルビシンの比率は、１：１、または１：１．５、または１：２、または１：３、または１：９、または２：３、または３：１、または３：２、または２：１、または１．５：１である。共役体は、ＸＴＥＮ前駆体から開始して生成することができる。１つのＸＴＥＮ前駆体は、１、２、またはそれ以上の薬物分子、および反応性架橋剤、またはクリック化学反応物、または反応性アミノ酸を担持することができる。第２のＸＴＥＮ前駆体は、標的するための１、２、またはそれ以上のＬＨＲＨドメイン、および反応性架橋剤、またはクリック化学反応物、または反応性アミノ酸を担持する。次いで、前駆体セグメントの双方は、それぞれのＸＴＥＮの反応基間の反応によって接合される。例示的な一実施形態において、反応基は、架橋剤を介して第１のＸＴＥＮセグメントのＮ末端に共役されるアジドであり、第２のＸＴＥＮの反応基は、架橋剤を介して第２のＸＴＥＮセグメントのＮ末端に共役されるアルキンである。ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の別の実施形態において、薬物は、メイタンシンである。ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の別の実施形態において、薬物は、オーリスタチンである。

８．　標的化部分に結合されたＸＴＥＮ－ペイロードの共役体

別の態様において、本発明は、標的化部分に結合された１つ以上のＸＴＥＮ－ペイロード組成物を含む、共役組成物を提供する。対象の標的組成物は、細胞、組織、または器官への治療的または毒性ペイロードの選択的送達が所望される、多様な状態の処置における

使用を見出す。本発明は、抗体、抗体フラグメント、および抗体模倣体を含む（限定されないが、表１７に記載されるものを含む）、対象の組成物における使用のための他用な標的化部分、ならびに疾患または代謝性もしくは生理学的異常と関連付けられたリガンドまたは受容体を結合することができるペプチドおよび小分子を企図する。一実施形態において、本発明は、少なくとも１つのＸＴＥＮに結合された表１７、１８、または２１からの少なくとも１つの標的化部分を含む共役体を提供する。別の実施形態において、本発明は、少なくとも２つ、または３つ、または４つのＸＴＥＮのそれぞれに結合された表１７、１８、または２１からの少なくとも１つの標的化部分を含む共役体を提供する。別の実施形態において、本発明は、少なくとも１つのＸＴＥＮに結合された表１７、１８、または２１からの少なくとも１つの標的化部分と、少なくとも１つのＸＴＥＮに結合された表１１、表１２、表１８、または表２１に記載されるペイロードからなる群から選択される少なくとも１つの薬物または生物学的ペイロードと、を含む共役体を提供する。一実施形態において、本発明は、標的化部分－ＸＴＥＮ－薬物共役組成物を提供し、この組成物は、標的細胞上のリガンドまたは受容体に選択的に送達され、次いで、図３７に示されるように、細胞の中に内在化されることができ、薬物成分に対し、当該技術分野において既知の薬理学的効果をもたらす。

【０４５５】

図２１～２４、および２８～３２に示されるように、そのような共役組成物は、異なる原子価を有することができ、１つ以上の標的抗体または標的化部分に結合された１、２、３、または４、あるいはそれ以上のＸＴＥＮ－ペイロード分子を持つ。抗体標的化部分の場合、一実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロードは、架橋剤によって、抗体のヒンジ領域内のシステインに結合される。別の実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロードは、ジスルフィド架橋によって、抗体のヒンジ領域内のシステインに結合される。したがって、抗体－ＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、抗体、抗体フラグメント、または模倣体に結合された１、２、３、または４、あるいはそれ以上のＸＴＥＮ－ペイロードセグメントを含むことができる。別の実施形態において、ＸＴＥＮは、ヒンジ領域の外側で（システインを抗体に挿入して共役部位を制御することを含む）、または既存のリジン側鎖への共役によって共役される。抗体共役体を創製するためのＸＴＥＮ－ペイロードの結合は、ａ）ＸＴＥＮペイロードが切断可能なリンカーとして機能する、ｂ）可溶性を提供する、ｃ）ＩｇＧ当たりの薬物負荷の比率を設定できるようにする、およびｄ）製造を簡素化するためにＸＴＥＮを薬物と事前共役することができるという、多くの利点を有する。

【０４５６】

【表１７－１】

【表１７】　標的化部分：抗体フラグメント、足場、および模倣体

標的化部分
ABDURINS
AdNectins/フィブロネクチン III 型ドメイン
Adnexins/フィブロネクチン
Affibodies/タンパク質 Z
Affilins
AFFINILUTE
AFFINIMIP
AFIM
アンチカリン(Anticalins) /リポカリン
Aptabody
アプタマー
アルマジルロリピートタンパク質
アヴィメール(Avimers)
Azymetric
二重特異性抗体
BiTEs
二重特異性抗体
センチリン(Centyrins)
DARPins/アンキリンリピートタンパク質
ダイアボディ
ドメイン抗体/dAbs/ヒト Vh

【０４５７】

【表１７－２】

標的化部分
操作された親和性タンパク質
Evibodies
Fabs
Fv
フィノマー(Fynomers)
グルボディ(Glubody)
Im7/ColE7 免疫タンパク質
iMabs
Knottin/システインノットミニタンパク質
Kunitz ドメイン
マキシボディ(Maxibodies)
マイクロボディ(Microbodies)
ミニボディ(Minibodies)
分子インプリントポリマー(MIPs)
モノボディ(Monobodies)
モノクローナル T 細胞受容体(mTCR)
モノレックス(MonoLex)
ナノボディ(Nanobodies)
ナノフィチン(Nanofitins)
フィロマー(Phylomers)
Shark Vhh
SMIPs
SOMAmers
安定した scFV
シュピーゲルマー(Spiegelmers)
シンボディ(Synbodies)
TandAbs(登録商標)
テレボディ(Telobodies)
テトラボディ(Tetrabodies)
テトラネクチン(Tetranectins)
四価二重特異性抗体
トランスボディ(Trans-body)
トリアボディ(Triabodies)

【０４５８】

いくつかの実施形態において、本発明は、標的化成分を第１のペイロードとして、毒素を第２のペイロードとして含む共役体を提供し、各ペイロード型の１つ以上のコピーが組成物のＸＴＥＮに結合される。前述の変化形において、共役体は、任意に、不安定なリンカーまたは切断可能なリンカーを用いてＸＴＥＮに結合された毒素を有することができ、標的に送達されるか、または標的内に内在化されるときに、毒素が遊離されるようにする。前述の別の変化形において、標的化成分は、リンカーを用いて抗体に共役された（例えば、図２８～２９に示されるヒンジ領域内のシステインに共役された）１、２、３、または４つのＸＴＥＮ－ペイロード組成物を持つ、抗体または抗体フラグメントであり、限定されないが、腫瘍および他の癌の様々な処置等の臨床適応の標的治療における使用のための共役体を提供し、抗体は標的化成分を提供し、ＸＴＥＮ－ペイロードは、意図された活性（例えば、腫瘍細胞中の細胞毒性）を生じさせる。したがって、本発明の共役体は、免疫共役体の一種である。標的共役体は、抗体、もしくは抗体模倣体に由来する標的化成分を用いて設計することができるか、または疾患細胞もしくは器官と関連付けられたリガンドを結合するペプチドもしくは小分子である。抗体フラグメント、足場、および模倣体のカテゴリーの非限定例は、表１７に提供される。特定の標的化成分、それらが配向される標的、および本発明の共役体においてペイロードとして利用され得る毒素の非限定例は、

表１８に提供される。本開示の標的共役組成物は、表１８の毒素のいずれかの１つ以上、または表１１もしくは表１２に提供されるペイロードと併用され得る、任意の所与の標的化成分の組成物を含むことが特に企図される。ＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、同一であり得るか、または異なり得る２つ以上の標的化成分を含むことができることがさらに企図される。そのような共役体は、限定されないが、表１５に記載されるもの等の状態の処置において使用できることが企図される。

【０４５９】

【表１８－１】

【表１８】　例示的な標的化部分、毒素ペイロード、および共役組成物が配向され得る標的

クラス	標的	標的化部分	毒素
ペプチド	LHRHR	LHRH & 類似体（例えば、D-Lys-(6)-LHRH）	ドキソルビシン パクリタキセル オーリスタチン（例えば、モノメチルオーリスタチンE；モノメチルオーリスタチンF） メイタンシン（例えば、メイタ
	CD13，アミノペプチダーゼ	NGRクラス（例えば、CNGRC，CNGRCG，GNGRG，KNGRE，(GNGRG)2KGK，CVLNGRMEC，NGRAHA，CNGRCVSGCAGRC）	
	葉酸塩受容体	葉酸塩 & 類似体（例えば、γ-葉酸塩，α-葉酸塩；プテロアート-gly）	

【０４６０】

【表１８－２】

クラス	標的	標的化部分	毒素
	インテグリン	シレンジタイド; RGD-4C; iRGD	ンシノイドDM1; メイタンシノイドDM4) ドラスタチンカリケアマイシンビンカアルカロイド（例えば、デスアセチルビンブラスチンモノヒドラジド) カンプトテシンミトマイシンC エポチロン hTNF IL-12 ボルテゾミブ ランピルナーゼ スードモナス外毒素 SN-38 ラケルマイシン m-TOR阻害剤 ラパマイシン ツブリシン（ツブリシンB; ツブリシンM) デュオカルマイシン
	LRP受容体	Angiopep-2	
	ソマトスタチン受容体	ソマトスタチン & 類似体（例えば、オクトレオチド; パシレオチド; ランレオチド; パプレオチド, JF-07-69)	
	ヌクレオリン	F3ペプチド	
	PDGFR-β	RGR	
	LyP-1受容体	LyP-1; CGNKRTRGC	
	コンドロイチン硫酸プロテオグリカン NG2	TAASGVRSMH; LTLRWVGLMS	
	VPAC1およびVPAC2	血管作用性腸ペプチド	
	CCK1およびCCK2	コレシストキニン	
	ガストリン受容体, CCK1 & CCK2	ガストリン	
	GRP受容体亜型	ガストリン放出ペプチド	
	ニューロテンシン受容体	ニューロテンシン	
	α-MSH受容体	α-メラニン細胞刺激ホルモン	
	オキシトシン受容体	オキシトシン	
	リンパ管	LyP-2; CNRRTKAGC	
	リンパ管	LSD; CLSDGKRKC	
	リンパ管	REA; CREAGRKAC	
	リンパ管	AGR, CAGRRSAYC	
	周皮細胞 & 内皮細胞	RSR; CRSRKG	
	周皮細胞 & 内皮細胞	KAA; CKAAKNK	
	血管	CSRPRRSEC	
	血管新生血管 & 腫瘍細胞	KRK; CGKRK	
	血管新生血管	CDTRL	
	血管新生血管 & 腫瘍細胞	CGTKRKC	
タンパク質	DR4, DR5	TRAIL	
抗体様足場	様々な	DARPINS	

【０４６１】

【表１８－３】

クラス	標的	標的化部分	毒素
	様々な	センチリン（Centyrins）	
抗体	Lewis-Y関連抗原	Br96；抗Lewis-Y関連抗原抗体	
	HER2	トラスツズマブ；ペルツズマブ；抗HER2抗体	
	EGFR	セツキシマブ；抗EGFR抗体	
	ネクチン-4	抗ネクチン-4抗体	
	CanAg（ムチン型糖タンパク質）	huC242，抗CanAg抗体	
	CD138	抗CD138抗体	
	CD19	MDX-1342；MOR-208；HuB4；抗CD19抗体	
	CD22	エプラツズマブ；ベクツモマブ；イノツズマブ；モキセツモマブ；RFB4；抗CD22抗体	
	CD23	ルミリキシマブ，抗CD23抗体	
	CD25（IL-2受容体）	ダクリズマブ，抗CD25抗体	
	CD30	Xmab2513；cAC10；MDX-060；抗CD30抗体	
	CD33	ゲムツズマブ；HuM195；huMy9-6；抗CD33抗体	
	CD38	ダラツムマブ，抗CD38抗体	
	CD40	SGN-40；HCD122；抗CD40抗体	
	CD56	huN901；抗CD56抗体	
	CD70	MDX-1411；抗CD70抗体	
	CD74	ミラツズマブ；抗CD74抗体	
	CD79b	抗CD79b抗体	

【０４６２】

【表１８－４】

クラス	標的	標的化部分	毒素
	CD80	ガリキシマブ；抗 CD80 抗体	
	癌胎児性抗原（CEA）	ラペツズマブ，hCOL-1 抗 CEA 抗体	
	クリプト	抗クリプト抗体	
	cMET	CE-355621，DN30，MetMAb；アンタゴニスト抗 cMET 抗体	
	EpCAM	アデカツムマブ；エドレコロマブ；カツマキソマブ；抗 EpCAM 抗体	
	EphA2	1C1，抗 EphA2 抗体	
	GPNMB（ヒト糖タンパク質 NMB（オステオアクチビン））	グレムバツムマブ，抗 GPNMB 抗体	
	インテグリン	抗インテグリン抗体	
	MUC-1（エピトープ CA6）	抗 MUC-1 抗体	
	PSMA	MDX-070，MLN591，抗 PSMA 抗体	
	TGFa	抗 TGFa 抗体	
	TIM1	抗 TIM1 抗体	
	葉酸塩受容体 1	M9346A，ファルレツズマブ，抗葉酸塩受容体抗体	
	IL-13 受容体	抗 IL-13 受容体抗体	

【０４６３】

特定の実施形態において、本発明は、表１９から選択される１つ以上のＬＨＲＨ標的化成分と、表１１から選択される１つ以上の薬物成分と、を含むＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供する。前述の実施形態において、ＬＨＲＨは、１つのＸＴＥＮセグメントに結合され得、順に、薬物成分が共役される１つ以上のＸＴＥＮセグメントに結合される。代替として、ＬＨＲＨおよび薬物成分は、単量体ＸＴＥＮに共役され得る。さらに、薬物成分は、任意に、薬物が、対象への投与後に共役体から遊離されるのを許す不安定なリンカーまたは切断可能なリンカーを使用して、ＸＴＥＮに結合され得る。

【０４６４】

【表１９】

【表１９】　例示的なＬＨＲＨ

組成物
pGlu-HWSYGLRPG-NH2
pGlu-HWSY[D-Lys]LRPG-NH2
pGlu-HWSY[D-Trp]LRPG-NH2
pGlu-HWSY[D-Leu]LRP-NHEt
pGlu-HWSY[D-Ser(tBu)]LRP-NHEt
pGlu-HWSY[D-2-Nal]LRPG-NH2
pGlu-HWSY[D-His(Bzl)]LRP-NHEt
pGlu-HWSY[D-Ser(tBu)]LRP-Azagly-NH2
pGlu-HWSY[D-Trp]LRP-NHEt
pGlu-HWSHDWLPG-NH2

【０４６５】

ＸＴＥＮ－ペイロード共役体が配向され得ることが企図される追加の標的としては、表２０に列挙される腫瘍関連抗原が挙げられる。一実施形態において、本発明は、表２０の

１つ以上の標的を結合することができる１つ以上の標的化成分を含む、ＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供する。

【０４６６】

【表２０－１】

【表２０】　腫瘍関連抗原標的

TAA 標的（同義語）	登録番号および参照文献
Her2（ErbB2）	GenBank 登録番号 M11730；U.S. Pat. No. 5,869,445；WO2004048938；WO2004027049；WO2004009622；WO2003081210；WO2003089904；WO2003016475；US2003118592；WO2003008537；WO2003055439；WO2003025228；WO200222636；WO200212341；WO200213847；WO200214503；WO200153463；WO200141787；WO200044899；WO200020579；WO9630514；EP1439393；WO2004043361；WO2004022709；WO200100244
BMPR1B（骨形成タンパク質受容体-IB型）	GenBank 登録番号 NM_001203；WO2004063362；WO2003042661；US 2003134790；WO2002102235；WO2003055443；WO200299122；WO2003029421；WO2003024392；WO200298358；WO200254940；WO200259377；WO200230268
E16（LAT1，SLC7A5）	GenBank 登録番号 NM_003486)；WO2004048938；WO2004032842；WO2003042661；WO2003016475；WO200278524；WO200299074；WO200286443；WO2003003906；WO200264798；WO200014228；US2003224454；WO2003025138
STEAP1（前立腺の６つの膜貫通上皮	GenBank 登録番号 NM_012449；WO2004065577；

【０４６７】

【表２０－２】

TAA 標的（同義語）	登録番号および参照文献
抗原）	WO2004027049; EP1394274; WO2004016225; WO2003042661; US2003157089; US2003185830; US2003064397; WO200289747618; WO2003022995
STEAP2（前立腺２の６つの膜貫通上皮抗原）	GenBank 登録番号 AF455138; WO2003087306; US2003064397; WO200272596; WO200172962; WO2003104270; WO2003104270; US2004005598; WO2003042661; US2003060612; WO200226822; WO200216429
CA125/0772P（MUC16）	GenBank 登録番号 AF361486; WO2004045553; WO200292836; WO200283866; US2003124140
巨核球促進因子（MPF，メソテリン）	GenBank 登録番号 NM _ 005823; WO2003101283; WO2002102235; WO2002101075; WO200271928; WO9410312
Na/Pi 共輸送体 IIb 型（NaPi3b）	GenBank 登録番号 NM _ 006424; WO2004022778; EP1394274; WO2002102235; EP875569; WO200157188; WO2004032842; WO200175177
セマフォリン 5b（SEMA5B，SEMAG）	GenBank 登録番号 AB040878; WO2004000997; WO2003003984; WO200206339; WO200188133; WO2003054152; WO2003101400
前立腺癌幹細胞抗原（PSCA hlg）	GenBank 登録番号 AY358628; US2003129192; US2004044180; US2004044179; US2003096961; US2003232056; WO2003105758; US2003206918; EP1347046; WO2003025148
ETBR（エンドセリン B 型受容体）	GenBank 登録番号 AY275463; WO2004045516; WO2004048938; WO2004040000; WO2003087768; WO2003016475; WO2003016475; WO200261087; WO2003016494; WO2003025138; WO200198351; EP522868; WO200177172; US2003109676; U.S. Pat. No. 6,518,404; U.S. Pat. No. 5,773,223; WO2004001004
TRPV4（一過性受容器電位カチオンチャネル，サブファミリーV）	US Pat App No. 20090208514
CDC45L	GenBank 登録番号 AJ223728; US Pat App No. 20090208514
CRIPTO（CR，CR1，CRGF）	GenBank 登録番号 NP _ 003203 または NM _ 003212; US2003224411; WO2003083041; WO2003034984; WO200288170; WO2003024392; WO200216413; WO200222808; U.S. 5,854,399; U.S. Pat. No. 5,792,616
CD21（CR2（補体受容体 2）または	GenBank 登録番号 M26004; WO2004045520; US2004005538;

【０４６８】

【表２０－３】

TAA 標的（同義語）	登録番号および参照文献
C3DR（C3d/エプスタインバーウイルス受容体）	WO2003062401；WO2004045520；WO9102536；WO2004020595
CD79b（CD79B，CD79β，IGb（免疫グロブリン関連 β），B29）	GenBank 登録番号 NM _ 000626 または 11038674；WO2004016225；WO2003087768；US2004101874；WO2003062401；WO200278524；US2002150573；U.S. Pat. No. 5,644,033；WO2003048202；WO 99/558658，U.S. Pat. No. 6,534,482；WO200055351
FcRH2（IFGP4，IRTA4，SPAP1A（SH2ドメイン含有ホスファターゼアンカータンパク質 1a），SPAP1B，SPAP1C）	GenBank 登録番号 NM _ 030764，AY358130；WO2004016225；WO2003077836；WO200138490；WO2003097803；WO2003089624
NCA（CEACAM6）	GenBank 登録番号 M18728；WO2004063709；EP1439393；WO2004044178；WO2004031238；WO2003042661；WO200278524；WO200286443；WO200260317
MDP（DPEP1）	GenBank 登録番号 BC017023；WO2003016475；WO200264798
IL20Rα（IL20Ra，ZCYTOR7）	GenBank 登録番号 AF184971；EP1394274；US2004005320；WO2003029262；WO2003002717；WO200222153；US2002042366；WO200146261；WO200146232；WO9837193
BECAN（Brevican コアタンパク質）	GenBank 登録番号 AF229053；US2003186372；US2003186373；US2003119131；US2003119122；US2003119126；US2003119121；US2003119129；US2003119130；US2003119128；US2003119125；WO2003016475；WO200202634
EphB2R（DRT，ERK，Hek5，EPHT3，Tyro5）	GenBank 登録番号 NM _ 004442；WO2003042661；WO200053216；WO2004065576（請求項 1）；WO2004020583；WO2003004529；WO200053216
B7h（ASLG659）	GenBank 登録番号 AX092328；US20040101899；WO2003104399；WO2004000221；US2003165504；US2003124140；US2003065143；WO2002102235；US2003091580；WO200210187；WO200194641；WO200202624；US2002034749；WO200206317；WO200271928；WO200202587；WO200140269；WO200036107；WO2004053079；WO2003004989；WO200271928
PSCA（前立腺幹細胞抗原前駆体）	GenBank 登録番号 AJ297436；WO2004022709；EP1394274；US2004018553；WO2003008537（請求項 1）；WO200281646；WO2003003906；WO200140309；US2001055751；

【０４６９】

【表２０－４】

TAA 標的（同義語）	登録番号および参照文献
	WO200032752; WO9851805; WO9851824; WO9840403
BAFF-R（B 細胞活性化因子受容体, BLyS 受容体 3, BR3）	GenBank 登録番号 AF116456; WO2004058309; WO2004011611; WO2003045422; WO2003014294; WO2003035846; WO200294852; WO200238766; WO200224909
CD22（B 細胞受容体 CD22-β 形態, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814）	GenBank 登録番号 AK026467; WO2003072036
CD79a（免疫グロブリン関連 α）	GenBank 登録番号 NP _001774.10; WO2003088808, US20030228319; WO2003062401; US2002150573; WO9958658; WO9207574; U.S. Pat. No. 5,644,033
CXCR5（バーキットリンパ腫受容体 1）	GenBank 登録番号 NP _001707.1; WO2004040000; WO2004015426; US2003105292; U.S. Pat. No. 6,555,339; WO200261087; WO200157188; WO200172830; WO200022129; WO9928468; U.S. Pat. No. 5,440,021; WO9428931; WO9217497
HLA-DOB	GenBank 登録番号 NP _002111.1; WO9958658; U.S. Pat. No. 6,153,408; U.S. Pat. No. 5,976,551; U.S. Pat. No. 6,011,146
P2X5	GenBank 登録番号 NP _002552.2; WO2004047749; WO2003072035; WO200222660; WO2003093444; WO2003087768; WO2003029277
CD72（B-細胞分化抗原 CD72, Lyb-2）	GenBank 登録番号 NP _001773.1; WO2004042346; WO2003026493; WO200075655
CD180（LY64）	GenBank 登録番号 NP _005573.1; US2002193567; WO9707198; WO2003083047; WO9744452
FcRH1（Fc 受容体様タンパク質 1）	GenBank 登録番号 NP _443170.1) WO2003077836; WO200138490; WO2003089624; EP1347046; WO2003089624
IRTA2（免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連 2）	GenBank 登録番号ヒト:AF343662, AF343663, AF343664, AF343665, AF369794, AF397453; WO2003024392; WO2003077836; WO200138490
TENB2（TMEFF2, トモレグリン, TPEF, HPP1）	GenBank 登録番号 AF179274; AY358907, CAF85723, CQ782436; WO2004074320; WO2003042661; WO2003009814; EP1295944; WO200230268; WO200190304; US2004249130; US2004022727; WO2004063355; US2004197325; US2003232350; US2004005563; US2003124579

【０４７０】

【表２０－５】

TAA 標的（同義語）	登録番号および参照文献
CS1（CRACC, 19A, APEX-1, FOAP12）	GenBank 登録番号 NM 021181; US 20100168397
DLL4	GenBank 登録番号 NM 019074; US 20100303812
Lewis Y	ADB235860; US 7879983
CD40（Bp50, CDW40, MGC9013, TNFRSF5, p50）	AL035662.65; US 6946129
OBA1（5T4）	GenBank 登録番号 NP_001159864.1; US 20100021483
p97	Woodbury et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 2183-2186; Brown et al., 1981, J. Immunol. 127: 539-546
癌胎児性抗原（CEA）	GenBank 登録番号 NP_004354.2; US 6,676,924
TAG-72	US 7256004
DNA	
ニューロピリン -1（NRP1）	GenBank 登録番号 NP_001019799.1; US 20080213268
A33	GenBank 登録番号 NP_005805.1; US 7579187
ムチン-1（MUC1）	GenBank 登録番号 NP_001018016.1; NP_001018017.1; US 7183388
ED-B フィブロネクチン	US 7785591
Thomsen-Friedenreich 抗原（TF）	US 7374755; US 20100297159
ボンベシン受容体	US5750370
CanAg	
癌胎児性抗原（CEA）	US4818709
CD13	
CD138	
CD30	
CD47	
CD56	
CD70	
コンドロイチン硫酸プロテオグリガン NG2	
EphA2	
葉酸塩受容体 1	US5547668
ガストリン受容体	
GPNMB（ヒト糖タンパク質）	
NMB（オステオアクチビン）	

【０４７１】

【表２０－６】

TAA 標的（同義語）	登録番号および参照文献
GRP 受容体亜型	
インテグリン avb3	US20110166072
LHRHR	US20110104074
LRP 受容体	
LyP-1 受容体	
ネクチン-4	
ニューロテンシン受容体	US8058230
ヌクレオリン	
ソマトスタチン受容体	
TIM1	
VPAC1	
VPAC2	
α-MSH 受容体	
CD25	
インターロイキン-1 受容体	

【０４７２】

特定の実施形態において、本発明は、１つ、２つ、またはそれ以上の標的化成分、およびＸＴＥＮに共役された１つ、２つ、またはそれ以上の薬物成分を含むＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供する。特定の共役組成物の非限定実施形態は、表２１に提供され、カラム２の指定組成物は、ｉ）表のＸＴＥＮカラムにおいて指定される表３のＸＴＥＮ配列、ｉｉ）組成物の標的化能力を提供する表の標的化部分カラムにおいて特定された標的化部分ペイロード（特定された部分の数を持つ、例えば、１ｘまたは３ｘ）、およびｉｉｉ）表の薬物部分カラムにおいて特定される薬物ファーマコフォア（ＸＴＥＮに共役された薬物分子の数を持つ、例えば、３ｘまたは９ｘ）の特定の成分を有する。当業者によって理解されるように、本発明は、開示された成分の他の組合せ、ならびにそれぞれの特定成分の異なる数または比率、ならびにペイロードが共役される異なるＸＴＥＮ配列を企図する。例えば、本発明は、所与のＸＴＥＮに付着された薬物部分の数が、１、または２、または３、または４、または５、または６、または７、または８、または９、または１０、あるいはそれ以上であり得ること、およびＸＴＥＮが、例えば、対応する数の、薬物部分が共役されるシステインまたはリジン残基を有することを企図する。さらに、本発明は、共役体に付着された標的部分の数が、１、または２、または３、あるいはそれ以上であり得ることを企図し、Ｎ末端アミノ基、または対応する数のリジンまたはシステイン残基を持つＸＴＥＮに同様に結合される。

【０４７３】

【表２１－１】

【表２１】　例示的な共役体

共役体	共役体名*	標的化部分に結合された XTEN**	薬物部分に結合された XTEN**	標的化部分*	薬物部分*
1	1xLHRH-XTEN-3xDox	セグメント 174		1xLHRH	3x ドキソルビシン
2	1xLHRH-XTEN-9xDox	セグメント 175		1xLHRH	9x ドキソルビシン
3	3xLHRH-XTEN-3xDox	セグメント 176	セグメント 176	3xLHRH	3x ドキソルビシン
4	3xLHRH-XTEN-9xDox	セグメント 176	セグメント 177	3xLHRH	9x ドキソルビシン
5	XTEN-3xDox	セグメント 174			3x ドキソルビシン
6	XTEN-9xDox	セグメント 175			9x ドキソルビシン
7	1xLHRH-XTEN-3xMMAE	セグメント 174		1xLHRH	3xMMAE***
8	1xLHRH-XTEN-9xMMAE	セグメント 175		1xLHRH	9xMMAE
9	3xLHRH-XTEN-3xMMAE	セグメント 176	セグメント 176	3xLHRH	3xMMAE
10	3xLHRH-XTEN-9xMMAE	セグメント 176	セグメント 177	3xLHRH	9xMMAE
11	XTEN-3xMMAE	セグメント 174			3xMMAE
12	XTEN-9xMMAE	セグメント 175			9xMMAE
13	1xLHRH-XTEN-3xMMAF	セグメント 174		1xLHRH	3xMMAF****
14	1xLHRH-XTEN-9xMMAF	セグメント 175		1xLHRH	9xMMAF
15	3xLHRH-XTEN-3xMMAF	セグメント 176	セグメント 176	3xLHRH	3xMMAF
16	3xLHRH-XTEN-9xMMAF	セグメント 176	セグメント 177	3xLHRH	9xMMAF
17	XTEN-3xMMAF	セグメント 174			3xMMAF
18	XTEN-9xMMAF	セグメント 175			9xMMAF
19	1xLHRH-XTEN-3x メルタン	セグメント 174		1xLHRH	3x メルタン

【０４７４】

【表２１－２】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合されたXTEN**	薬物部分に結合されたXTEN**	標的化部分*	薬物部分*
	シン				シン
20	1xLHRH-XTEN-9x メルタンシン	セグメント175		1xLHRH	9x メルタンシン
21	3xLHRH-XTEN-3x メルタンシン	セグメント176	セグメント176	3xLHRH	3x メルタンシン
22	3xLHRH-XTEN-9x メルタンシン	セグメント176	セグメント177	3xLHRH	9x メルタンシン
23	XTEN-3x メルタンシン	セグメント174			3x メルタンシン
24	XTEN-9x メルタンシン	セグメント175			9x メルタンシン
25	1xLHRH-XTEN-3x メイタンシノイドDM4	セグメント174		1xLHRH	3x メイタンシノイドDM4
26	1xLHRH-XTEN-9x メイタンシノイドDM4	セグメント175		1xLHRH	9x メイタンシノイドDM4
27	3xLHRH-XTEN-3x メイタンシノイドDM4	セグメント176	セグメント176	3xLHRH	3x メイタンシノイドDM4
28	3xLHRH-XTEN-9x メイタンシノイドDM4	セグメント176	セグメント177	3xLHRH	9x メイタンシノイドDM4
29	XTEN-3x メイタンシノイドDM4	セグメント174			3x メイタンシノイドDM4
30	XTEN-9x メイタンシノイドDM4	セグメント175			9x メイタンシノイドDM4
31	1xLHRH-XTEN-3x パクリタキセル	セグメント174		1xLHRH	3x パクリタキセル
32	1xLHRH-XTEN-9x パクリタキセル	セグメント175		1xLHRH	9x パクリタキセル
33	3xLHRH-XTEN-3x パクリタキセル	セグメント176	セグメント176	3xLHRH	3x パクリタキセル
34	3xLHRH-XTEN-9x パクリタキセル	セグメント176	セグメント177	3xLHRH	9x パクリタキセル
35	XTEN-3x パクリタキセル	セグメント174			3x パクリタ

【０４７５】

【表２１－３】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合されたXTEN**	薬物部分に結合されたXTEN**	標的化部分*	薬物部分*
					キセル
36	XTEN-9x パクリタキセル	セグメント175			9x パクリタキセル
37	1xLHRH-XTEN-3xSN-38	セグメント174		1xLHRH	3xSN-38
38	1xLHRH-XTEN-9xSN-38	セグメント175		1xLHRH	9xSN-38
39	3xLHRH-XTEN-3xSN-38	セグメント176	セグメント176	3xLHRH	3xSN-38
40	3xLHRH-XTEN-9xSN-38	セグメント176	セグメント177	3xLHRH	9xSN-38
41	XTEN-3xSN-38	セグメント174			3xSN-38
42	XTEN-9xSN-38	セグメント175			9xSN-38
43	1xLHRH-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント174		1xLHRH	3x ゲムシタビン
44	1xLHRH-XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント175		1xLHRH	9x ゲムシタビン
45	3xLHRH-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント176	セグメント176	3xLHRH	3x ゲムシタビン
46	3xLHRH-XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント176	セグメント177	3xLHRH	9x ゲムシタビン
47	XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント174			3x ゲムシタビン
48	XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント175			9x ゲムシタビン
49	1xLHRH-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント174		1xLHRH	3x カルボプラチン
50	1xLHRH-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント175		1xLHRH	9x カルボプラチン
51	3xLHRH-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント176	セグメント176	3xLHRH	3x カルボプラチン
52	3xLHRH-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント176	セグメント177	3xLHRH	9x カルボプラチン

【０４７６】

【表２１－４】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合された XTEN**	薬物部分に結合された XTEN**	標的化部分*	薬物部分*
53	XTEN-3x カルボプラチン	セグメント 174			3x カルボプラチン
54	XTEN-9x カルボプラチン	セグメント 175			9x カルボプラチン
55	1xLHRH-XTEN-ヒト RNase			1xLHRH	ヒト RNase
56	3xLHRH-XTEN-ヒト RNase			3xLHRH	ヒト RNase
57	1xLHRH-XTEN-ウシ RNase			1xLHRH	ウシ RNase
58	3xLHRH-XTEN-ウシ RNase			3xLHRH	ウシ RNase
59	1xLHRH-XTEN-ランピルナーゼ			1xLHRH	ランピルナーゼ
60	3xLHRH-XTEN-ランピルナーゼ			3xLHRH	ランピルナーゼ
61	1xLHRH-XTEN-ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質			1xLHRH	ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質
62	3xLHRH-XTEN-ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質			3xLHRH	ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質
63	1x 葉酸塩-XTEN-3xDox	セグメント 174		1x 葉酸塩	3x ドキソルビシン
64	1x 葉酸塩-XTEN-9xDox	セグメント 175		1x 葉酸塩	9x ドキソルビシン
65	3x 葉酸塩-XTEN-3xDox	セグメント 176	セグメント 176	3x 葉酸塩	3x ドキソルビシン
66	3x 葉酸塩-XTEN-9xDox	セグメント 176	セグメント 177	3x 葉酸塩	9x ドキソルビシン
67	XTEN-3xDox	セグメント 174			3x ドキソルビシン
68	XTEN-9xDox	セグメント 175			9x ドキソルビシン
69	1x 葉酸塩-XTEN-3xMMAE	セグメント 174		1x 葉酸塩	3xMMAE

【０４７７】

【表２１－５】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合されたXTEN**	薬物部分に結合されたXTEN**	標的化部分*	薬物部分*
70	1x 葉酸塩-XTEN-9xMMAE	セグメント175		1x 葉酸塩	9xMMAE
71	3x 葉酸塩-XTEN-3xMMAE	セグメント176	セグメント176	3x 葉酸塩	3xMMAE
72	3x 葉酸塩-XTEN-9xMMAE	セグメント176	セグメント177	3x 葉酸塩	9xMMAE
73	XTEN-3xMMAE	セグメント174			3xMMAE
74	XTEN-9xMMAE	セグメント175			9xMMAE
75	1x 葉酸塩-XTEN-3xMMAF	セグメント174		1x 葉酸塩	3xMMAF
76	1x 葉酸塩-XTEN-9xMMAF	セグメント175		1x 葉酸塩	9xMMAF
77	3x 葉酸塩-XTEN-3xMMAF	セグメント176	セグメント176	3x 葉酸塩	3xMMAF
78	3x 葉酸塩-XTEN-9xMMAF	セグメント176	セグメント177	3x 葉酸塩	9xMMAF
79	XTEN-3xMMAF	セグメント174			3xMMAF
80	XTEN-9xMMAF	セグメント175			9xMMAF
81	1x 葉酸塩-XTEN-3x メルタンシン	セグメント174		1x 葉酸塩	3x メルタンシン
82	1x 葉酸塩-XTEN-9x メルタンシン	セグメント175		1x 葉酸塩	9x メルタンシン
83	3x 葉酸塩-XTEN-3x メルタンシン	セグメント176	セグメント176	3x 葉酸塩	3x メルタンシン
84	3x 葉酸塩-XTEN-9x メルタンシン	セグメント176	セグメント177	3x 葉酸塩	9x メルタンシン
85	XTEN-3x メルタンシン	セグメント174			3x メルタンシン
86	XTEN-9x メルタンシン	セグメント175			9x メルタンシン
87	1x 葉酸塩-XTEN-3x メイタンシノイドDM4	セグメント174		1x 葉酸塩	3x メイタンシノイドDM4
88	1x 葉酸塩-XTEN-9x メイタンシノイドDM4	セグメント175		1x 葉酸塩	9x メイタンシノイドDM4

【０４７８】

【表２１－６】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合されたXTEN**	薬物部分に結合されたXTEN**	標的化部分*	薬物部分*
89	3x 葉酸塩-XTEN-3x メイタンシノイド DM4	セグメント176	セグメント176	3x 葉酸塩	3x メイタンシノイド DM4
90	3x 葉酸塩-XTEN-9x メイタンシノイド DM4	セグメント176	セグメント177	3x 葉酸塩	9x メイタンシノイド DM4
91	XTEN-3x メイタンシノイド DM4	セグメント174			3x メイタンシノイド DM4
92	XTEN-9x メイタンシノイド DM4	セグメント175			9x メイタンシノイド DM4
93	1x 葉酸塩-XTEN-3x パクリタキセル	セグメント174		1x 葉酸塩	3x パクリタキセル
94	1x 葉酸塩-XTEN-9x パクリタキセル	セグメント175		1x 葉酸塩	9x パクリタキセル
95	3x 葉酸塩-XTEN-3x パクリタキセル	セグメント176	セグメント176	3x 葉酸塩	3x パクリタキセル
96	3x 葉酸塩-XTEN-9x パクリタキセル	セグメント176	セグメント177	3x 葉酸塩	9x パクリタキセル
97	XTEN-3x パクリタキセル	セグメント174			3x パクリタキセル
98	XTEN-9x パクリタキセル	セグメント175			9x パクリタキセル
99	1x 葉酸塩-XTEN-3xSN-38	セグメント174		1x 葉酸塩	3xSN-38
100	1x 葉酸塩-XTEN-9xSN-38	セグメント175		1x 葉酸塩	9xSN-38
101	3x 葉酸塩-XTEN-3xSN-38	セグメント176	セグメント176	3x 葉酸塩	3xSN-38
102	3x 葉酸塩-XTEN-9xSN-38	セグメント176	セグメント177	3x 葉酸塩	9xSN-38
103	XTEN-3xSN-38	セグメント174			3xSN-38
104	XTEN-9xSN-38	セグメント175			9xSN-38
105	1x 葉酸塩-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント174		1x 葉酸塩	3x ゲムシタビン
106	1x 葉酸塩-XTEN-9x ゲムシ	セグメント175		1x 葉酸塩	9x ゲムシタ

【０４７９】

【表２１－７】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合されたXTEN**	薬物部分に結合されたXTEN**	標的化部分*	薬物部分*
	タビン				ビン
107	3x 葉酸塩-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント176	セグメント176	3x 葉酸塩	3x ゲムシタビン
108	3x 葉酸塩-XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント176	セグメント177	3x 葉酸塩	9x ゲムシタビン
109	XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント174			3x ゲムシタビン
110	XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント175			9x ゲムシタビン
111	1x 葉酸塩-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント174		1x 葉酸塩	3x カルボプラチン
112	1x 葉酸塩-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント175		1x 葉酸塩	9x カルボプラチン
113	3x 葉酸塩-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント176	セグメント176	3x 葉酸塩	3x カルボプラチン
114	3x 葉酸塩-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント176	セグメント177	3x 葉酸塩	9x カルボプラチン
115	XTEN-3x カルボプラチン	セグメント174			3x カルボプラチン
116	XTEN-9x カルボプラチン	セグメント175			9x カルボプラチン
117	1x オクトレオチド-XTEN-3xDox	セグメント174		1x オクトレオチド	3x ドキソルビシン
118	1x オクトレオチド-XTEN-9xDox	セグメント175		1x オクトレオチド	9x ドキソルビシン
119	3x オクトレオチド-XTEN-3xDox	セグメント176	セグメント176	3x オクトレオチド	3x ドキソルビシン
120	3x オクトレオチド-XTEN-9xDox	セグメント176	セグメント177	3x オクトレオチド	9x ドキソルビシン
121	XTEN-3xDox	セグメント174			3x ドキソルビシン
122	XTEN-9xDox	セグメント175			9x ドキソル

【０４８０】

【表２１－８】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合された XTEN**	薬物部分に結合された XTEN**	標的化部分*	薬物部分*
					ビシン
123	1x オクトレオチド-XTEN-3xMMAE	セグメント 174		1x オクトレオチド	3xMMAE
124	1x オクトレオチド-XTEN-9xMMAE	セグメント 175		1x オクトレオチド	9xMMAE
125	3x オクトレオチド-XTEN-3xMMAE	セグメント 176	セグメント 176	3x オクトレオチド	3xMMAE
126	3x オクトレオチド-XTEN-9xMMAE	セグメント 176	セグメント 177	3x オクトレオチド	9xMMAE
127	XTEN-3xMMAE	セグメント 174			3xMMAE
128	XTEN-9xMMAE	セグメント 175			9xMMAE
129	1x オクトレオチド-XTEN-3xMMAF	セグメント 174		1x オクトレオチド	3xMMAF
130	1x オクトレオチド-XTEN-9xMMAF	セグメント 175		1x オクトレオチド	9xMMAF
131	3x オクトレオチド-XTEN-3xMMAF	セグメント 176	セグメント 176	3x オクトレオチド	3xMMAF
132	3x オクトレオチド-XTEN-9xMMAF	セグメント 176	セグメント 177	3x オクトレオチド	9xMMAF
133	XTEN-3xMMAF	セグメント 174			3xMMAF
134	XTEN-9xMMAF	セグメント 175			9xMMAF
135	1x オクトレオチド-XTEN-3x メルタンシン	セグメント 174		1x オクトレオチド	3x メルタンシン
136	1x オクトレオチド-XTEN-9x メルタンシン	セグメント 175		1x オクトレオチド	9x メルタンシン
137	3x オクトレオチド-XTEN-3x メルタンシン	セグメント 176	セグメント 176	3x オクトレオチド	3x メルタンシン
138	3x オクトレオチド-XTEN-9x メルタンシン	セグメント 176	セグメント 177	3x オクトレオチド	9x メルタンシン
139	XTEN-3x メルタンシン	セグメント 174			3x メルタンシン

【０４８１】

【表２１－９】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合された XTEN**	薬物部分に結合された XTEN**	標的化部分*	薬物部分*
140	XTEN-9x メルタンシン	セグメント 175			9x メルタンシン
141	1x オクトレオチド-XTEN-3x メイタンシノイド DM4	セグメント 174		1x オクトレオチド	3x メイタンシノイド DM4
142	1x オクトレオチド-XTEN-9x メイタンシノイド DM4	セグメント 175		1x オクトレオチド	9x メイタンシノイド DM4
143	3x オクトレオチド-XTEN-3x メイタンシノイド DM4	セグメント 176	セグメント 176	3x オクトレオチド	3x メイタンシノイド DM4
144	3x オクトレオチド-XTEN-9x メイタンシノイド DM4	セグメント 176	セグメント 177	3x オクトレオチド	9x メイタンシノイド DM4
145	XTEN-3x メイタンシノイド DM4	セグメント 174			3x メイタンシノイド DM4
146	XTEN-9x メイタンシノイド DM4	セグメント 175			9x メイタンシノイド DM4
147	1x オクトレオチド-XTEN-3x パクリタキセル	セグメント 174		1x オクトレオチド	3x パクリタキセル
148	1x オクトレオチド-XTEN-9x パクリタキセル	セグメント 175		1x オクトレオチド	9x パクリタキセル
149	3x オクトレオチド-XTEN-3x パクリタキセル	セグメント 176	セグメント 176	3x オクトレオチド	3x パクリタキセル
150	3x オクトレオチド-XTEN-9x パクリタキセル	セグメント 176	セグメント 177	3x オクトレオチド	9x パクリタキセル
151	XTEN-3x パクリタキセル	セグメント 174			3x パクリタキセル
152	XTEN-9x パクリタキセル	セグメント 175			9x パクリタキセル
153	1x オクトレオチド-XTEN-3xSN-38	セグメント 174		1x オクトレオチド	3xSN-38
154	1x オクトレオチド-XTEN-9xSN-38	セグメント 175		1x オクトレオチド	9xSN-38
155	3x オクトレオチド-XTEN-3xSN-38	セグメント 176	セグメント 176	3x オクトレオチド	3xSN-38

【０４８２】

【表２１－１０】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合された XTEN**	薬物部分に結合された XTEN**	標的化部分*	薬物部分*
156	3x オクトレオチド-XTEN-9xSN-38	セグメント 176	セグメント 177	3x オクトレオチド	9xSN-38
157	XTEN-3xSN-38	セグメント 174			3xSN-38
158	XTEN-9xSN-38	セグメント 175			9xSN-38
159	1x オクトレオチド-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント 174		1x オクトレオチド	3x ゲムシタビン
160	1x オクトレオチド-XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント 175		1x オクトレオチド	9x ゲムシタビン
161	3x オクトレオチド-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント 176	セグメント 176	3x オクトレオチド	3x ゲムシタビン
162	3x オクトレオチド-XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント 176	セグメント 177	3x オクトレオチド	9x ゲムシタビン
163	XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント 174			3x ゲムシタビン
164	XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント 175			9x ゲムシタビン
165	1x オクトレオチド-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント 174		1x オクトレオチド	3x カルボプラチン
166	1x オクトレオチド-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント 175		1x オクトレオチド	9x カルボプラチン
167	3x オクトレオチド-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント 176	セグメント 176	3x オクトレオチド	3x カルボプラチン
168	3x オクトレオチド-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント 176	セグメント 177	3x オクトレオチド	9x カルボプラチン
169	XTEN-3x カルボプラチン	セグメント 174			3x カルボプラチン
170	XTEN-9x カルボプラチン	セグメント 175			9x カルボプラチン
171	1x オクトレオチド-XTEN-3x エベロリムス	セグメント 174		1x オクトレオチド	3x エベロリムス
172	1x オクトレオチド-XTEN-9x エベロリムス	セグメント 175		1x オクトレオチド	9x エベロリムス

【０４８３】

【表２１－１１】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合された XTEN**	薬物部分に結合された XTEN**	標的化部分*	薬物部分*
173	3x オクトレオチド-XTEN-3x エベロリムス	セグメント 176	セグメント 176	3x オクトレオチド	3x エベロリムス
174	3x オクトレオチド-XTEN-9x エベロリムス	セグメント 176	セグメント 177	3x オクトレオチド	9x エベロリムス
175	XTEN-3x エベロリムス	セグメント 174			3x エベロリムス
176	XTEN-9x エベロリムス	セグメント 175			9x エベロリムス
177	1x パシレオチド-XTEN-3xDox	セグメント 174		1x パシレオチド	3x ドキソルビシン
178	1x パシレオチド-XTEN-9xDox	セグメント 175		1x パシレオチド	9x ドキソルビシン
179	3x パシレオチド-XTEN-3xDox	セグメント 176	セグメント 176	3x パシレオチド	3x ドキソルビシン
180	3x パシレオチド-XTEN-9xDox	セグメント 176	セグメント 177	3x パシレオチド	9x ドキソルビシン
181	XTEN-3xDox	セグメント 174			3x ドキソルビシン
182	XTEN-9xDox	セグメント 175			9x ドキソルビシン
183	1x パシレオチド-XTEN-3xMMAE	セグメント 174		1x パシレオチド	3xMMAE
184	1x パシレオチド-XTEN-9xMMAE	セグメント 175		1x パシレオチド	9xMMAE
185	3x パシレオチド-XTEN-3xMMAE	セグメント 176	セグメント 176	3x パシレオチド	3xMMAE
186	3x パシレオチド-XTEN-9xMMAE	セグメント 176	セグメント 177	3x パシレオチド	9xMMAE
187	XTEN-3xMMAE	セグメント 174			3xMMAE
188	XTEN-9xMMAE	セグメント 175			9xMMAE
189	1x パシレオチド-XTEN-3xMMAF	セグメント 174		1x パシレオチド	3xMMAF

【０４８４】

【表２１－１２】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合された XTEN**	薬物部分に結合された XTEN**	標的化部分*	薬物部分*
190	1x パシレオチド-XTEN-9xMMAF	セグメント 175		1x パシレオチド	9xMMAF
191	3x パシレオチド-XTEN-3xMMAF	セグメント 176	セグメント 176	3x パシレオチド	3xMMAF
192	3x パシレオチド-XTEN-9xMMAF	セグメント 176	セグメント 177	3x パシレオチド	9xMMAF
193	XTEN-3xMMAF	セグメント 174			3xMMAF
194	XTEN-9xMMAF	セグメント 175			9xMMAF
195	1x パシレオチド-XTEN-3x メルタンシン	セグメント 174		1x パシレオチド	3x メルタンシン
196	1x パシレオチド-XTEN-9x メルタンシン	セグメント 175		1x パシレオチド	9x メルタンシン
197	3x パシレオチド-XTEN-3x メルタンシン	セグメント 176	セグメント 176	3x パシレオチド	3x メルタンシン
198	3x パシレオチド-XTEN-9x メルタンシン	セグメント 176	セグメント 177	3x パシレオチド	9x メルタンシン
199	XTEN-3x メルタンシン	セグメント 174			3x メルタンシン
200	XTEN-9x メルタンシン	セグメント 175			9x メルタンシン
201	1x パシレオチド-XTEN-3x メイタンシノイド DM4	セグメント 174		1x パシレオチド	3x メイタンシノイド DM4
202	1x パシレオチド-XTEN-9x メイタンシノイド DM4	セグメント 175		1x パシレオチド	9x メイタンシノイド DM4
203	3x パシレオチド-XTEN-3x メイタンシノイド DM4	セグメント 176	セグメント 176	3x パシレオチド	3x メイタンシノイド DM4
204	3x パシレオチド-XTEN-9x メイタンシノイド DM4	セグメント 176	セグメント 177	3x パシレオチド	9x メイタンシノイド DM4
205	-XTEN-3x メイタンシノイド DM4	セグメント 174			3x メイタンシノイド DM4
206	-XTEN-9x メイタンシノイド DM4	セグメント 175			9x メイタンシノイド DM4

【０４８５】

【表２１－１３】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合されたXTEN**	薬物部分に結合されたXTEN**	標的化部分*	薬物部分*
207	1x パシレオチド-XTEN-3x パクリタキセル	セグメント 174		1x パシレオチド	3x パクリタキセル
208	1x パシレオチド-XTEN-9x パクリタキセル	セグメント 175		1x パシレオチド	9x パクリタキセル
209	3x パシレオチド-XTEN-3x パクリタキセル	セグメント 176	セグメント 176	3x パシレオチド	3x パクリタキセル
210	3x パシレオチド-XTEN-9x パクリタキセル	セグメント 176	セグメント 177	3x パシレオチド	9x パクリタキセル
211	XTEN-3x パクリタキセル	セグメント 174			3x パクリタキセル
212	XTEN-9x パクリタキセル	セグメント 175			9x パクリタキセル
213	1x パシレオチド-XTEN-3xSN-38	セグメント 174		1x パシレオチド	3xSN-38
214	1x パシレオチド-XTEN-9xSN-38	セグメント 175		1x パシレオチド	9xSN-38
215	3x パシレオチド-XTEN-3xSN-38	セグメント 176	セグメント 176	3x パシレオチド	3xSN-38
216	3x パシレオチド-XTEN-9xSN-38	セグメント 176	セグメント 177	3x パシレオチド	9xSN-38
217	XTEN-3xSN-38	セグメント 174			3xSN-38
218	XTEN-9xSN-38	セグメント 175			9xSN-38
219	1x パシレオチド-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント 174		1x パシレオチド	3x ゲムシタビン
220	1x パシレオチド-XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント 175		1x パシレオチド	9x ゲムシタビン
221	3x パシレオチド-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント 176	セグメント 176	3x パシレオチド	3x ゲムシタビン
222	3x パシレオチド-XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント 176	セグメント 177	3x パシレオチド	9x ゲムシタビン
223	-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント 174			3x ゲムシタビン

【０４８６】

【表２１－１４】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合されたXTEN**	薬物部分に結合されたXTEN**	標的化部分*	薬物部分*
224	-XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント175			9x ゲムシタビン
225	1x パシレオチド-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント174		1x パシレオチド	3x カルボプラチン
226	1x パシレオチド-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント175		1x パシレオチド	9x カルボプラチン
227	3x パシレオチド-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント176	セグメント176	3x パシレオチド	3x カルボプラチン
228	3x パシレオチド-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント176	セグメント177	3x パシレオチド	9x カルボプラチン
229	-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント174			3x カルボプラチン
230	-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント175			9x カルボプラチン
231	1x パシレオチド-XTEN-3x エベロリムス	セグメント174		1x パシレオチド	3x エベロリムス
232	1x パシレオチド-XTEN-9x エベロリムス	セグメント175		1x パシレオチド	9x エベロリムス
233	3x パシレオチド-XTEN-3x エベロリムス	セグメント176	セグメント176	3x パシレオチド	3x エベロリムス
234	3x パシレオチド-XTEN-9x エベロリムス	セグメント176	セグメント177	3x パシレオチド	9x エベロリムス
235	XTEN-3x エベロリムス	セグメント174			3x エベロリムス
236	XTEN-9x エベロリムス	セグメント175			9x エベロリムス
237	1x ボンベシン-XTEN-3xDox	セグメント174		1x ボンベシン	3x ドキソルビシン
238	1x ボンベシン-XTEN-9xDox	セグメント175		1x ボンベシン	9x ドキソルビシン
239	3x ボンベシン-XTEN-3xDox	セグメント176	セグメント176	3x ボンベシン	3x ドキソルビシン

【０４８７】

【表２１－１５】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合された XTEN**	薬物部分に結合された XTEN**	標的化部分*	薬物部分*
240	3x ボンベシン-XTEN-9xDox	セグメント 176	セグメント 177	3x ボンベシン	9x ドキソルビシン
241	XTEN-3xDox	セグメント 174			3x ドキソルビシン
242	XTEN-9xDox	セグメント 175			9x ドキソルビシン
243	1x ボンベシン-XTEN-3xMMAE	セグメント 174		1x ボンベシン	3xMMAE
244	1x ボンベシン-XTEN-9xMMAE	セグメント 175		1x ボンベシン	9xMMAE
245	3x ボンベシン-XTEN-3xMMAE	セグメント 176	セグメント 176	3x ボンベシン	3xMMAE
246	3x ボンベシン-XTEN-9xMMAE	セグメント 176	セグメント 177	3x ボンベシン	9xMMAE
247	XTEN-3xMMAE	セグメント 174			3xMMAE
248	XTEN-9xMMAE	セグメント 175			9xMMAE
249	1x ボンベシン-XTEN-3xMMAF	セグメント 174		1x ボンベシン	3xMMAF
250	1x ボンベシン-XTEN-9xMMAF	セグメント 175		1x ボンベシン	9xMMAF
251	3x ボンベシン-XTEN-3xMMAF	セグメント 176	セグメント 176	3x ボンベシン	3xMMAF
252	3x ボンベシン-XTEN-9xMMAF	セグメント 176	セグメント 177	3x ボンベシン	9xMMAF
253	XTEN-3xMMAF	セグメント 174			3xMMAF
254	XTEN-9xMMAF	セグメント 175			9xMMAF
255	1x ボンベシン-XTEN-3x メルタンシン	セグメント 174		1x ボンベシン	3x メルタンシン
256	1x ボンベシン-XTEN-9x メルタンシン	セグメント 175		1x ボンベシン	9x メルタンシン
257	3x ボンベシン-XTEN-3x メ	セグメント	セグメン	3x ボンベシ	3x メルタン

【０４８８】

【表２１－１６】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合されたXTEN**	薬物部分に結合されたXTEN**	標的化部分*	薬物部分*
	ルタンシン	176	ト176	ン	シン
258	3x ボンベシン-XTEN-9x メルタンシン	セグメント176	セグメント177	3x ボンベシン	9x メルタンシン
259	XTEN-3x メルタンシン	セグメント174			3x メルタンシン
260	XTEN-9x メルタンシン	セグメント175			9x メルタンシン
261	1x ボンベシン-XTEN-3x メイタンシノイドDM4	セグメント174		1x ボンベシン	3x メイタンシノイドDM4
262	1x ボンベシン-XTEN-9x メイタンシノイドDM4	セグメント175		1x ボンベシン	9x メイタンシノイドDM4
263	3x ボンベシン-XTEN-3x メイタンシノイドDM4	セグメント176	セグメント176	3x ボンベシン	3x メイタンシノイドDM4
264	3x ボンベシン-XTEN-9x メイタンシノイドDM4	セグメント176	セグメント177	3x ボンベシン	9x メイタンシノイドDM4
265	XTEN-3x メイタンシノイドDM4	セグメント174			3x メイタンシノイドDM4
266	XTEN-9x メイタンシノイドDM4	セグメント175			9x メイタンシノイドDM4
267	1x ボンベシン-XTEN-3x パクリタキセル	セグメント174		1x ボンベシン	3x パクリタキセル
268	1x ボンベシン-XTEN-9x パクリタキセル	セグメント175		1x ボンベシン	9x パクリタキセル
269	3x ボンベシン-XTEN-3x パクリタキセル	セグメント176	セグメント176	3x ボンベシン	3x パクリタキセル
270	3x ボンベシン-XTEN-9x パクリタキセル	セグメント176	セグメント177	3x ボンベシン	9x パクリタキセル
271	XTEN-3x パクリタキセル	セグメント174			3x パクリタキセル
272	XTEN-9x パクリタキセル	セグメント175			9x パクリタキセル
273	1x ボンベシン-XTEN-3xSN-	セグメント174		1x ボンベシ	3xSN-38

【０４８９】

【表２１－１７】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合された XTEN**	薬物部分に結合された XTEN**	標的化部分*	薬物部分*
	38			ン	
274	1x ボンベシン-XTEN-9xSN-38	セグメント 175		1x ボンベシン	9xSN-38
275	3x ボンベシン-XTEN-3xSN-38	セグメント 176	セグメント 176	3x ボンベシン	3xSN-38
276	3x ボンベシン-XTEN-9xSN-38	セグメント 176	セグメント 177	3x ボンベシン	9xSN-38
277	XTEN-3xSN-38	セグメント 174			3xSN-38
278	XTEN-9xSN-38	セグメント 175			9xSN-38
279	1x ボンベシン-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント 174		1x ボンベシン	3x ゲムシタビン
280	1x ボンベシン-XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント 175		1x ボンベシン	9x ゲムシタビン
281	3x ボンベシン-XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント 176	セグメント 176	3x ボンベシン	3x ゲムシタビン
282	3x ボンベシン-XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント 176	セグメント 177	3x ボンベシン	9x ゲムシタビン
283	XTEN-3x ゲムシタビン	セグメント 174			3x ゲムシタビン
284	XTEN-9x ゲムシタビン	セグメント 175			9x ゲムシタビン
285	1x ボンベシン-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント 174		1x ボンベシン	3x カルボプラチン
286	1x ボンベシン-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント 175		1x ボンベシン	9x カルボプラチン
287	3x ボンベシン-XTEN-3x カルボプラチン	セグメント 176	セグメント 176	3x ボンベシン	3x カルボプラチン
288	3x ボンベシン-XTEN-9x カルボプラチン	セグメント 176	セグメント 177	3x ボンベシン	9x カルボプラチン
289	XTEN-3x カルボプラチン	セグメント 174			3x カルボプラチン

【０４９０】

【表２１－１８】

共役体	共役体名*	標的化部分に結合された XTEN**	薬物部分に結合された XTEN**	標的化部分*	薬物部分*
290	XTEN-9x カルボプラチン	セグメント 175			9x カルボプラチン

＊１ｘ、３ｘ、９ｘは、ＸＴＥＮに共役された指示部分の数を指す

＊＊表３からのＸＴＥＮ配列を指す（例えば、セグメント１７４）

＊＊＊モノメチルオーリスタチンＥ　　＊＊＊＊モノメチルオーリスタチンＦ

【０４９１】

Ｖ）．　薬学的組成物

本発明は、本開示のＸＴＥＮ－ペイロード共役体を含む薬学的組成物を提供する。一実施形態において、薬学的組成物は、表２１に記載される共役体からなる群から選択される共役体と、少なくとも１つの薬学的に許容される担体と、を含む。一実施形態において、薬学的組成物は、表２および３に記載される配列の群から選択される配列に対して少なく

とも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、または１００％の配列同一性を有する、少なくとも第１のＸＴＥＮ配列を含む共役体を含み、この組成物のＸＴＥＮ配列は、実質的に均質な長さであり、ＸＴＥＮは、表１１、１２、１８、１９、および２１に記載されるペイロードの群から選択される、少なくとも第１のペイロードに共役され、組成物は、少なくとも１つの薬学的に許容される担体をさらに含む。一実施形態において、本発明は、本明細書に記載される実施形態のうちのいずれかのＴＥＮ－ペイロード共役体と、少なくとも１つの薬学的に許容される担体と、を含む、薬学的組成物を提供する。

【０４９２】

本発明は、実施形態の対象の共役組成物を、少なくとも１つの薬学的に許容される担体と合わせ、薬学的に許容される製剤にするステップを含む、薬学的組成物を調製する方法を提供する。本発明のＸＴＥＮ－ペイロード共役体は、既知の方法に従い、薬学的に有用な組成物を調製するように製剤化されることができ、それによりＸＴＥＮ－ペイロードは、水溶液または緩衝液、薬学的に許容される懸濁液および乳剤等の薬学的に許容される担体媒体との混合に合わされる。非水性溶媒の例としては、プロピルエチレングリコール、ポリエチレングリコール、および植物油が挙げられる。治療製剤は、所望の程度の純度を有する活性成分を、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ‘ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０）に記載される、任意の生理学的に許容される担体、賦形剤、また安定化剤と混合することによって、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で貯蔵用に調製される。薬学的組成物は、皮下的、注入ポンプによって皮下的、筋肉内、および静脈内を含む任意の適切な手段または経路によって投与することができる。好適な経路は、受容体の疾患および年齢、ならびに処置される状態の重症度によって異なることが理解されるであろう。浸透圧ポンプは、錠剤、ピル、カプセル、または埋め込み型デバイスの形態で徐放剤として使用され得る。シリンジポンプが徐放剤として使用されてもよい。そのようなデバイスは、米国特許第４，９７６，６９６号、第４，９３３，１８５号、第５，０１７，３７８号、第６，３０９，３７０号、第６，２５４，５７３号、第４，４３５，１７３号、第４，３９８，９０８号、第６，５７２，５８５号、第５，２９８，０２２号、第５，１７６，５０２号、第５，４９２，５３４号、第５，３１８，５４０号、および第４，９８８，３３７号に記載され、それらの内容は、参照により本明細書に組み込まれる。当業者であれば、本発明の開示およびこれらの他の特許の開示の双方を考慮して、本発明の組成物の持続放出のためのシリンジポンプを産生することができる。

【０４９３】

別の実施形態において、本発明は、限定されないが、表１６に記載される状態を含む、状態の処置に有用な医薬品を製造する際に使用するための本明細書に記載される実施形態のうちのいずれかのＸＴＥＮ－ペイロード共役体を提供する。

ＶＩ）．　処置方法

本発明は、対象における疾患を処置する方法を提供し、有効な量の前述の実施形態のうちのいずれかのＸＴＥＮ－ペイロード共役体を、処置を必要とする対象に投与することを含む。一実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロードは、表１１、１２、１８、１９、および２１から選択される単一種のペイロードを含む。別の実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロードは、表１１、１２、１８、１９、および２１から選択される２種のペイロードを含む。別の実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロードは、１つのペイロードが表１１、１２、および１８から選択される２種のペイロードを含み、第２のペイロードは、表２０の標的への結合親和性を持つ標的化部分であるか、または表１８、１９、もしくは２１のうちのいずれか１つの標的化部分である。別の実施形態において、ＸＴＥＮ－ペイロードは、表１１、１２、１８、１９、および２１から選択される３種以上のペイロードを含む。この方法において、共役体のペイロードは、当該技術分野において有益な効果を有するこ

とが知られているものであるか、または特定の疾患もしくは状態を持つ対象に投与されるときに、疾患標的に対する親和性を有するものである。一実施形態において、組成物のペイロード（複数可）は、共通の生物学的経路を介して、それらの治療効果を媒介する。このパラグラフの前述の実施形態において、この方法は、癌、癌の支持療法、心血管、中枢神経系、内分泌疾患、消化管、泌尿生殖器、血液学的、ＨＩＶ感染、ホルモン疾患、炎症、自己免疫疾患、感染症、代謝疾患、筋骨格系疾患、腎臓学的障害、眼科疾患、疼痛、および呼吸器から選択される疾患を処置または改善または予防することにおいて有用である。さらなる特殊性に応じて、疾患は、表１６から選択される。

【０４９４】

処置方法のいくつかの実施形態において、共役組成物は、皮下的、筋肉内、または静脈内に投与することができる。一実施形態において、組成物は、治療上有効な量を使用して投与される。一実施形態において、治療上有効な量の２回以上の連続用量の投与は、ＸＴＥＮに結合されず、相当する用量を使用して対象に投与されるペイロードと比較して、組成物の治療域内で費やす時間の増加をもたらす。治療域内で費やす時間の増加は、非修飾ペイロードよりも少なくとも３倍長いか、または代替として、ＸＴＥＮに結合されていないペイロードよりも少なくとも４倍、または５倍、または６倍、または７倍、または８倍、または９倍、または少なくとも１０倍、または少なくとも２０倍、または少なくとも約３０倍、または少なくとも約５０倍、または少なくとも約１００倍長くなり得る。

【０４９５】

処置方法の一実施形態において、治療効果を維持するために必要とされる用量計画下で、ＸＴＥＮに結合されていない対応するペイロード（複数可）と比較して、より小さなモル／ｋｇ量の約２倍少ないか、または約３倍少ないか、または約４倍少ないか、または約５倍少ないか、または約６倍少ないか、または約８倍少ないか、または約１０倍少ないか、あるいはそれ以上少ない共役体またはその共役体を含む薬学的組成物は、処置を必要とする対象に投与され、この共役体は、治療効果を維持するために必要とされるＸＴＥＮに結合されていない、対応するモル／ｋｇ量のペイロード（複数可）として、相当する曲線下面積を達成する。別の実施形態において、共役体またはその共役体を含む薬学的組成物は、対象の日常的処置に対してより頻度の低い投与を必要とし、共役体または薬学的組成物の用量は、約４日毎、約７日毎、約１０日毎、約１４日毎、約２１日毎、または約月１回対象に投与され、共役体は、ＸＴＥＮに結合されずに対象に投与された対応するペイロード（複数可）として、相当する曲線下面積を達成する。さらに他の実施形態において、有効な血液濃度を維持するために必要とされる用量計画下でＸＴＥＮに結合されていない、対応する量のペイロード（複数可）と比較して、累積的に少ない量の約５％、または約１０％、または約２０％、または約４０％、または約５０％、または約６０％、または約７０％、または約８０％、または約９０％少ないモル／ｋｇの共役体は対象に投与されるが、この共役体は、ＸＴＥＮに結合されていない対応するペイロード（複数可）として、少なくとも相当する曲線下面積を達成する。累積的に少ない量は、少なくとも約１週間、または約１４日、または約２１日、または約１ヶ月の期間の対策である。この方法のいくつかの実施形態において、治療効果は、処置または予防される対象の基礎疾患と関連付けられることが当該技術分野において知られている、測定パラメータ、臨床症状、またはエンドポイントである。

【０４９６】

一実施形態において、本発明は、癌細胞をインビトロで処置する方法を提供し、有効な量のＸＴＥＮ－ペイロード組成物を含む組成物を、癌細胞の培養物に投与することを含み、第１のペイロードは、標的化部分であり、第２のペイロードは、表２１の毒素である。別の実施形態において、本発明は、対象における癌を処置する方法を提供し、有効な量のＸＴＥＮ－ペイロード組成物を含む薬学的組成物を、対象に投与することを含み、第１のペイロードは、標的化部分であり、第２のペイロードは、表２１の毒素である。この方法の一実施形態において、薬学的組成物は、図１１７に記載される構造を有する組成物を含む。この方法の別の実施形態において、癌は、非小細胞肺癌または中皮腫、白金耐性卵巣

癌、子宮内膜癌、肺の腺癌、および難治性進行性腫瘍からなる群から選択される。この方法の別の実施形態において、投与は、未処置の対象と比較して、癌と関連付けられた少なくとも１つ、２つ、または３つのパラメータの少なくとも１０％、または２０％、または３０％、または４０％、または５０％、または６０％、または７０％、または８０％、または９０％超の改善をもたらし、これらのパラメータは、固形癌の治療効果判定のためのガイドライン（Ｒｅｓｐｏｎｓｅ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｃｒｉｔｅｒｉａ ｉｎ Ｓｏｌｉｄ Ｔｕｍｏｒｓ（ＲＥＣＩＳＴ））によって定義される反応速度、癌の無増悪期間（再発）、局所再発の発見、局所転移の発見、遠隔転移の発見、症状の発症、入院、疼痛投薬の必要性の増加、救援化学療法の必要性、救援手術の必要性、救援放射線療法の必要性、治療成功期間、および生存期間の増加からなる群から選択される。

【０４９７】

別の態様において、本発明は、疾患を持つ対象を処置するための計画を提供し、当該計画は、本明細書に記載される実施形態のうちのいずれかの共役体を含む組成物を含む。この計画の一実施形態において、この計画は、患者における治療効果を達成するために必要とされるＣＦＸＴＥＮを含む薬学的組成物の量を決定するステップをさらに含む。

【０４９８】

本発明は、本明細書に記載される実施形態のうちのいずれかの共役体を含む薬学的組成物を、有効な量の２回以上の連続用量で投与することを含む、罹患した対象のための治療計画を含む共役体を提供し、この投与は、疾患と関連付けられた少なくとも１つのパラメータの改善をもたらす。

ＶＩＩ）．　共役キット

別の態様において、本発明は、ＸＴＥＮ－架橋剤共役組成物の使用を促進するためのキットを提供する。一実施形態において、このキットは、製剤中のＸＴＥＮ－架橋剤と、容器と、その容器上またはそれと関連付けられたラベルと、を含む。前述の実施形態において、ＸＴＥＮ－架橋剤は、本明細書に記載される実施形態のうちのいずれか１つであり得る。容器は、ペイロードに結合するための共役反応における使用に適した緩衝液中、定義された濃度でＸＴＥＮ－架橋剤を保持する。

ＶＩＩＩ）．　薬学的キット

別の態様において、本発明は、共役組成物の使用を促進するためのキットを提供する。このキットは、本明細書に提供される薬学的組成物と、容器と、その容器上またはそれと関連付けられたラベルまたは添付文書と、を含む。適切な容器としては、例えば、ガラスまたはプラスチック等の多様な材料から形成される、例えば、瓶、小瓶、シリンジ等が挙げられる。容器は、対象を処置するために有効な製剤として薬学的組成物を保持し、無菌のアクセスポートを有し得る（例えば、容器は、静脈内の溶液袋、または皮下注射針によって貫通可能な留め具を有する小瓶であってもよい）。添付文書は、薬物の承認された適応、再構成のための指示、および／または承認された適応に使用するための薬物の投与、適切な投与量および安全情報、ならびに薬物のロットおよび有効期限を特定する情報を列挙することができる。前述の別の実施形態において、キットは、薬学的組成物に適した希釈液を担持することができる第２容器を含むことができ、その使用は、対象に送達される適切な濃度を使用者に提供する。別の実施形態において、キットは、少なくとも第１の容器中に、第１の容器と、疾患を持つ対象の処置において投与するのに十分な量の共役組成物薬と、一定量の薬学的に許容される担体、対象に送達される適切な濃度の薬学的組成物を使用者に提供する、対象の組成物に適した希釈液を担持することができる第２の容器とを、薬物および保管および取扱い条件を特定するラベル、および／または薬物の承認された適応、再構成のための指示、および／または承認された適応の処置に使用するための薬物の投与、適切な投与量および安全情報、ならびに薬物のロットおよび有効期限を特定する情報のシートと一緒に含む。

ＩＸ）．　本発明の核酸配列

本発明は、共役体のポリペプチド成分をコードするポリ核酸分子に相補的な共役体および配列のポリペプチド成分をコードする単離されたポリ核酸を提供する。いくつかの実施

形態において、本発明は、本明細書に記載される共役体実施形態のうちのいずれかのＸＴＥＮをコードするポリ核酸、またはそのポリ核酸の相補体を提供する。一実施形態において、ポリ核酸は、表２および３に記載されるＸＴＥＮからなる群から選択されるＸＴＥＮ、またはそのポリ核酸の相補体をコードする。

【０４９９】

他の実施形態において、本発明は、本明細書に記載される実施形態のうちのいずれかの切断配列、親和性タグ、およびヘルパー配列タンパク質に結合されたＸＴＥＮをコードするポリ核酸、またはそのポリ核酸の相補体を提供する。一実施形態において、ポリ核酸は、表７、１８、１９、および２１に記載されるタンパク質ペイロードからなる群から選択されるタンパク質ペイロード、またはそのポリ核酸の相補体をコードする。

【０５００】

一実施形態において、本発明は、ＸＴＥＮをコードするポリ核酸を産生する方法、および切断配列、親和性タグ、およびヘルパー配列タンパク質実施形態、またはポリ核酸（その相同変異体を含む）に対して相補的な配列に結合されたＸＴＥＮを包含する。一般に、図３８および３９に示されるように、ＸＴＥＮをコードするポリヌクレオチド配列を産生し、得られた遺伝子産物を発現させる方法は、ＸＴＥＮをコードするヌクレオチドを組み立てることと、枠内の成分をライゲーションすることと、コード遺伝子を宿主細胞に適切な発現ベクターに組み込むことと、適切な宿主細胞を発現ベクターで変形させることと、変型した宿主細胞中にＸＴＥＮを発現させるか、またはそれを許す条件下で宿主細胞を培養し、それにより、本明細書に記載される方法または当該技術分野において既知の標準タンパク質精製方法によって回収される、ＸＴＥＮポリペプチドを産生することと、を含む。分子生物学における標準組換え技法を使用して、本発明のポリヌクレオチドおよび発現ベクターを製造する。

【０５０１】

本発明に従い、ＸＴＥＮをコードする核酸配列、または切断配列、親和性タグ、およびヘルパー配列タンパク質（またはその相補体）に結合されたＸＴＥＮを使用して、適切な宿主細胞中の発現を配向する組換えＤＮＡ分子を生成する。いくつかのクローニング戦略は、本発明を実行するために適切であり、これらの多くを使用して、本発明のＸＴＥＮまたはペイロード組成物をコードする遺伝子、またはその相補体を含む構築体を生成する。一実施形態において、クローニング戦略を使用して、ＸＴＥＮ組成物の発現のために宿主細胞を形質転換するように使用されるＸＴＥＮをコードするヌクレオチドを含む、ＸＴＥＮをコードする遺伝子を創製する。このパラグラフに記載される前述の実施形態において、遺伝子は、切断配列、親和性タグ、およびヘルパー配列をコードするヌクレオチドをさらに含むことができる。別の実施形態において、クローニング戦略を使用して、ペイロード組成物の発現のために宿主細胞を形質転換するように使用されるペイロードをコードするヌクレオチドを含む、タンパク質ペイロードをコードする遺伝子を創製する。

【０５０２】

所望のＸＴＥＮ配列を設計する際に、本発明の組成物のＸＴＥＮの非反復性質は、ＸＴＥＮをコードする配列の創製における「ビルディングブロック」分子手法の使用にかかわらず達成されることが発見された。これは、上記のペプチド配列モチーフをコードするポリヌクレオチドのライブラリーの使用によって達成され、次いで、ライゲーションおよび／または多量体化され、ＸＴＥＮ配列をコードする遺伝子を創製する（図３８および３９、ならびに実施例参照）。したがって、発現されたポリペプチドのＸＴＥＮ（複数可）は、わずか４つの異なる配列モチーフの複数単位からなり得るが、これらのモチーフ自体は、非反復アミノ酸配列からなるため、全体ＸＴＥＮ配列は、非反復性になる。したがって、一実施形態において、ＸＴＥＮをコードするポリヌクレオチドは、非反復配列またはモチーフをコードし、枠内で操作可能に結合される複数のポリヌクレオチドを含み、得られた発現ＸＴＥＮアミノ酸配列は、非反復性である。

【０５０３】

一手法において、構築体は、最初に、ＸＴＥＮに対応するＤＮＡ配列を含有して調製さ

れる。そのような構築体の調製のための例示的な方法は、実施例に記載される。次いで、構築体を使用して、ＸＴＥＮの発現および回収のために、原核宿主細胞（例えば、大腸菌）等の宿主細胞を形質転換するのに適した発現ベクターを創製する。発現ベクターの創製、宿主細胞の形質転換、およびＸＴＥＮの回収のための例示的な方法は、実施例に記載される。

【０５０４】

ＸＴＥＮをコードする遺伝子は、１つ以上のステップで、完全に合成的に、または制限酵素媒介性クローニング、ＰＣＲ、および重複伸長等の酵素的プロセスと合わせた合成によるかのいずれかで製造することができ、実施例により完全に説明される方法を含む。本明細書に開示される方法を使用して、例えば、ＸＴＥＮをコードするポリヌクレオチドの短い配列を、所望の長さおよび配列のより長いＸＴＥＮ遺伝子にライゲーションすることができる。一実施形態において、この方法は、約９～１４個のアミノ酸、または約１２～２０個のアミノ酸、または約１８～３６個のアミノ酸、または約４８～１４４個のアミノ酸、または約１４４～約２８８個以上のＸＴＥＮモチーフまたはセグメント配列をコードする２つ、３つ、４つ、またはそれ以上のコドン最適化オリゴヌクレオチド、あるいは前述の範囲のモチーフまたはセグメント長の任意の組合せをライゲーションする。代替として、開示された方法を使用して、ＸＴＥＮをコードする配列を、所望の長さのより長い配列に多量体化し、例えば、３６個のアミノ酸のＸＴＥＮをコードする遺伝子は、７２個、次いで１４４個、次いで２８８個等のアミン酸をコードする遺伝子に二量体化され得る。多量体化を用いる場合でも、ＸＴＥＮをコードする遺伝子が、使用される最短単位のモチーフに対し選択されたコドンの設計を通じて、低い反復性を有するか、または事実上有しないように、ＸＴＥＮポリペプチドを構築することができ、形質転換された宿主におけるコード遺伝子の組換えを低減し、安定性を増加させる。非反復配列を持つＸＴＥＮをコードする遺伝子は、遺伝子合成の標準技法を使用して、オリゴヌクレオチドから組み立てられる。遺伝子設計は、コドン使用およびアミノ酸組成物を最適化するアルゴリズムを使用して行うことができる。本発明の一方法において、比較的短いＸＴＥＮをコードするポリヌクレオチド構築体のライブラリーは、上記の通り創製され、次いで組み立てられる。次いで、得られた遺伝子は、本明細書に記載されるように、ペイロードペプチドまたはポリペプチドをコードする遺伝子と組み立てられ、得られた遺伝子を使用して、宿主細胞を形質転換し、その特定の評価のために、ＸＴＥＮ－ペイロードを産生および回収する。

【０５０５】

得られたＸＴＥＮをコードするポリヌクレオチド、およびそれが結合されるペプチド配列は、次いで、発現ベクターに個別にクローン化することができる。核酸配列は、多様な手順によってベクターに挿入される。一般に、ＤＮＡは、当該技術分野において既知の技法を使用して、適切な制限エンドヌクレアーゼ部位（複数可）に挿入される。ベクター成分としては、一般に、１つ以上のシグナル配列、複製起点、１つ以上のマーカー遺伝子、エンハンサー要素、プロモーター、および転写終結配列が挙げられるが、これらに限定されない。これらの成分のうちの１つ以上を含有する適切なベクターの構築は、熟練者には既知の標準ライゲーション技法を用いる。そのような技法は、当該技術分野において周知であり、科学的文献および特許文献に十分に記載されている。様々なベクターは、公的に入手可能である。このベクターは、例えば、便宜的に組換えＤＮＡ手順に共され得るプラスミド、コスミド、ウイルス粒子、またはファージの形態であってよく、ベクターの選択は、それが導入される宿主細胞に依存する場合が多い。したがって、ベクターは、自家複製ベクター、すなわち、染色体外実体として存在し、その複製が染色体複製から独立しているベクター、例えば、プラスミドであり得る。代替として、ベクターは、宿主細胞に導入されるとき、その宿主細胞ゲノムに統合され、それが組み込まれた染色体（複数可）と一緒に複製されるものであり得る。代表的なプラスミドは、図１７に例示され、描かれるＦＶＩＩＩおよびＸＴＥＮ成分の異なる構成のコード領域を持つ。

【０５０６】

本発明は、複製を含有するプラスミド発現ベクター、および宿主細胞と適合し、それに

よって認識され、かつポリペプチドの制御された発現のために、ポリペプチドをコードする遺伝子に操作可能に結合される制御配列の使用を提供する。ベクターは、通常、複製部位、ならびに形質転換された細胞中で表現型選択を提供することができるタンパク質をコードする配列を担持する。そのようなベクター配列は、多様な細菌、酵母、およびウイルスに対し周知である。使用され得る有用な発現ベクターとしては、例えば、染色体、非染色体、および合成ＤＮＡ配列のセグメントが挙げられる。「発現ベクター」とは、適切な宿主においてポリペプチドをコードするＤＮＡの発現を生じさせることができる適切な制御配列に操作可能に結合される、ＤＮＡ配列を含有するＤＮＡ構築体を指す。ベクターが、選択した宿主細胞中で複製可能であり、かつ生存可能であることが要件である。必要に応じて、低または高コピー数のベクターが使用されてもよい。

【０５０７】

適切なベクターとしては、ＳＶ４０およびｐｃＤＮＡの誘導体および既知の細菌プラスミド（例えば、Ｓｍｉｔｈ，ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅ　５７：３１－４０（１９８８）に記載されるｃｏｌ　ＥＩ、ｐＣＲｌ、ｐＢＲ３２２、ｐＭａｌ－Ｃ２、ｐＥＴ、ｐＧＥＸ）、ｐＭＢ９およびその誘導体、プラスミド（例えば、ＲＰ４）、ファージＤＮＡ（例えば、ＮＭ９８　９等のファージＩの多数の誘導体、ならびに他のファージＤＮＡ（例えば、Ｍ１３）および糸状一本鎖ファージＤＮＡ；酵母プラスミド（例えば、２ミクロンプラスミドまたはその２ｍプラスミドの誘導体）、ならびにセントメトリックおよび統合酵母シャトルベクター；真核細胞中で有用なベクター（例えば、昆虫または哺乳類細胞中で有用なベクター）；プラスミドおよびファージＤＮＡの組合せに由来するベクター（例えば、ファージＤＮＡまたは発現制御配列を用いるように修飾されたプラスミド）等が挙げられるが、これらに限定されない。本発明において使用することもできる酵母発現系としては、非融合ｐＹＥＳ２ベクター（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、融合ｐＹＥＳＨｉｓＡ、Ｂ、Ｃ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、ｐＲＳベクター等が挙げられるが、これらに限定されない。ベクターの制御配列としては、転写を生じさせるためのプロモーター、そのような転写を制御するための任意のオペレーター配列、適切なｍＲＮＡリボソーム結合部位をコードする配列、および転写および翻訳の終結を制御する配列が挙げられる。プロモーターは、選択された宿主細胞中の転写活性を示す任意のＤＮＡ配列であり得、その宿主細胞に対して相同性または非相同性のいずれかであるタンパク質をコードする遺伝子に由来し得る。発現ベクター中で原核宿主とともに使用するのに適したプロモーターとしては、β－ラクタマーゼおよびラクトースプロモーター系［Ｃｈａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，２７５：６１５（１９７８）；Ｇｏｅｄｄｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，２８１：５４４（１９７９）］、アルカリホスファターゼ、トリプトファン（ｔｒｐ）プロモーターシステム［Ｇｏｅｄｄｅｌ，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．，８：４０５７（１９８０）；ＥＰ３６，７７６］、およびｔａｃプロモーター等のハイブリッドプロモーター［ｄｅＢｏｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８０：２１－２５（１９８３）］が挙げられ、全て、ＣＦＸＴＥＮポリペプチドをコードするＤＮＡに操作可能に結合される。細菌系に使用するためのプロモーターは、ＣＦＸＴＥＮポリペプチドをコードするＤＮＡに操作可能に連結されたＳｈｉｎｅ－Ｄａｌｇａｒｎｏ（Ｓ．Ｄ．）配列を含有することもできる。

【実施例】

【０５０８】

実施例１：ＸＴＥＮ＿ＡＤ３６モチーフセグメントの構築

以下の実施例は、３６個のアミノ酸のモチーフ配列をコードするコドン最適化遺伝子の集合の構築について説明する。最初のステップとして、ｐＥＴベクターに基づいてスタッファーベクターｐＣＷ０３５９が構築され、Ｔ７プロモーターを含む。ｐＣＷ０３５９は、セルロース結合ドメイン（ＣＢＤ）、およびＴＥＶプロテアーゼ認識部位に続いて、ＢｓａＩ、ＢｂｓＩ、およびＫｐｎＩ部位に隣接するスタッファー配列をコードする。ＢｓａＩおよびＢｂｓＩ部位を、それらが消化後に適合する突出を生成するように挿入した。スタッファー配列の後に、ＧＦＰ遺伝子およびＨｉｓタグの切断異形が続く。スタッファ

ー配列は、終止コドンを含有し、したがってスタッファープラスミドｐＣＷ０３５９を担持する大腸菌細胞は、非蛍光コロニーを形成する。このスタッファーベクターｐＣＷ０３５９は、ＢｓａＩおよびＫｐｎＩで消化され、スタッファーセグメントを除去し、得られたベクターフラグメントは、アガロースゲル精製によって単離された。配列は、指定されたＸＴＥＮ＿ＡＤ３６であり、ＡＤファミリーのモチーフを反映する。そのセグメントは、アミノ酸配列［Ｘ］$_3$を有し、式中、Ｘは、配列：ＧＥＳＰＧＧＳＳＧＳＥＳ、ＧＳＥＧＳＳＧＰＧＥＳＳ、ＧＳＳＥＳＧＳＳＥＧＧＰ、またはＧＳＧＧＥＰＳＥＳＧＳＳを持つ１２ｍｅｒペプチドである。以下のホスホリル化合成オリゴヌクレオチド対をアニールすることによって挿入を得た。

ＡＤ１ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＧＡＡＴＣＴＣＣＤＧＧＴＧＧＹＴＣＹＡＧＣＧＧＴＴＣＹＧＡＲＴＣ

ＡＤ１ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＧＡＹＴＣＲＧＡＡＣＣＧＣＴＲＧＡＲＣＣＡＣＣＨＧＧＡＧＡＴＴＣ

ＡＤ２ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＡＧＣＧＡＡＧＧＴＴＣＴＴＣＹＧＧＴＣＣＤＧＧＹＧＡＲＴＣＹＴＣ

ＡＤ２ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＧＡＲＧＡＹＴＣＲＣＣＨＧＧＡＣＣＲＧＡＡＧＡＡＣＣＴＴＣＧＣＴ

ＡＤ３ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＴＣＹＴＣＹＧＡＡＡＧＣＧＧＴＴＣＴＴＣＹＧＡＲＧＧＹＧＧＴＣＣ

ＡＤ３ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＧＧＡＣＣＲＣＣＹＴＣＲＧＡＡＧＡＡＣＣＧＣＴＴＴＣＲＧＡＲＧＡ

ＡＤ４ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＴＣＹＧＧＴＧＧＹＧＡＡＣＣＤＴＣＹＧＡＲＴＣＴＧＧＴＡＧＣＴＣ

ホスホリル化オリゴヌクレオチド３ＫｐｎＩｓｔｏｐｐｅｒＦｏｒ：ＡＧＧＴＴＣＧＴＣＴＴＣＡＣＴＣＧＡＧＧＧＴＡＣ、および非ホスホリル化オリゴヌクレオチドｐｒ＿３ＫｐｎＩｓｔｏｐｐｅｒＲｅｖ：ＣＣＴＣＧＡＧＴＧＡＡＧＡＣＧＡもアニールした。アニールしたオリゴヌクレオチド対をライゲーションしたところ、可変長を持つ産物の混合物をもたらし、これは１つのＢｂｓＩ／ＫｐｎＩセグメントにライゲーションされた可変数の１２ｍｅｒ反復を表す。３６個のアミノ酸長に対応する産物は、調製アガロースゲル電気泳動によって混合物から単離され、ＢｓａＩ／ＫｐｎＩ消化されたスタッファーベクターｐＣＷ０３５９にライゲーションされた。得られたライブラリー（ＬＣＷ０４０１と指定される）中のクローンの大部分は、誘導後に緑色蛍光を示し、これは、ＸＴＥＮ＿ＡＤ３６の配列が、枠内でＧＦＰ遺伝子とライゲーションされていたこと、およびＸＴＥＮ＿ＡＤ３６の大部分の配列が、良好な発現レベルを有したことを示す。

【０５０９】

ライブラリーＬＣＷ０４０１からの９６個の単離体を、ＩＰＴＧを含有するアガープレートの上にそれらをスタンプすることによって、高レベルの蛍光についてスクリーニングした。同じ単離体をＰＣＲによって評価し、３６個のアミノ酸ならびに強力な蛍光を持つセグメントを含有する４８個の単離体を特定した。これらの単離体を配列決定し、正しいＸＴＥＮ＿ＡＤ３６セグメントを含有する３９個のクローンを特定した。これらのセグメントのヌクレオチドおよびアミノ酸構築体のファイル名は、表２２に列挙される。

【０５１０】

【表２２－１】

【表２２】　３６－ｍｅｒモチーフのＤＮＡおよびアミノ酸配列

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
LCW0401_001_GFP-N_A01.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSES	GGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGTTCCGAGTCA
LCW0401_002_GFP-N_B01.ab1	GSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSSESGSSEGGP	GGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAGTCTTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGTTCTGAATCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCA
LCW0401_003_GFP-N_C01.ab1	GSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSES	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCCGAGTCA
LCW0401_004_GFP-N_D01.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSS	GGTTCCGGTGGCGAACCGTCTGAATCTGGTAGCTCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGTGGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCA
LCW0401_007_GFP-N_F01.ab1	GSSESGSSEGGPGSEGSSGPGESSGSEGSSGPGESS	GGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGTGAATCTTCA
LCW0401_008_GFP-N_G01.ab1	GSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESS	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGTGGTCCAGGTGAATCTCCAGGTGGTTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGTGAATCCTCA
LCW0401_012_GFP-N_H01.ab1	GSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESS	GGTTCTGGTGGTGAACCGTCTGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGTGAGTCTTCA
LCW0401_015_GFP-N_A02.ab1	GSSESGSSEGGPGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSES	GGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGCGGTCCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAATCTTCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGTTCTGAGTCA

【０５１１】

【表２２－２】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
LCW0401_016_GFP-N_B02.ab1	GSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGP	GGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCA
LCW0401_020_GFP-N_E02.ab1	GSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGP	GGTTCCGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAATCTTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCA
LCW0401_022_GFP-N_F02.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSS	GGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGTGGTCCAGGTTCCGGTGGCGAACCTTCTGAATCTGGTAGCTCA
LCW0401_024_GFP-N_G02.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSES	GGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGTGGTCCAGGTGAATCTCCAGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCA
LCW0401_026_GFP-N_H02.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSSEGPGESS	GGTTCTGGTGGCGAACCGTCTGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGTTCTGAATCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGTGAATCTTCA
LCW0401_027_GFP-N_A03.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSSGGEPSESGSS	GGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAGTCAGGTTCTGGTGGTGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCA
LCW0401_028_GFP-N_B03.ab1	GSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGP	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCA
LCW0401_030_GFP-N_C03.ab1	GESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSSEGPGESS	GGTGAATCTCCGGGTGGCTCCAGCGGTTCTGAGTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCGGGTGAGTCCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCTGGTGAGTCTTCA
LCW0401_031_GFP-N_D03.ab1	GSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSESSEGGP	GGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTTCCGGTGGTGAACCTTCTGAATCTGGTAGCTCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCA
LCW0401_033_GFP-N_E03.ab1	GSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSS	GGTTCCGGTGGTGAACCTTCTGAATCTGGTAGCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCCGGTGGTGAACCATCCGAGTCTGGTAGCTCA
LCW0401_037_GFP-N_F03.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSEGSSGPGESS	GGTTCCGGTGGCGAACCTTCTGAATCTGGTAGCTCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCGGGCGAGTCTTCA
LCW0401_038_GFP-N_G03.ab1	GSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGSGGEP	GGTTCCGGTGGTGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGAGTCAGGGTGAGTCTTCAGGTTCTGGTGGCGAACCG

【０５１２】

【表２２－３】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
	SESGSS	TCCGAATCTGGTAGCTCA
LCW0401_039_GFP-N_H03.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSS	GGTTCTGGTGGCGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGCTCA
LCW0401_040_GFP-N_A04.ab1	GSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSESGSSEGGP	GGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGCGGTCCAGGTTCCGGTGGTGAACCATCTGAATCTGGTAGCTCAGGTTCTTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGTGGTCCA
LCW0401_042_GFP-N_C04.ab1	GSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESS	GGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCTGGTGAGTCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAGTCCTCA
LCW0401_046_GFP-N_D04.ab1	GSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGP	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAAGGCGGTCCAGGTTCTTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCCTCCGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGTGGTCCA
LCW0401_047_GFP-N_E04.ab1	GSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSES	GGTTCTGGTGGCGAACCTTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGTTCCAGCGGTTCTGAGTCA
LCW0401_051_GFP-N_F04.ab1	GSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSES	GGTTCTGGTGGCGAACCATCTGAGTCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGCGAGTCTTCAGGTGAATCTCCTGGTGGCTCCAGCGGTTCTGAGTCA
LCW0401_053_GFP-N_H04.ab1	GESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGESPGGSSGSES	GGTGAATCTCCTGGTGGTTCCAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAGTCAGGTGAATCTCCTGGTGGTTCTAGCGGTTCTGAATCA
LCW0401_054_GFP-N_A05.ab1	GSEGSSGPGESSGSEGSSGPGESSGSGGEPSESGSS	GGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCAGGTGAATCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGTGAATCCTCAGGTTCCGGTGGCGAACCATCTGAATCTGGTAGCTCA
LCW0401_059_GFP-N_D05.ab1	GSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSES	GGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCTGGCGAATCTTCAGGTGAATCTCCAGGTGGCTCTAGCGGTTCCGAATCA
LCW0401_060_GFP-N_E05.ab1	GSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSS	GGTTCCGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCCGAGGGTGGTCCAGGTTCCGGTGGTGAACCTTCTGAGTCTGGTAGCTCA
LCW0401_061_GFP-N_F05.ab1	GSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESS	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAGGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGCGAACCATCTGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCCGGTCCGGGTGAATCTTCA
LCW0401_063_GFP	GSGGEPSESGSSGSE	GGTTCTGGTGGTGAACCGTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTAGCGAA

【０５１３】

【表２２－４】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
-N_H05.ab1	GSSGPGESSGSEGSS GPGESS	GGTTCTTCTGGTCCTGGCGAGTCTTCAGGTAGCGAAGGTTCTTCT GGTCCTGGTGAATCTTCA
LCW0401_066_GFP -N_B06.ab1	GSGGEPSESGSSGSS ESGSSEGGPGSGGEP SESGSS	GGTTCTGGTGGCGAACCATCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCTTCC GAAAGCGGTTCTTCCGAAGGCGGTCCAGGTTCTGGTGGTGAACCG TCCGAATCTGGTAGCTCA
LCW0401_067_GFP -N_C06.ab1	GSGGEPSESGSSGES PGGSSGSESGESPGG SSGSES	GGTTCCGGTGGCGAACCTTCCGAATCTGGTAGCTCAGGTGAATCT CCGGGTGGTTCTAGCGGTTCCGAATCAGGTGAATCTCCAGGTGGT TCTAGCGGTTCCGAATCA
LCW0401_069_GFP -N_D06.ab1	GSGGEPSESGSSGSG GEPSESGSSGESPGG SSGSES	GGTTCCGGTGGTGAACCATCTGAGTCTGGTAGCTCAGGTTCCGGT GGCGAACCGTCCGAGTCTGGTAGCTCAGGTGAATCTCCGGGTGGT TCCAGCGGTTCCGAATCA
LCW0401_070_GFP -N_E06.ab1	GSEGSSGPGESSGSS ESGSSEGGPGSEGSS GPGESS	GGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCGGGCGAATCCTCAGGTTCCTCC GAAAGCGGTTCTTCCGAAGGTGGTCCAGGTAGCGAAGGTTCTTCC GGTCCTGGTGAATCTTCA
LCW0401_078_GFP -N_F06.ab1	GSSESGSSEGGPGES PGGSSGSESGESPGG SSGSES	GGTTCCTCTGAAAGCGGTTCTTCTGAAGGCGGTCCAGGTGAATCT CCGGGTGGCTCCAGCGGTTCTGAATCAGGTGAATCTCCTGGTGGC TCCAGCGGTTCCGAGTCA
LCW0401_079_GFP -N_G06.ab1	GSEGSSGPGESSGSE GSSGPGESSGSGGEP SESGSS	GGTAGCGAAGGTTCTTCTGGTCCAGGCGAGTCTTCAGGTAGCGAA GGTTCTTCCGGTCCTGGCGAGTCTTCAGGTTCCGGTGGCGAACCG TCCGAATCTGGTAGCTCA

【０５１４】

実施例２：ＸＴＥＮ＿ＡＥ３６セグメントの構築

３６アミノ酸長のＸＴＥＮ配列をコードするコドンライブラリーを構築した。ＸＴＥＮ配列は、ＸＴＥＮ＿ＡＥ３６と指定した。そのセグメントは、アミノ酸配列［Ｘ］$_3$を有し、式中、Ｘは、配列：ＧＳＰＡＧＳＰＴＳＴＥＥ、ＧＳＥＰＡＴＳＧＳＥＴＰ、ＧＴＳＥＳＡＴＰＥＳＧＰ、またはＧＴＳＴＥＰＳＥＧＳＡＰを持つ１２ｍｅｒペプチドである。以下のホスホリル化合成オリゴヌクレオチド対をアニールすることによって挿入を得た。

ＡＥ１ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＡＧＣＣＣＤＧＣＷＧＧＹＴＣＴＣＣＤＡＣＹＴＣＹＡＣＹＧＡＲＧＡ

ＡＥ１ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＴＣＹＴＣＲＧＴＲＧＡＲＧＴＨＧＧＡＧＡＲＣＣＷＧＣＨＧＧＧＣＴ

ＡＥ２ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＡＧＣＧＡＡＣＣＫＧＣＷＡＣＹＴＣＹＧＧＹＴＣＴＧＡＲＡＣＹＣＣ

ＡＥ２ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＧＧＲＧＴＹＴＣＡＧＡＲＣＣＲＧＡＲＧＴＷＧＣＭＧＧＴＴＣＧＣＴ

ＡＥ３ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＡＣＹＴＣＴＧＡＡＡＧＣＧＣＷＡＣＹＣＣＫＧＡＲＴＣＹＧＧＹＣＣ

ＡＥ３ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＧＧＲＣＣＲＧＡＹＴＣＭＧＧＲＧＴＷＧＣＧＣＴＴＴＣＡＧＡＲＧＴ

ＡＥ４ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＡＣＹＴＣＴＡＣＹＧＡＡＣＣＫＴＣＹＧＡＲＧＧＹＡＧＣＧＣＷＣＣ

ＡＥ４ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＧＧＷＧＣＧＣＴＲＣＣＹＴＣＲＧＡＭＧＧＴＴＣＲＧＴＡＧＡＲＧＴ

ホスホリル化オリゴヌクレオチド３ＫｐｎＩｓｔｏｐｐｅｒＦｏｒ：ＡＧＧＴＴＣＧＴＣＴＴＣＡＣＴＣＧＡＧＧＧＴＡＣ、および非ホスホリル化オリゴヌクレオチドｐｒ＿３ＫｐｎＩｓｔｏｐｐｅｒＲｅｖ：ＣＣＴＣＧＡＧＴＧＡＡＧＡＣＧＡもアニールした。アニールしたオリゴヌクレオチド対をライゲーションしたところ、可変長を持つ産物の混合物をもたらし、これは１つのＢｂｓＩ／ＫｐｎＩセグメントにライゲーションされた可変数の１２ｍｅｒ反復を表す。３６個のアミノ酸長に対応する産物は、調製アガロースゲル

電気泳動によって混合物から単離され、ＢｓａＩ／ＫｐｎＩ消化されたスタッファーベクターｐＣＷ０３５９にライゲーションされた。得られたライブラリー（ＬＣＷ０４０２と指定される）中のクローンの大部分は、誘導後に緑色蛍光を示し、これは、ＸＴＥＮ＿ＡＥ３６の配列が、枠内でＧＦＰ遺伝子とライゲーションされていたこと、およびＸＴＥＮ＿ＡＥ３６の大部分の配列が、良好な発現を示すことを示す。

【０５１５】

ライブラリーＬＣＷ０４０２からの９６個の単離体を、ＩＰＴＧを含有するアガープレートの上にそれらをスタンプすることによって、高レベルの蛍光についてスクリーニングした。同じ単離体をＰＣＲによって評価し、３６個のアミノ酸ならびに強力な蛍光を持つセグメントを含有する４８個の単離体を特定した。これらの単離体を配列決定し、正しいＸＴＥＮ＿ＡＥ３６セグメントを含有する３７個のクローンを特定した。これらのセグメントのヌクレオチドおよびアミノ酸構築体のファイル名は、表２３に列挙される。

【０５１６】

【表２３－１】

【表２３】　３６－ｍｅｒモチーフのＤＮＡおよびアミノ酸配列

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
LCW0402_00	GSPAGSPTSTEEGTSESAT	GGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGA

【０５１７】

【表２３－２】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
2_GFP-N_A07.ab1	PESGPGTSTEPSEGSAP	AAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCA
LCW0402_003_GFP-N_B07.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCA
LCW0402_004_GFP-N_C07.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP	GGTACCTCTACCGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCTGGCCCA
LCW0402_005_GFP-N_D07.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCA
LCW0402_006_GFP-N_E07.ab1	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE	GGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCGACTTCCACTGAGGAA
LCW0402_008_GFP-N_F07.ab1	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP	GGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
LCW0402_009_GFP-N_G07.ab1	GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSEPATSGSETP	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCA
LCW0402_011_GFP-N_A08.ab1	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP	GGTAGCCCGGCTGGCTCTCCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCA
LCW0402_012_GFP-N_B08.ab1	GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP	GGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCA
LCW0402_013_GFP-N_C08.ab1	GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP	GGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCCGGTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCA
LCW0402_014_GFP-N_D08.ab1	GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP	GGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCGGCAGGTTCTCCTACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCTGAGGGTAGCGCACCA
LCW0402_015_GFP-N_E08.ab1	GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP	GGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCGACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCTGGCCCA

【０５１８】

【表２３－３】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
LCW0402_016_GFP-N_F08.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP	GGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCGGCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGTCCA
LCW0402_020_GFP-N_G08.ab1	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE	GGTACTTCTACTGAACCGTCTGAAGGCAGCGCACCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCAACTTCTACTGAAGAA
LCW0402_023_GFP-N_A09.ab1	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETP	GGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACCCCA
LCW0402_024_GFP-N_B09.ab1	GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE	GGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACTGAAGAA
LCW0402_025_GFP-N_C09.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP	GGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
LCW0402_026_GFP-N_D09.ab1	GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP	GGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCA
LCW0402_027_GFP-N_E09.ab1	GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP	GGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCA
LCW0402_032_GFP-N_H09.ab1	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE	GGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGTTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCGGAGTCTGGTCCAGGTAGCCCTGCAGGTTCTCCTACCTCCACTGAGGAA
LCW0402_034_GFP-N_A10.ab1	GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP	GGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCA
LCW0402_036_GFP-N_C10.ab1	GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP	GGTAGCCCGGCTGGTTCTCCGACTTCCACCGAGGAAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCA
LCW0402_039_GFP-N_E10.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCTGAAGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCACCA
LCW0402_040_GFP-	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP	GGTAGCGAACCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCG

【０５１９】

【表２３－４】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
N_F10.ab1		AGGGCAGCGCACCA
LCW0402_041_GFP-N_G10.ab1	GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP	GGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCA
LCW0402_050_GFP-N_A11.ab1	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP	GGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAAACCCCA
LCW0402_051_GFP-N_B11.ab1	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP	GGTAGCGAACCGGCAACTTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCTGGCTCTGAAACCCCA
LCW0402_059_GFP-N_E11.ab1	GSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP	GGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTCCGGCTCTGAAACCCCAGGTACTTCTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCACCA
LCW0402_060_GFP-N_F11.ab1	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETP	GGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCA
LCW0402_061_GFP-N_G11.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP	GGTACCTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCCGGTCCA
LCW0402_065_GFP-N_A12.ab1	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGP	GGTAGCGAACCGGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAATCCGGTCCA
LCW0402_066_GFP-N_B12.ab1	GSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP	GGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGTTCTGAAACTCCAGGTACCTCTACCGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCA
LCW0402_067_GFP-N_C12.ab1	GSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP	GGTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACTCCA
LCW0402_069_GFP-N_D12.ab1	GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP	GGTACCTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAACTCCA
LCW0402_073_GFP-N_F12.ab1	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE	GGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGTAGCGAACCTGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACCTCCACCGAGGAA
LCW0402_07	GSEPATSGSETPGSPAGSP	GGTAGCGAACCGGCTACTTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTAGCCCAGC

【０５２０】

【表２３－５】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
4_GFP-N_G12.ab1	TSTEEGTSESATPESGP	TGGTTCTCCAACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAATCTGGTCCA
LCW0402_075_GFP-N_H12.ab1	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP	GGTACCTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCA

【０５２１】

実施例３：ＸＴＥＮ＿ＡＦ３６セグメントの構築

３６アミノ酸長の配列をコードするコドンライブラリーを構築した。配列は、ＸＴＥＮ＿ＡＦ３６と指定した。そのセグメントは、アミノ酸配列［Ｘ］３を有し、式中、Ｘは、配列：ＧＳＴＳＥＳＰＳＧＴＡＰ、ＧＴＳＴＰＥＳＧＳＡＳＰ、ＧＴＳＰＳＧＥＳＳＴＡＰ、またはＧＳＴＳＳＴＡＥＳＰＧＰを持つ１２ｍｅｒペプチドである。以下のホスホリル化合成オリゴヌクレオチド対をアニールすることによって挿入を得た。

ＡＦ１ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＴＣＴＡＣＹＡＧＣＧＡＡＴＣＹＣＣＫＴＣＴＧＧＹＡＣＹＧＣＷＣＣ
ＡＦ１ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＧＧＷＧＣＲＧＴＲＣＣＡＧＡＭＧＧＲＧＡＴＴＣＧＣＴＲＧＴＡＧＡ
ＡＦ２ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＡＣＹＴＣＴＡＣＹＣＣＫＧＡＡＡＧＣＧＧＹＴＣＹＧＣＷＴＣＴＣＣ
ＡＦ２ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＧＧＡＧＡＷＧＣＲＧＡＲＣＣＧＣＴＴＴＣＭＧＧＲＧＴＡＧＡＲＧＴ
ＡＦ３ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＡＣＹＴＣＹＣＣＫＡＧＣＧＧＹＧＡＡＴＣＴＴＣＴＡＣＹＧＣＷＣＣ
ＡＦ３ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＧＧＷＧＣＲＧＴＡＧＡＡＧＡＴＴＣＲＣＣＧＣＴＭＧＧＲＧＡＲＧＴ
ＡＦ４ｆｏｒ：　ＡＧＧＴＴＣＹＡＣＹＡＧＣＴＣＴＡＣＹＧＣＷＧＡＡＴＣＴＣＣＫＧＧＹＣＣ
ＡＦ４ｒｅｖ：　ＡＣＣＴＧＧＲＣＣＭＧＧＡＧＡＴＴＣＷＧＣＲＧＴＡＧＡＧＣＴＲＧＴＲＧＡ

ホスホリル化オリゴヌクレオチド３ＫｐｎＩｓｔｏｐｐｅｒＦｏｒ：ＡＧＧＴＴＣＧＴＣＴＴＣＡＣＴＣＧＡＧＧＧＴＡＣ、および非ホスホリル化オリゴヌクレオチドｐｒ＿３ＫｐｎＩｓｔｏｐｐｅｒＲｅｖ：ＣＣＴＣＧＡＧＴＧＡＡＧＡＣＧＡもアニールした。アニールしたオリゴヌクレオチド対をライゲーションしたところ、可変長を持つ産物の混合物をもたらし、これは１つのＢｂｓＩ／ＫｐｎＩセグメントにライゲーションされた可変数の１２ｍｅｒ反復を表す。３６個のアミノ酸長に対応する産物は、調製アガロースゲル電気泳動によって混合物から単離され、ＢｓａＩ／ＫｐｎＩ消化されたスタッファーベクターｐＣＷ０３５９にライゲーションされた。得られたライブラリー（ＬＣＷ０４０３と指定される）中のクローンの大部分は、誘導後に緑色蛍光を示し、これは、ＸＴＥＮ＿ＡＦ３６の配列が、枠内でＧＦＰ遺伝子とライゲーションされていたこと、およびＸＴＥＮ＿ＡＦ３６の大部分の配列が、良好な発現を示すことを示す。

【０５２２】

ライブラリーＬＣＷ０４０３からの９６個の単離体を、ＩＰＴＧを含有するアガープレートの上にそれらをスタンプすることによって、高レベルの蛍光についてスクリーニングした。同じ単離体をＰＣＲによって評価し、３６個のアミノ酸ならびに強力な蛍光を持つセグメントを含有する４８個の単離体を特定した。これらの単離体を配列決定し、正しいＸＴＥＮ＿ＡＦ３６セグメントを含有する４４個のクローンを特定した。これらのセグメントのヌクレオチドおよびアミノ酸構築体のファイル名は、表２４に列挙される。

【０５２３】

【表２４－１】

【表２４】　３６－ｍｅｒモチーフのＤＮＡおよびアミノ酸配列

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
LCW0403_004_GFP-N_A01.ab1	GTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAP	GGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCA
LCW0403_005_GFP-N_B01.ab1	GTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAP	GGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCA
LCW0403_006_GFP-N_C01.ab1	GSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASP	GGTTCCACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACTTCTACTCCTGAAAGCGGCTCTGCTTCTCCA
LCW0403_007_GFP-N_D01.ab1	GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAP	GGTTCTACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTTCCACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCACCA
LCW0403_008_GFP-N_E01.ab1	GSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASP	GGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCTGCATCTCCA
LCW0403_010_GFP-N	GSTSSTAESPGPGTSTPESPSPESGSASPGSTSESPS	GGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGG

【０５２４】

【表２４－２】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
N_F01.ab1	GTAP	CACTGCACCA
LCW0403_01	GSTSSTAESPGPGTST	GGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACTC
1_GFP-	PESGSASPGTSTPESG	CGGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGTTC
N_G01.ab1	SASP	TGCATCTCCA
LCW0403_01	GSTSESPSGTAPGTSP	GGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTACCTCTCCTA
2_GFP-	SGESSTAPGSTSESPS	GCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGG
N_H01.ab1	GTAP	CACTGCACCA
LCW0403_01	GSTSSTAESPGPGSTS	GGTTCCACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCT
3_GFP-	STAESPGPGTSPSGES	CTACTGCAGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTC
N_A02.ab1	STAP	TACCGCTCCA
LCW0403_01	GSTSSTAESPGPGTST	GGTTCCACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTACCTCTACCC
4_GFP-	PESGSASPGSTSESPS	CTGAAAGCGGCTCTGCATCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCGTCTGG
N_B02.ab1	GTAP	CACCGCACCA
LCW0403_01	GSTSSTAESPGPGSTS	GGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCT
5_GFP-	STAESPGPGTSPSGES	CTACTGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCTTC
N_C02.ab1	STAP	TACTGCACCA
LCW0403_01	GSTSSTAESPGPGSTS	GGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACCAGCG
7_GFP-	ESPSGTAPGSTSSTAE	AATCCCCGTCTGGCACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATC
N_D02.ab1	SPGP	TCCGGGTCCA
LCW0403_01	GSTSSTAESPGPGSTS	GGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTTCCACTAGCT
8_GFP-	STAESPGPGSTSSTAE	CTACCGCTGAATCTCCTGGTCCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATC
N_E02.ab1	SPGP	TCCTGGTCCA
LCW0403_01	GSTSESPSGTAPGSTS	GGTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACTGCTCCAGGTTCCACTAGCT
9_GFP-	STAESPGPGSTSSTAE	CTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCCACTAGCTCTACTGCAGAATC
N_F02.ab1	SPGP	TCCTGGTCCA
LCW0403_02	GSTSESPSGTAPGSTS	GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTTCTACCAGCG
3_GFP-	ESPSGTAPGSTSESPS	AATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGG
N_H02.ab1	GTAP	TACTGCACCA
LCW0403_02	GSTSSTAESPGPGSTS	GGTTCCACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACCAGCT
4_GFP-	STAESPGPGSTSSTAE	CTACTGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTTCCACCAGCTCTACCGCTGAATC
N_A03.ab1	SPGP	TCCGGGTCCA
LCW0403_02	GSTSSTAESPGPGSTS	GGTTCCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTTCTACTAGCT
5_GFP-	STAESPGPGTSPSGES	CTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTC
N_B03.ab1	STAP	TACCGCTCCA
LCW0403_02	GSSPSASTGTGPGSST	GGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACCGGCCCAGGTAGCTCTACTC

【０５２５】

【表２４－３】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
8_GFP-N_D03.ab1	PSGATGSPGSSTPSGATGSP	CGTCTGGTGCAACTGGCTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCA
LCW0403_029_GFP-N_E03.ab1	GTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGP	GGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGCTCCGCATCTCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGTCCA
LCW0403_030_GFP-N_F03.ab1	GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASP	GGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCA
LCW0403_031_GFP-N_G03.ab1	GTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASP	GGTACTTCTCCTAGCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCA
LCW0403_033_GFP-N_H03.ab1	GSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGP	GGTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACTGCACCAGGTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTTCCACCAGCTCTACCGCAGAATCTCCTGGTCCA
LCW0403_035_GFP-N_A04.ab1	GSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGP	GGTTCCACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCA
LCW0403_036_GFP-N_B04.ab1	GSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASP	GGTTCTACCAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTACTTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTACTTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCA
LCW0403_039_GFP-N_C04.ab1	GSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAP	GGTTCTACCAGCGAATCTCCTTCTGGCACCGCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCTAGCGGCGAATCTTCTACCGCACCA
LCW0403_041_GFP-N_D04.ab1	GSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASP	GGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCTACCCCTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCA
LCW0403_044_GFP-N_E04.ab1	GTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGP	GGTACCTCTACTCCTGAAAGCGGTTCTGCATCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCA
LCW0403_046_GFP-N_F04.ab1	GSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAP	GGTTCTACCAGCGAATCCCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTCCGAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCA
LCW0403_047_GFP-N_G04.ab1	GSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGP	GGTTCTACTAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCCACTAGCTCTACCGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCGAATCCCCTTCTGGTACCGCTCCA

【０５２６】

【表２４－４】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
LCW0403_04	GSTSSTAESPGPGSTS	GGTTCCACCAGCTCTACTGCAGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACTAGCT
9_GFP-	STAESPGPGTSTPESG	CTACCGCAGAATCTCCTGGTCCAGGTACCTCTACTCCTGAAAGCGGTTC
N_H04.ab1	SASP	CGCATCTCCA
LCW0403_05	GSTSSTAESPGPGSTS	GGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCGGGCCCAGGTTCTACTAGCT
1_GFP-	STAESPGPGSTSESPS	CTACCGCTGAATCTCCGGGTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGG
N_A05.ab1	GTAP	TACCGCTCCA
LCW0403_05	GTSPSGESSTAPGSTS	GGTACCTCCCCGAGCGGTGAATCTTCTACTGCACCAGGTTCTACTAGCG
3_GFP-	ESPSGTAPGSTSSTAE	AATCCCCTTCTGGTACTGCTCCAGGTTCCACCAGCTCTACTGCAGAATC
N_B05.ab1	SPGP	TCCGGGTCCA
LCW0403_05	GSTSESPSGTAPGTSP	GGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCCCCTA
4_GFP-	SGESSTAPGSTSSTAE	GCGGTGAATCTTCTACTGCTCCAGGTTCTACCAGCTCTACCGCAGAATC
N_C05.ab1	SPGP	TCCGGGTCCA
LCW0403_05	GSTSSTAESPGPGSTS	GGTTCTACCAGCTCTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACTAGCG
7_GFP-	ESPSGTAPGTSPSGES	AATCTCCGTCTGGCACCGCACCAGGTACTTCCCCTAGCGGTGAATCTTC
N_D05.ab1	STAP	TACTGCACCA
LCW0403_05	GSTSESPSGTAPGSTS	GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGCACTGCACCAGGTTCTACCAGCG
8_GFP-	ESPSGTAPGTSTPESG	AATCTCCGTCTGGCACTGCACCAGGTACCTCTACCCCTGAAAGCGGTTC
N_E05.ab1	SASP	CGCTTCTCCA
LCW0403_06	GTSTPESGSASPGSTS	GGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTCCGCATCTCCAGGTTCTACCAGCG
0_GFP-	ESPSGTAPGSTSSTAE	AATCCCCGTCTGGCACCGCACCAGGTTCTACTAGCTCTACTGCTGAATC
N_F05.ab1	SPGP	TCCGGGCCCA
LCW0403_06	GSTSSTAESPGPGTSP	GGTTCTACTAGCTCTACTGCAGAATCTCCGGGCCCAGGTACCTCTCCTA
3_GFP-	SGESSTAPGTSPSGES	GCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACTTCTCCGAGCGGTGAATCTTC
N_G05.ab1	STAP	TACCGCTCCA
LCW0403_06	GTSPSGESSTAPGTSP	GGTACCTCCCCTAGCGGCGAATCTTCTACTGCTCCAGGTACCTCTCCTA
4_GFP-	SGESSTAPGTSPSGES	GCGGCGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACCTCCCCTAGCGGTGAATCTTC
N_H05.ab1	STAP	TACCGCACCA
LCW0403_06	GSTSSTAESPGPGTST	GGTTCCACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTACTTCTACTC
5_GFP-	PESGSASPGSTSESPS	CGGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGG
N_A06.ab1	GTAP	CACCGCACCA
LCW0403_06	GSTSESPSGTAPGTSP	GGTTCTACTAGCGAATCTCCGTCTGGCACTGCTCCAGGTACTTCTCCTA
6_GFP-	SGESSTAPGTSPSGES	GCGGTGAATCTTCTACCGCTCCAGGTACTTCCCCTAGCGGCGAATCTTC
N_B06.ab1	STAP	TACCGCTCCA
LCW0403_06	GSTSESPSGTAPGTST	GGTTCTACTAGCGAATCTCCTTCTGGTACCGCTCCAGGTACTTCTACCC
7_GFP-	PESGSASPGSTSSTAE	CTGAAAGCGGCTCCGCTTCTCCAGGTTCCACTAGCTCTACCGCTGAATC

【０５２７】

【表２４－５】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
N_C06.ab1	SPGP	TCCGGGTCCA
LCW0403_06	GSTSSTAESPGPGSTS	GGTTCCACTAGCTCTACTGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACCAGCT
8_GFP-	STAESPGPGSTSESPS	CTACCGCTGAATCTCCTGGCCCAGGTTCTACCAGCGAATCTCCGTCTGG
N_D06.ab1	GTAP	CACCGCACCA
LCW0403_06	GSTSESPSGTAPGTST	GGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACCGCACCAGGTACTTCTACCC
9_GFP-	PESGSASPGTSTPESG	CGGAAAGCGGCTCTGCTTCTCCAGGTACTTCTACCCCGGAAAGCGGCTC
N_E06.ab1	SASP	CGCATCTCCA
LCW0403_07	GSTSESPSGTAPGTST	GGTTCTACTAGCGAATCCCCGTCTGGTACTGCTCCAGGTACTTCTACTC
0_GFP-	PESGSASPGTSTPESG	CTGAAAGCGGTTCCGCTTCTCCAGGTACCTCTACTCCGGAAAGCGGTTC
N_F06.ab1	SASP	TGCATCTCCA

【０５２８】

実施例４：ＸＴＥＮ＿ＡＧ３６セグメントの構築

３６アミノ酸長の配列をコードするコドンライブラリーを構築した。配列は、ＸＴＥＮ

＿ＡＧ３６と指定した。そのセグメントは、アミノ酸配列［Ｘ］$_3$を有し、式中、Ｘは、配列：ＧＴＰＧＳＧＴＡＳＳＳＰ、ＧＳＳＴＰＳＧＡＴＧＳＰ、ＧＳＳＰＳＡＳＴＧＴＧＰ、またはＧＡＳＰＧＴＳＳＴＧＳＰを持つ１２ｍｅｒペプチドである。以下のホスホリル化合成オリゴヌクレオチド対をアニールすることによって挿入を得た。

ＡＧ１ｆｏｒ： ＡＧＧＴＡＣＹＣＣＫＧＧＹＡＧＣＧＧＴＡＣＹＧＣＷＴＣＴＴＣＹＴＣＴＣＣ

ＡＧ１ｒｅｖ： ＡＣＣＴＧＧＡＧＡＲＧＡＡＧＡＷＧＣＲＧＴＡＣＣＧＣＴＲＣＣＭＧＧＲＧＴ

ＡＧ２ｆｏｒ： ＡＧＧＴＡＧＣＴＣＴＡＣＹＣＣＫＴＣＴＧＧＴＧＣＷＡＣＹＧＧＹＴＣＹＣＣ

ＡＧ２ｒｅｖ： ＡＣＣＴＧＧＲＧＡＲＣＣＲＧＴＷＧＣＡＣＣＡＧＡＭＧＧＲＧＴＡＧＡＧＣＴ

ＡＧ３ｆｏｒ： ＡＧＧＴＴＣＴＡＧＣＣＣＫＴＣＴＧＣＷＴＣＹＡＣＹＧＧＴＡＣＹＧＧＹＣＣ

ＡＧ３ｒｅｖ： ＡＣＣＴＧＧＲＣＣＲＧＴＡＣＣＲＧＴＲＧＡＷＧＣＡＧＡＭＧＧＧＣＴＡＧＡ

ＡＧ４ｆｏｒ： ＡＧＧＴＧＣＷＴＣＹＣＣＫＧＧＹＡＣＹＡＧＣＴＣＴＡＣＹＧＧＴＴＣＴＣＣ

ＡＧ４ｒｅｖ： ＡＣＣＴＧＧＡＧＡＡＣＣＲＧＴＡＧＡＧＣＴＲＧＴＲＣＣＭＧＧＲＧＡＷＧＣ

ホスホリル化オリゴヌクレオチド３ＫｐｎＩｓｔｏｐｐｅｒＦｏｒ：ＡＧＧＴＴＣＧＴＣＴＴＣＡＣＴＣＧＡＧＧＧＴＡＣ、および非ホスホリル化オリゴヌクレオチドｐｒ＿３ＫｐｎＩｓｔｏｐｐｅｒＲｅｖ：ＣＣＴＣＧＡＧＴＧＡＡＧＡＣＧＡもアニールした。アニールしたオリゴヌクレオチド対をライゲーションしたところ、可変長を持つ産物の混合物をもたらし、これは１つのＢｂｓＩ／ＫｐｎＩセグメントにライゲーションされた可変数の１２ｍｅｒ反復を表す。３６個のアミノ酸長に対応する産物は、調製アガロースゲル電気泳動によって混合物から単離され、ＢｓａＩ／ＫｐｎＩ消化されたスタッファーベクターｐＣＷ０３５９にライゲーションされた。得られたライブラリー（ＬＣＷ０４０４と指定される）中のクローンの大部分は、誘導後に緑色蛍光を示し、これは、ＸＴＥＮ＿ＡＧ３６の配列が、枠内でＧＦＰ遺伝子とライゲーションされていたこと、およびＸＴＥＮ＿ＡＧ３６の大部分の配列が、良好な発現を示すことを示す。

【０５２９】

ライブラリーＬＣＷ０４０４からの９６個の単離体を、ＩＰＴＧを含有するアガープレートの上にそれらをスタンプすることによって、高レベルの蛍光についてスクリーニングした。同じ単離体をＰＣＲによって評価し、３６個のアミノ酸ならびに強力な蛍光を持つセグメントを含有する４８個の単離体を特定した。これらの単離体を配列決定し、正しいＸＴＥＮ＿ＡＧ３６セグメントを含有する４４個のクローンを特定した。これらのセグメントのヌクレオチドおよびアミノ酸構築体のファイル名および配列は、表２５に列挙される。

【０５３０】

【表２５－１】

【表２５】　３６－ｍｅｒモチーフのＤＮＡおよびアミノ酸配列

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
LCW0404_001_	GASPGTSSTGSPGT	GGTGCATCCCCGGGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACTCCTGGTA
GFP-	PGSGTASSSPGSST	GCGGTACTGCTTCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTAC
N_A07.ab1	PSGATGSP	TGGTTCTCCA
LCW0404_003_	GSSTPSGATGSPGS	GGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTTCTAGCCCGT
GFP-	SPSASTGTGPGSST	CTGCTTCTACCGGTACCGGTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTAC
N_B07.ab1	PSGATGSP	TGGTTCTCCA
LCW0404_006_	GASPGTSSTGSPGS	GGTGCATCTCCGGGTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCTT
GFP-	SPSASTGTGPGSST	CTGCTTCCACTGGTACCGGCCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTAC
N_C07.ab1	PSGATGSP	TGGTTCCCCA
LCW0404_007_	GTPGSGTASSSPGS	GGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCC
GFP-	STPSGATGSPGASP	CTTCTGGTGCAACTGGTTCCCCAGGTGCATCCCCTGGTACTAGCTCTAC
N_D07.ab1	GTSSTGSP	CGGTTCTCCA
LCW0404_009_	GTPGSGTASSSPGA	GGTACCCCTGGCAGCGGTACTGCTTCTTCTTCTCCAGGTGCTTCCCCTG

【０５３１】

【表２５－２】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
GFP-N_E07.ab1	SPGTSSTGSPGSRPSASTGTGP	GTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAGACCTTCTGCATCCACCGGTACTGGTCCA
LCW0404_011_GFP-N_F07.ab1	GASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP	GGTGCATCTCCTGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTGCTTCCCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_012_GFP-N_G07.ab1	GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP	GGTACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGTTCCCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCA
LCW0404_014_GFP-N_H07.ab1	GASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP	GGTGCATCTCCGGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCATCCCCTGGCACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCA
LCW0404_015_GFP-N_A08.ab1	GSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP	GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACTGGTACTGGCCCAGGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCA
LCW0404_016_GFP-N_B08.ab1	GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSP	GGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGTTCCCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCA
LCW0404_017_GFP-N_C08.ab1	GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP	GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTGCATCCCCTGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCA
LCW0404_018_GFP-N_D08.ab1	GTPGSGTASSSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSP	GGTACTCCTGGTAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCTACCGGTACCGGTCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTACTGGCTCTCCA
LCW0404_023_GFP-N_F08.ab1	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSP	GGTGCTTCCCCGGGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTACTCCGGGCAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCA
LCW0404_025_GFP-N_G08.ab1	GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP	GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTGCTTCTCCGGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCA
LCW0404_029_GFP-N_A09.ab1	GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGP	GGTACCCCTGGCAGCGGTACCGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCATCTACCGGTACCGGCCCA
LCW0404_030_GFP-N_B09.ab1	GSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGTPGSGTASSSP	GGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTACCCCGGGCAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAGGTACTCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCTTCCA

【０５３２】

【表２５－３】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
LCW0404_031_	GTPGSGTASSSPGS	GGTACCCCGGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCC
GFP-	STPSGATGSPGASP	CTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTAC
N_C09.ab1	GTSSTGSP	CGGTTCTCCA
LCW0404_034_	GSSTPSGATGSPGS	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCC
GFP-	STPSGATGSPGASP	CGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTGCATCCCCGGGTACTAGCTCTAC
N_D09.ab1	GTSSTGSP	CGGTTCTCCA
LCW0404_035_	GASPGTSSTGSPGT	GGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTACCCCGGGCA
GFP-	PGSGTASSSPGSST	GCGGTACCGCATCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAAC
N_E09.ab1	PSGATGSP	TGGTTCTCCA
LCW0404_036_	GSSPSASTGTGPGS	GGTTCTAGCCCGTCTGCTTCCACCGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACCC
GFP-	STPSGATGSPGTPG	CGTCTGGTGCAACTGGTTCCCCAGGTACCCCTGGTAGCGGTACCGCTTC
N_F09.ab1	SGTASSSP	TTCTTCTCCA
LCW0404_037_	GASPGTSSTGSPGS	GGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCTT
GFP-	SPSASTGTGPGSST	CTGCATCCACCGGTACCGGTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAAC
N_G09.ab1	PSGATGSP	CGGCTCTCCA
LCW0404_040_	GASPGTSSTGSPGS	GGTGCATCCCCGGGCACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCC
GFP-	STPSGATGSPGSST	CGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTAC
N_H09.ab1	PSGATGSP	TGGCTCTCCA
LCW0404_041_	GTPGSGTASSSPGS	GGTACCCCTGGTAGCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACTC
GFP-	STPSGATGSPGTPG	CGTCTGGTGCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCATC
N_A10.ab1	SGTASSSP	TTCTTCTCCA
LCW0404_043_	GSSPSASTGTGPGS	GGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACCGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACCC
GFP-	STPSGATGSPGSST	CTTCTGGTGCTACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAAC
N_C10.ab1	PSGATGSP	TGGCTCTCCA
LCW0404_045_	GASPGTSSTGSPGS	GGTGCTTCTCCTGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCTT
GFP-	SPSASTGTGPGSSP	CTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCCACTGG
N_D10.ab1	SASTGTGP	TACTGGTCCA
LCW0404_047_	GTPGSGTASSSPGA	GGTACTCCTGGCAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAGGTGCTTCTCCTG
GFP-	SPGTSSTGSPGASP	GTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACTAGCTCTAC
N_F10.ab1	GTSSTGSP	TGGTTCTCCA
LCW0404_048_	GSSTPSGATGSPGA	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACCGGTTCCCCAGGTGCTTCTCCTG
GFP-	SPGTSSTGSPGSST	GTACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTAC
N_G10.ab1	PSGATGSP	TGGCTCTCCA
LCW0404_049_	GSSTPSGATGSPGT	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGTTCTCCAGGTACTCCGGGCA
GFP-	PGSGTASSSPGSST	GCGGTACTGCTTCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCTAC

【０５３３】

【表２５－４】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
N_H10.ab1	PSGATGSP	TGGCTCTCCA
LCW0404_050_	GASPGTSSTGSPGS	GGTGCATCTCCTGGTACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCTT
GFP-	SPSASTGTGPGSST	CTGCTTCTACCGGTACCGGTCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTAC
N_A11.ab1	PSGATGSP	CGGTTCTCCA
LCW0404_051_	GSSTPSGATGSPGS	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCTCCAGGTAGCTCTACTC
GFP-	STPSGATGSPGSST	CTTCTGGTGCTACTGGTTCCCCAGGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAAC
N_B11.ab1	PSGATGSP	TGGCTCTCCA
LCW0404_052_	GASPGTSSTGSPGT	GGTGCATCCCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACTCCTGGCA
GFP-	PGSGTASSSPGASP	GCGGTACTGCATCTTCCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGCACCAGCTCTAC
N_C11.ab1	GTSSTGSP	TGGTTCTCCA
LCW0404_053_	GSSTPSGATGSPGS	GGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCAACTGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCGT
GFP-	SPSASTGTGPGASP	CTGCATCCACTGGTACCGGTCCAGGTGCTTCCCCTGGCACCAGCTCTAC
N_D11.ab1	GTSSTGSP	CGGTTCTCCA
LCW0404_057_	GASPGTSSTGSPGS	GGTGCATCTCCTGGTACTAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTAGCTCTACTC
GFP-	STPSGATGSPGSSP	CGTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCATCTACCGG
N_E11.ab1	SASTGTGP	TACTGGTCCA
LCW0404_060_	GTPGSGTASSSPGS	GGTACTCCTGGCAGCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACTC
GFP-	STPSGATGSPGASP	CGTCTGGTGCAACTGGTTCCCCAGGTGCTTCTCCGGGTACCAGCTCTAC
N_F11.ab1	GTSSTGSP	CGGTTCTCCA
LCW0404_062_	GSSTPSGATGSPGT	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTACTCCTGGTA
GFP-	PGSGTASSSPGSST	GCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCTAC
N_G11.ab1	PSGATGSP	CGGCTCCCCA
LCW0404_066_	GSSPSASTGTGPGS	GGTTCTAGCCCTTCTGCATCCACCGGTACCGGCCCAGGTTCTAGCCCGT
GFP-	SPSASTGTGPGASP	CTGCTTCTACCGGTACTGGTCCAGGTGCTTCTCCGGGTACTAGCTCTAC
N_H11.ab1	GTSSTGSP	TGGTTCTCCA
LCW0404_067_	GTPGSGTASSSPGS	GGTACCCCGGGTAGCGGTACCGCTTCTTCTTCTCCAGGTAGCTCTACTC
GFP-	STPSGATGSPGSNP	CGTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTTCTAACCCTTCTGCATCCACCGG
N_A12.ab1	SASTGTGP	TACCGGCCCA
LCW0404_068_	GSSPSASTGTGPGS	GGTTCTAGCCCTTCTGCATCTACTGGTACTGGCCCAGGTAGCTCTACTC
GFP-	STPSGATGSPGASP	CTTCTGGTGCTACCGGCTCTCCAGGTGCTTCTCCGGGTACTAGCTCTAC
N_B12.ab1	GTSSTGSP	CGGTTCTCCA
LCW0404_069_	GSSTPSGATGSPGA	GGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAACCGGCTCTCCAGGTGCATCCCCGG
GFP-	SPGTSSTGSPGTPG	GTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACTCCGGGTAGCGGTACCGCTTC
N_C12.ab1	SGTASSSP	TTCCTCTCCA
LCW0404_070_	GSSTPSGATGSPGS	GGTAGCTCTACTCCGTCTGGTGCAACCGGTTCCCCAGGTAGCTCTACCC

【０５３４】

【表２５－５】

ファイル名	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
GFP-	STPSGATGSPGSST	CTTCTGGTGCAACCGGCTCCCCAGGTAGCTCTACCCCTTCTGGTGCAAC
N_D12.ab1	PSGATGSP	TGGCTCTCCA
LCW0404_073_	GASPGTSSTGSPGT	GGTGCTTCTCCTGGCACTAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTACCCCTGGTA
GFP-	PGSGTASSSPGSST	GCGGTACCGCATCTTCCTCTCCAGGTAGCTCTACTCCTTCTGGTGCTAC
N_E12.ab1	PSGATGSP	TGGTTCCCCA
LCW0404_075_	GSSTPSGATGSPGS	GGTAGCTCTACCCCGTCTGGTGCTACTGGCTCCCCAGGTTCTAGCCCTT
GFP-	SPSASTGTGPGSSP	CTGCATCCACCGGTACCGGTCCAGGTTCTAGCCCGTCTGCATCTACTGG
N_F12.ab1	SASTGTGP	TACTGGTCCA
LCW0404_080_	GASPGTSSTGSPGS	GGTGCTTCCCCGGGCACCAGCTCTACTGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCGT
GFP-	SPSASTGTGPGSSP	CTGCTTCTACTGGTACTGGTCCAGGTTCTAGCCCTTCTGCTTCCACTGG
N_G12.ab1	SASTGTGP	TACTGGTCCA
LCW0404_081_	GASPGTSSTGSPGS	GGTGCTTCCCCGGGTACCAGCTCTACCGGTTCTCCAGGTTCTAGCCCTT
GFP-	SPSASTGTGPGTPG	CTGCTTCTACCGGTACCGGTCCAGGTACCCCTGGCAGCGGTACCGCATC
N_H12.ab1	SGTASSSP	TTCCTCTCCA

【０５３５】
実施例５：ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４の構築
ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４は、ＸＴＥＮ＿ＡＥ３６からＡＥ７２、１４４、２８８、５７６、および８６４への連続二量体化から構築した。ＸＴＥＮ＿ＡＥ７２セグメントの集合は、ＸＴＥＮ＿ＡＥ３６の３７個の異なるセグメントから構築した。３７個の異なる３６－アミノ酸セグメントを全て内包する大腸菌の培養物を混合し、プラスミドを単離した。このプラスミドプールをＢｓａＩ／Ｎｃｏｌで消化し、小さなフラグメントを挿入として生成した。同じプラスミドプールをＢｂｓＩ／Ｎｃｏｌで消化し、大きなフラグメントをベクターとして生成した。これらの挿入およびベクターフラグメントをライゲーションして長さを２倍にし、ライゲーション混合物をＢＬ２１Ｇｏｌｄ（ＤＥ３）細胞に形質転換してＸＴＥＮ＿ＡＥ７２のコロニーを得た。
【０５３６】
ＸＴＥＮ＿ＡＥ７２セグメントのこのライブラリーは、ＬＣＷ０４０６と指定した。ＬＣＷ０４０６からの全てのクローンを合わせ、上記と同じプロセスを使用して再度二量体化して、ＸＴＥＮ＿ＡＥ１４４のライブラリーＬＣＷ０４１０を生じた。ＬＣＷ０４１０からの全てのクローンを合わせ、上記と同じプロセスを使用して再度二量体化して、ＸＴＥＮ＿ＡＥ２８８のライブラリーＬＣＷ０４１４を生じた。２つの単離体ＬＣＷ０４１４．００１およびＬＣＷ０４１４．００２を、ライブラリーからランダムに選抜し、配列決定して同一性を検証した。ＬＣＷ０４１４からの全てのクローンを合わせ、上記と同じプロセスを使用して再度二量体化して、ＸＴＥＮ＿ＡＥ５７６のライブラリーＬＣＷ０４１８を生じた。ライブラリーＬＣＷ０４１８からの９６個の単離体を、高レベルのＧＦＰ蛍光についてスクリーニングした。ＰＣＲによる適正サイズの挿入および強い蛍光を持つ８個の単離体を配列決定し、２個の単離体（ＬＣＷ０４１８．０１８およびＬＣＷ０４１８．０５２）を、配列決定および発現データに基づいて、今後の使用のために選択した。
【０５３７】
ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４の特定のクローンｐＣＷ０４３２は、上記と同じ二量体化プロセスを使用し、ＸＴＥＮ＿ＡＥ５７６のＬＣＷ０４１８．０１８と、ＸＴＥＮ＿ＡＥ２８８のＬＣＷ０４１４．００２とを合わせることによって構築した。
【０５３８】
実施例６：ＸＴＥＮ＿ＡＧ８６４の構築
数回の連続二量体化を使用して、実施例１に列挙されるＸＴＥＮ＿ＡＤ３６のセグメントから始まるＸＴＥＮ＿ＡＧ８６４配列の集合を組み立てた。これらの配列は、実施例３に記載の通り組み立てた。ＸＴＥＮ＿ＡＧ８６４からのいくつかの単離体を評価したところ、生理学的条件下で良好な発現および優れた可溶性を示すことが見出された。ＸＴＥＮ＿ＡＧ８６４の全長クローンは、優れた可溶性を有し、カニクイザルにおいて６０時間を超える半減期を示した。
【０５３９】
実施例７：ＣＢＤ－ＸＴＥＮ－Ｃｙｓ、システイン操作されたＸＴＥＮの構築
１つのシステインを含有するアミノ酸配列ＧＧＳＰＡＧＳＣＴＳＰをコードするシステイン島（ＣｙｓＩｓｌａｎｄ）は、アニールしたオリゴによってＣＢＤ－スタッファー－ＧＦＰベクターに導入し、ＣＢＤ－ＣｙｓＩｓｌａｎｄ－ＧＦＰを得た（ＣｙｓＩｓｌａｎｄは、制限部位ＢｓａＩおよびＢｂｓＩに隣接する）。ＣＢＤ－スタッファー－ＧＦＰベクターは、ＣＢＤとスタッファーとの間にＴＥＶプロテアーゼ認識部位を持つＮｏｖａｇｅｎに由来するｐＥＴ３０である。構築体は、ＣＢＤ－スタッファー－ＧＦＰベクター中のスタッファーを、ＸＴＥＮ＿ＡＥ２８８およびＸＴＥＮ＿ＡＥ５７６をコードする遺伝子と置き換えることによって以前に生成された。ＣＢＤ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ２８８－ＧＦＰのプラスミドをＢｓａＩ／Ｎｃｏｌで消化し、小さなフラグメントを挿入として生成した。ＣＢＤ－ＣｙｓＩｓｌａｎｄ－ＧＦＰのプラスミドをＢｂｓＩ／Ｎｃｏｌで消化し、大きなフラグメントをベクターとして生成した。これらの挿入およびベクターフラグメントをライゲーションし、ライゲーション混合物をＢＬ２１－Ｇｏｌｄ（ＤＥ３）細胞に電

気穿孔して、ＣＢＤ－ＣｙｓＩｓｌａｎｄ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ２８８－ＧＦＰの形質転換体を得た。同様に、ＣＢＤ－ＣｙｓＩｓｌａｎｄ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ２８８－ＧＦＰのプラスミドをＢｓａＩ／Ｎｃｏｌで消化し、小さなフラグメントを挿入として生成した。ＣＢＤ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ５７６－ＧＦＰのプラスミドをＢｂｓＩ／Ｎｃｏｌで消化し、大きなフラグメントをベクターとして生成した。これらの挿入およびベクターフラグメントをライゲーションし、ライゲーション混合物をＢＬ２１－Ｇｏｌｄ（ＤＥ３）細胞に電気穿孔して、ＣＢＤ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ５７６－ＣｙｓＩｓｌａｎｄ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ２８８－ＧＦＰの形質転換体を得た。最後に、ＣＢＤ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ５７６－ＣｙｓＩｓｌａｎｄ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ２８８－ＧＦＰのプラスミドをＢｂｓＩ／ＨｉｎｄＩＩＩで消化してＧＦＰを除去し、終止コドンに対しアニールしたオリゴとライゲーションし、ライゲーション混合物をＢＬ２１－Ｇｏｌｄ（ＤＥ３）細胞に電気穿孔して、表２６に列挙されるＤＮＡおよびコードされたアミノ酸配列を有するＣＢＤ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ５７６－ＣｙｓＩｓｌａｎｄ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ２８８の形質転換体を得た。追加の構築体は、複数の挿入を含む、所与の位置に適切な制限部位の選択によって、ＸＴＥＮ配列内の異なる位置に挿入されたシステインを用いて創製することができる。この方法を利用して、リジンをコードするコドンを、オリゴヌクレオチド中のシステインをコードするものと置換することによって、リジン操作されたＸＴＥＮを創製することもできる。

【０５４０】

【表２６－１】

【表２６】　Ｃｙｓ操作されたＸＴＥＮのＤＮＡおよびアミノ酸配列

クローン名	DNA 配列	アミノ酸配列
CBD-TEV-AE576-CysIsland-AE288	ATGGCAAATACACCGGTATCAGGCAATTTGAAGGTTGA	MANTPVSGNLKVEFYNSNPSDTTNSINP
	ATTCTACAACAGCAATCCTTCAGATACTACTAACTCAA	QFKVTNTGSSAIDLSKLTLRYYYTVDGQ
	TCAATCCTCAGTTCAAGGTTACTAATACCGGAAGCAGT	KDQTFWADHAAIIGSNGSYNGITSNVKG
	GCAATTGATTTGTCCAAACTCACATTGAGATATTATTA	TFVKMSSSTNNADTYLEISFTGGTLEPG
	TACAGTAGACGGACAGAAAGATCAGACCTTCTGGGCTG	AHVQIQGRFAKNDWSNYTQSNDYSFKSA
	ACCATGCTGCAATAATCGGCAGTAACGGCAGCTACAAC	SQFVEWDQVTAYLNGVLVWGKEPGGSVV
	GGAATTACTTCAAATGTAAAAGGAACATTTGTAAAAAT	GSGSGSENLYFQGGSPGSPAGSPTSTEE
	GAGTTCCTCAACAAATAACGCAGACACCTACCTTGAAA	GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPA
	TCAGCTTTACAGGCGGAACTCTTGAACCGGGTGCACAT	GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE
	GTTCAGATACAAGGTAGATTTGCAAAGAATGACTGGAG	GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP
	TAACTATACACAGTCAAATGACTACTCATTCAAGTCTG	GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSE
	CTTCACAGTTTGTTGAATGGGATCAGGTAACAGCATAC	SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE
	TTGAACGGTGTTCTTGTATGGGGTAAAGAACCCGGTGG	GSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP
	CAGTGTAGTAGGTTCAGGTTCAGGATCCGAAAATCTGT	GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTST
	ATTTTCAGGGTGGGTCTCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCT	EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG
	CCTACCTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAAAGCGCTAC	SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP
	TCCTGAGTCTGGTCCAGGTACCTCTACTGAACCGTCCG	GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPA
	AAGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCAGGCTCTCCGACT	GSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSG

【０５４１】

【表２６－２】

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
	TCCACTGAGGAAGGTACTTCTACTGAACCTTCCGAAGG	SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
	CAGCGCACCAGGTACCTCTACTGAACCTTCTGAGGGCA	GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTST
	GCGCTCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCT	EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE
	GGCCCAGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAAC	GSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP
	CCCAGGTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTC	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE
	CAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGAGGAA	SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP
	GGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCCCAGG	ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP
	TACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCAGGTA	GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPA
	CTTCTACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGC	GSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE
	CCAGCAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTC	GSAPGGSPAGSCTSPGTSESATPESGPG
	TACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTA	SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPA
	CTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTACTTCTGAA	TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG
	AGCGCTACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTACTTCTACTGA	SAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG
	ACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCG	SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAG
	CAACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAGCGAACCGGCTACT	SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG
	TCTGGCTCTGAGACTCCAGGTACTTCTACCGAACCGTC	SAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG
	CGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTACTGAACCGTCTG	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA
	AAGGTAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCG	TSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG
	GAATCCGGCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCGGA	SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPG
	GTCCGGCCCAGGTAGCCCTGCTGGCTCTCCAACCTCCA	TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
	CCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAACCCCTGAATCC	
	GGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCCGGTTCTGAAAC	
	CCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTCCGGAGTCTGGCC	
	CAGGTACCTCTACTGAACCGTCTGAGGGTAGCGCTCCA	
	GGTACTTCTACTGAACCGTCCGAAGGTAGCGCACCAGG	
	TACTTCTACCGAACCGTCCGAAGGCAGCGCTCCAGGTA	
	CCTCTACTGAACCTTCCGAGGGCAGCGCTCCAGGTACC	
	TCTACCGAACCTTCTGAAGGTAGCGCACCAGGTACTTC	
	TACCGAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTAGCCCAG	
	CAGGTTCTCCTACCTCCACCGAGGAAGGTACTTCTACC	
	GAACCGTCCGAGGGTAGCGCACCAGGTACCTCTGAAAG	
	CGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCGAACCTGCTA	
	CCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCTGAAAGCGCA	
	ACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACCTGCAACCTC	
	TGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAAGCGCTACTC	

【０５４２】

【表２６－３】

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
	CTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAACCGTCCGAG	
	GGCAGCGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGA	
	GTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTTCCA	
	CCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCTACT	
	GAAGAAGGTAGCCCGGCAGGCTCTCCGACCTCTACTGA	
	GGAAGGTACTTCTGAAAGCGCAACCCCGGAGTCCGGCC	
	CAGGTACCTCTACCGAACCGTCTGAGGGCAGCGCACCA	
	GGTGGTAGCCCGGCTGGCTCTTGTACCTCTCCAGGTAC	
	CTCTGAAAGCGCAACTCCTGAGTCTGGCCCAGGTAGCG	
	AACCTGCTACCTCCGGCTCTGAGACTCCAGGTACCTCT	
	GAAAGCGCAACCCCGGAATCTGGTCCAGGTAGCGAACC	
	TGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGAAA	
	GCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTGAA	
	CCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTAGCCCTGCTGGCTC	
	TCCAACCTCCACCGAAGAAGGTACCTCTGAAAGCGCAA	
	CCCCTGAATCCGGCCCAGGTAGCGAACCGGCAACCTCC	
	GGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCC	
	TGAGTCCGGCCCAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCGACTT	
	CCACCGAGGAAGGTAGCCCGGCTGGCTCTCCAACTTCT	
	ACTGAAGAAGGTACTTCTACCGAACCTTCCGAGGGCAG	
	CGCACCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCTGAGTCCG	
	GCCCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACTCCTGAATCCGGT	
	CCAGGTACTTCTGAAAGCGCTACCCCGGAATCTGGCCC	
	AGGTAGCGAACCGGCTACTTCTGGTTCTGAAACCCCAG	
	GTAGCGAACCGGCTACCTCCGGTTCTGAAACTCCAGGT	
	AGCCCAGCAGGCTCTCCGACTTCCACTGAGGAAGGTAC	
	TTCTACTGAACCTTCCGAAGGCAGCGCACCAGGTACCT	
	CTACTGAACCTTCTGAGGGCAGCGCTCCAGGTAGCGAA	
	CCTGCAACCTCTGGCTCTGAAACCCCAGGTACCTCTGA	
	AAGCGCTACTCCTGAATCTGGCCCAGGTACTTCTACTG	
	AACCGTCCGAGGGCAGCGCACCAGGTTAA	

【０５４３】

実施例８：Ｃｙｓ３－ＸＴＥＮの構築

一対のプライマーは、配列ＧＲＡＴＡＥＡＡＧＣＧＴＡＥＡＡの制限部位ＢａｍＨＩおよびシステイン島１をＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－１のＮ末端に、および配列ＴＡＥＡＡＧの部分的システイン島２および制限部位ＢｂＳｌをＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－１のＣ末端に導入するように設計された。第２のプライマー対は、配列ＧＣＧＴＡＥＡＡの制限部位ＢｓａＩおよび部分的システイン島２をＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－２のＮ末端に、および８ｘＨｉｓタグ（Ｈ８）を持つ配列ＴＡＥＡＡＧＣＧＴＡＥＡＡＲのシステイン島４および制限部位ＨｉｎｄＩＩＩをＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－２のＣ末端に導入するように設計された。ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－１は、１～４３２アミノ酸配列を含有し、ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－２は、ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４遺伝子によってコードされた４３３～８６４アミノ酸配列を有する。これらの２つのプライマー対を使用して、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）によって、それぞれＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－１およびＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－遺伝子を増幅させた。適正サイズのＰＣＲ産物をゲル精製し、それぞれ制限酵素ＢａｍＨＩ／ＢｂｓＩおよびＢｓａＩ／ＨｉｎｄＩＩＩでライゲーションのための挿入として消化した。宛先ベクターである、ｐＥＴ３０の誘導体（Ｎｏｖａｇｅｎ）は、隣接する制限部位ＢａｍＨＩおよびＨｉｎｄＩＩＩを持つＣＢＤ（セルロース結合ドメイン）－スタッファーを含む。宛先ベクターを制限酵素ＢａｍＨＩ／ＨｉｎｄＩＩＩで消化してスタッファーを除去し、ベクターとして調製した。このベクターを、上記ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－１のＢａｍＨＩ／ＢｂｓＩで消化されたＰＣＲ産物、およびＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－２のＢｓａＩ／Ｈｉ

ｎｄＩＩＩで消化されたＰＣＲとライゲーションした。ライゲーション混合物は、大腸菌の上位１０個のコンピテント細胞に形質転換した。ＤＮＡミニプレップによって軽質転換体をスクリーニングし、ＤＮＡ配列決定によって所望の構築体を確認した。したがって、最終プラスミドは、Ｔ７プロモーターの制御下で、ＣＢＤ－システイン島１－ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－システイン島２－ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－システイン島３－Ｈ８遺伝子を生じる。ＤＮＡ配列およびタンパク質配列は、表２７に提供される。

【０５４４】

【表２７－１】

【表２７】　Ｃｙｓ３－ＸＴＥＮ　ＤＮＡおよびアミノ酸配列

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
CBD-Cys1-	ATGGCTAATACCCCAGTGAGCGGCAACCTGAAAGTGGAATTCTACA	MANTPVSGNLKVEFY
AE432-	ATAGCAACCCGAGCGACACCACCAACAGCATTAATCCGCAGTTCAA	NSNPSDTTNSINPQF
Cys2-	AGTGACCAACACGGGTAGCTCCGCGATCGATCTGTCGAAGCTGACG	KVTNTGSSAIDLSKL
AE432-	CTGCGTTACTATTACACGGTTGACGGTCAGAAAGATCAGACGTTCT	TLRYYYTVDGQKDQT
Cys3-H8	GGGCTGACCATGCGGCCATTATTGGCAGCAACGGTTCCTACAACGG	FWADHAAIIGSNGSY
(AC673)	TATCACGAGCAATGTCAAAGGCACTTTTGTTAAGATGAGCTCTTCG	NGITSNVKGTFVKMS
	ACCAACAATGCCGATACCTATCTGGAGATTAGCTTCACCGGTGGTA	SSTNNADTYLEISFT
	CTCTGGAGCCGGGTGCACACGTTCAAATCCAAGGTCGCTTCGCAAA	GGTLEPGAHVQIQGR
	GAATGACTGGAGCAACTATACCCAGTCCAATGACTACAGCTTCAAA	FAKNDWSNYTQSNDY
	AGCGCTAGCCAATTTGTTGAATGGGATCAGGTCACCGCATACCTGA	SFKSASQFVEWDQVT

【０５４５】

【表２７－２】

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
	ACGGCGTGCTGGTCTGGGGCAAGGAACCGGGTGGTAGCGTTGTCGG	AYLNGVLVWGKEPGG
	TTCTGGCAGCGGATCCggtcgtGCGACGGCAGAAGCCGCTGGCtgc	SVVGSGSGSGRATAE
	GGTACTGCTGAAGCGGCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAACCTCTA	AAGCGTAEAAGSPAG
	CCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGG	SPTSTEEGTSESATP
	TACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCA	ESGPGTSTEPSEGSA
	GGTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATCTG	PGSPAGSPTSTEEGT
	AGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGTGC	STEPSEGSAPGTSTE
	TCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCT	PSEGSAPGTSESATP
	GAGCCTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGA	ESGPGSEPATSGSET
	CTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAG	PGSEPATSGSETPGS
	CACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCG	PAGSPTSTEEGTSES
	GGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCA	ATPESGPGTSTEPSE
	CGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCCC	GSAPGTSTEPSEGSA
	TACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGC	PGSPAGSPTSTEEGT
	GCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCA	STEPSEGSAPGTSTE
	CTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGA	PSEGSAPGTSESATP
	ACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCA	ESGPGTSTEPSEGSA
	GAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCC	PGTSESATPESGPGS
	CAGGTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTC	EPATSGSETPGTSTE
	TACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCT	PSEGSAPGTSTEPSE
	ACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGA	GSAPGTSESATPESG
	GCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGG	PGTSESATPESGPGS
	CACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCGAACCT	PAGSPTSTEEGTSES
	GCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGCGACTC	ATPESGPGSEPATSG
	CGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGC	SETPGTSESATPESG
	ACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACC	PGTSTEPSEGSAPGT
	TCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGC	STEPSEGSAPGTSTE
	CATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGG	PSEGSAPGTSTEPSE
	CTCTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCA	GSAPGTSTEPSEGSA
	GGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAGCA	PGTSTEPSEGSAPGS
	CCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAACCGCTGAAGCCGCAGGTtg	PAGSPTSTEEGTSTE
	tGGCACTGCGGAAGCTGCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAA	PSEGSAPTAEAAGCG
	TCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGG	TAEAAGTSESATPES
	GCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCC	GPGSEPATSGSETPG
	GGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACG	TSESATPESGPGSEP

【０５４６】

【表２７－３】

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
	CCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGG	ATSGSETPGTSESAT
	CACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAG	PESGPGTSTEPSEGS
	CCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGT	APGTSESATPESGPG
	AGCCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTT	SPAGSPTSTEEGSPA
	CTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCC	GSPTSTEEGSPAGSP
	TGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCT	TSTEEGTSESATPES
	GAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTT	GPGTSTEPSEGSAPG
	CTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATC	TSESATPESGPGSEP
	CGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGT	ATSGSETPGTSESAT
	ACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTG	PESGPGSEPATSGSE
	AGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGAC	TPGTSESATPESGPG
	CAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGC	TSTEPSEGSAPGSPA
	CCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCT	GSPTSTEEGTSESAT
	CCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTC	PESGPGSEPATSGSE
	TCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGC	TPGTSESATPESGPG
	ACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGG	SPAGSPTSTEEGSPA
	GTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGA	GSPTSTEEGTSTEPS
	ATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACT	EGSAPGTSESATPES
	CCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAA	GPGTSESATPESGPG
	CTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAG	TSESATPESGPGSEP
	CCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAA	ATSGSETPGSEPATS
	CCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCATCGGAGG	GSETPGSPAGSPTST
	GCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCC	EEGTSTEPSEGSAPG
	GGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGC	TSTEPSEGSAPGSEP
	ACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAACTGCAGAAGCGGCTGGTt	ATSGSETPGTSESAT
	gtGGCACCGCCGAAGCAGCTcgtCATCACCATCACCACCATCATCA	PESGPGTSTEPSEGS
	CTAA	APTAEAAGCGTAEAA
		RHHHHHHHH

【０５４７】

実施例９：Ｌｙｓ２－ＸＴＥＮの構築

一対のプライマーは、制限部位ＢａｍＨＩおよびアミノ酸配列ＧＲＧＳＰをＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－１のＮ末端に、およびアミノ酸配列ＴＡＥＡＡＧおよび制限部位ＢｂｓＩをＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－１のＣ末端に導入するように設計された。第２のプライマー対は、制限部位ＢｓａＩおよびＧＫＰＧＴＡＥＡＡの統合されたリジンを持つアミノ酸配列をＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－２のＮ末端に、および８ｘＨｉｓタグ（Ｈ８）を持つＧＫＡＴの統合されたリジンを持つアミノ酸配列および制限部位ＨｉｎｄＩＩＩをＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－２のＣ末端に導入するように設計された。ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－１は、１～４３２アミノ酸配列を含有し、ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－２は、ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４遺伝子によってコードされた４３３～８６４アミノ酸配列を有する。これらの２つのプライマー対を使用して、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）によって、それぞれＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－１およびＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－２遺伝子を増幅させた。適正サイズのＰＣＲ産物をゲル精製し、それぞれ制限酵素ＢａｍＨＩ／ＢｂｓＩおよびＢｓａＩ／ＨｉｎｄＩＩＩでライゲーションのための挿入として消化した。隣接する制限部位ＢａｍＨＩ／ＨｉｎｄＩＩＩを持つＣＢＤ（セルロース結合ドメイン）－スタッファーの宛先ベクターであるｐＥＴ３０（Ｎｏｖａｇｅｎ）の誘導体を、制限酵素ＢａｍＨＩ／ＨｉｎｄＩＩＩで消化してスタッファーを除去し、ベクターとして調製した。このベクターを、上記のＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－１のＢａｍＨＩ／ＢｂｓＩで消化されたＰＣＲ産物、およびＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－２のＢｓａＩ／ＨｉｎｄＩＩＩで消化されたＰＣＲとライゲーションする。ライゲーション混合物は、大腸菌の上位１０個のコンピテント細胞に形質転換した。ＤＮＡミニプレップによって形質転換体をスクリーニングし、ＤＮＡ配列決定によって所望の構築体を

確認した。したがって、最終プラスミドは、Ｔ７プロモーターの制御下で、ＣＢＤ－ＧＲＧＳＰ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－ＴＡＥＡＡＧＫＰＧＴＡＥＡＡ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２－ＧＫＡＴ－Ｈ８遺伝子を生じる。ＤＮＡ配列およびタンパク質配列は、表２８に提供される。

【０５４８】

【表２８－１】

【表２８】　Ｌｙｓ２－ＸＴＥＮ　ＤＮＡおよびアミノ酸配列

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
CBD-R-	ATGGCTAATACCCCAGTGAGCGGCAACCTGAAAGTGGAATTCTACA	MANTPVSGNLKVEFY
AE432-K-	ATAGCAACCCGAGCGACACCACCAACAGCATTAATCCGCAGTTCAA	NSNPSDTTNSINPQF
AE432-K-H8	AGTGACCAACACGGGTAGCTCCGCGATCGATCTGTCGAAGCTGACG	KVTNTGSSAIDLSKL
(AC698)	CTGCGTTACTATTACACGGTTGACGGTCAGAAAGATCAGACGTTCT	TLRYYYTVDGQKDQT
	GGGCTGACCATGCGGCCATTATTGGCAGCAACGGTTCCTACAACGG	FWADHAAIIGSNGSY
	TATCACGAGCAATGTCAAAGGCACTTTTGTTAAGATGAGCTCTTCG	NGITSNVKGTFVKMS
	ACCAACAATGCCGATACCTATCTGGAGATTAGCTTCACCGGTGGTA	SSTNNADTYLEISFT
	CTCTGGAGCCGGGTGCACACGTTCAAATCCAAGGTCGCTTCGCAAA	GGTLEPGAHVQIQGR
	GAATGACTGGAGCAACTATACCCAGTCCAATGACTACAGCTTCAAA	FAKNDWSNYTQSNDY
	AGCGCTAGCCAATTTGTTGAATGGGATCAGGTCACCGCATACCTGA	SFKSASQFVEWDQVT
	ACGGCGTGCTGGTCTGGGGCAAGGAACCGGGTGGTAGCGTTGTCGG	AYLNGVLVWGKEPGG
	TTCTGGCAGCGGATCCggtcgtGGGTCTCCAGGTAGCCCAGCTGGT	SVVGSGSGSGRGSPG
	AGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAG	SPAGSPTSTEEGTSE

【０５４９】

【表２８－２】

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
	AATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCTCC	SATPESGPGTSTEPS
	AGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGC	EGSAPGSPAGSPTST
	ACCGAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGT	EEGTSTEPSEGSAPG
	CCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATC	TSTEPSEGSAPGTSE
	CGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGT	SATPESGPGSEPATS
	AGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGG	GSETPGSEPATSGSE
	GTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCC	TPGSPAGSPTSTEEG
	TGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCC	TSESATPESGPGTST
	CCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCCGGGTTCTC	EPSEGSAPGTSTEPS
	CGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACC	EGSAPGSPAGSPTST
	TAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGC	EEGTSTEPSEGSAPG
	AGCGCACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGG	TSTEPSEGSAPGTSE
	GTACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGA	SATPESGPGTSTEPS
	ATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCT	EGSAPGTSESATPES
	GGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCG	GPGSEPATSGSETPG
	CTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTAC	TSTEPSEGSAPGTST
	GTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGC	EPSEGSAPGTSESAT
	GCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCT	PESGPGTSESATPES
	CCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCC	GPGSPAGSPTSTEEG
	TGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCG	TSESATPESGPGSEP
	GAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGT	ATSGSETPGTSESAT
	CTGAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTC	PESGPGTSTEPSEGS
	TGCACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGT	APGTSTEPSEGSAPG
	ACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCACGG	TSTEPSEGSAPGTST
	AACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGA	EPSEGSAPGTSTEPS
	GGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAA	EGSAPGTSTEPSEGS
	GAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAACCGCTG	APGSPAGSPTSTEEG
	AAGCCGCAGGTaaaccgGGCACTGCGGAAGCTGCAGGTACAAGCGA	TSTEPSEGSAPTAEA
	GAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGC	AGKPGTAEAAGTSES
	GGTTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCG	ATPESGPGSEPATSG
	GTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTAC	SETPGTSESATPESG
	GTCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAA	PGSEPATSGSETPGT
	CCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTG	SESATPESGPGTSTE
	AAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGA	PSEGSAPGTSESATP
	AGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCT	ESGPGSPAGSPTSTE

【０５５０】

【表２８－３】

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
	GCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTA	EGSPAGSPTSTEEGS
	CCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTC	PAGSPTSTEEGTSES
	TGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGT	ATPESGPGTSTEPSE
	TCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGT	GSAPGTSESATPESG
	CCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGG	PGSEPATSGSETPGT
	CAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGT	SESATPESGPGSEPA
	CCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTC	TSGSETPGTSESATP
	CGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGC	ESGPGTSTEPSEGSA
	AACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGC	PGSPAGSPTSTEEGT
	GAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTG	SESATPESGPGSEPA
	GCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGC	TSGSETPGTSESATP
	AGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGC	ESGPGSPAGSPTSTE
	GAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCG	EGSPAGSPTSTEEGT
	GTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTAC	STEPSEGSAPGTSES
	TTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCA	ATPESGPGTSESATP
	ACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTT	ESGPGTSESATPESG
	CTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGA	PGSEPATSGSETPGS
	GGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCC	EPATSGSETPGSPAG
	ACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGT	SPTSTEEGTSTEPSE
	CTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATC	GSAPGTSTEPSEGSA
	CGGTCCGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAggt	PGSEPATSGSETPGT
	AAAgcgaccCATCACCATCACCACCATCATCACTAA	SESATPESGPGTSTE
		PSEGSAPGKATHHHH
		HHHH

【０５５１】

実施例１０：共役のためのＸＴＥＮの発現の宿主株およびプロモーター

Ｔ７／ｌａｃプロモーターの制御下でＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４を発現するプラスミドｐＣＷ１０５４、Ｔ７／ｌａｃプロモーターの制御下でＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＧＦＰを発現するｐＬＣＷ０９６８．００３、およびＰｈｏＡプロモーターの制御下でＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＧＦＰを発現するｐＬＣＷ０９７０．０３０を、大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３および大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３ｒｎｅ－１３１の双方において形質転換した（Ｌｏｐｅｚ，Ｐ．Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９９）Ｍｏｌ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．３３，１８８－１９９）。ｒｎｅ－１３１変異は、ＲＮａｓｅ　Ｅの３’エンドリボヌクレアーゼ的活性を妨害する（Ｋｉｄｏ，Ｍ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９６）Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｂａｃｔｅｒｉｏｌｏｇｙ，１７８：３９１７－３９２５）。単一コロニーを選抜し、適切な選択的抗生物質を含有する２ｍＬのＬＢブロス培地に播種することによって、６つの形質転換体の全ての種培養物を調製した。種培養物を終夜成長させ、０．５ｍＬを使用して、ｐＣＷ１０５４およびｐＬＣＷ０９６８．００３を含有する細胞には２５ｍＬの２ｘＹＴブロス、ｐＬＣＷ０９７０．０３０を含有する細胞には２５ｍＬのＰｈｏＡ誘導ブロス（Ａｍｕｎｉｘレシピ１３６－１）を４重複で播種した。培養物を３７℃で３時間振動させた。次いで、全ての培養物に対して温度を２６℃に低減し、ｐＣＷ１０５４およびｐＬＣＷ０９６８．００３タンパク質を含有する細胞に対し、１．０ｍＭの最終濃度でＩＰＴＧを用いて発現を誘導した。ｐＬＣＷ０７０．０３０中のＰｈｏＡプロモーターの誘導は、培養培地からのリン酸塩が枯渇すると自己誘導される。次いで、培養物を２６℃で終夜振動させた。各培養物の試料を溶解し、ＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎからのＮｕＰＡＧＥ　４～１２％のビス－トリスゲルを使用し、製造者の仕様に従い、クマシー染色を用いて２０μｌの各溶解物を非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥに共した。結果（図４３）は、ＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＧＦＰまたはＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４のいずれかが、Ｔ７／ｌａｃプロモーターの制御下で発現されるとき、組換えタンパク質の収率は、大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３細胞と比較

して、ＢＬ２１　ＤＥ３　ｒｎｅ－１３１中で著しく高いことを示した。細胞は、蛍光プレートリーダーを使用し、ＧＦＰ蛍光についても測定した。結果（図４４）は、ＰｈｏＡプロモーターの制御下でのＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＧＦＰの大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３細胞における発現は、Ｔ７／ｌａｃプロモーターの制御下でのＣＢＤ－ＴＥＶ部位－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－ＧＦＰの発現よりもほぼ３倍多いことを示した。大腸菌ＢＬ２１　ＤＥ３　ｒｎｅ－１３１において、Ｔ７／ｌａｃおよびＰｈｏＡプロモーターの双方は、同様レベルの発現を生じた。したがって、Ｒｎａｓｅ　Ｅ　３’リボエンドヌクレアーゼ的活性の阻害時にのみ、Ｔ７／ｌａｃ誘導は、ＰｈｏＡ誘導を使用して得られるものに類似する力価を生じる。同様に、翻訳に対して、より速い速度のＴ７　ＲＮＡＰ転写（Ｓｔｕｄｉｅｒ，Ｗ．，ｅｔ　ａｌ．（１９８６）Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　１８９：１１３－１３０）は、エンドヌクレアーゼ的攻撃の影響を受け易い核酸ｍＲＮＡをもたらすが、転写が天然の大腸菌ＲＮＡポリメラーゼＩＩによって媒介されるＰｈｏＡ誘導の場合、転写速度は、翻訳速度と密接に結合し、エンドヌクレアーゼ的攻撃からｍＲＮＡを保護する。

【０５５２】

実施例１１：１ｘアミノ－ＸＴＥＮ２８８の構築

一対のプライマーＡＥ２７８ＢｓａＩｆｏｒ－ＡＡＣＧおよびＡＥ２７８－ＲＨ８ＨｉｎｄＩＩＩｒｅｖを使用して、ＰＣＲ産物ＸＴＥＮ＿ＡＥ２７８を得るために、ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４＿００３を含有するプラスミドをＰＣＲした。適正サイズのバンドのゲル精製に続いて、ＸＴＥＮ＿ＡＥ２７８－Ｒ－Ｈ８の挿入としてＢｓａＩ／ＨｉｎｄＩＩＩを用いて消化を行った。Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＡＥ４３２＿３Ｃｙｓ－Ｒ－Ｈ８（構築体ＡＣ７６３）の遺伝子をコードするプラスミドｐＣＷ１１６１の消化をＢｓａＩ／ＨｉｎｄＩＩＩで行い、ＡＥ４３２＿３Ｃｙｓ－Ｒ－Ｈ８のフラグメントを除去し、大きなフラグメントをベクターとしてゲル精製した。ベクターの挿入とのライゲーションを行い、それを使用してＢＬ２１コンピタント細胞を形質転換し、Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＡＥ２８８－Ｒ－Ｈ８の構築体を得た。２つのトリプシン消化部位（Ｒ、アルギニン）間のＸＴＥＮの長さを、ＸＴＥＮ＿ＡＥ２７８にいくつかの隣接するアミノ酸を足すことによって計算したところ、ちょうど２８８個のアミノ酸に相当した。したがって、構築体は、トリプシン消化によるＮ末端－ＲＰ１１タグおよびＣ末端８ｘＨｉｓタグの除去後、前駆体Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＡＥ２８８－Ｒ－Ｈ８（以下の表２９の配列）を産生し、１ｘアミノ－ＸＴＥＮ２８８（表３のセグメント１７８、共役のためのＮ末端アミノ基を持つ）を生成するように設計する。

【０５５３】

【表２９】

【表２９】　１ｘアミノ－ＸＴＥＮ２８８のＤＮＡおよびアミノ酸配列

クローン名	DNA 配列	アミノ酸配列
N 末端- RP11-R- AE288-R-H8	ATGAAAAACCCAGAGCAAGCAGAAGAACAAGCTGAAGAACAGCGCGA AGAAACACGTCCGCGTCCTCGCCCACGTCCACGTCCGCGTCCACGCC CTCGTCCTCGTCCGCGCCCTCGTCCGagcgcgtctcgttccgctGGG TCTCCAAcgGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGAC TCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTG AACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCG ACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTC CGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTA CGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCA ACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGA AAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGG GTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACG GAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCC AGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCC CAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAG CCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAG CGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCG AAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACT TCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGAC GTCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAAT CCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAagc gcctctcgctccgcaCATCACCATCACCACCATCATCACTAA	MKNPEQAEEQAEEQREET RPRPRPRPRPRPRPRPRP RPRPSASRSAGSPTGPGS EPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGS PAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPSE GSAPSASRSAHHHHHHHH

【０５５４】

実施例１２：ＲＰ１１親和性タグを持つＸＴＥＮ構築体の発現の最適化

１．１．Ｎ末端－ＲＰ１１－ＡＥ８６４－ＧＦＰおよびＭａｌＥｓｓ－ＡＥ４８－ＲＰ１１－ＡＥ８６４をコードする構築体の設計および構築

Ｉｓｈｉｈａｍａ　Ｙ．ｅｔ　ａｌ，ＢＭＣ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　２００８，９：１０２に記載される高度に発現した天然の大腸菌タンパク質の群を使用し、最初の２０個のＮ末端アミノ酸（表３０のカラム３）の一覧を生成し、少なくとも１１個のアミノ酸（表３０のカラム４）を含有するヘルパー配列を創製するための候補を生成するために、疎水性アミノ酸Ｆ、Ｉ、Ｗ、Ｌ、Ｖ、Ｍ、Ｃをアラニンもしくはセリンに変換するか、または削除した。比較目的で、Ａｍｕｎｉｘ（ＡＣ６１６）において構築された十分に発現した構築体からの既知のＣＢＤ配列の最初の２０個のアミノ酸も対照として含まれた。

【０５５５】

【表３０】

【表３０】　本研究において設計されたＮ末端ヘルパーの一覧

プラスミド	タンパク質の説明	1st 20aa	Ｎ末端ヘルパー
pSD0107	30S リボソームタンパク質 S9	MAENQYYGTGRRKSSAARVF	MAENQYYGTGRRKSSAAR
pSD0108	50S リボソームタンパク質 L32	MAVQQNKPTRSKRGMRRSHD	MAAQQNKPTRSKRGARRSHD
pSD0109	30S リボソームタンパク質 S20	MANIKSAKKRAIQSEKARKH	MANAKSAKKRAAQSEKARKH
pSD0110	GrpE タンパク質 HSP-70 共因子	MSSKEQKTPEGQAPEEIIMD	MSSKEQKTPEGQAPEE
pSD0111	30S リボソームタンパク質 S14	MAKQSMKAREVKRVALADKY	MAKQSAKAREAKRAASADKY
pSD0112	30S リボソームタンパク質 S12	MATVNQLVRKPRARKVAKSN	MATANQAARKPRARKAAKSN
pSD0113	伸長因子 Tu (EF-Tu) (P-43)	MSKEKFERTKPHVNVGTIGH	MSKEKAERTKPHANAGT
pSD0114	30S リボソームタンパク質 S15	MSLSTEATAKIVSEFGRDAN	MSASTEATAKAASEAGRDAN
pSD0115	スーパーオキシドジスムターゼ [Mn] (EC 1.15.1.1) (MnSOD)	MSYTLPSLPYAYDALEPHFD	MSYTAPSAPYAYDAAEPH
pSD0116	rraB リボヌクレアーゼ E 阻害剤タンパク質 B	MANPEQLEEQREETRLIIEE	MANPEQAEEQREETR
pSD0117	セルロース結合タンパク質 (CBD)	MANTPVSGNLKVEFYNSNPS	MANTPASGNAKAEAYNSNPS
pSD0118	CBD (前の構築体 AC616 から)	MANTPVSGNLKVEFYNSNPS	MANTPVSGNLKVEFYNSNPS

【０５５６】

表３１の１０７Ｎ－Ｆ＆Ｒ～１１９Ｎ－Ｆ＆Ｒ系およびＲＰ１１Ｆ＆Ｒ配列のＤＮＡオリゴヌクレオチドは、Ｅｌｉｍ　Ｂｉｏｐｈａｒｍ（Ｈａｙｗａｒｄ，ＣＡ）において合成された。各ＤＮＡ対（１０７Ｎ－Ｆと１０７Ｎ－Ｒ、１０８Ｎ－Ｆと１０８Ｎ－Ｒ等）の溶液を、１：１のモル比で混合し、９５℃で３分間変性させた後、０．１℃／分で２５℃に冷却して二本鎖ＤＮＡアニーリングを可能にした。塩基ベクターＬＣＷ０９７０．０３０（ＣＢＤ－ＡＥ８６４－ＧＦＰをコードする）をＮｄｅｌ／ＢｓａＩで消化し、より大きなフラグメントをベクターとしてゲル精製した。ベクターを、アニールしたオリゴ１０７－１１８Ｎ－Ｆ＆ＲおよびＰＮＫ処理したアニールしたＲＰ１１Ｆ＆Ｒオリゴとライゲーションし、ライゲーション産物を大腸菌ＢＬ２１コンピタント細胞（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ）に形質転換し、ｐＳＤ０１０７～ｐＳＤ１１８と指定されるコロニーを得た。クローンｐＳＤ０１０７－１０９、ｐＳＤ０１１１－１１２、およびｐＳＤ０１１４－１１８が得られ、ＤＮＡ配列決定によって検証した。クローンｐＳＤ０１１０．００１は、フレームーシフトの１つの変異を有し、スタッファーベクターとして使用した。

【０５５７】

プラスミド構築体ｐＣＷ１１１０（ＲＰ１１－ＡＥ８６４をコードする）をＢｓａＩ／ＮｏｔＩで消化し、ＡＥ８６４をコードするヌクレオチドに対応するより小さなバンドを挿入としてゲル精製した。ｐＣＷ１１３９（ＭａｌＥｓｓ－ＡＥ４８－ペイロード－ＡＥ８６４をコードする）をＸｈｏＩ／ＢｓｔＸＩ／ＮｏｔＩによって消化し、より大きなフラグメントをベクターとしてゲル精製した。１１９－ＡＥＮ－Ｆ＆Ｒのオリゴのアニール産物を挿入およびベクターとライゲーションした後、大腸菌ＢＬ２１に形質転換して、ｐＳＤ０１１９と指定されるプラスミドを持つコロニーを得た。クローンを配列検証した。

【０５５８】
２．ｐＳＤ０１１６に基づくＮ末端ヘルパーライブラリーの構築
スタッファー－ＲＰ５ｆｏｒとスタッファー－ＲＰ５ｒｅｖＰ、ＲＰ６－ＳＡＳＲＳＡｆｏｒＰとＲＰ６－ＳＡＳＲＳＡｒｅｖ、Ｌ２ｆｏｒとＬ２ｒｅｖ、Ｌ３ｆｏｒとＬ３ｒｅｖ、Ｌ４ｆｏｒとＬ４ｒｅｖ、Ｌ５ｆｏｒとＬ５ｒｅｖ、Ｌ６ｆｏｒとＬ６ｒｅｖ、Ｌ７ｆｏｒとＬ７ｒｅｖ、Ｌ８ｆｏｒとＬ８ｒｅｖ、Ｌ９ｆｏｒとＬ９ｒｅｖ、Ｌ１０ｆｏｒとＬ１０ｒｅｖ、Ｌ１１ｆｏｒとＬ１１ｒｅｖ、Ｌ１２ｆｏｒとＬ１２ｒｅｖ、およびＬ１３ｆｏｒとＬ１３ｒｅｖのＤＮＡオリゴヌクレオチド対（表３１）は、Ｅｌｉｍ Ｂｉｏｐｈａｒｍ（Ｈａｙｗａｒｄ，ＣＡ）において合成され、各対を上記の通りアニールし（セクション１）、二本鎖ＤＮＡを生成した。

【０５５９】
プラスミドｐＳＤ０１１０をＮｄｅＩ／ＢｓａＩで消化し、より大きなフラグメントは、ベクターとしてゲル精製した。ベクターをスタッファー－ＲＰ５ｆｏｒ＆ｒｅｖＰおよびＲＰ６－ＳＡＳＲＳＡｆｏｒＰ＆ｒｅｖのアニールしたオリゴとライゲーションした後、大腸菌ＢＬ２１に形質変換して、スタッファーベクタープラスミドｐＣＷ１１４６を持つコロニーを得た（Ｓｔｕｆｆｅｒ－ＲＰ１１－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４＿００３－ＧＦＰ）。クローンを配列検証した。

【０５６０】
ＮｄｅＩ／ＢｓａＩ消化されたｐＳＤ０１１０ベクターをＬ５ｆｏｒ＆ｒｅｖアニールしたオリゴとライゲーションし、ＬＣＷ１１６０（Ｌ５）のコロニーを得た。

【０５６１】
スタッファーベクターｐＣＷ１１４６をＮｄｅＩ／ＢｓａＩで消化し、より大きなフラグメントは、ベクターとしてゲル精製した。ベクターを表３１に示されるようなＬ２－４、およびＬ６－１３ｆｏｒ＆ｒｅｖのアニールしたオリゴとライゲーションした後、大腸菌ＢＬ２１に形質転換して、構築体ＬＣＷ１１５７（Ｌ２）、ＬＣＷ１１５８（Ｌ３）、ＬＣＷ１１５９（Ｌ４）、ＬＣＷ１１６３（Ｌ６）、ＬＣＷ１１７１（Ｌ７）、ＬＣＷ１１７２（Ｌ８）、ＬＣＷ１２０３（Ｌ９）、ＬＣＷ１２０４（Ｌ１０）、ＬＣＷ１２０８（Ｌ１１）、ＬＣＷ１２０９（Ｌ１２）、およびＬＣＷ１２１０（Ｌ１３）のコロニーを得た。

【０５６２】
【表３１－１】
【表３１】　ＤＮＡオリゴヌクレオチドの一覧

名称	DNA配列
RP11F	CGTCCGCGTCCTCGCCCACGTCCACGTCCGCGTCCACGCCCTCGTCCTCGTCCGCGCCCTCGTCCGagcgcgtctcgttccgctGGGTCTCC
RP11R	ACCTGGAGACCCAGCGGAACGAGACGCGCTCGGACGAGGGCGCGGACGAGGACGAGGGCGTGGACGCGGACGTGGACGTGGGCGAGGACGCG
107N-F	TATGGCTGAAAATCAATATTATGGTACGGGGCGCCGGAAGAGTTCGGCCGCC

【０５６３】

【表３１－２】

名称	DNA 配列
107N-R	GACGGGCGGCCGAACTCTTCCGGCGCCCCGTACCATAATATTGATTTTCAGCCA
108N-F	TATGGCAGCTCAGCAGAATAAGCCTACACGAAGTAAAAGAGGCGCGCGCCGGTCGCACGAT
108N-R	GACGATCGTGCGACCGGCGCGCGCCTCTTTTACTTCGTGTAGGCTTATTCTGCTGAGCTGCCA
109N-F	TATGGCAAATGCTAAGAGTGCAAAGAAACGGGCGGCACAAAGCGAAAAAGCTCGGAAACAT
109N-R	GACGATGTTTCCGAGCTTTTTCGCTTTGTGCCGCCCGTTTCTTTGCACTCTTAGCATTTGCCA
110N-F	TATGTCCAGCAAAGAACAGAAGACTCCGGAAGGTCAAGCGCCAGAGGAG
110N-R	GACGCTCCTCTGGCGCTTGACCTTCCGGAGTCTTCTGTTCTTTGCTGGACA
111N-F	TATGGCCAAACAAAGCGCTAAAGCCCGCGAGGCGAAACGTGCAGCCTCTGCGGACAAATAT
111N-R	GACGATATTTGTCCGCAGAGGCTGCACGTTTCGCCTCGCGGGCTTTAGCGCTTTGTTTGGCCA
112N-F	TATGGCTACTGCAAATCAGGCCGCCCGTAAACCTCGAGCACGAAAGGCTGCTAAATCAAAT
112N-R	GACGATTTGATTTAGCAGCCTTTCGTGCTCGAGGTTTACGGGCGGCCTGATTTGCAGTAGCCA
113N-F	TATGTCCAAAGAAAAAGCCGAACGGACCAAACCTCATGCTAACGCTGGCACG
113N-R	GACGCGTGCCAGCGTTAGCATGAGGTTTGGTCCGTTCGGCTTTTTCTTTGGACA
114N-F	TATGTCAGCGTCTACGGAGGCAACCGCAAAAGCTGCTAGTGAAGCGGGCCGTGATGCGAAT
114N-R	GACGATTCGCATCACGGCCCGCTTCACTAGCAGCTTTTGCGGTTGCCTCCGTAGACGCTGACA
115N-F	TATGAGCTATACTGCACCGAGCGCACCGTATGCTTATGATGCAGCCGAACCTCAC
115N-R	GACGGTGAGGTTCGGCTGCATCATAAGCATACGGTGCGCTCGGTGCAGTATAGCTCA
116N-F	TATGGCAAACCCCGAACAGGCTGAGGAACAGAGAGAAGAAACA
116N-R	GACGTGTTTCTTCTCTCTGTTCCTCAGCCTGTTCGGGGTTTGCCA
117N-F	TATGGCTAATACCCCTGCGAGCGGGAACGCCAAGGCGGAAGCTTACAACAGTAATCCAAGC
117N-R	GACGGCTTGGATTACTGTTGTAAGCTTCCGCCTTGGCGTTCCCGCTCGCAGGGGTATTAGCCA
118N-F	TATGGCAAATACACCGGTATCAGGCAATTTGAAGGTTGAATTCTACAACAGCAATCCTTCA
118N-R	GACGTGAAGGATTGCTGTTGTAGAATTCAACCTTCAAATTGCCTGATACCGGTGTATTTGCCA
119-AEN-F	TCGAGCACGGGCAGCCCA
119-AEN-R	GACGTGGGCTGCCCGTGC
スタッファー-RP5for	TATGggctgaGGGTCTCaCGTCCGCGTCCTCGCCCACGTCCACGTCCGCGT
スタッファー-RP5revP	GGACGTGGACGTGGGCGAGGACGCGGACGtGAGACCCtcagccCA
RP6-	CCACGCCCTCGTCCTCGTCCGCGCCCTCGTCCGagcgcgtctcgttccgc

【０５６４】

【表３１－３】

名称	DNA配列
SASRSAforP	
RP6-SASRSArev	ACCTgcggaacgagacgcgctCGGACGAGGGCGCGGACGAGGACGAGGGCGTGGACGC
L2for	tATGaaaAAYCCNGARCARGCNGARGARCARMGYGARGARACa
L2rev	GACGTGTYTCYTCRCKYTGYTCYTCNGCYTGYTCNGGRTTTTTCA
L3for	tATGGCNAAYCCNGARCARGCNGARGARCARMGYGARGARACa
L3rev	GACGTGTYTCYTCRCKYTGYTCYTCNGCYTGYTCNGGRTTNGCCA
L4for	tATGaaaAAcCCVGARCARGCDGARGAaCARGCDGARGAaCAgMGYGAaGARACa
L4rev	GACGTGTYTCTTCRCKCTGTTCYTCHGCYTGTTCYTCHGCYTGYTCBGGGTTTTTCA
L5for	tATGaRaCCNCGNCCNCGNCCNCGNCCNCGNCCNCGNCCNCGNCCNCGNCCNCGNCCNCGNCCNGGGTCTCC
L5rev	ACCTGGAGACCCNGGNCGNGGNCGNGGNCGNGGNCGNGGNCGNGGNCGNGGNCGNGGNCGNGGNCGGTYTCA
L6for	tATGaaaAAHMMVGARCARGCWGARGAaCARGCDGARGAaCAgMGYGAaGARACa
L6rev	GACGTGTYTCTTCRCKCTGTTCYTCHGCYTGTTCYTCWGCYTGYTCBKKDTTTTTCA
L7for	tATGAAAAAWCAMRARMARRMWRAARAAMAARMDRAARAACAGMGCGAAGARACA
L7rev	GACGTGTYTCTTCGCKCTGTTYTTYHKYTTKTTYTTYWKYYTKYTYKTGWTTTTTCA
L8for	tATGAAAAAWCAMRARMARRMWRAARAAMAAGCDGAAGAACAGMGCGAAGARACA
L8rev	GACGTGTYTCTTCGCKCTGTTCTTCHGCTTKTTYTTYWKYYTKYTYKTGWTTTTTCA
L9for	tATGAAAAANCMMGAACAAGAARAARAAMAAGCNGAAGAACARCGYGARGARACA
L9rev	GACGTGTYTCYTCRCGYTGTTCTTCNGCTTKTTYTTYTTCTTGTTCKKGNTTTTTCA
L10for	tATGAAAAANCMMGAACAAGAARAARAAMAAGCNGAAGAAMARMRHRARRARAMA
L10rev	GACGTKTYTYYTYDYKYTKTTCTTCNGCTTKTTYTTYTTCTTGTTCKKGNTTTTTCA
L11for	tATGAAAAAACAAGAACAAGAAAAAGAACAAGCGGAAGAACAAKCNVARKCNVARCGTGAGGAGACA
L11rev	GACGTGTCTCCTCACGYTBNGMYTBNGMTTGTTCTTCCGCTTGTTCTTTTTCTTGTTCTTGTTTTTTCA
L12for	tATGAAAAAACAAGAACAAGAAAAAGAACAAGCGGAAGAACAAKCVVAAKCVVAAKCVVAAKCVVAACGTGAGGAGACA
L12rev	GACGTGTCTCCTCACGTTBBGMTTBBGMTTBBGMTTBBGMTTGTTCTTCCGCTTGTTCTTTTTCTTGTTCTTGTTTTTTCA
L13for	tATGAAAAAACAAGAACAAGAAAAAGAACAAGCGGAAGAACAANNNNNNNNNNNNCGTGAGGAGACA
L13rev	GACGTGTCTCCTCACGNNNNNNNNNNNNTTGTTCTTCCGCTTGTTCTTTTTCTTGTTCTTGTTTTTTCA

【０５６５】

３．Ｎ末端ヘルパーライブラリーＬＣＷ１１５７－１１５９のスクリーニングおよび分析

プラスミドｐＳＤ０１０７～ｐＳＤ０１１８で形質転換された大腸菌宿主を振動フラスコ中で発現させ、Ｃ末端ＧＦＰ受容体からの蛍光を測定することによって、それぞれの発現レベルを評価した。つまり、終夜培養物を各構築体に対し、ＳＢ培地（１２．５μｇ／ｍＬテトラシクリンを含む）中で成長させた後、それを使用して、１２．５μｇ／ｍＬテトラシクリンを含むＰｈｏＡリン酸塩枯渇自己誘導培地の２００ｍＬの培養物を播種した（各構築体に対し３つの振動フラスコを成長させた）。２６℃で４８時間、２２５ｒｍｐで成長させた後、１００μｌのアリコートを各培養物から採取し、蛍光プレートリーダーを用いて、励起波長３９５ｎｍおよび放出波長５１０ｎｍでＧＦＰ発現レベルを測定した。各振動フラスコに対し２つの測定値を取った。試験した構築体の中で、ｐＳＤ０１１６が最高の蛍光シグナルを有し、ｐＳＤ０１１４が続いたが（図８１）、これら２つの構築体の発現レベルは、ＬＣＷ０９７０．０３０（ｐＬＣＷ９７０）陽性対照よりも著しく低かった。

【０５６６】

発現をさらに改善するために、３つのライブラリー（ＬＣＷ１１５７、１１５８、および１１５９）をｐＳＤ０１０６に基づいて構築し、高スループット形式でスクリーニング

した。これらのライブラリーから（表３２）多数のコロニーを選抜し、９６深ウェルプレートの５００μｌ　ＳＢ培地（１２．５μｇ／ｍＬテトラシクリンを含む）中、３７℃で終夜、３００ｒｐｍで振動させながら成長させた。２０μｌの飽和培地を使用し、５００μｌのＰｈｏＡリン酸塩枯渇自己誘導培地（１２．５μｇ／ｍＬテトラシクリンを含む）を９６深ウェルプレートに播種し、それを２６℃で２２～２４時間、３００ｒｐｍで振動させながらインキュベートした。次いで、１００μｌの培養物を９６ウェルプレートに置き、Ｃ末端ＧＦＰレポーターからの蛍光を測定することによって、発現を決定した。

【０５６７】

【表３２】

【表３２】　ライブラリーＬＣＷ１１５７－１１５９

ライブラリー	説明	N 末端ヘルパー配列（DNA）	多様性	スクリーニングした数
LCW 1157	コドンはヘルパー配列を最適化し、第２のコドンを Lys（AAA）に変える。	ATGaaaAAY(C/T)CCN(A/G/C/T)GAR(A/G)CAR(A/G)GCN(A/C/T/G)GAR(A/G)GAR(A/G)CAR(A/G)M(A/C)GY(C/T)GAR(A/G)GAR(A/G)ACa	98304	406
LCW 1158	コドンはヘルパー配列を最適化する	ATGGCN(A/G/C/T)AAY(C/T)CCN(A/G/C/T)GAR(A/G)CAR(A/G)GCN(A/G/C/T)GAR(A/G)GAR(A/G)CAR(A/G)M(A/C)GY(C/T)GAR(A/G)GAR(A/G)ACa	393216	85
LCW 1159	AEEQ をヘルパー配列に挿入し、LCW1157 よりも少ないコドンを使用して、多様性を管理可能に保持する。	ATGaaaAAcCCV(A/G/C)GAR(A/G)CAR(A/G)GCD(A/G/T)GAR(A/G)GAaCAR(A/G)GCD(A/G/T)GAR(A/G)GAaCAgM(A/C)GY(C/T)GAaGAR(A/G)ACa	20736	146

【０５６８】

蛍光シグナルの評価後、６つの最高発現クローンおよび２つの低発現クローンを、試験した各９６深ウェルプレートから選択し、これらのクローンの発現を再度４重複で試験した。３つのライブラリー全てについて、ｐＳＤ０１１６構築体よりも高い発現を有するクローンを特定し（図８２Ａ～Ｃ）、元の試験と再試験との間の相関は良好であった（図８２Ｄ～Ｆ）。試験した３つのライブラリーの中で、ライブラリーＬＣＷ１１５９は、一般ｎより高い発現レベルを示し、このスクリーニングからの最高発現構築体（ＬＣＷ１１５９．００４）は、このライブラリーから生じた。

【０５６９】

これらの３つのライブラリーからの最高発現レベルを持つ８つの構築体、および対照を、Ｐｏｐ　Ｃｕｌｔｕｒｅ（ＥＭＤ　Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）で処理し、熱処理して、得られた溶解物をＳＤＳ－ＰＡＧＥ／クマシー染色で分析した（図８３）。８つの構築体の発現レベルは、対照（陰性対照、ＬＳＤ０１１４およびＬＳＤ０１１６）よりも高いことが確認され、全長タンパク質は、これらの構築体から産生された。４つの上位発現構築体の溶解物（Ｐｏｐ　Ｃｕｌｔｕｒｅおよび熱処理後）および陰性対照（ＡＰ３２、ＲＰ１１タグのない精製ＸＴＥＮ－ＧＦＰタンパク質）を、ｐＨ８および導電性６．５ｍＳ／ｃｍでＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰカラムの上にそれぞれ負荷した。カラムを２０ｍＭ　リン酸ナトリウム、ｐＨ８、１００ｍＭ　ＮａＣｌで洗浄し、タンパク質を２０ｍＭ　リン酸ナトリウム、ｐＨ８、５００ｍＭ　ＮａＣｌで溶出した。負荷、フロースルー、洗浄、および溶出の試料は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルによって分析した（図８４）。結果は、３つのライブラリー全てから生じた４つの発現タンパク質は、ＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰによって捕捉され得、したがって、陰性対照（ＲＰ１１タグを含有しない）がＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰカラムに結合しなかったため、結合がタンパク質中のＲＰ１１タグの存在に寄与することを実証

した。

【０５７０】

再試験に選択されたクローンのプラスミドをミニプレップし、Ｎ末端ヘルパーのＤＮＡ配列を分析した。コドンバイアスをいくつかの位置で観測した（表３３）。例えば、ＬＣＷ１１５７の第３のアミノ酸であるＮは、ＡＡＣまたはＡＡＴによってコードされる。ＬＣＷ１１５７中の高発現クローンの大部分（７７％）は、第３のアミノ酸でＡＡＴによってコードされるが、低発現クローンの大部分（８８％）は、ＡＡＣによってコードされ、高発現のために、この位置にはＡＡＣよりもＡＡＴが好適である。同様に、ＣＣＧは、第４のアミノ酸において好適であるが、第７のアミノ酸におけるＧＣＧは、低発現クローン中に蓄積する。これらの傾向は、ライブラリーＬＣＷ１１５８およびＬＣＷ１１５９においても同様に観察された。

【０５７１】

【表３３】

【表３３】　ライブラリーＬＣＷ１１５７～１１５９における高発現および低発現クローンの配列結果の分析＊

LCW1157														
アミノ酸＊		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		12	13	14
		K(AAA)	N(AA+)	P(CC+)	E(GA+)	Q(CA+)	A(GC+)	E(GA+)	E(GA+)	Q(CA+)	R or S(+G+)		E(GA+)	E(GA+)	T(AC+)
コドン			第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第１	第３	第３	第３	
高	A	K(AAA)	0%	10%	57%	67%	33%	80%	70%	50%	30%	0%	63%	57%	T(ACA)
総数30	G		0%	43%	43%	33%	7%	20%	30%	50%	0%	0%	37%	43%	
	C		23%	23%	0%	0%	13%	0%	0%	0%	70%	67%	0%	0%	
	T		77%	23%	0%	0%	47%	0%	0%	0%	0%	33%	0%	0%	
低	A		0%	13%	88%	50%	25%	38%	63%	25%	63%	0%	75%	63%	
総数18	G		0%	13%	13%	50%	63%	63%	38%	75%	0%	0%	25%	38%	
	C		88%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	38%	38%	0%	0%	
	T		13%	75%	0%	0%	13%	0%	0%	0%	0%	63%	0%	0%	

LCW1158														
アミノ酸＊		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		12	13	14
		A(GC+)	N(AA+)	P(CC+)	E(GA+)	Q(CA+)	A(GC+)	E(GA+)	E(GA+)	Q(CA+)	R or S(+G+)		E(GA+)	E(GA+)	T(AC+)
コドン		第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第１	第３	第３	第３	
高	A	83%	0%	33%	17%	67%	50%	83%	50%	83%	83%	0%	67%	50%	T(ACA)
総数6	G	0%	0%	0%	83%	33%	0%	17%	50%	17%	0%	0%	33%	50%	
	C	0%	33%	33%	0%	0%	33%	0%	0%	0%	17%	100%	0%	0%	
	T	17%	67%	33%	0%	0%	17%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
低	A	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	
総数2	G	100%	0%	100%	0%	100%	100%	100%	100%	100%	0%	0%	100%	0%	
	C	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	100%	0%	0%	
	T	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	

LCW1159																			
アミノ酸＊		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		16	17	18
		K(AAA)	N(AA+)	P(CC+)	E(GA+)	Q(CA+)	A(GC+)	E(GA+)	E(GA-)	Q(CA+)	A(GC+)	E(GA+)	E(GA+)	Q(CA+)	R or S(+G+)		E(GA-)	E(GA-)	T(AC+)
コドン			第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第３	第１	第３	第３	第３	
高	A	K(AAA)	N(AAC)	42%	67%	67%	50%	75%	E(GAA)	67%	50%	58%	E(GAA)	Q(CAG)	25%	0%	E(GAA)	58%	T(ACA)
総数12	G			17%	33%	33%	0%	25%		33%	17%	42%			0%	0%		42%	
	C			42%	0%	0%	0%	0%		0%	0%	0%			75%	75%		0%	
	T			0%	0%	0%	50%	0%		0%	33%	0%			0%	25%		0%	
低	A			33%	100%	67%	0%	67%		67%	100%	100%			33%	0%		33%	
総数13	G			33%	0%	33%	100%	33%		33%	0%	0%			0%	0%		67%	
	C			33%	0%	0%	0%	0%		0%	0%	0%			67%	67%		0%	
	T			0%	0%	0%	0%	0%		0%	0%	0%			0%	33%		0%	

＊　分析した高発現および低発現クローンの総数は、各ライブラリーに対して特定され、コドンが変化した位置のそれぞれにおけるＡ、Ｇ、Ｃ、またはＴのパーセンテージを分析した。

【０５７２】

４．Ｎ末端ヘルパーライブラリーＬＣＷ１１６３のスクリーニングおよび分析

ライブラリーＬＣＷ１１５９は、一般に、ＬＣＷ１１５７およびＬＣＷ１１５８よりも高い発現を有したため、次のライブラリー設計は、ＬＣＷ１１５９に基づき、Ｎ末端ヘルパードメインコード領域内により多くの変異体を導入した。このライブラリーからの合計６７２個のクローン（理論的多様性５５２９６）をスクリーニングし、ライブラリーＬＣＷ１１５７～１１５９と同じ方法で再試験した。ＬＣＷ１１５９．００４よりも高い（前回のスクリーニングから最高の）発現を持つクローンを観測した（図８５）。最高発現クローンであるＬＣＷ１１６３．０２９は、ＬＣＷ１１５９．００４から４０％の改善を達成したが、その発現レベルは、ＣＢＤ対照よりも２７％低かった。高発現および低発現クローンの配列を分析し、発現に好適なヌクレオチドを特定してまとめた（表３４参照）。位置の大部分は、より高い発現のためのコドンＡの選好を示したが、Ｃを選好するものもある。

【０５７３】

【表３４】

【表３４】　ライブラリーＬＣＷ１１６３における高発現および低発現クローンの配列結果の分析＊

		発現（パーセンテージ）													
ヌクレオチド番号		#9	#10	#11	#12	#15	#18	#21	#24	#30	#33	#36	#43	#45	#51
高発現	A	74	17	74	40	37	40	66	77	60	43	66	40	0	34
	C	17	83	26	49	0	0	0	0	0	0	0	60	83	0
	T	9	0	0	0	0	0	34	0	0	29	0	0	17	0
	G	0	0	0	11	63	60	0	23	40	29	34	0	0	66
低発現	A	20	70	3	20	40	20	60	50	30	10	20	50	0	60
	C	60	30	70	30	0	0	0	0	0	0	0	50	50	0
	T	20	0	0	0	0	0	40	0	0	40	0	0	50	0
	G	0	0	0	50	60	80	0	50	70	50	80	0	0	40
好適		A	C	A	A/C				A	A		A		C	

【０５７４】

＊　コドンが変化した位置のそれぞれにおけるＡ、Ｇ、Ｃ、またはＴのパーセンテージを分析し、特定された好適なヌクレオチドを最下列にまとめた。

【０５７５】

５．ＲＰ１１ライブラリーＬＣＷ１１６０のスクリーニングおよび分析

同時に、ライブラリーＬＣＷ１１６０からの１６８個のコロニー（Ｎ末端ヘルパードメインの無いＲＰ１１タグのコード領域を変化させるライブラリー（総理論的多様性８．８Ｘ１０^{12}））をスクリーニングし、分析した。しかしながら、このライブラリーは、一般に非常に低い発現レベルを有し（図８６）、高発現を持つ１つの異常値は、プラスミドミニプレップおよびＤＮＡ配列決定分析を行った後、切断ＲＰ１１タグをコードすることが見出された。これらの実験条件下でのライブラリーのスクリーニング結果は、Ｎ末端ヘルパーが、高い発現レベルを達成することが必要であることを強く示唆する。

【０５７６】

６．Ｎ末端ヘルパーライブラリーＬＣＷ１１７１、ＬＣＷ１１７２、ＬＣＷ１２０３、およびＬＣＷ１２０４のスクリーニング

より多くのＮ末端ライブラリー（ＬＣＷ１１７１、ＬＣＷ１１７２、ＬＣＷ１２０３、およびＬＣＷ１２０４）を、上述されるものと同じ方法でスクリーニングし、分析した。ＬＣＷ１１７１および１１７２は同様に設計されたが、ＬＣＷ１１７１は、ヘルパー配列において、ＬＣＷ１１７２よりも多くのアミノ酸変化を許した。スクリーニング結果は、ＬＣＷ１１７１が、一般に、ＬＣＷ１１７２よりもはるかに低い発現レベルを有したことを示した（図９４ＡおよびＢ）。ＬＣＷ１２０３および１２０４は、同様に設計され、ＬＣＷ１１７１および１１７２と比較して、ヘルパー配列の異なる領域をランダム化することに重点を置く。ＬＣＷ１２０４は、ＬＣＷ１２０３よりも多くのアミノ酸変更を許し、一般に、ＬＣＷ１２０３よりも低い発現をもたらした（図９４ＣおよびＤ）。これらの結果は、発現レベルが、ヘルパードメイン配列中のアミノ酸変化に敏感であることを示唆する。

【０５７７】

７．Ｎ末端ヘルパーライブラリーＬＣＷ１２０８、ＬＣＷ１２０９、およびＬＣＷ１２１０のスクリーニング

３つの新たなＮ末端ライブラリー（ＬＣＷ１２０８、ＬＣＷ１２０９、およびＬＣＷ１２１０）を設計し、Ｎ末端ヘルパー配列のさらなる伸長の効果を調査した（表３５）。ＬＣＷ１２０８およびＬＣＷ１２１０は、さらに４個の残基をヘルパードメインに導入したが、ＬＣＷ１２０９は、さらに８個の残基を導入した。スクリーニング結果は、ＬＣＷ１

２０９が最高の発現を有し、ＬＣＷ１２０８、次いでＬＣＷ１２１０が続くという一般的な傾向を示し（図９５）、ヘルパー配列により多くのアミノ酸を追加する有益な効果を確認した。

【０５７８】

【表３５】

【表３５】　ライブラリーＬＣＷ１２０８－１２１０

ライブラリー	Ｎ末端ヘルパー配列（アミノ酸）	多様性	スクリーニングした数
LCW1208	MKKQEQEKEQAEEQ*BXBA*REET (B=A/S; X=E/K/Q)	2304	336
LCW1209	MKKQEQEKEQAEEQ*BXBXBXBA*REET (B=A/S; X=E/K/Q)	104976	336
LCW1210	MKKQEQEKEQAEEQ*ZZZZ*REET (Z=任意のアミノ酸)	262144	336

【０５７９】

ヘルパー配列中の追加の残基には下線を引いた。

【０５８０】

３つの新たなＮ末端ライブラリー（ＬＣＷ１２０８、ＬＣＷ１２０９、およびＬＣＷ１２１０）を設計し、Ｎ末端ヘルパー配列のさらなる伸長の効果を調査した（表３６）。ＬＣＷ１２０８およびＬＣＷ１２１０は、さらに４個の残基をヘルパードメインに導入したが、ＬＣＷ１２０９は、さらに８個の残基を導入した。スクリーニング結果は、ＬＣＷ１２０９が最高の発現を有し、ＬＣＷ１２０８、および次いでＬＣＷ１２１０が続くという一般的な傾向を示し（図９５）、発現を改善するために、さらに多くのアミノ酸をヘルパー配列に追加する有益な効果を確認した。

【０５８１】

３つのライブラリーから最高発現レベルを持つ４つの上位構築体は、再試験から選択され、それらのＮ末端ヘルパー配列の配列を分析した（表３６）。現在最高に発現した構築体（ＬＣＷ１２０９．０２９）は、陰性対照を控除した後の平均蛍光を比較することによってＣＢＤ対照の発現レベルの９０％を達成した。

【０５８２】

【表３６】

【表３６】　ライブラリーＬＣＷ１２０８－１２１０から最高発現レベルを持つ構築体および対照

試料名	平均蛍光	ヘルパー配列*
LCW1208.009	9070	MKKQEQEKEQAEEQ*AESE*REET
LCW 1208.007	8870	MKKQEQEKEQAEEQ*AESE*REET
LCW 1208.008	8800	MKKQEQEKEQAEEQ*SQSQ*REET
LCW 1208.010	8740	MKKQEQEKEQAEEQ*SESE*REET
LCW 1209.029	10010	MKKQEQEKEQAEEQ*AKAESEAE*REET
LCW 1209.015	9440	MKKQEQEKEQAEEQ*SKSQAEAE*REET
LCW 1209.023	8980	MKKQEQEKEQAEEQ*AQAQAEDE*REET
LCW 1209.010	8580	MKKQEQEKEQAEEQ*SKSKAEDE*REET
LCW 1210.030	8650	MKKQEQEKEQAEEQ*PEVQ*REET
LCW 1210.032	8310	MKKQEQEKEQAEEQ*VENF*REET
LCW 1210.025	8100	MKKQEQEKEQAEEQ*ELCE*REET
LCW 1210.009	8030	MKKQEQEKEQAEEQ*GIDT*REET
CBD 対照	10940	該当なし
陰性対照	1630	該当なし

＊ヘルパー配列中の追加の残基には下線を引いた。

【０５８３】
要約すれば、スクリーニング結果は、これらの実験条件下で、Ｎ末端ヘルパーが、高い発現レベルを達成することに寄与することを示唆する。
【０５８４】
実施例１３：ＰｈｏＡ誘導を使用するＸＴＥＮの発酵－発現収率の評価
ヘルパー＿ＬＣＷ１１５９．００４－ＲＰ１１－ＡＥ２８８－Ｈｉｓ８（ＡＣ７６７）、ヘルパー＿ＬＣＷ１１７２．０３３－ＲＰ１１－ＡＥ５７６－Ｈｉｓ８（ＡＣ７８０）、およびヘルパー＿ＬＣＷ１１７２．０３３－ＲＰ１１－ＡＥ８６４－Ｈｉｓ８（ＡＣ７８６）をコードするプラスミドを担持する大腸菌ＢＬ２１を、大腸菌ＢＬ２１株に形質転換した。３つの株のそれぞれに対し、３回の１０Ｌ発酵を実行した。グリセロールストックを使用し、１０μｇ／ｍＬのテトラシクリンを含有する１２５ｍＬのＬＢブロス培地を播種した。次いで、種培養物を３７℃で終夜振動させた。種培養物を使用し、Ｂ．Ｂｒａｕｎ Ｂｉｏｓｔａｔ Ｂコントローラを備える１０Ｌガラス被覆容器中に、２０ｇの硫酸アンモニウム、１０．４ｇのリン酸カリウム二塩基性無水物、５ｇのクエン酸ナトリウム二水和物、４．６ｇのリン酸ナトリウム一塩基性一水和物、１０６ｇのＮＺ ＢＬ４ダイズペプトン（Ｋｅｒｒｙ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ ＃５Ｘ００００４３）、５４ｇの酵母抽出物（Ｔｅｋｎｏｖａ ＃Ｙ９０２０）、３．６Ｌの水、０．０５ｍＬのポリプロピレングリコール、５．２ｍＬのトレース要素溶液（Ａｍｕｎｉｘレシピ、１４４－１）、３５ｍＬの１Ｍ硫酸マグネシウム、および４ｍＬのカナマイシン（５０ｍｇ／ｍＬ）を含有する４Ｌの発酵バッチ培地を播種した。発酵制御設定は、ｐＨ＝６．９＋／－０．１、ｄO_2＝１０％、撹拌棒のみモードで１２５～１１８０ｒｐｍの範囲の溶解酸素カスケード、９０％酸素の５リットル／分の気流、初期温度３７℃、塩基制御１３％水酸化アンモニウム、および酸対照無しであった。６時間の培養後、７０％グリセロールフィードは、４０ｇ／時間の速度で開始した。５０＋／－１００ＤのＯＤ６００に到達する培養時に、培養温度を２６℃に低下させ、５４ｍＬの１Ｍ硫酸マグネシウムを添加し、１０ｇ／Ｌの硫酸塩アンモニウム、２６ｇ／Ｌのリン酸カリウム二塩基性無水物、２ｇ／Ｌのクエン酸ナトリウム二水和物、１３ｇ／Ｌリン酸ナトリウム一塩基性一水和物、１５ｇ／Ｌリン酸カリウム一塩基性無水物、０．０８％トレース要素からなる塩フィードを３３ｇ／Ｌの速度で開始し、６時間継続した。６４～７０時間の総発酵実行時間後、培養物を遠心分離によって採取し、湿潤重量で１．６～２．３キログラムの細胞ペレットを生じた。ペレットは、今後の使用まで－８０℃で凍結保存した。力価分析の場合、実行された発酵の終了時に、０．２ｍＬ容量の全体ブロス試料を凍結し、次いで解凍した後、０．２ｍＬの水を添加して、宿主タンパク質を溶解および凝集し、試料を８５℃で１５分間、次いで４℃で１５分間インキュベートした後、２０，０００ｇで１０分間遠心分離した。得られた凝集可溶性溶解物を、Ｃ１８逆相ＨＰＬＣによってアッセイし、ヘルパー－ＲＰ１１－ＸＴＥＮ－Ｈｉｓ８を表すピークに対応するＡ２１４吸光領域を、精製された参照基準と比較した。次に、乾燥細胞重量（ＤＣＷ）を決定するために、細胞のアリコートをペレットで取り、上澄みを破棄した。細胞ペレットを水で１回洗浄し、次いで８０℃のオーブンで３日間乾燥させた。細胞ペレットを含有する管を計量し、管の重量を測定重量から差し引き、残りの重量を各試料の初期容量（０．０００２Ｌ）で割ってＤＣＷを得た。発酵成長、力価分析、および乾燥細胞重量の結果は、以下の表３７に要約される。９６ウェルプレートスクリーニングアッセイにおいて、Ｎ末端ヘルパーを持たないＲＰ１１－ＸＴＥＮ－Ｈｉｓ８構築体のライブラリーである、ＬＣＷ１１６０をスクリーニングしたとき（実施例１２、図８６）、ＬＣＷ１１６０．００６の発現レベル、最高発現構築体は、ＬＣＷ１１５９．００４またはＬＣＷ１１７２．０３３の発現のわずか５０％であり、ヘルパー配列を持つ構築体であった。したがって、Ｎ末端ヘルパー配列を持つＸＴＥＮ構築体は、ヘルパー配列を有しないＸＴＥＮ構築体と比較して、著しく高い発現力価をもたらすことが予想される。
【０５８５】

【表３７】

【表３７】　測定された発現パラメータ

XTEN系	発酵#	最終O.D.	総実行時間（時間）	発酵１リットル当たりの乾燥細胞重量（g/L）	細胞容量毎の力価（g/L）	平均力価（マイクロモル/L）	力価／乾燥重量発酵（XTENのmg／大腸菌のg）	分子量（g/mol）	力価（マイクロモル/L）	平均力価（マイクロモル/L）	平均の標準誤差（マイクロモル/L）
ヘルパー_	EC846	140	67.5	95	0.5		5.6	26399	212		
LCW1159.004-	EC888	140	64	85	0.8	0.7	9.4	26399	357	271	76
RP11-AE288-His8（AC767）	EC903	136	69	103	0.7		6.4	26399	243		
ヘルパー	EC850	125	66	107	1.1		10.0	52929	189		
LCW1172.033-	EC869	140	70	90	2.1	2.0	22.8	52929	430	388	182
RP11-AE576-His8（AC780）	EC883	170	67	102	2.9		28.8	52929	545		
ヘルパー	EC873	135	68	91	2.0		22.2	79284	280		
LCW1172.033-	EC889	145	65.5	95	2.3	2.1	24.4	79284	308	272	41
RP11-AE864-His8（AC786）	EC913	108	67	108	2.0		18.1	79284	228		

【０５８６】

実施例１４：ＲＰ１１およびＨｉｓ８タグを持つＸＴＥＮの精製

１．発現、溶解、および清澄化

実施例１０に記載されるライブラリーメンバーＬＣＷ１１５９．００４からのＮ末端ヘルパー配列を持ち、それぞれＮ末端およびＣ末端でＸＴＥＮに結合された２つの親和性タグを持つ、融合タンパク質ＭＫＮＰＥＱＡＥＥＱＡＥＥＱＲＥＥＴ－ＲＰ１１－ＳＡＳＲＳＡ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２（Ｃ１２，Ｃ２１７，Ｃ４２２）－ＳＡＳＲＳＡ－Ｈｉｓ（８）］は、本明細書に記載される条件を使用し、４Ｌ発酵槽を用いて大腸菌中で発現させた。成長後、細胞を遠心分離によって採取し、使用するまで－８０℃で冷凍した。細胞ペレットを溶解緩衝液（２０ｍＭ　リン酸ナトリウム、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、２ｍＭ　ＥＤＴＡ　ｐＨ８．０、細胞ペースト１ｇ当たり３ｍＬの緩衝液）中に再懸濁した。ＡＰＶホモジナイザーに３回、８３０～９００バールの圧力で通すことによって細胞を溶解した。溶解緩衝液（細胞ペースト１グラム当たり１ｍＬの緩衝液）を追跡として使用し、ホモジナイザーから滞留量を回収した。均質化した溶解物を８５℃の水浴中で２０分間インキュベートし、続いて氷水浴中で２０分間急速冷却した。加熱および冷却処理後、溶解物を１１０００ＲＰＭで９０分間、ＳＯＲＶＡＬＬ遠心分離器内で遠心分離した。遠心分離後、上澄みを２つのＣＵＮＯ　Ｂｉｏ　ｃａｐ　２５（ＢＣ００２５Ｌ９０ＳＰ０８Ａ）フィルターに通して濾過した。清澄化した上澄みを４℃で終夜保管した。

【０５８７】

２．捕捉ステップ：Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　ＩＭＡＣクロマトグラフィー

ＩＭＡＣ親和性クロマトグラフィーは、ＸＴＥＮを正常なＣ末端Ｈｉｓタグと結合するための捕捉ステップとして使用した。つまり、クロマトグラフィーカラムＢＰＧ１４０／１２（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）に、２０００ｍＬのＴｏｙｏｐｅａｒｌ　ＩＭＡＣ　６５０Ｍ樹脂（ＴＯＳＯＨ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を充填した。２カラム容量（ＣＶ）の平衡緩衝液（２０ｍＭ　リン酸ナトリウム、５００ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ８．０）でカラムを平衡化した。清澄化した細胞溶解物を、５Ｍ　ＮａＣｌストック溶液を使用して最終ＮａＣｌ濃度５００ｍＭに調整し、次いでＩＭＡＣ樹脂の上に負荷した。２カラム容量の平衡緩衝液、次いで２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、５００ｍＭ　ＮａＣｌ、５ｍＭイミダゾール、ｐＨ８．０に続いて、２カラム容量の２０ｍＭリン酸

ナトリウム、５ｍＭイミダゾール、ｐＨ８．０でカラムを洗浄し、塩を除去した。２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、１００ｍＭイミダゾール、ｐＨ８．０で溶出を行った。フロースルー、洗浄、および溶出分画を、非還元４～１２％ビス－トリスＳＤＳ－ＰＡＧＥ／クマシー染色によって分析し、所望の産物を持つ分画をプールした。

【０５８８】

３．研摩／捕捉ステップ：ＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰクロマトグラフィー

カチオン交換クロマトグラフィーを研摩ステップとして使用し、産物のＮ末端完全性を保証した。産物に対するその優れた能力および選択性に起因して、いくつかのカチオン交換培地の中からＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰ樹脂（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）を選択した。１０００ｍＬのＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰ樹脂をＢＰＧ１００／１３（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）クロマトグラフィーカラムに充填し、２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ８．０、２０ｍＭ　ＮａＣｌで平衡化した。ＩＭＡＣプールをカラムの上に負荷し、樹脂を２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ８．０、および２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ８．０、１５０ｍＭ　ＮａＣｌで洗浄した。タンパク質を、２０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ８．０）中、５カラム容量の直線勾配１５０～５００ｍＭ　ＮａＣｌで溶出した。分画を回収し、４～１２％ビス－トリスＳＤＳ／ＰＡＧＥによって分析した。次のステップのために、所望の産物を持つ分画を合わせた。

【０５８９】

４．Ｍａｃｒｏｃａｐ　ＳＰ溶出プールのトリプシン消化

ＳＰ溶出プールのトリプシン（Ｓｉｇｍａ、ウシ膵臓からのトリプシン）消化は、１：２００ｍ／ｍの酵素／タンパク質比で、３７℃で終夜行った。

【０５９０】

５．研摩ステップ：Ｍａｃｒｏｃａｐ　Ｑクロマトグラフィー

トリプシン消化後、Ｍａｃｒｏｃａｐ　Ｑクロマトグラフィーを使用し、切断されたタグを最終産物から分離した。ＢＰＧ１００／１９カラム（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）に、１５００ｍＬカラム容量のＭａｃｒｏｃａｐ　Ｑ樹脂（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）を充填した。トリプシン消化したＭａｃｒｏｃａｐ　ＳＰ溶出プールを８０℃で１５分間、２０ｍＭ　ＤＴＴおよび２ｍＭ　ＥＤＴＡでインキュベートし、ジスルフィド結合を低減し、トリプシンを不活性化した。冷却したタンパク質溶液を、Ｍｉｌｌｉ－Ｑ水で５ｍＳ／ｃｍ以下の導電性に希釈し、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．０で平衡化されたＭａｃｒｏｃａｐ　Ｑカラムの上に負荷した。２カラム容量の２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．０、次いで２カラム容量の２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、２ｍＭ　ＴＣＥＰ、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．０でカラムを洗浄した。タンパク質は、２０カラム容量の２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０中、線形勾配１５０ｍＭ　ＮａＣｌ～５００ｍＭ　ＮａＣｌで溶出した。分画は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ／銀染色によって分析した。

【０５９１】

６．濃縮および透析濾過（最終製剤化）

選択したＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ分画を合わせ、１０ＫＤ　Ｐｅｌｌｉｃｏｎ　ｍｉｎｉ（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を使用し、２０ｐｓｉ未満のフィード圧、８ｐｓｉ未満の残余分で濃縮し、続いて２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．０を用いた１０Ｘ透析濾過によって５ｍｇ／ｍＬ超の最終タンパク質濃度を達成した。

【０５９２】

９．異なる方法で精製されたタンパク質の純度分析

１つのバッチ（バッチ１）は、上記のような３つの精製ステップを通じて精製された。別のバッチ（バッチ２）は、同じ発酵材料から精製されたが、ＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰ研摩ステップは省略された。ＸＴＥＮの切断種は、バッチ１のＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ溶出分画中のＳＤＳ－ＰＡＧＥ／銀染色によって検出されたが（図８７Ａ）、バッチ１のＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ溶出分画は、本質的に切断を含まなかった（図８７Ｂ）。これらの結果は

、用いられた条件下で、ＲＰ１１タグに基づくＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰステップが、Ｎ末端完全性および全体的な産物品質を保証するために必須であることを支持する。

【０５９３】

実施例１５：１ｘアミノ，９ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２の構築

以下のプライマー５Ａｆｏｒ＆ＣＩ１ＢｂｓＩｒｅｖ－ＴＧＧＣ、ＣＩ１ＢｓａＩｆｏｒ－ＴＧＧＣ＆ＣＩ２－ＡＥ３８ＢｂｓＩｒｅｖ、およびＣＩ２－ＡＥ３８ＢｓａＩｆｏｒ＆ＡａｔＩＩＣＩ３－２Ｐのセットを使用し、それぞれＡＥ－ＣＩ１、ＣＩ１－２、およびＣＩ２－３のＰＣＲ産物を得るために、ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２（Ｃ４２２）を含有するプラスミドｐＣＷ１１６４をＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）させた。ＣＩ１、２、および３は、同じアミノ酸配列ＴＡＥＡＡＧＣＧＴＡＥＡＡを有するが、異なるコドン使用頻度を持つシステイン島１、２、および３として指定された。ＰＣＲ産物のゲル精製を行い、適正サイズのバンドを得て、これらを、挿入としてそれぞれ制限酵素ＳｂｆＩ／ＢｂｓＩ、ＢｓａＩ／ＢｂｓＩ、およびＢｓａＩ／ＡａｔＩＩで消化した。Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２（Ｃ４２２）－Ｒ－Ｈ８の遺伝子をコードするプラスミドｐＣＷ１１６４の消化をＳｂｆＩ／ＡａｔＩＩで行い、ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２内の約２９０個のアミノ酸のフラグメントを除去し、ベクターとしての残りの大きなフラグメント上でゲル精製を行った。上記のＰＣＲ産物の３つの挿入とのベクターのライゲーションを行い、それを使用してＢＬ２１コンピタント細胞を形質転換し、Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２（Ｃ３１９，Ｃ３７０，Ｃ４２２）－Ｒ－Ｈ８構築体を得た。プライマーＣＩ１ＢｓａＩｆｏｒ－ＴＧＧＣ＆ＡａｔＩＩＣＩ３－２Ｐを用いてＰＣＲをこの構築体上で行い、長さ約３６０ｂｐのＰＣＲ産物を得た。適正サイズのバンドのゲル精製を行い、続いて３つのシステイン島を含有する挿入ＸＴＥＮ＿ＡＥ１２０－３Ｃｙｓとして、ＢｓａＩ／ＡａｔＩＩで消化した。

【０５９４】

同時に、６つのシステイン島を含有するＸＴＥＮ＿ＡＥ３１３－６Ｃｙｓのコドン最適化ＤＮＡフラグメントを設計し、合成した（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ）。隣接する制限酵素ＢｓａＩ／ＢｂｓＩによってフラグメントを消化し、ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２の最初の６つのシステイン島を含有する挿入としてゲル精製した。ＢｓａＩ／ＡａｔＩＩを用いたＮ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２＿３Ｃｙｓ－Ｒ－Ｈ８の遺伝子をコードするプラスミドｐＣＷ１１６１の消化を行い、ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２＿３Ｃｙｓのフラグメントを除去し、ゲル精製を行い、ベクターとして大きなフラグメントを得た。上記ＸＴＥＮ＿ＡＥ３１３－６ＣｙｓのＢｓａＩ／ＢｂｓＩ消化された挿入、およびＸＴＥＮ＿ＡＥ１２０－３ＣｙｓのＢｓａＩ／ＡａｔＩＩ消化された挿入とのベクターのライゲーションを行った。ライゲーションした産物を使用し、構築体Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２（Ｃ１２，Ｃ６３，Ｃ１１４，Ｃ１６５，Ｃ２１７，Ｃ２６８，Ｃ３１９，Ｃ３７０，Ｃ４２２）－Ｒ－Ｈ８を得るために、ＢＬ２１コンピタント細胞を形質転換した。構築体は、前駆体Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＡＥ４３２＿９Ｃｙｓ－Ｒ－Ｈ８を産生するように設計され（以下、表３８の配列）、この産物を使用し、トリプシン消化によるＮ末端－ＲＰ１１タグおよびＣ末端８ｘＨｉｓタグの除去後に、１ｘアミノ，９－チオ－ＸＴＥＮ４３２を生成した。最終産物は、ＸＴＥＮ４３２配列中に９個のシステインを含有する（セグメント１７７）。

【０５９５】

【表３８－１】

【表３８】　１ｘアミノ，９－チオ－ＸＴＥＮ４３２のＤＮＡおよびアミノ酸配列

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
N末端-RP11-R-AE432_9Cys-R-H8	ATGAAAAACCCAGAGCAAGCAGAAGAACAAGCTGAAGAACAGCGCGAAGAAACA	MKNPEQAEEQA
	CGTCCGCGTCCTCGCCCACGTCCACGTCCGCGTCCACGCCCTCGTCCTCGTCCG	EE
	CGCCCTCGTCCGagcgcgtctcgttccgctGGGTCTCCAACGGCAGAGGCAGCA	QREETRPRPRP
	GGTTGTGGTACAGCAGAAGCAGCTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCT	RP
	GAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAG	RPRPRPRPRPR

【０５９６】

【表３８－２】

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
	CCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACTGCTGAAGCGGCTGGTTGTGGT	PR
	ACTGCTGAAGCTGCATCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGC	PSASRSAGSPT
	GAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGC	AE
	ACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTACTGCCGAAGCTGCAGGCTGCGGTACTGCGGAG	AAGCGTAEAAP
	GCGGCGTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAA	GS
	AGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCT	EPATSGSETPG
	GAGTCTGCTACTACCGCCGAAGCCGCTGGTTGTGGTACCGCAGAAGCTGCATCT	TS
	GAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAA	ESATPESGPGS
	CCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAG	EP
	TCTGGTACCGCGGAAGCGGCTGGTTGTGGTACTGCAGAGGCAGCTGGTTCTCCG	ATSGSETPGTA
	GCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAA	EA
	TCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCACG	AGCGTAEAAST
	GCGGAAGCGGCAGGTTGTGGCACCGCGGAGGCAGCAGCTGGTTCTCCAACCTCT	EP
	ACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGC	SEGSAPGTSES
	ACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCACGGCAGAAGCC	AT
	GCTGGCtgcGGTACTGCTGAAGCGGCAACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCT	PESGPGSPAGS
	GAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCA	PT
	GAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTACCGCTGAAGCCGCAGGTtgt	STEEGSPATAE
	GGCACTGCGGAAGCTGCAACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGT	AA
	TCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAA	GCGTAEAASPT
	CCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGACTGCAGAAGCGGCTGGTtgtGGCACC	ST
	GCCGAAGCAGCTagcgcctctcgctccgcaCATCACCATCACCACCATCATCAC	EEGTSESATPE
	TAA	SG
		PGTSTEPSEGS
		AP
		GTSESATTAEA
		AG
		CGTAEAASETP
		GT
		SESATPESGPG
		SE
		PATSGSETPGT
		SE
		SATPESGTAEA

【０５９７】

【表３８－３】

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
		AG CGTAEAAGSPA GS PTSTEEGTSES AT PESGPGSEPAT SG SETPGTTAEAA GC GTAEAAAGSPT ST EEGSPAGSPTS TE EGTSTEPSEGS AP GTSESTAEAAG CG TAEAATPESGP GT SESATPESGPG SE PATSGSETPGS EP ATSGTAEAAGC GT AEAATEEGTST EP SEGSAPGTSTE PS EGSAPGSEPAT SG SETPTAEAAGC GT AEAASASRSAH

【０５９８】

【表３８－４】

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
		HH HHHHH

【０５９９】

実施例１６：１ｘアミノ，９ｘチオール－ＸＴＥＮ８６４の構築

プライマーＰｈｏＡｆｏｒ＆ＲＰ１１－ＳＡＳＲＳＡＢｓａＩｒｅｖＡＧＧＴを使用し、Ｎ末端－ＲＰ１１タグを含有するプラスミドをＰＣＲして、Ｎ末端－ＲＰ１１－ＲのＰＣＲ産物を得た。適正サイズのバンドのゲル精製を行い、第１の挿入としてＮｄｅＩ／ＢｓａＩを用いて消化した。別のＰＣＲは、プライマーＡＥ４３２ＢｓａＩｆｏｒＡＧＧＴ＆ＡＥ４３２＿００１ＢｂｓＩｒｅｖ－ＡＡＣＧを用いて、ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４＿００３を含有するプラスミド上で行い、ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２のＰＣＲ産物を得た。適正サイズのバンド上でゲル精製を行い、第２の挿入としてＢｓａＩ／ＢｂｓＩを用いて消化した

。実施例１０からの構築体Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＡＥ４３２＿９Ｃｙｓ－Ｒ－Ｈ８の消化をＮｄｅＩ／ＢｓａＩで行って、Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒフラグメントを除去し、ゲル精製を行って、大きなフラグメントをベクターとして得た。上記の第１および第２の挿入とのベクターのライゲーションを行い、その産物を使用して、ＢＬ２１コンピタント細胞を形質転換し、構築体Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４（Ｃ４４４，Ｃ４９５，Ｃ５４６，Ｃ５９７，Ｃ６４９，Ｃ７００，Ｃ７５１，Ｃ８０２，Ｃ８５４）－Ｒ－Ｈ８を得た。得られた構築体は、前駆体Ｎ末端－ＲＰ１１－Ｒ－ＡＥ８６４＿９Ｃｙｓ－Ｒ－Ｈ８を産生するように設計され（以下、表３９の配列）、この産物は、トリプシン消化によるＮ末端－ＲＰ１１タグおよびＣ末端８ｘＨｉｓタグの除去後に、１ｘアミノ，９－チオ－ＸＴＥＮ８６４を生成した。得られた産物は、共役のためのＸＴＥＮ８６４配列中にＮ末端アミノ基および９個のシステインを含有する（セグメント１７５）。

【０６００】

【表３９－１】

【表３９】　１ｘアミノ，９－チオ－ＸＴＥＮ８６４のＤＮＡおよびアミノ酸配列

クローン名	DNA 配列	アミノ酸配列
N 末端-	ATGAAAAACCCAGAGCAAGCAGAAGAACAAGCTGAAGAACAGCGCGAAG	MKNPEQAEEQAEE
RP11-R-	AAACACGTCCGCGTCCTCGCCCACGTCCACGTCCGCGTCCACGCCCTCG	QREETRPRPRPRP
AE864_9Cys	TCCTCGTCCGCGCCCTCGTCCGagcgcgtctcgttccgctGGGTCTCCA	RPRPRPRPRPRPR
-R-H8	GGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAAT	PSASRSAGSPGSP
	CCGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGG	AGSPTSTEEGTSE
	TTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGC	SATPESGPGTSTE

【０６０１】

【表３９－２】

クローン名	DNA 配列	アミノ酸配列
	ACTAGCACCGAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAAC	PSEGSAPGSPAGS
	CGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATC	PTSTEEGTSTEPS
	CGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGC	EGSAPGTSTEPSE
	GAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCC	GSAPGTSESATPE
	CGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGG	SGPGSEPATSGSE
	TCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGC	TPGSEPATSGSET
	ACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCCCTA	PGSPAGSPTSTEE
	CGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCC	GTSESATPESGPG
	AGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAG	TSTEPSEGSAPGT
	TCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAAGCGAAG	STEPSEGSAPGSP
	GCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGG	AGSPTSTEEGTST
	TTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAA	EPSEGSAPGTSTE
	CCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTT	PSEGSAPGTSESA
	CCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCAC	TPESGPGTSTEPS
	CTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCT	EGSAPGTSESATP
	CCAACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTG	ESGPGSEPATSGS
	GTCCTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTC	ETPGTSTEPSEGS
	GGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCT	APGTSTEPSEGSA
	GAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCAC	PGTSESATPESGP
	CGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCAC	GTSESATPESGPG
	TGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAG	SPAGSPTSTEEGT
	GGCTCTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAG	SESATPESGPGSE
	GTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAGCACCGA	PATSGSETPGTSE
	GCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAACGGCAGAGGCAGCAGGTTGTGGTACA	SATPESGPGTSTE
	GCAGAAGCAGCTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGC	PSEGSAPGTSTEP
	CGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCC	SEGSAPGTSTEPS
	GGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACTGCTGAAGCGGCTGGTTGT	EGSAPGTSTEPSE
	GGTACTGCTGAAGCTGCATCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGG	GSAPGTSTEPSEG
	GTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGG	SAPGTSTEPSEGS
	TTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTACTGCCGAAGCTGCA	APGSPAGSPTSTE
	GGCTGCGGTACTGCGGAGGCGGCGTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTA	EGTSTEPSEGSAP
	CTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACC	TAEAAGCGTAEAA
	GTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTACCGCCGAA	PGSEPATSGSETP
	GCCGCTGGTTGTGGTACCGCAGAAGCTGCATCTGAGACTCCAGGCACTT	GTSESATPESGPG
	CTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTC	SEPATSGSETPGT

【０６０２】

【表３９－３】

クローン名	DNA配列	アミノ酸配列
	CGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGT	AEAAGCGTAEAAS
	ACCGCGGAAGCGGCTGGTTGTGGTACTGCAGAGGCAGCTGGTTCTCCGG	TEPSEGSAPGTSE
	CTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCC	SATPESGPGSPAG
	GGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCG	SPTSTEEGSPATA
	GGTACCACGGCGGAAGCGGCAGGTTGTGGCACCGCGGAGGCAGCAGCTG	EAAGCGTAEAASP
	GTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAG	TSTEEGTSESATP
	CACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGT	ESGPGTSTEPSEG
	ACGAGCGAGAGCACGGCAGAAGCCGCTGGCtgcGGTACTGCTGAAGCGG	SAPGTSESATTAE
	CAACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATC	AAGCGTAEAASET
	CGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCG	PGTSESATPESGP
	GAACCAGCGACCAGCGGTACCGCTGAAGCCGCAGGTtgtGGCACTGCGG	GSEPATSGSETPG
	AAGCTGCAACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGC	TSESATPESGTAE
	CCCGGGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAA	AAGCGTAEAAGSP
	CCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGACTGCAGAAGCGGCTGGTtgtG	AGSPTSTEEGTSE
	GCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctcgctccgcaCATCACCATCACCA	SATPESGPGSEPA
	CCATCATCACTAA	TSGSETPGTTAEA
		AGCGTAEAAAGSP
		TSTEEGSPAGSPT
		STEEGTSTEPSEG
		SAPGTSESTAEAA
		GCGTAEAATPESG
		PGTSESATPESGP
		GSEPATSGSETPG
		SEPATSGTAEAAG
		CGTAEAATEEGTS
		TEPSEGSAPGTST
		EPSEGSAPGSEPA
		TSGSETPTAEAAG
		CGTAEAASASRSA
		HHHHHHHH

【０６０３】

実施例１７：共役のためのＸＴＥＮの発酵

種培養物は、共役タンパク質配列に適切なＸＴＥＮを含有するプラスミドを担持する大腸菌のグリセロールストックを５０μｇ／ｍＬカナマイシンを含有する１２５ｍＬのＬＢブロス培地に播種することによって調製した。次いで、培養物を３７℃で終夜振動させた。種培養物を使用し、Ｂ．Ｂｒａｕｎ　Ｂｉｏｓｔａｔ　Ｂコントローラを備える５Ｌガラス被覆容器中に、１２．５ｇの硫酸アンモニウム、１５ｇのリン酸カリウム二塩基性無水物、２．５ｇのクエン酸ナトリウム二水和物、８．５ｇのリン酸ナトリウム一塩基性一水和物、５０ｇのＮＺ　ＢＬ４ダイズペプトン（Ｋｅｒｒｙ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ　＃５Ｘ００００４３）、２５ｇの酵母抽出物（Ｔｅｋｎｏｖａ　＃Ｙ９０２０）、１．８Ｌ水、０．５ｍＬのポリプロピレングリコール、２．５ｍＬのトレース要素溶液（Ａｍｕｎｉｘレシピ１４４－１）、１７．５ｍＬの１Ｍ硫酸マグネシウム、および２ｍＬカナマイシン（５０ｍｇ／ｍＬ）の２Ｌの発酵バッチ培地を播種した。発酵制御設定は、ｐＨ＝６．９＋／－０．１、ｄＯ２＝１０％、撹拌棒のみモードで１２５～１１８０ｒｐｍの範囲の溶解酸素カスケード、９０％酸素の５リットル／分の気流、初期温度３７℃、塩基制御１３％水酸化アンモニウム、および酸対照無しであった。６時間の培養後、５０％グルコースフィードは、３０ｇ／時間の速度で開始した。２０時間の培養後、２５ｍＬの１Ｍ硫酸マグネシウム、および３ｍＬの１Ｍ　ＩＰＴＧを添加した。４５時間の総発酵実行時間後、培養物を遠心分離によって採取し、全ての構築体に対し、湿潤重量で０．４５～１．１キログラムの細胞ペレットを生じた。ペレットは、今後の使用まで－８０℃で凍結保存した。発酵の複数の時点で培養試料を取り、細胞を溶解させた後、細胞残屑を加熱および急速冷

却で凝結させ、清澄化した可溶性溶解物を遠心分離によって調製し、ＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎからのＮｕＰＡＧＥ　４～１２％ビス－トリスゲルを使用し、製造者の仕様に従い、クマシー染色を用いて、通常の非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析した。発酵実行時間の関数としてのＸＴＥＮ融合タンパク質の蓄積の例は、図４５に示される。結果は、ＸＴＥＮ融合タンパク質構築体が、１ｇ／Ｌ超の力価を持つ発酵スケールで発現し、約１６０ｋＤａの見掛け分子量を持つことを示した（注記：実際の分子量は１００ｋＤａである）。ＳＤＳ－ＰＡＧＥにおいて観察された移動は、他のＸＴＥＮ含有融合タンパク質に対して観察されたものに相当した。

【０６０４】

実施例１８：ＣＢＤおよびＨｉｓ８タグを持つ１ｘチオール－ＸＴＥＮ（システイン操作されたＸＴＥＮ）試薬の精製

この実施例は、単一システイン残基を含むシステイン操作されたＸＴＥＮの精製について説明する。

【０６０５】

材料および方法：

１．清澄化

発酵からの２０ｇｍの細胞ペーストを、１００ｍＬの２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ８．０（溶解緩衝液）中に再懸濁した。細胞溶解物は、ホモジナイザーにおいて３回、８００～９００バールで均質化した。５０ｍＬの溶解緩衝液を追跡として使用し、ホモジナイザーから滞留量を回収した。均質化した溶解物を８５℃の水浴中で２０分間インキュベートし、続いて氷水浴中で２０分間急速冷却した。加熱および冷却処理後、溶解物を１１０００ＲＰＭで９０分間、ＳＯＲＶＡＬＬ遠心分離器内で遠心分離した。遠心分離後、上澄みを２つのＣＵＮＯ　Ｂｉｏ　ｃａｐ　２５（ＢＣ００２５Ｌ９０ＳＰ０８Ａ）フィルターに通して濾過した。フィルターを４０ｍＬの溶解緩衝液で追跡した。清澄化した材料の最終容量は２３０ｍＬであった。清澄化した上澄みを４℃で終夜保管した。

【０６０６】

２．捕捉ステップ：疎水性相互作用クロマトグラフィー

疎水性相互作用クロマトグラフィーを第１のステップとして使用し、ＸＴＥＮの疎水性ＣＢＤタグを用いて、Ｎ末端無傷タンパク質の捕捉を保証した。Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　Ｐｈｅｎｙｌ　６５０Ｍ（Ｐａｒｔ＃００１４７８３，ＴＯＳＯＨ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、ＸＫ１６を１５ｃｍ床高（３０ｍＬカラム容量）まで充填した。このクロマトグラフィーは、ＡＫＴＡ　ＦＰＬＣ（ＧＥ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して行った。Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　Ｐｈｅｎｙｌ樹脂は、負荷する前に、２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、１Ｍ硫酸ナトリウム、ｐＨ８．０で平衡化した。ＨＩＣ負荷は、上記清澄化した溶解物に対し１Ｍ濃度まで硫酸ナトリウムを添加することによって調製した（最終容量約２５０ｍＬ）。試料は、ＨＩＣ樹脂の上に（約４ｍｇ／ｍＬ樹脂負荷）２ｍＬ／分で負荷した。負荷は、ＵＶ２１５が安定するまで約９カラム容量の平衡緩衝液（２０ｍＭリン酸ナトリウム、１Ｍ硫酸ナトリウム、ｐＨ８．０）で追跡することによって完了させた。タンパク質は、１００％　Ｂ（２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ８．０）でステップ溶出した。合計７カラム容量の溶出緩衝液を適用し、完全な溶出を確認する（図４６）。

【０６０７】

試料を４～１２％ビス－トリスＳＤＳ－ＰＡＧＥ（非還元）によって分析し、溶出プールを決定した（図４７）。以下のゲル溶出に基づいて、分画Ｅ１、Ｅ２、Ｅ３、およびＥ４をさらなる処理のためにプールした。総タンパク質は、ＨＩＣ溶出プール中８５ｍｇであることが推定され、６５％のステップ収率は、別の定量化ゲルを流すことによって決定された。

【０６０８】

３．研摩／捕捉ステップ：Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　ＩＭＡＣクロマトグラフィー

ＩＭＡＣ親和性クロマトグラフィーは、ＸＴＥＮの無傷Ｃ末端Ｈｉｓタグに結合するための捕捉ステップとして使用した。クロマトグラフィーカラムＸＫ２６を、Ｔｏｙｏｐｅ

ａｒｌ ＩＭＡＣ ６５０Ｍ（Ｐａｒｔ＃００１４９０７，ＴＯＳＯＨ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で、１５ｃｍ床高（８５ｍＬカラム容量）まで充填した。２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、１０ｍＭイミダゾール、０．２５Ｍ ＮａＣｌ、ｐＨ８．０（平衡緩衝液）でカラムを平衡化した。５Ｍ ＮａＣｌをＨＩＣ溶出プールに添加することによってＩＭＡＣ負荷を調製し、最終容量０．２５ＭのＮａＣｌを製造した。試料は、ＩＭＡＣ樹脂の上に流量４ｍＬ／分で負荷した。負荷は、２カラム容量の平衡緩衝液によって完了させた。樹脂を２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、１０ｍＭイミダゾール、ｐＨ８．０で洗浄し、塩を除去した。緩衝液Ａ（２０ｍＭリン酸ナトリウム、１０ｍＭイミダゾール、ｐＨ８．０）、および緩衝液Ｂ（２０ｍＭリン酸ナトリウム、２００ｍＭイミダゾール、ｐＨ８．０）を用いて、７カラム容量の０～１００％Ｂ、続いて２ＣＶの１００％Ｂの線形溶出を行った。イミダゾールの存在は、ＡＫＴＡ ＦＰＬＣを用いてＵＶ２１５吸光度を３５００ｍＡｕ以上に維持したため、溶出ピークは観察されなかった。フロースルー、洗浄、および溶出分画は、４～１２％ビス－トリス非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルによって分析した（図４８）。ゲルは、宿主細胞タンパク質および切断されたＸＴＥＮ種の良好な除去を示す（図４８Ａ）。第２のゲルに基づいて（図４８Ｂ）、分画Ｃ５、Ｃ６、およびＣ７をプールした。ＩＭＡＣ溶出プール中に合計７０ｍｇのタンパク質が推定された。

【０６０９】

４．ＩＭＡＣ溶出プールのトリプシン消化

ＩＭＡＣ溶出プールのトリプシン消化は、１：２００ｍ／ｍの比で行った。０．３５ｍｇのウシ膵臓トリプシン（Ｓｉｇｍａ、カタログ＃Ｔ１４２６）を、７０ｍｇのタンパク質（ＩＭＡＣ溶出プール）で終夜、３７℃でインキュベートした。非還元４～１２％ビス－トリスＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を行い、ＣＢＤタグの切断が、図４９に示されるように完了したことを確認した。

【０６１０】

５．研摩ステップ：ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑクロマトグラフィー

トリプシン消化後、ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑクロマトグラフィーを使用し、切断されたタグを分離した。ＸＫ １６カラムを、ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑ（ＧＥ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ＃１７－５４６９－０２）で１８ｃｍ床高まで充填した。トリプシン消化したＩＭＡＣ溶出プールを３７℃で１時間、２ｍＭ ＴＣＥＰでインキュベートし、ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑカラム上に負荷する前に、ＸＴＥＮの二量体を還元した。カラムは、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０で平衡化した。試料は、４ｍＬ／分で負荷した（約２ｍｇ／ｍＬ樹脂負荷）。カラム負荷は、追加の２カラム容量の２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、２ｍＭ ＴＣＥＰ、ｐＨ７．０で完了した。カラムを、２カラム容量の２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、２ｍＭ ＴＣＥＰ、１５０ｍＭ ＮａＣｌ、ｐＨ７．０で洗浄した。２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、２ｍＭ ＴＣＥＰ、ｐＨ７．０緩衝液中１５０ｍＭ ＮａＣｌ～５００ｍＭ ＮａＣｌの線形勾配溶出を、２０カラム容量以上行った。ＴＣＥＰの存在に起因して、全体クロマトグラフィー中に高レベルのＵＶ２１５が観察されたが（図５０）、２２～３０ｍＳ／ｃｍの溶出ピークが観察された。ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、銀染色、およびＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって、全ての試料を分析した。フロースルーにおいて、切断されたＣＢＤの除去が観察され（図５１Ａ）、一方、溶出分画Ｅ１１、Ｅ１２、Ｆ１２、Ｆ１１、Ｆ１０・・・Ｆ６の中の溶出分画において、ＸＴＥＮのごくわずかなバンドが観察された（図５１Ｂ）。ＸＴＥＮの切断種の分離は、早期溶出分画Ｅ１１、Ｅ１２、Ｆ１２、およびＦ１１において、銀染色によって、主なＸＴＥＮポリペプチドよりも速く移動する種として観察された（図５１Ｃ）。上記の結果に基づき、溶出分画をＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによってさらに分析した。図５２は、ＲＰ－ＨＰＬＣ分析のスタック化クロマトグラフィープロファイルを示す。早期溶出分画は、切断された種の著しい存在を示す、広い先導肩部を有した。またこれらの早期分画（Ｅ１２、Ｆ１２、およびＦ１１）は、タンパク質分解タグで富化された。上記分析に基づき、溶出分画Ｆ１０、Ｆ９、Ｆ８、Ｆ７、およびＦ６をプールした。Ｃ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって、溶出プールを再度分析した（図５３）。精製され

たタンパク質は、９７．５％の純度であることが見出された。
【０６１１】
６．濃縮および透析濾過（最終製剤化）
Ａｍｉｃｏｎ Ｕｌｔｒａｃｅｌ－１５（ＭＷＣＯ １０ｋ）遠心分離デバイスを使用して、上記ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑプールを５ｍＬに濃縮し、続いて２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ ｐＨ７．０を用いた７Ｘ透析濾過によって、８．１３ｍｇ／ｍＬの最終タンパク質濃度に濃縮した。２０ｇｍの細胞ペレットから合計４３ｍｇのタンパク質が精製された。３ステップクロマトグラフィーの全体回収は、約３３％と推定された。
【０６１２】
実施例１９：ＣＢＤおよびＨｉｓ８タグを持つ１ｘアミノ－ＸＴＥＮ試薬の精製
アミノ－ＸＴＥＮの精製は、本質的に、１つのシステインを含有する１ｘチオール－ＸＴＥＮの精製について記載される通り行った（詳細は実施例１５参照）。発酵からの２０ｇｍの細胞ペーストを、１００ｍＬの２０ｍＭ リン酸ナトリウム、ｐＨ８．０（溶解緩衝液）中で均質化し、熱処理して、遠心分離および濾過によって清澄化した。疎水性相互作用クロマトグラフィーを第１のステップとして使用し、Ｎ末端無傷タンパク質を捕捉した（図５４）。分画Ｅ２、Ｅ３、およびＥ４をさらなる処理のためにプールした。ＩＭＡＣ親和性クロマトグラフィーは、ＸＴＥＮの無傷Ｃ末端Ｈｉｓタグに結合するための捕捉ステップとして使用した（図５５）。分画Ｅ２およびＥ３をプールした。ＩＭＡＣ溶出プールのトリプシン消化は、１：２００ｍ／ｍの比で終夜、３７℃で行った。トリプシン消化後、ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑクロマトグラフィーを使用し、切断されたタグを分離した。分画は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥに続いて、銀染色（図５６）およびＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣ（図５７）によって分析した。上記分析に基づき、溶出分画Ｃ１０、Ｃ１１、およびＣ１２をプールした。Ｃ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって、溶出プールを再度分析した（図５８）。タンパク質は、９８％超の純度であることが見出された。Ａｍｉｃｏｎ Ｕｌｔｒａｃｅｌ－１５（ＭＷＣＯ １０ｋ）遠心分離デバイスを使用して、ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑプールを３０００ＲＰＭで５ｍＬに濃縮し、続いて２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ ｐＨ７．０を用いた７Ｘ透析濾過によって、５．３５ｍｇ／ｍＬの最終タンパク質濃度に濃縮した。
【０６１３】
実施例２０：ＲＰ１１／Ｈｉｓ８－ＸＴＥＮ２タグ系の精製および評価
上記の発現ベクターを使用して、２タグ付きＸＴＥＮタンパク質を構築し、融合タンパク質を以下のアミノ酸配列または成分：ＭＫＩＫＴＧＡＲＩＬＡＬＳＡＬＴＴＭＭＦＳＡＳＡＬＡＡＰＴＴＡＧＡＧ－Ｔａｇ－ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６９（Ａｍ１）－ＲＨＨＨＨＨＨＨＨでコードし、式中、ＭＫＩＫＴＧＡＲＩＬＡＬＳＡＬＴＴＭＭＦＳＡＳＡＬＡは、宿主細胞周辺質に発現および輸送されたポリペプチドから切断されるＭａｌＥ認識配列であり、ＡＰＴＴＡＧＡＧはスペーサーであり、Ｔａｇは、以下に由来する（括弧内の配列が続くタグ名）：ＲＰ５（ＲＰＲＰＲＰＲＰＧＲ）；ＲＰ７（ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＧＲ）；ＫＰ５（ＫＰＫＰＫＰＫＰＧＲ）；ＲＰ９（ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＧＲ）；ＲＰ１１（ＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＲＰＧＲ）；Ｐ５Ｋ４Ｐ９（ＲＰＲＰＫＰＲＰＫＰＲＰＫＰＲＰＫＰＧＲ）；およびＲ６Ｋ５Ｐ１１（ＲＰＲＰＫＰＲＰＫＰＲＰＫＰＲＰＫＰＧＲ）。タグを持つ構築体の全ての変化形を製造し、実施例１５に記載される方法を使用して、タンパク質を大腸菌中で発現させた。ＳＤＳ－ＰＡＧＥ／クマシー染色分析のために、可溶性抽出物を宿主細胞から調製した。分析によって、Ｎ末端タグ長およびアミノ酸組成物は、ＲＰ７、ＲＰ９、ＲＰ１１、およびＲ６Ｋ５Ｐ１１タグを持つ構築体の発現について、タンパク質発現に顕著に影響しなかった（図５９参照）。ＲＰ５、ＲＰ７、ＲＰ９、およびＲＰ１１タグを持つ発現タンパク質を、ＭａｃｒｏＣａｐ ＳＰ樹脂への結合についてさらに試験した。より長いタグを持つタンパク質は、カチオン交換樹脂により効率的に結合し、よりストリンジェントな洗浄条件下で結合されたままであった。したがって、ＲＰ１１タグは、カチオン交換クロマトグラフィーを使用し、ＸＴＥＮの精製のためのＮ末端タグとして選択された。追加の実験は、ＲＰ１１－ＸＴＥＮ－Ｈｉｓ８ポリペプチドが、発酵槽中で効率的に発現し

たことを示し、発現したタンパク質の大部分は、細胞ペレット分画中に見出された（図６０）。

【０６１４】

実施例２１：ＲＰ１１／Ｈ８　２タグ系を持つ１ｘアミノ－ＸＴＥＮ試薬の精製

１．発現

１ｘアミノ－ＸＴＥＮのＲＰ１１－ＸＴＥＮ－Ｈｉｓ８前駆体は、記載される４Ｌ発酵反応を使用し、形質転換された大腸菌中の発現によって産生された。細胞を遠心分離によって採取し、使用するまで－８０℃で冷凍した。

【０６１５】

２．溶解および清澄化

２５ｇｍの細胞ペーストを、７５ｍＬの２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ８．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、2ｍＭ　ＥＤＴＡ中に再懸濁した。再懸濁されたペーストを、８００～９００バールで３回ホモジナイザーに通すことによって、溶解を行った。ホモジネートを８５℃の水浴中で１５分間保持した後、氷／水浴を使用し、温度が１０℃以下に低下するまで急速に冷却した。次いで、処理されたホモジネートを、１０，０００ｒｐｍでＳＬＡ－３０００ローターにおいて６０分間遠心分離した。上澄みを回収し、０．２２μｍボトルトップフィルターを使用して濾過した。

【０６１６】

３．カチオン交換捕捉ステップ

カチオン交換クロマトグラフィーを捕捉ステップとして使用し、産物のＮ末端完全性を保証した。産物に対するその優れた能力および選択性に起因して、いくつかのカチオン交換培地の中からＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰ樹脂（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を選択した。２０ｍＬのＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰカラムをＲｅｄｉ－Ｓｅｐハウジングに充填し、２０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ８．０）、２０ｍＭ　ＮａＣｌ緩衝液で平衡化した。溶解物を重力によってカラムの上に負荷した。３カラム容量（ＣＶ）の２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ８．０、１００ｍＭ　ＮａＣｌを洗浄ステップとして適用した後、タンパク質を３ＣＶの２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ８．０、５００ｍＭ　ＮａＣｌでステップ溶出した。溶出のために半ＣＶ分画（１０ｍＬ）を回収し、４～１２％ビス－トリスＳＤＳ／ＰＡＧＥによって分析した（図６１）。後次のクロマトグラフィーステップのために、溶出分画２～４を合わせた。

【０６１７】

４．ＩＭＡＣ研摩ステップ

２０ｍＬのＴｏｙｏＰｅａｒｌ　ＡＦ－キレートカラムを、Ｒｅｄｉ－Ｓｅｐカラムハウジングに充填し、１００ｍＭ硫酸ニッケルを装入した。カラムを２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ８．０、５００ｍＭ　ＮａＣｌで平衡化した後、ＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰプールを重力によってカラムの上に負荷した。２０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ８．０）、５００ｍＭ　ＮａＣｌ、５ｍＭイミダゾール緩衝液に続いて、２０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ８．０）、５ｍＭイミダゾールを使用し、２つの洗浄ステップを適用した。次いで、２０ｍＭリン酸ナトリウム、１００ｍＭイミダゾールを使用して、産物をカラムから溶出し、４ＣＶの溶出に対して半ＣＶ（１０ｍＬ）分画を回収した。各ステップからの試料を、４～１２％ビス－トリスＳＤＳ／ＰＡＧＥによって審査した（図６２）。ゲルに基づいて、溶出２および３をさらなる処理のためにプールした。全体収率は３０％であった。

【０６１８】

５．ＩＭＡＣ溶出プールのトリプシン消化

ＩＭＡＣプールのトリプシン消化は、１：２００および１：５００ｍ／ｍの比で、１ｍｇ／ｍＬのウシトリプシン（Ｓｉｇｍａ、カタログ＃Ｔ１４２６、ウシ膵臓からのトリプシン）をＩＭＡＣプールに添加することによって行った。反応混合物を３７℃で終夜保持し、消化の完了は、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析によって確認した。消化前および消化後試料を、４～１２％ビス－トリスＳＤＳ／ＰＡＧＥによって分析し、クマシー染色および銀染色の双方によって染色した（図６３）。クマシー染色されたゲル上の、よりかすかな

染色、ならびに消化後試料の分子量の移行は、消化前試料と比較したとき、ＮおよびＣ末端タグの双方の良好な除去を示す。銀染色されたゲルは、消化後に均質なバンドを示し、試料中の切断種の不在を示唆し、ＲＰ１１／Ｈ８　２タグ系および精製方法が、均質な最終ＸＴＥＮ産物を提供するという結論を支持する。

【０６１９】

実施例２２：ＲＰ１１およびＨｉｓ８親和性タグを持つＸＴＥＮの精製

１．発現

それぞれＮおよびＣ末端でＸＴＥＮに結合された２つの親和性タグを持つ融合タンパク質ＲＰ１１－ＸＴＥＮ－Ｈｉｓ８は、記載される条件を使用し、４Ｌ発酵反応を使用して大腸菌中で発現させた。

【０６２０】

２．溶解および清澄化

成長後、細胞を遠心分離によって採取し、使用するまで－８０℃で冷凍した。細胞ペレットを溶解緩衝液（２０ｍＭ　リン酸ナトリウム、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、2ｍＭ　ＥＤＴＡ　ｐＨ８．０、細胞ペースト１ｇ当たり３ｍＬの緩衝液）中に再懸濁した。ＡＰＶホモジナイザーに３回、８３０～９００バールの圧力で通すことによって細胞を溶解した。溶解緩衝液（細胞ペースト１グラム当たり１ｍＬの緩衝液）を追跡として使用し、ホモジナイザーから滞留量を回収した。均質化した溶解物を８５℃の水浴中で２０分間インキュベートし、続いて氷水浴中で２０分間急速冷却した。加熱および冷却処理後、溶解物を１１０００ＲＰＭで９０分間、ＳＯＲＶＡＬＬ遠心分離器内で遠心分離した。遠心分離後、上澄みを２つのＣＵＮＯ　Ｂｉｏ　ｃａｐ　２５（ＢＣ００２５Ｌ９０ＳＰ０８Ａ）フィルターに通して濾過した。清澄化した上澄みを４℃で終夜保管した。

【０６２１】

３．捕捉ステップ：Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　ＩＭＡＣクロマトグラフィー

ＩＭＡＣ親和性クロマトグラフィーは、ＸＴＥＮを正常なＣ末端Ｈｉｓタグと結合するための捕捉ステップとして使用した。つまり、クロマトグラフィーカラムＢＰＧ１４０／１２（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）に、２０００ｍＬのＴｏｙｏｐｅａｒｌ　ＩＭＡＣ　６５０Ｍ樹脂（ＴＯＳＯＨ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を充填した。２カラム容量（ＣＶ）の平衡緩衝液（２０ｍＭ　リン酸ナトリウム、５００ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ８．０）でカラムを平衡化した。澄化した細胞溶解物を、５Ｍ　ＮａＣｌストック溶液を使用して最終ＮａＣｌ濃度５００ｍＭに調整し、次いでＩＭＡＣ樹脂の上に負荷した。２カラム容量の平衡緩衝液、次いで２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、５００ｍＭ　ＮａＣｌ、５ｍＭイミダゾール、ｐＨ８．０に続いて、２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、５ｍＭイミダゾール、ｐＨ８．０でカラムを洗浄し、塩を除去した。２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、１００ｍＭイミダゾール、ｐＨ８．０で溶出を行った。フロースルー、洗浄、および溶出分画は、非還元４～１２％ビス－トリスＳＤＳ－ＰＡＧＥ／クマシー染色によって分析し、所望の産物を持つ分画をプールした。

【０６２２】

４．研摩／捕捉ステップ：ＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰクロマトグラフィー

カチオン交換クロマトグラフィーを研摩ステップとして使用し、産物のＮ末端完全性を保証した。産物に対するその優れた能力および選択性に起因して、いくつかのカチオン交換培地の中からＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰ樹脂（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）を選択した。１０００ｍＬのＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰ樹脂をＢＰＧ１００／１３（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）クロマトグラフィーカラムに充填し、２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ８．０、２０ｍＭ　ＮａＣｌで平衡化した。ＩＭＡＣプールをカラムの上に負荷し、樹脂を２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ８．０、および２カラム容量の２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ８．０、１５０ｍＭ　ＮａＣｌで洗浄した。タンパク質を、２０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ８．０）中、５カラム容量の直線勾配１５０～５００ｍＭ　ＮａＣｌで溶出した。分画を回収し、４～１２％ビス－トリスＳＤＳ／ＰＡＧＥによって分析した。次のステップのために、所望の産物を持つ分画を合

わせた。
【０６２３】
５．ＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰ溶出プールのトリプシン消化
ＳＰ溶出プールのトリプシン（Ｓｉｇｍａ，ウシ膵臓からのトリプシン）消化は、１：２００ｍ／ｍの酵素／タンパク質比で終夜、３７℃で行った。
【０６２４】
６．研摩ステップ：Ｍａｃｒｏｃａｐ　Ｑクロマトグラフィー
トリプシン消化後、Ｍａｃｒｏｃａｐ　Ｑクロマトグラフィーを使用し、切断されたタグを最終産物から分離した。ＢＰＧ１００／１９カラム（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）に、１５００ｍＬカラム容量のＭａｃｒｏｃａｐ　Ｑ樹脂（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）を充填した。トリプシン消化したＭａｃｒｏｃａｐ　ＳＰ溶出プールを８０℃で１５分間、２０ｍＭ　ＤＴＴおよび２ｍＭ　ＥＤＴＡでインキュベートし、ジスルフィド結合を低減し、トリプシンを不活性化した。冷却したタンパク質溶液を、Ｍｉｌｌｉ－Ｑ水で５ｍＳ／ｃｍ以下の導電性に希釈し、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．０で平衡化されたＭａｃｒｏｃａｐ　Ｑカラムの上に負荷した。２カラム容量の２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．０、次いで２カラム容量の２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、２ｍＭ　ＴＣＥＰ、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．０でカラムを洗浄した。タンパク質は、２０カラム容量の２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０中、線形勾配１５０ｍＭ　ＮａＣｌ～５００ｍＭ　ＮａＣｌで溶出した。分画を、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ／銀染色によって分析した。
【０６２５】
７．濃縮および透析濾過（最終製剤化）
選択したＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ分画を合わせ、１０ＫＤ　Ｐｅｌｌｉｃｏｎ　ｍｉｎｉ（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を２０ｐｓｉ未満のフィード圧、８ｐｓｉ未満の残余分で濃縮し、続いて２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．０を用いた１０Ｘ透析濾過によって５ｍｇ／ｍＬ超の最終タンパク質濃度を達成した。
【０６２６】
８．異なる方法で精製されたタンパク質の純度分析
１つのバッチ（バッチ１）は、上記のような３つの精製ステップを通じて精製された。別のバッチ（バッチ２）は、同じ発酵材料から精製されたが、ＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰ研摩ステップは省略された。ＸＴＥＮの切断種は、バッチ２のＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ溶出分画中のＳＤＳ－ＰＡＧＥ／銀染色（図８７Ａ）によって検出され、バッチ１のＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ溶出分画は、本質的に切断を含まなかった（図８７Ｂ）。これらの結果は、用いられた条件下で、ＲＰ１１タグに基づくＭａｃｒｏＣａｐ　ＳＰステップが、Ｎ末端完全性および全体的な産物品質を保証するために必須であること、ならびにＲＰ１１／Ｈ８２タグ系および精製方法が、均質な最終ＸＴＥＮ産物を提供することを支持する。
【０６２７】
実施例２３：ＸＴＥＮ前駆体を製造するためのＤＢＣＯ－Ｍａｌリンカーの３ｘチオール－ＸＴＥＮとの共役
３ｘ－チオール－ＸＴＥＮ（ＸＴＥＮ＿ＡＥ９０５（Ａｍ１，Ｃ８，Ｃ４５３，Ｃ８９８，セグメント１７４））システイン操作されたＸＴＥＮセグメントは、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中の１９３μＭ（１６ｍｇ／ｍＬ）溶液として反応のために調製した。ＤＢＣＯ－マレイミド（Ｃｌｉｃｋ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｔｏｏｌｓ，Ｉｎｃ．、カタログ＃Ａ１０８）を、ＤＭＦ中に溶解し、最終濃度５０ｍＭにした。３ｘチオール－ＸＴＥＮ（５．１ｍｇ、３２０μｌ）のアリコートを、１０ｍＭの新鮮な再構築ＤＴＴを用いて、７０℃で２０分間還元した。タンパク質試料を、水で６００μｌの総容量に希釈した。１２００μｌの１００％アセトニトリルを添加し、混合液を１３，０００ｒｐｍで５分間遠心分離した。上澄みを除去し、１０００μｌの８０％アセトニトリルを添加し、混合液を１３，０００で１分間遠心分離した。洗浄ステップを再度繰り返した。ペレットを、３００μｌの１００ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０中に溶解した。

ＤＭＦ中７．７μｌの５０ｍＭ　ＤＢＣＯ－Ｍａｌ溶液を添加し（１：６モル比の３ｘチオール－ＸＴＥＮ：ＤＢＣＯ－マレイミド）、２５℃で２時間インキュベートした。Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣ分析によって、修飾の完了を監視した（図６４Ａ）。タンパク質混合液を、１．６ｍＬ　Ｔｏｙｏｐｅａｒｌブチルカラムを使用し、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）によって精製した。溶出は、２０ｍＭリン酸塩（ｐＨ７．０）緩衝液中３０カラム容量の下降勾配（１．０５Ｍ～０．３Ｍ）硫酸アンモニウムを用いて０．５ｍＬ／分の流量で行った（図６４Ｂ）。Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって、クロマトグラフィー分画を分析した（図６４Ｃ）。

【０６２８】

実施例２４：トリプシン切断および二重タグ付加前駆体の精製

トリプシン消化

ＸＴＥＮ＿ＡＥ８７０＿Ａｍ１，Ｃ１の二重タグ付加（ＣＢＤ／Ｈｉｓ８）前駆体は、ＣＢＤ配列の存在に起因して、クマシーで十分に染色する一方、ＸＴＥＮ＿ＡＥ８７０＿Ａｍ１，Ｃ１の非タグ付加異形は、クマシーで十分に染色しないが、銀染色によって検出することができる。したがって、トリプシン消化の完全性は、クマシー染色（図６５Ａ）および銀染色（図６５Ｂ）技法双方を使用して監視した。ＸＴＥＮ＿ＡＥ８７０＿Ａｍ１，Ｃ１の二重タグ付加前駆体は、２０ｍＭリン酸緩衝液（ｐＨ８）中、異なる比率のウシトリプシンおよびプロテオミクス等級のブタトリプシン（陽性対照）で消化した。３７℃で終夜のインキュベーションは、残留するクマシー染色された１６０ｋＤａバンドの二重タグ付加前駆体の検出に基づいて、２５℃で終夜のインキュベーションよりもさらに完全な消化を許した（図６５Ａ：全ての比率は、トリプシン：基質の質量／質量比を指す）。図６５Ｂは、１：１００、１：２００、および１：５００の比率が、ウシトリプシンで消化し、１：１００がブタトリプシンで消化して、ＸＴＥＮ前駆体の効率的な消化をもたらすことを示す。

【０６２９】

トリプシン消化された二重タグ付加前駆体のＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ精製

１：２００比率のウシトリプシン：二重タグ付加前駆体（質量／質量）を、３７℃で終夜の消化に使用した。図６６Ａは、二重タグ付加前駆体の消化産物への９０％超の変換を示す。これは、消化後の約１６０ｋＤａにおけるクマシー染色されたバンドの消失、および２０ｋＤａ　ＣＢＤフラグメントの出現によって実証された。

【０６３０】

トリプシン消化された材料は、ＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑアニオン交換樹脂に続いて、緩衝液Ａ：２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．５およびＢ：２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、５００ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．５を使用する精製ステップに供された。消化された材料を重力によって付加し、０％、２０％、４０％、６０％、８０％、および１００％緩衝液Ｂの連続する３カラム容量のウォッシュを使用し、段階的に溶出した。ＸＴＥＮ＿ＡＥ８７０は、６０％Ｂ中に溶出した。図６６Ｂは、切断されたＣＢＤフラグメントが、使用される条件下でＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑに結合せず、ＸＴＥＮから完全に分離されたことを示す。ＭａｃｒｏＣａｐ　ＱからのＸＴＥＮの段階的溶出は、切断ポリペプチドを部分的に分離しただけであった。良好な分離は、ＸＴＥＮの勾配溶出によって達成された（図６６Ｃ）。

【０６３１】

残留トリプシン活性の試験

最終製剤化ＸＴＥＮ調製物中の残留トリプシン活性の存在を試験するために、タンパク質試料を１０：１質量／質量比で合成［Ｇ２］ＧＬＰ２ペプチドと混合した。消化の陽性対照は、［Ｇ２］ＧＬＰ２ペプチドおよびウシトリプシンを含有し、陰性対照は、［Ｇ２］ＧＬＰ２ペプチドのみを含有した。全ての試料を３７℃で終夜インキュベートした。インキュベーション後、試料を１％　ＴＦＡで急冷し、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｊｕｐｉｔｅｒ　Ｃ１８　５μｍ　３００Ａ分析カラムを使用し、Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣ分析に供した。緩衝液Ａは、０．１％　ＴＦＡ、９９．９％　ＨＰＬＣ等級H_2Oを含有し、緩衝液Ｂは

、０．１％　ＴＦＡ、９９．９％　ＨＰＬＣ等級アセトニトリルを含有した。５％Ｂ～５０％Ｂの勾配を使用し、４５分の溶出時間にわたって分析を行った。図６７は、ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６９（Ａｍ１，Ｃ２）最終調整物中の残留トリプシン活性のＲＰ－ＨＰＬＣ分析の結果を示す。図６７Ａは、無傷ＧＬＰ２ペプチドを示す（保持時間４１分）。図６７Ｂは、２つの特徴的なトリプシンフラグメントを持つＧＬＰ２ペプチドのトリプシン消化を示す（保持時間３３．５分および３４分）。図６７Ｃは、ＧＬＰ２ペプチドが、ＸＴＥＮを用いた終夜のインキュベーション後に無傷のままであり、トリプシンフラグメントが観察されなかったことを示す。この結果は、最終ＭａｃｒｏＣａｐ　Ｑ精製調製物が、残留トリプシン活性を含有しないことを示す。

【０６３２】

実施例２５：共役のためのシステイン操作されたＸＴＥＮの発酵および精製

プラスミド上にＡＣ２９２を含有する大腸菌を、２ｘＹＴ中で終夜、飽和まで成長させ、次いで、２００ｍＬのこの培養物を使用して、ウェーブバッグ中２５Ｌ培養物の２ｘＹＴ培地に播種した。双方の培養物は、５０μｇ／ｍＬカナマイシンの存在下で存在した。第２の培養物を約１．０のＯＤ６００まで３７℃で成長させ、２６℃に冷却して、１２ｍＬの１Ｍ　ＩＰＴＧで終夜誘導した。細胞ペレットを、４０００ｒｐｍで２０分間のＳＬＡ－３０００ローター回転で採取した。細胞ペレット（１８４ｇ）を、７３６ｍＬの２０ｍＭトリス（ｐＨ６．８）、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中に再懸濁した。再懸濁した細胞を、２０，０００ｐｓｉでマイクロフルイダイザーを用いて溶解し、次いで７５℃に１５分間加熱した後、氷上で３０分間急速冷却した。次いで、溶解物を遠心分離によって清澄化した。次いで、清澄化した溶解物をＤＥ５２カラムの上に負荷し、予めＮａＯＨで衛生化し、２０ｍＭトリス（ｐＨ６．８）、５０ｍＭ　ＮａＣｌで平衡化した。５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ６．８）、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ６．８）、１５０ｍＭ　ＮａＣｌでカラムを洗浄し、５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ６．８）、２５０ｍＭ　ＮａＣｌで溶出した。次いで、プールした溶出分画をｍａｃｒｏｃａｐＱカラムの上に負荷し、予めＮａＯＨで衛生化し、２０ｍＭトリス（ｐＨ６．８）、５０ｍＭ　ＮａＣｌで平衡化した。９カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ６．８）、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、９カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ６．８）、１００ｍＭ　ＮａＣｌでカラムを洗浄し、９カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ６．８）、２５０ｍＭ　ＮａＣｌで溶出した。プールした溶出分画を１５％ｗ／ｖ硫酸ナトリウムに調整した後、オクチルセファロースＦＦカラムの上に負荷し、予めＮａＯＨで衛生化して、トリスｐＨ７．５で平衡化した。４カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、１５％ｗ／ｖ硫酸ナトリウムでカラムを洗浄し、４カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ６．８）、４カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、５％ｗ／ｖ硫酸ナトリウムで溶出した。試料を４℃で貯蔵し、ロット＃ＡＰ１９７を得た。次いで、精製したシステイン操作されたＸＴＥＮは、表１１の薬物等のペイロードとの共役に適した反応物として機能し、ＸＴＥＮ－薬物共役体をもたらすことができる。

【０６３３】

実施例２６：ＧＬＰ２－ＸＴＥＮのＸＴＥＮ－ペイロードをもたらすための１ｘアミノ－ＸＴＥＮへのＧＬＰ２－Ｃｙｓの共役

１ｘアミノ－ＸＴＥＮ（ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６９（Ａｍ１））を、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中の６７μＭ（５．３５ｍｇ／ｍＬ）として調製した。Ｓｕｌｆｏ－ＳＭＣＣ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、カタログ＃２２３２２）を、ＤＭＳＯ中の１０ｍＭ溶液として新たに調製した。１０ｍｇのアミノ－ＸＴＥＮ（１．８７ｍＬ）を１５モル過剰のスルホ－ＳＭＣＣ（１８．７μｌ）と混合し、２５℃で１時間インキュベートした。Ａｍｉｃｏｎ　Ｕｌｔｒａ－１５，ＭＷＣＯ　５ｋ遠心分離装置を使用し、遠心分離濾過によって過剰な架橋剤を除去した。１．８ｍＬ容量の反応混合物を、８ｍＬの２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌと混合し、Ｓｏｒｖａｌｌ　ＲＴ６０００遠心分離機中で３０００ｒｐｍ、４℃で２０分間遠心分離した。この手順を２回以上繰り返した。回収された残余分の最終容量は１．８ｍＬであった。Ｇ

ＬＰ２－Ｃｙｓペプチド（ＣＳＢｉｏ，カスタム合成）を２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ ｐＨ７．０、５０ｍＭ ＮａＣｌ中に溶解し、最終濃度３ｍｇ／ｍＬにした。Ｎ－マレイミド－ＸＴＥＮを、２．３倍モル過剰のＧＬＰ２－Ｃｙｓペプチドと混合し、２５℃で１時間インキュベートした。Ｃ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって、修飾の完了を監視した。２０μｇのタンパク質試料は、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ Ｊｕｐｉｔｅｒ Ｃ１８ ５μＭ ３００Ａ ４．６ｍｍｘ１５０ｍｍカラム上に負荷した。タンパク質は、０．１％トリフルオロ酢酸中の５～５０％勾配のアセトニトリルで溶出され、２１４ｎｍでの吸光度によって検出された。本質的に、全てのＮ－マレイミド－ＸＴＥＮは、ＨＰＬＣおよびエレクトロスプレー質量分析によって実証されるように、ＧＬＰ２－Ｃｙｓ－ＸＴＥＮ共役体に変換された（ＮａｎｏＳｅｐ ３Ｋ Ｏｍｅｇａ遠心分離装置（Ｐａｌｌ Ｃｏｒｐ．）を使用して脱塩された１００μｇタンパク質試料上で行われた試料のＥＳＩ－ＭＳ分析）。５０％アセトニトリル、０．５％ギ酸中のタンパク質溶液は、流量１０μｌ／分で高分解能質量分析計に注入した。スペクトルは、８００～１６００ａｍｕ範囲内で得られ、Ｂａｙｅｓｉａｎタンパク質再構築ソフトウェアを使用して、ゼロ電荷スペクトルに再構築された（図６８）。未反応のＸＴＥＮおよびＧＬＰ２ペプチドを、連続アニオン交換（ＭａｃｒｏＣａｐ Ｑ）および疎水性相互作用（Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ Ｐｈｅｎｙｌ）クロマトグラフィーによって共役体から分離した。ＲＰ－ＨＰＬＣおよびＭＳ分析の結果は、反応物および最終産物の高い収率および純度を実証した（図６８）。

【０６３４】

実施例２７：１ｘチオール－ＸＴＥＮ（システイン操作されたＸＴＥＮ）へのＧＬＰ２－Ｎ－Ｍａｌの共役

１ｘチオール－ＸＴＥＮ（ＸＴＥＮ＿ＡＥ８８０（Ａｍ１，Ｃ８）（セグメント１８１）は、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ ＮａＣｌ中の１２２μＭ（９．８４ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。ＧＬＰ２－Ｎ－マレイミドペプチド（ＣＳＢｉｏ，カスタム合成）をＤＭＳＯ中に溶解し、最終濃度３ｍｇ／ｍＬにした。１ｘチオール－ＸＴＥＮ（９００μｌ中８．８ｍｇ）を、３倍モル過剰のＧＬＰ２－Ｎ－Ｍａｌペプチドと混合し、２５℃で１時間インキュベートした。修飾の完了および得られた共役を、Ｃ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣ（２０μｇのタンパク質試料を、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ Ｊｕｐｉｔｅｒ Ｃ１８ ５μＭ ３００Ａ ４．６ｍｍｘ１５０ｍｍカラム上に負荷した。タンパク質は、０．１％トリフルオロ酢酸中の５～５０％勾配のアセトニトリルで溶出され、２１４ｎｍでの吸光度によって検出された）およびエレクトロスプレーイオン化質量分析（試料のＥＳＩ－ＭＳ分析は、ＮａｎｏＳｅｐ ３Ｋ Ｏｍｅｇａ遠心分離装置（Ｐａｌｌ Ｃｏｒｐ．）を使用して脱塩された１００μｇタンパク質試料上で行われた）によって監視した。５０％アセトニトリル、０．５％ギ酸中のタンパク質溶液は、流量１０μｌ／分で高分解能質量分析計に注入した。スペクトルは、８００～１６００ａｍｕ範囲内で得られ、Ｂａｙｅｓｉａｎタンパク質再構築ソフトウェアを使用して、ゼロ電荷スペクトルに再構築された。分析の結果は、図６９に示される。 ＧＬＰ２－ＸＴＥＮ共役体は、移動相として０．１％ ＴＦＡ中５～５０％勾配のアセトニトリルを使用し、分取Ｃ４ ＲＰ－ＨＰＬＣ（Ｖｙｄａｃ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃ４ ５μ ３００Ａ １０ｍｍｘ２５０ｍｍカラム）によって精製された（図７０Ａ参照）。最終ＨＰＬＣ精製されたＧＬＰ２－ＸＴＥＮ共役体は、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ Ｊｕｐｉｔｅｒ Ｃ１８ ５μＭ ３００Ａ ４．６ｍｍ ｘ １５０ｍｍカラムを使用して分析した（図７０Ｂ参照）。精製されたＧＬＰ２－ＸＴＥＮ共役体の収量は６．２ｍｇ（７０％）であった。

【０６３５】

実施例２８：１ｘチオール－ＸＴＥＮへのＤＢＣＯ－Ｍａｌの共役

１ｘチオール－ＸＴＥＮ（ＸＴＥＮ＿ＡＥ８８０（Ａｍ１，Ｃ８）（セグメント１８１）を、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ ＮａＣｌ中の１５０μＭ（１２ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。ＤＢＣＯ－マレイミド（Ｃｌｉｃｋ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｔｏｏｌｓ，Ｉｎｃ．、カタログ＃Ａ１０８）をＤＭＦに溶解し、最終濃度５０ｍＭにした。容量２００μｌ（２．４ｍｇ）の１ｘチオール－ＸＴＥＮを、１Ｍストック溶液を使

用し、１００ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０に調整した。ＤＭＦ中１．２μｌ容量の５０ｍＭ　ＤＢＣＯ－Ｍａｌをタンパク質溶液に添加し（１：２モル比の１ｘチオール－ＸＴＥＮ：ＤＢＣＯ－マレイミド試薬）、２５℃で１時間インキュベートした。Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって、修飾の完了を監視した（図７１Ａ）。タンパク質混合液は、１．６ｍＬ　Ｔｏｙｏｐｅａｒｌブチルカラムを使用し、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）によって精製した。溶出は、２０ｍＭリン酸塩（ｐＨ７．０）緩衝液中３０カラム容量の下降勾配（１．０５Ｍ～０．３Ｍ）硫酸アンモニウムを用いて０．５ｍＬ／分の流量で行った（図７１Ｂ）。Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって、クロマトグラフィー分画を分析した（図７１Ｃ）。

【０６３６】

実施例２９：Ｎ末端によって結合された一特異性ＸＴＥＮ前駆体からの二重特異性共役体の調製

この実施例は、１つはペイロードＡを持ち、１つはペイロードＢを持つ、２つの異なるＸＴＥＭ－ペイロード前駆体をＮ～Ｎ末端構成で結合し、二重特異性共役体をもたらすことによるＸＴＥＮ－ペイロード組成物の創製について説明する。

【０６３７】

第１のステップとして、複数のシステインを含有するＸＴＥＮ分子（システイン操作されたＸＴＥＮ）を、上記のＲＰ１１－Ｈｉｓ８　２タグ精製系を使用して調製し、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中で製剤化する。ペイロードＡ－マレイミドを、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、ＤＭＦ、またはＤＭＣＯ水溶液、または試薬可溶性に依存する任意の他の適切な溶媒中に溶解する。ペイロードＡ－マレイミドを、２～６モル過剰のＸＴＥＮでシステイン操作されたＸＴＥＮに添加し、２５℃で１時間インキュベートする。Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって、修飾の完了を監視する。得られたペイロードＡ－ＸＴＥＮ共役体を、分取Ｃ４－Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣを使用して汚染物質および未反応の化合物から精製する。ペイロードＡ－ＸＴＥＮ共役体を、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中で製剤化する。次に、ペイロードＡ－ＸＴＥＮ共役体を、ジベンジルシクロオクチン（ＤＢＣＯ）－ＮＨＳエステルまたはＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳエステルを１０～５０モル過剰でＸＴＥＮに添加し、２５℃で１～２時間インキュベートすることによってさらに修飾する。分析的Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって、修飾の完了を監視する。共役効率が低いか（例えば、９０％未満）、または複数の非特異的産物が形成される場合、ＤＢＣＯ－ペイロードＡ－ＸＴＥＮ共役体は、分取Ｃ４－Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣを使用して精製される。ＤＢＣＯ－ＮＨＳエステル共役の効率が高く（９０％超）、著しい副産物が無い場合、ＤＢＣＯ－ペイロードＡ－ＸＴＥＮ共役体は、１０～３０ｋＤａ　ＭＷＣＯ遠心分離装置、アセトニトリル沈殿、またはアニオン交換クロマトグラフィーを使用し、緩衝液交換によって過剰な試薬から精製される。

【０６３８】

第２のＸＴＥＮ－ペイロード前駆体を創製するために、ペイロードＢ－マレイミドを、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、ＤＭＦ、またはＤＭＣＯ水溶液、または試薬可溶性に依存する任意の他の適切な溶媒中に溶解する。ペイロードＢ－マレイミドを、２～６モル過剰のＸＴＥＮで第２のシステイン含有ＸＴＥＮに添加し、２５℃で１時間インキュベートする。分析的Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって、修飾の完了を監視する。得られたペイロードＢ－ＸＴＥＮ共役体を、分取Ｃ４－Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣを使用して汚染物質および反応物から精製する。ペイロードＢ－ＸＴＥＮ共役体を、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中で製剤化する。アジド－ＰＥＧ４－ＮＨＳエステルを、１０～５０モル過剰でペイロードＢ－ＸＴＥＮに添加し、２５℃で１～２時間インキュベートする。Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって、修飾の完了を監視する。共役効率が低いか（例えば、９０％未満）、または複数の非特異的産物が形成される場合、アジド－ペイロードＢ－ＸＴＥＮ共役体は、分取Ｃ４－Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣを使用して精製される。ＤＢＣＯ－ＮＨＳエステル共役の効率が高く（９０％超）、著しい副産物が無い場合、アジド－ペイロードＢ－ＸＴＥＮ共役体は、１０～３０ｋＤａ　ＭＷＣＯ遠心分離装置、

アセトニトリル沈殿、またはアニオン交換クロマトグラフィーを使用し、緩衝液交換によって過剰な試薬から精製される。最終産物は、精製および濃縮されたＤＢＣＯ－ペイロードＡ－ＸＴＥＮおよびアジド－ペイロードＢ－ＸＴＥＮタンパク質を、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．０緩衝液、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中、等モル比で混合することによって創製され、反応が完了するまで、２５℃で１時間以上インキュベートされる。Ｃ４またはＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって、修飾の完了を監視する。必要に応じて、二重特異性共役体ペイロードＡ－ＸＴＥＮ－ペイロードＢは、分取ＲＰ－ＨＰＬＣ、疎水性相互作用クロマトグラフィー、またはアニオン交換クロマトグラフィーによって精製される。

【０６３９】

実施例３０：Ｎ末端によって結合された一特異性ＸＴＥＮ前駆体からの三量体共役体の調製

一特異性ＸＴＥＮ－ペイロード前駆体は、Ｃ末端に単一システインを含有する、例えば、ＡＥ１４４～ＡＥ８９０の範囲の長さのＸＴＥＮ分子に結合されたペイロードＡのＮ末端融合として調製される（実施例２５に記載される通り調製および精製される）。精製された前駆体を、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中で製剤化する。トリス－（２－マレイミドエチル）アミン（ＴＭＥＡ，Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、カタログ＃３３０４３）を、ＤＭＳＯまたはＤＭＦ中に溶解する。前駆体（４～６モル過剰の架橋剤）およびＴＭＥＡ試薬を混合し、２５℃で１時間インキュベートする。Ｃ４もしくはＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣ、またはサイズ排除クロマトグラフィーによって、修飾の完了を監視する。得られた三価ペイロードＡ－ＸＴＥＮ共役体を、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）、アニオン交換クロマトグラフィー、または分取Ｃ４－Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって、タンパク質反応物または部分的産物混合物から精製する。

【０６４０】

実施例３１：ＦＩＴＣ－Ｘ－ＸＴＥＮの共役および精製

ＡＣ２７２、ロット＃ＡＰ１９７に由来する精製タンパク質は、ＦＩＴＣマレイミドで標識された。５ｍＭ　ＴＣＥＰを用いて室温で１時間インキュベートすることによって、試料を還元した。次いで、ＤＧ－１０カラムを使用して、試料をＰＢＳ中に脱塩した。２５倍モル過剰のＤＭＳＯ中ＦＩＴＣ－マレイミドを添加し、室温で２時間インキュベートすることによって、試料を標識した。ＤＭＳＯ濃度が総溶媒の５％未満であるように、容積を調整することに留意されたい。２ｍＭ　ＤＴＴを添加することによって反応を急冷し、次いで、試料をＴＥＶプロテアーゼで終夜消化した。試料を２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）で２倍に希釈し、ｍａｃｒｏｃａｐＱカラムの上に負荷し、ＮａＯＨで予め衛生化して、２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）で平衡化した。５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、１３５ｍＭ　ＮａＣｌ、５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、１７５ｍＭ　ＮａＣｌでカラムを洗浄し、５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、２５０ｍＭ　ＮａＣｌで溶出した。次いで、プールした溶出分画をＴＥＶを用いて６０時間、４℃で消化し、消化を完了させた。次いで、消化した試料を、予めＮａＯＨで衛生化し、２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、１３５ｍＭ　ＮａＣｌで平衡化した１ｍＬのペルロザカラムの上に２回通過させた。任意の遊離ＦＩＴＣを除去するために、次いで、１０，０００ＭＷＣＯ膜を使用し、２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、１３５ｍＭ　ＮａＣｌに対して試料を透析した。ＳＥＣカラム中のＯＤ２１４タンパク質シグナルおよびＯＤ４９５ＦＩＴＣシグナルの共移動は、ＸＴＥＮの標識との良好な共役を示し、最小の遊離色素汚染を伴う（図７２Ｂ）。良好な共役は、ＳＤＳ　ＰＡＧＥ中のＦＩＴＣ蛍光を持つ、明らかに大きなＭＷのタンパク質によっても示される（図７２Ａ）。

【０６４１】

実施例３２：ＧＦＰ－Ｘ－ＸＴＥＮの精製

ＧＦＰ（ＡＣ２１９）は、ＧＦＰリジンに連結するためのアミン反応基と、ＡＣ２９２中のＸＴＥＮに操作された遊離システインに連結するためのシステイン反応基を有する二官能性架橋剤によって、ＸＴＥＮに化学的に架橋された。ＧＦＰは、室温で２時間インキュベートすることによって、二官能性架橋剤スルホ－ＳＭＣＣで標識された。タンパク質

を、ＤＧ－１０カラムを使用し、遊離スルホ－ＳＭＣＣを除去することによって、ＰＢＳ中に脱塩した。ＡＣ２７２、ロット＃ＡＰ１９７に由来する精製タンパク質を還元し、ＤＧ－１０カラム上のＰＢＳ中に脱塩し、標識化ＧＦＰと混合して架橋を可能にした。架橋反応を、添加された２ｍＭ　ＤＴＴで急冷し、ＴＥＶを添加して、４℃で終夜のインキュベーションにおいてＣＢＤドメインを除去した。翌日、追加のＴＥＶを添加し、４℃でさらに６０時間のインキュベーションによって消化を完了させた。ＴＥＶ消化に続いて、試料を２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）中１００ｍＬに希釈し、ｍａｃｒｏｃａｐＱカラムの上に負荷し、ＮａＯＨで予め衛生化して、２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）で平衡化した。５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、５０ｍＭ　ＮａＣｌ、５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、１００ｍＭ　ＮａＣｌ、５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、２００ｍＭ　ＮａＣｌ、５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、２５０ｍＭ　ＮａＣｌ、５カラム容量の２０ｍＭトリス（ｐＨ７．５）、３００ｍＭ　ＮａＣｌ、および５カラム容量の２０ｍＭトリス（７．５）、５００ｍＭ　ＮＣｌでカラムを洗浄した。ピーク溶出分画をプールし、４℃で貯蔵した。架橋は、ＳＥＣカラム中のＯＤ２１４タンパク質シグナルおよびＯＤ３９５　ＧＦＰシグナルの共遊走によって確認され、ＳＥＣ出力は、図７３にオーバーレイとして示される。

【０６４２】

実施例３３：ＧＦＰ－ＸＴＥＮおよびＦＩＴＣ－ＸＴＥＮ共役体の薬物動態

上記実施例に記載されるように調製されたＧＦＰ－ＸＴＥＮおよびＦＩＴＣ－ＸＴＥＮ架橋された共役体の薬物動態を、カニクイザルにおいて試験した。ＧＦＰ－ＸＴＥＮおよびＦＩＴＣ－ＸＴＥＮを、２ｍｇ／ｋｇ、およびそれぞれ０．７７および０．６８ｍＬの投与量で雄のカニクイザルＩＶに投与した。血液試料（１．０ｍＬ）を事前冷却したヘパリン化管に、投与前、２時間、４時間、８時間、２４時間、４８時間、７２時間、９６時間、１２０時間、１６８時間、２１６時間、２６４時間、３３６時間、３８８時間、４３２時間、５０４時間の時点で採取し、血漿中に処理した。ＧＦＰ－ＸＴＥＮの場合は、捕捉および検出の双方のために、ＦＩＴＣ－ＸＴＥＮの場合は、抗ＸＴＥＮ捕捉および抗ＦＩＴＣ検出のために、抗ＸＴＥＮ抗体を使用して、ＥＬＩＳＡアッセイによって定量化を行った。フィットに含まれる全ての時点で、ＷｉｎＮｏｎＬｉｎにおいて、非コンパートメント解析を行い、ＰＫパラメータを決定した。薬物動態結果は、表４０および図７４に要約される。データは、ＸＴＥＮが、類似するサイズのペイロードへの遺伝的融合に相当する方法で化学的に共役される分子の半減期を延長し得ることを示す。

【０６４３】

【表４０】

【表４０】　共役されたＸＴＥＮ－ペイロード組成物のＰＫパラメータ

構築体	Cmax (ng/mL)	AUC (hr*ng/mL)	T ½ (時間)
GFP-X-XTEN (AP197d)	52800	8220000	107
FITC-X-XTEN AP197e	18900	3930000	84.2

【０６４４】

カニクイザルにおけるＧＦＰ－Ｌ２８８、ＧＦＰ－Ｌ５７６、ＧＦＰ－ＸＴＥＮ＿ＡＦ５７６、ＧＦＰ－ＸＴＥＮ＿Ｙ５７６、およびＸＴＥＮ＿ＡＤ８３６－ＧＦＰの薬物動態を試験し、ＰＫパラメータに対する非構造化ポリペプチドの組成物および長さの影響を決定した。注入後の様々な時点で血液試料を分析し、捕捉にはＧＦＰに対するポリクローナル抗体を使用し、検出には同じポリクローナル抗体のビオチニル化調製物を使用し、ＥＬＩＳＡによって血漿中のＧＦＰの濃度を測定した。結果は、図７５に要約される。それらは、ＸＴＥＮ配列の長さの増加とともに、半減期の驚くべき増加を示す。例えば、ＧＦＰ－ＸＴＥＮ＿Ｌ２８８（ＸＴＥＮ中に２８８個のアミノ酸残基を持つ）に対して１０時間の半減期が決定された。５７６個のアミノ酸に対する非構造化ポリペプチド融合パートナーの長さを２倍にすることは、複数の融合タンパク質構築体、すなわち、ＧＦＰ－ＸＴＥ

Ｎ＿Ｌ５７６、ＧＦＰ－ＸＴＥＮ＿ＡＦ５７６、ＧＦＰ－ＸＴＥＮ＿Ｙ５７６に対して２０～２２時間の半減期を増加させた。８３６個の残基に対する非構造化ポリペプチド融合パートナーの長さのさらなる増加は、ＸＴＥＮ＿ＡＤ８３６－ＧＦＰに対して７２～７５時間の半減期をもたらした。したがって、２８８個から５７６個に残基２８８個分だけポリマー長を増加させることは、インビボで半減期を約１０時間増加させた。しかしながら、５７６個から８３６個に残基２６０個分だけポリペプチド長を増加させることは、半減期を５０時間以上増加させた。これらの結果は、インビボ半減期のより大きい比例ゲインをもたらす、非構造化ポリペプチド長さの驚くべき閾値があることを示す。したがって、伸長された非構造化ポリペプチドを含む融合タンパク質は、より短い長さのポリペプチドと比較して、強化された薬物動態の特性を有することが予想される。

【０６４５】

実施例３４：共役による１ｘＤＢＣＯ，３ｘＬＨＲＨ－ＸＴＥＮの調製

１ｘアミノ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２（ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２（Ａｍ１，Ｃ１２，Ｃ２１７，Ｃ４２２））のアリコートを、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭＮａＣｌ中の１９６μＭ（７．７ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。図８８Ａは、タンパク質のＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣおよびＥＳＩ－ＭＳ分析を示す。２，２’－ジピリジルジスルフィド（ＤＰＤ，Ｓｉｇｍａ、カタログ＃Ｄ５７６７）を、ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）中に溶解し、最終濃度１００ｍＭにした。４ｍＬの１ｘアミノ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２溶液を、０．２ｍＬの１Ｍ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８．０と混合してｐＨを約７．５に調整し、７８μｌのＤＰＤ溶液と混合した（１０ｘモル過剰タンパク質）。反応混合液を２５℃で２時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図８８Ｂ）。ＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ（Ｃｌｉｃｋ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｔｏｏｌｓ，Ｉｎｃ．、カタログ＃Ａ１２４）を、無水ＤＭＦ中に溶解し、最終濃度１０ｍＭにした。０．８６５ｍＬのＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ溶液をタンパク質溶液に添加した（１１ｘモル過剰タンパク質）。反応混合液を２５℃で２時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図８８Ｃ）。１Ｍエタノールアミン溶液（ｐＨ８．０）を添加して最終濃度５０ｍＭにし、未反応のＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳを急冷した。反応混合液を２５℃で２時間、次いで４℃で終夜インキュベートした。５００ｍＭ Ｂｏｎｄ－Ｂｒｅａｋｅｒ（商標）ＴＣＥＰ溶液（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、カタログ＃７７７２０）を添加し、最終濃度２０ｍＭにした。反応混合液を２５℃で１時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図８８Ｄ）。０．０１％ ＴＦＡを用いて反応混合液を１５ｍＬに希釈し、１０％ ＴＦＡ溶液を使用してｐＨを約３に調整した。タンパク質溶液を、分取Ｃ４ ＲＰ－ＨＰＬＣカラムＶｙｄａｃ Ｃ４ ２５０ｘ２２ｍｍ（Ｇｒａｃｅ Ｄａｖｉｓｏｎ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ＃２１４ＴＰ１０２２）上に負荷した。タンパク質は、０．０１％ ＴＦＡ中の１２００ｍＬ線形５～５０％勾配のアセトニトリルを用いて、１５ｍＬ／分の流量で溶出した。１ｘＤＢＣＯ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２を含有する分画を、１Ｍ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８で約ｐＨ７に調整し、真空蒸発によって濃縮した。Ｄ－Ｌｙｓ（ＬＨＲＨ－Ｍａｌ）のε－アミノ基において３－マレイミドプロピオン酸で修飾されたＧｌｐ－Ｈｉｓ－Ｔｒｐ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｄ－Ｌｙｓ－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－ＮＨ２ペプチドは、ＣＳＢｉｏ Ｃｏ．（Ｍｅｎｌｏ Ｐａｒｋ，ＣＡ）によって合成された。ペプチドを、無水ＤＭＦ中の最終濃度２５ｍｇ／ｍＬに溶解し、５ｘモル過剰タンパク質で１ｘＤＢＣＯ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２溶液に添加した。反応混合液を２５℃で１時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図８８Ｅ）。０．０１％ ＴＦＡを用いて反応混合液を１５ｍＬに希釈し、１０％ ＴＦＡ溶液を使用してｐＨを約３に調整した。タンパク質溶液を、分取Ｃ４ ＲＰ－ＨＰＬＣカラムＶｙｄａｃ Ｃ４ ２５０ｘ２２ｍｍ上に負荷した。タンパク質は、０．０１％ ＴＦＡ中の１２００ｍＬ線形５～５０％勾配のアセトニトリルを用いて、１５ｍＬ／分の流量で溶出した。１ｘＤＢＣＯ，３ｘＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ４３２を含有する分画を、１Ｍ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８で約ｐＨ７に調整し、真空蒸発によって２ｍＬに濃縮し

て、最終産物を得た。

【０６４６】

実施例３５：共役による１ｘアジド，３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの調製

融合タンパク質１ｘアミノ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２（ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２（Ａｍ１，Ｃ１２，Ｃ２１７，Ｃ４２２））のアリコートを、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ ＮａＣｌ中の１９６μＭ（７．７ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。図８９Ａは、タンパク質のＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣおよびＥＳＩ－ＭＳ分析を示す。ＭＡ６－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥ（ＭＭＡＥ－Ｍａｌ、Ｃｏｎｃｏｒｔｉｓ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．によるカスタム合成）を、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）中に溶解し、最終濃度１ｍｇ／ｍＬにした。２．２ｍＬ容量の１ｘアミノ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２溶液を、２．５ｍＬのＭＭＡＥ－Ｍａｌと混合した（３．５ｘモル過剰タンパク質）。反応混合液を２５℃で１時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図８９Ｂ）。アジド－ＰＥＧ４－ＮＨＳエステル（Ｃｌｉｃｋ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｔｏｏｌｓ，Ｉｎｃ．、カタログ＃Ａ１０３）を、無水ＤＭＦ中に溶解し、最終濃度５００ｍＭにした。反応混合液（４．７ｍＬ）を、０．２３５ｍＬの１Ｍ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８．０、および９．７５μｌの５００ｍＭアジド－ＰＥＧ４－ＮＨＳと混合した（１０ｘモル過剰タンパク質）。反応混合液を２５℃で２時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図８９Ｃ）。０．０１％ ＴＦＡを用いて共役混合液を１５ｍＬに希釈し、１０％ ＴＦＡ溶液を使用してｐＨを約３に調整した。タンパク質溶液を、分取Ｃ４ ＲＰ－ＨＰＬＣカラムＶｙｄａｃ Ｃ４ ２５０ｘ２２ｍｍ（Ｇｒａｃｅ Ｄａｖｉｓｏｎ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ＃２１４ＴＰ１０２２）の上に負荷した。タンパク質は、０．０１％ ＴＦＡ中の１２００ｍＬ線形５～５０％勾配のアセトニトリルを用いて、１５ｍＬ／分の流量で溶出した。１ｘアジド，３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ４３２を含有する分画を、１Ｍ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８で約ｐＨ７に調整し、真空蒸発によって濃縮して、最終産物を得た。

【０６４７】

実施例３６：共役による３ｘＬＨＲＨ，３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの調製

融合タンパク質１ｘＤＢＣＯ，３ｘＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ４３２のアリコートを、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０中の１４３μＭ（６．２６ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。１ｘアジド，３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ４３２を、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０中の１３５μＭ（５．９０ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。２つのタンパク質反応物を溶液中で混合し、１．１モル過剰の１ｘＤＢＣＯ，３ｘＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ４３２を得た。反応混合液を２５℃で終夜インキュベートした。クリック化学反応の完了は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ（図９０Ａ）およびＲＰ－ＨＰＬＣ（図９０Ｂ）によって分析した。０．０１％ ＴＦＡを用いて共役混合液を１５ｍＬに希釈し、１０％ ＴＦＡ溶液を使用してｐＨを約３に調整した。タンパク質溶液を、分取Ｃ４ ＲＰ－ＨＰＬＣカラムＶｙｄａｃ Ｃ４ ２５０ｘ１０ｍｍ（Ｇｒａｃｅ Ｄａｖｉｓｏｎ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ＃２１４ＴＰ５１０）の上に負荷した。タンパク質は、０．０１％ ＴＦＡ中の１８０ｍＬ線形５～５０％勾配のアセトニトリルを用いて、２ｍＬ／分の流量で溶出した。３ｘＬＨＲＨ，３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ４３２を含有する分画を、１Ｍ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８で約ｐＨ７に調整し、真空蒸発によって濃縮して、最終産物を得た。

【０６４８】

実施例３７：共役による１ｘＬＨＲＨ，３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの調製

融合タンパク質１ｘアミノ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ９０５（ＸＴＥＮ＿ＡＥ９０５（Ａｍ１，Ｃ８，Ｃ４５３，Ｃ８９８，セグメント１７４））のアリコートを、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ ＮａＣｌ中の１３１μＭ（１０．９ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。図９１Ａは、タンパク質のＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣおよびＥＳＩ－ＭＳ分析を示す。２，２’－ジピリジルジスルフィド（ＤＰＤ，Ｓｉｇｍａ、カタログ＃Ｄ５７６７）を、ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）中に溶解し、最終濃度１００ｍＭにした。１ｘアミノ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ９０５溶液を、１Ｍ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８．０と混

合してｐＨを約７．５に調整し、ＤＰＤ溶液と混合した（１０ｘモル過剰タンパク質）。反応混合液を２５℃で２時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図９１Ｂ）。ＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ（Ｃｌｉｃｋ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｔｏｏｌｓ，Ｉｎｃ．、カタログ＃Ａ１２４）を、無水ＤＭＦ中に溶解し、最終濃度１０ｍＭにした。ＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ溶液をタンパク質溶液に添加した（１０ｘモル過剰タンパク質）。反応混合液を２５℃で２時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図９１Ｃ）。１Ｍエタノールアミン（ｐＨ８．０）を添加して最終濃度５０ｍＭにし、未反応のＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳを急冷した。反応混合液を２５℃で２時間、次いで４℃で終夜インキュベートした。５００ｍＭ　Ｂｏｎｄ－Ｂｒｅａｋｅｒ（商標）ＴＣＥＰ溶液（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、カタログ＃７７７２０）を添加し、最終濃度２０ｍＭにした。反応混合液を２５℃で１時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図９１Ｄ）。０．０１％　ＴＦＡを用いて反応混合液を１５ｍＬに希釈し、１０％　ＴＦＡ溶液を使用してｐＨを約３に調整した。タンパク質溶液を、分取Ｃ４　ＲＰ－ＨＰＬＣカラムＶｙｄａｃ　Ｃ４　２５０ｘ２２ｍｍ（Ｇｒａｃｅ　Ｄａｖｉｓｏｎ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ＃２１４ＴＰ１０２２）の上に負荷した。タンパク質は、０．０１％　ＴＦＡ中の１２００ｍＬ線形５～５０％勾配のアセトニトリルを用いて、１５ｍＬ／分の流量で溶出した。１ｘＤＢＣＯ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ９０５を含有する分画を、１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８で約ｐＨ７に調整し、真空蒸発によって濃縮した。ＭＡ６－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥ（ＭＭＡＥ－Ｍａｌ，Ｃｏｎｃｏｒｔｉｓ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．によるカスタム合成）をジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）中に溶解し、最終濃度１ｍｇ／ｍＬにした。１ｘＤＢＣＯ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ９０５溶液を、３．５ｘモル過剰のＭＭＡＥ－Ｍａｌと混合した。反応混合液を２５℃で１時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した。Ｇｌｐ－Ｈｉｓ－Ｔｒｐ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｄ－Ｌｙｓ－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－ＮＨ２ペプチドを、Ｄ－Ｌｙｓ（ＬＨＲＨ－Ｍａｌ）のε－アミノ基においてアジド－ヘキサン酸で修飾した（ＬＨＲＨ－Ｍａｌ，ＣＳ　Ｂｉｏ　Ｃｏ．，Ｍｅｎｌｏ　Ｐａｒｋ，ＣＡによるカスタム合成）ペプチドを、無水ＤＭＦ中の最終濃度２５ｍｇ／ｍＬに溶解し、１．５～５ｘモル過剰タンパク質で１ｘＤＢＣＯ，３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ９０５溶液に添加した。反応混合液を２５℃でインキュベートし、反応の産物をＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した。０．０１％　ＴＦＡを用いて反応混合液を１５ｍＬに希釈し、１０％　ＴＦＡ溶液を使用してｐＨを約３に調整した。タンパク質溶液を、分取Ｃ４　ＲＰ－ＨＰＬＣカラムＶｙｄａｃ　Ｃ４　２５０ｘ２２ｍｍ上に負荷した。タンパク質は、０．０１％　ＴＦＡ中の１２００ｍＬ線形５～５０％勾配のアセトニトリルを用いて、１５ｍＬ／分の流量で溶出した。１ｘＤＢＣＯ，３ｘＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ４３２を含有する分画を、１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８で約ｐＨ７に調整し、真空蒸発によって濃縮して、最終産物を得た。

【０６４９】

実施例３８：共役による１ｘＤＢＣＯ，３ｘ葉酸塩（γ）－ＸＴＥＮの調製

融合タンパク質１ｘアミノ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２（ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２（Ａｍ１，Ｃ１２，Ｃ２１７，Ｃ４２２））のアリコートを、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中の２０３μＭ（８．０ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。図１０７Ａは、タンパク質のＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣおよびＥＳＩ－ＭＳ分析を示す。葉酸塩－γ－アミノペンチル－マレイミド（ＦＡ（γ）－Ｍａｌ，ＣＰＣ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃによるカスタム合成）を、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）中に溶解し、最終濃度２１ｍｇ／ｍＬ（９．８ｍＭ）にした。１．１ｍＬ容量の１ｘアミノ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２溶液を、０．０８ｍＬのＦＡ（γ）－Ｍａｌと混合した（３．５ｘモル過剰タンパク質）。反応混合液を２５℃で２時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図１０７Ｂ）。反応混合液のｐＨは、０．０６ｍＬの１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８．０緩衝液で調製した。ＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ（Ｃｌｉｃｋ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｔｏｏｌｓ，Ｉｎｃ．、カタログ＃Ａ１２４）を、無水ＤＭＦ中に

溶解し、最終濃度５０ｍＭにした。０．５３ｍＬのＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ溶液をタンパク質溶液に添加した（１１ｘモル過剰タンパク質）。反応混合液を２５℃で２時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図１０７Ｃ）。１Ｍエタノールアミン（ｐＨ８．０）の溶液を添加して最終濃度５０ｍＭにし、未反応のＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳを急冷した。反応混合液を２５℃で２時間、次いで４℃で終夜インキュベートした。０．０１％　ＴＦＡを用いて反応混合液を１５ｍＬに希釈し、１０％ＴＦＡ溶液を使用してｐＨを約３に調整した。タンパク質溶液を、分取Ｃ４　ＲＰ－ＨＰＬＣカラムＶｙｄａｃ　Ｃ４　２５０ｘ１０ｍｍ（Ｇｒａｃｅ　Ｄａｖｉｓｏｎ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ＃２１４ＴＰ５１０）上に負荷した。タンパク質は、０．０１％　ＴＦＡ中の１８０ｍＬ線形５～５０％勾配のアセトニトリルを用いて、２ｍＬ／分の流量で溶出した。１ｘＤＢＣＯ，３ｘＦＡ（γ）－ＸＴＥＮ４３２を含有する分画を、１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８で約ｐＨ７に調整し、真空蒸発によって濃縮して、最終産物を得た。

【０６５０】

１ｘＤＢＣＯ，３ｘ葉酸塩（α）－ＸＴＥＮ共役体は、本質的に、葉酸塩－α－マレイミド（ＦＡ（α）－Ｍａｌ，ＣＰＣ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃによるカスタム合成）を使用し、上記の通り調製した。

【０６５１】

実施例３９：共役による３ｘＦＡ（γ），３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの調製

融合タンパク質１ｘＤＢＣＯ，３ｘＦＡ（γ）－ＸＴＥＮ４３２のアリコートを、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０中の１９１μＭ（８．８ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。１ｘアジド，３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ４３２を、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０中の２４２μＭ（１１．１ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。２つのタンパク質反応物を溶液中で混合し、１．１モル過剰の１ｘＤＢＣＯ，３ｘＦＡ（γ）－ＸＴＥＮ４３２を得た。反応混合液を２５℃で終夜インキュベートした。クリック化学反応の完了は、ＲＰ－ＨＰＬＣ（図１０８）によって分析した。０．０１％　ＴＦＡを用いて共役混合液を１５ｍＬに希釈し、１０％　ＴＦＡ溶液を使用してｐＨを約３に調整した。タンパク質溶液を、分取Ｃ４　ＲＰ－ＨＰＬＣカラムＶｙｄａｃ　Ｃ４　２５０ｘ１０ｍｍ（Ｇｒａｃｅ　Ｄａｖｉｓｏｎ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ＃２１４ＴＰ５１０）の上に負荷した。タンパク質は、０．０１％　ＴＦＡ中の１８０ｍＬ線形５～５０％勾配のアセトニトリルを用いて、２ｍＬ／分の流量で溶出した。３ｘＦＡ（γ），３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮを含有する分画を、１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８で約ｐＨ７に調整し、真空蒸発によって濃縮して、最終産物を得た。サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ－ＨＰＬＣ）（図１０９Ａ）、ＲＰ－ＨＰＬＣ（図１０９Ｂ）、およびＥＳＩ－ＭＳ（図１０９Ｃ）によって、最終産物を分析した。

【０６５２】

３ｘＦＡ（α），３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ共役体は、本質的に、１ｘＤＢＣＯ，３ｘＦＡ（α）－ＸＴＥＮ４３２と１ｘアジド，３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ４３２との間のクリック反応を使用し、上記の通り調製した。

【０６５３】

実施例４０：分岐対線状ＸＴＥＮの溶液中の粘度の比較

線状および分岐ＸＴＥＮ（後者は三量体または四量体構成として）の粘度は、様々な種類の粘度計および血流計を使用して測定することができる。例えば、Ｍｉｌｌｅｒ，Ｍ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．（２０１０）Ｌａｎｇｍｕｉｒ，２６：１０６７に記載されるように、３０Ｇ針を通じてシリンジの中に１ｍＬの液体を引き込むために必要な時間を測定することができる。ＸＴＥＮの単量体線状構成と、三量体または四量体構成とを粘土について比較するために、等モル量のＸＴＥＮアミノ酸成分を有する構築体を調製し、次いで、溶液をそれぞれ２０、５０、１００ｍｇ／ｍＬで固定された等しいタンパク質濃度で製造する。次いで、Ｍｉｌｌｅｒの方法を使用し、これらの溶液を評価する。この方法を使用して、既知の基準でデータを取得し、標準曲線を調整した後、ＸＴＥＮ溶液を測定する。結

果は、同様のモル量を持つＸＴＥＮの等モル溶液の粘度は、分岐の増加に伴って著しく減少し、３アームのＸＴＥＮ２８８の共役体は、それらが等数のアミノ酸を有するとしても、等濃度の線状ＸＴＥＮ８６４と比較して、著しく低い粘度を有することを示すことが予想される。同様に、４アームのＸＴＥＮ２１６を持つ構成は、３アームのＸＴＥＮ２８８との共役体よりもさらに低い粘度を有することが予想される。

【０６５４】

実施例４１：共役によるＨｅｒ２－ＸＴＥＮ－ＰＴＸの調製

融合タンパク質１ｘアミノ，３ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２（ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２（Ａｍ１，Ｃ１２，Ｃ２１７，Ｃ４２２））のアリコートを、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ ＮａＣｌ中の１９６μＭ（７．７ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製する。パクリタキセル－Ｍａｌ（ＰＴＸ－Ｍａｌ）は、無水コハク酸を持つパクリタキセルの修飾に続いて、アミノエチルマレイミドとの共役によってカスタム合成される。ＰＴＸ－Ｍａｌを、ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）中に溶解し、３．５～５ｘモル過剰でタンパク質に添加する。反応混合液を２５℃で１～２時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した。スルホ－ＳＭＣＣ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、カタログ＃２２１２２）を、無水ＤＭＦ中に溶解して、最終濃度５０ｍＭにし、１０ｘモル過剰タンパク質でタンパク質溶液に添加する。反応混合液を２５℃で２時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する（図９２参照）。０．０１％ ＴＦＡを用いて反応混合液を１５ｍＬに希釈し、１０％ ＴＦＡ溶液を使用してｐＨを約３に調整する。タンパク質溶液を、分取Ｃ４ ＲＰ－ＨＰＬＣカラムＶｙｄａｃ Ｃ４ ２５０ｘ２２ｍｍ（Ｇｒａｃｅ Ｄａｖｉｓｏｎ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ＃２１４ＴＰ１０２２）上に負荷する。タンパク質は、０．０１％ ＴＦＡ中の１２００ｍＬ線形５～５０％勾配のアセトニトリルを用いて、１５ｍＬ／分の流量で溶出する。１ｘＭａｌ，３ｘＰＴＸ－ＸＴＥＮ４３２を含有する分画を、１ＭＨＥＰＥＳ、ｐＨ８で約ｐＨ７に調整し、真空蒸発によって濃縮した。ハーセプチン（トラスツズマブ，Ｒｏｃｈｅ）抗体を、指示に従い、水中で再構築し、５ｍＭ ＥＤＴＡを含有するＰＢＳ（ｐＨ７．２）に緩衝液を交換する。ＤＴＴを、タンパク質溶液に添加して最終濃度１～１０ｍＭにし、３７℃で５～３０分間インキュベートする。ゲル濾過またはカットオフ膜濾過によって、過剰なＤＴＴを除去する。１ｘＭａｌ，３ｘＰＴＸ－ＸＴＥＮ４３２を添加し、３～４ｘモル過剰の抗体を部分的に還元する。反応混合液を２５℃で１時間インキュベートし、反応の最終産物をＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびサイズ排除クロマトグラフィーによって、非還元および還元条件下で分析した。

【０６５５】

実施例４２：共役によるヨードアセチル－ＸＴＥＮの調製

融合タンパク質１ｘアミノ－ＸＴＥＮ８６９（ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６９（Ａｍ１））のアリコートを、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ ＮａＣｌ中の１６４μＭ（１３．１ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。１／２０容量の１Ｍ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８をタンパク質溶液に添加し、タンパク質溶液のｐＨを約７．５に調整した。Ｎ－スクシンイミジルヨード酢酸塩（ＳＩＡ，Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、カタログ＃２２３４９）を、無水ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）中に溶解して、最終濃度１００ｍＭにし、１０ｘモル過剰タンパク質で添加した。反応混合液を２５℃で１時間インキュベートし、反応の産物をＣ１８ ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する（図９３Ａ）。Ｖｉｖａｓｐｉｎ５００超遠心分離装置（５，０００ ＭＷＣＯ，ＶｉｖａＳｃｉｅｎｃｅ、カタログ＃ＶＳ０１１２）を使用し、緩衝液交換によって、過剰なＳＩＡを除去した。ヨードアセチル基によるＮ末端アミノ基の修飾は、修飾されたＸＴＥＮの保持時間を変えなかったため（図９３Ａ）、共有結合的修飾は、ＥＳＩ－ＭＳによって確認された（図９３Ｂ）。また、ＩＡ－ＸＴＥＮ共役体は、システイン含有ペプチドＨＣＫＦＷＷ（Ｂａｃｈｅｍ、カタログ＃Ｈ－３５２４）と効率的に反応した（図９３Ｃ）。

【０６５６】

実施例４３：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の活性および特異性についてのインビト

ロ細胞ベースのスクリーニング
　ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を、インビトロ活性および選択性について評価する。各ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体、その対応する非標的化ＸＴＥＮ－薬物分子、およびそのそれぞれの遊離薬物対照を、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ抗増殖アッセイにおいて、表４１に列挙されるＬＨＲＨ受容体陽性および陰性細胞系の一団に対して試験する。最適な細胞密度およびインキュベーション時間を含む適切なアッセイ条件は、それぞれの遊離薬物を対照として使用して決定する。ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、以下のように試験する。ログ相中の細胞を収集し、計数して、９６ウェルマイクロタイターアッセイプレートに既定の細胞密度でプレートに置く。粘着性の細胞は、５％ CO_2の雰囲気下、３７℃で終夜のインキュベーションによって、プレートに付着することが許される。ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体および対応する対照は、適切な用量範囲希釈を使用して重複で導入し、プレートをさらに２～５日間インキュベートする。適切なインキュベーション期間後、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ試薬を各ウェルに添加し、軌道撹拌器上で２分間混合する。次いで、プレートを９０ｘｇで遠心分離し、室温でさらに１０分間インキュベートして、蛍光シグナルを安定化する。次いで、蛍光シグナルを照度計上で読み取り、IC_{50}（半最大阻害性濃度）の値を、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍまたは相当するソフトウェアで計算する。IC_{50}値の定量的比較は、ＬＨＲＨ受容体陽性細胞系対陰性細胞系に対する細胞成長阻害および選択性の構築体活性のランク付けを可能にする。　これらの結果は、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体が、ＬＨＲＨ受容体陰性細胞上ではなく、ＬＨＲＨ受容体陽性細胞上で高度に選択的な強力な殺傷を示すという所見を支持することが予想される。これは、遊離薬物部分とは異なり、それによってＬＨＲＨ受容体陽性細胞系と陰性細胞系との間に細胞毒性の差は予想されない。ＸＴＥＮ－薬物対照は、不良な細胞毒性活性を生じることが予想される。　対照に対して好ましい活性および細胞系選択性を持つＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、アッセイにおいて遊離競合ＬＨＲＨペプチドの付加によってＬＨＲＨ受容体の関連についてさらに検証され、障害されたＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物細胞毒性をもたらし、構築体の選択的活性についてさらに検証する。
【０６５７】

【表４１－１】

【表４１】　ＬＨＲＨ受容体陽性細胞系および陰性細胞系

細胞系	組織	LHRHR 状態
MCF-7	胸部	陽性
MDA-MB-231	胸部（HER2-/ER-/PR-）	陽性
HCC1806	胸部（HER2-/ER-/PR-）	陽性
HCC1937	胸部（HER2-/ER-/PR-）	陽性
OV-1063	卵巣	陽性
EFO-21	卵巣	陽性
EFO-27	卵巣	陽性
NIH:OVCAR-3	卵巣	陽性
BG-1	卵巣	陽性
HEC-1A	子宮内膜	陽性
HEC-1B	子宮内膜	陽性
Ishikawa	子宮内膜	陽性
KLE	子宮内膜	陽性
AN-3-CA	子宮内膜	陽性
MiaPaCa	膵臓	陽性
Panc-1	膵臓	陽性
ラット Dunning R-3327-H	前立腺（アンドロゲン-dep）	陽性
PC-82	前立腺（アンドロゲン-dep）	陽性
MDA-PCa-2b	前立腺（アンドロゲン-dep）	陽性
C4-2 (LNCaP の誘導体)	前立腺（アンドロゲン-dep）	陽性
A549	肺	陽性

【０６５８】

【表４１－２】

細胞系	組織	LHRHR 状態
UCI-107	卵巣	陰性
SK-OV-3	卵巣	陰性
SW 626	卵巣	陰性
MFE-296	子宮内膜	陰性

ＥＲ：エストロゲン受容体；ＰＲ：プロゲステロン受容体

【０６５９】

実施例４４：葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の活性および特異性についてのインビトロ細胞ベースのスクリーニング

葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、最初に、インビトロ活性および選択性スクリーニングに供される。各葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体、その対応する非標的化ＸＴＥＮ－薬物分子、およびそれぞれの遊離薬物対照を、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ抗増殖アッセイにおいて、表４２に列挙される葉酸塩受容体陽性および陰性細胞系の一団に対して試験する。培養培地は、高い葉酸含有量を含むため、細胞は成長し、アッセイは、５～１０％熱不活性化ウシ胎仔血清（ＦＣＳ）を含有する無葉酸培地中、３７℃、５％　CO_2雰囲気下で行った（熱不活性化ＦＣＳは、葉酸塩受容体を発現する細胞が生存および増殖するのに十分な内因性レベルの葉酸を含有する）。最適な細胞密度およびインキュベーション時間を含む適切なアッセイ条件は、５～１０％　ＦＣＳを含有する無葉酸培地を使用し、それぞれの遊離薬物を対照として使用して決定する。葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、以下のように試験する。ログ相中の細胞を収集し、計数して、９６ウェルマイクロタイターアッセイプレートに既定の細胞密度でプレートに置く。粘着性の細胞は、３７℃、５％　CO_2で終夜のインキュベーションによって、プレートに付着することが許される。葉酸塩－

ＸＴＥＮ－薬物共役体および対応する対照は、適切な用量範囲希釈を使用して重複で導入し、プレートをさらに２～５日間インキュベートする。適切なインキュベーション期間後、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ試薬を各ウェルに添加し、軌道攪拌器上で２分間混合する。次いで、プレートを９０ｘｇで遠心分離し、室温でさらに１０分間インキュベートして、蛍光シグナルを安定化する。次いで、蛍光シグナルを照度計上で読み取り、IC_{50}（半最大阻害性濃度）の値を、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍまたは相当するソフトウェアで計算する。IC_{50}値の定量的比較は、葉酸塩受容体陽性細胞系対陰性細胞系に対する細胞成長
阻害および選択性の構築体活性のランク付けを可能にする。　これらの結果は、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体が、葉酸塩受容体陰性細胞上ではなく、葉酸塩受容体陽性細胞上で高度に選択的な強力な殺傷を示すという所見を支持することが予想される。これは、遊離薬物部分とは異なり、それによって葉酸塩受容体陽性細胞系と陰性細胞系との間に細胞毒性の差は予想されない。ＸＴＥＮ－薬物対照は、不良な細胞毒性活性を生じることが予想される。　対照に対して好ましい活性および細胞系選択性を持つ葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、アッセイにおいて遊離競合葉酸の付加によって葉酸塩受容体の関連についてさらに検証され、障害された葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物細胞毒性を実証し、構築体の選択的活性についてさらに検証する。

【０６６０】

【表４２】

【表４２】　葉酸塩受容体陽性細胞系および陰性細胞系

細胞系	組織	葉酸塩受容体の状態
KB	鼻咽頭	陽性
IGROV	卵巣	陽性
SK-OV-3	卵巣	陽性
HeLa	子宮頸部	陽性
LoVo	直腸結腸	陽性
SW620	直腸結腸	陽性
A549	肺	陰性
A375	多発性黒色腫	陰性
LS-174T	直腸結腸	陰性
SK-BR-3	胸部	陰性

【０６６１】

実施例４５：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体のインビトロ血清安定性

安定性の測定として、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を、独立して、健常なヒト、カニクイザル、およびマウス血漿中、３７℃で最大２週間インキュベートし、一定間隔でアリコートを除去し、分析まで－８０℃で貯蔵する。ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の安定性は、放出された遊離薬物の量、またはＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の経時的な完全性のいずれかによって評価することができる。遊離薬物は、ＲＰ－ＨＰＬＣおよび／またはＬＣ－ＭＳ／ＭＳで定量化されるが、無傷ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の量は、ＸＴＥＮ／薬物および／またはＬＨＲＨ／薬物ＥＬＩＳＡを使用して決定される。

【０６６２】

ＲＰ－ＨＰＬＣ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、既知の薬物標準と比較し、特定の薬物に特異的な波長での紫外線吸収によって検出される。例えば、ドキソルビシンは、４８０ｎｍで検出される。ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、既知の薬物標準と比較し、三連四重極型質量分析計によって検出および定量化される。親イオン－娘イオン対は、各薬物に対して実験的に決定される。　定量化ＥＬＩＳＡの場合、ＥＬＩＳＡ中の

ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の抗体の最適濃度は、十字交差連続希釈分析を使用して決定される。共役体の１つの成分を認識する適切な捕捉抗体は、４℃で終夜のインキュベーションによって、９６ウェルマイクロタイタープレートの上にコーティングされる。ウェルをブロックして洗浄し、血清安定性試料を、それぞれ異なる希釈でウェルに添加し、コーティングされた抗体によるＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の最適な捕捉を可能にする。洗浄後、共役体の別の成分を認識する検出抗体を添加し、プレート上に捕捉された共役体への結合を可能にする。次いで、ウェルを再度洗浄した後、ストレプトアビジン－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（検出抗体のビオチニル化異形に相補的）または適切な二次抗体－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（検出抗体の非ビオチニル化異形に相補的）のいずれかを添加する。適切なインキュベーションおよび最終洗浄ステップ後、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、プレートを４５０ｎＭで読み取る。次いで、無傷共役体の濃度を、各時点に対し、測色反応を関連血漿型のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物で調製された較正曲線と比較することによって計算する。次いで、ヒト、カニクイザル、およびマウス血清中の共役体の減衰のｔ１／２を、ログ濃度対時間の線形回帰分析を使用して定義する。

【０６６３】

実施例４６：葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体のインビトロ血清安定性

安定性の測定として、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体を、独立して、健常なヒト、カニクイザル、およびマウス血漿中、３７℃で最大２週間インキュベートし、一定間隔でアリコートを除去し、分析まで－８０℃で貯蔵する。葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の安定性を、遊離薬物の量、または葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の経時的な完全性のいずれかによって評価する。遊離薬物は、ＨＰＬＣおよび／またはＬＣ－ＭＳ／ＭＳで定量化されるが、無傷の葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の量は、ＸＴＥＮ／薬物および／または葉酸塩／薬物ＥＬＩＳＡを使用して決定される。

【０６６４】

ＲＰ－ＨＰＬＣ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、既知の薬物標準と比較し、特定の薬物に特異的な波長での紫外線吸収によって検出される。例えば、ドキソルビシンは、４８０ｎｍで検出される。　ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、三連四重極型質量分析計によってインライン検出され、定量化される。親イオン－娘イオン対は、各薬物に対して実験的に決定される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行して処理される。　定量的ＥＬＩＳＡの場合、ＥＬＩＳＡ中の葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体に最適な濃度の抗体は、十字交差連続希釈分析を使用して決定される。共役体の１つの成分を認識する適切な捕捉抗体は、４℃で終夜のインキュベーションによって、９６ウェルマイクロタイタープレートの上にコーティングされる。ウェルをブロックして洗浄し、血清安定性試料を、それぞれ異なる希釈でウェルに添加し、コーティングされた抗体による葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の最適な捕捉を可能にする。洗浄後、共役体の別の成分を認識する検出抗体を添加し、プレート上に捕捉された共役体への結合を可能にする。次いで、ウェルを再度洗浄した後、ストレプトアビジン－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（検出抗体のビオチニル化異形に相補的）または適切な二次抗体－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（検出抗体の非ビオチニル化異形に相補的）のいずれかを添加する。適切なインキュベーションおよび最終洗浄ステップ後、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、プレートを４５０ｎＭで読み取る。次いで、無傷共役体の濃度を、各時点に対し、測色反応を関連血漿型の葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物で調製された較正曲線と比較することによって計算する。次いで、ヒト、カニクイザル、およびマウス血清中の共役体の減衰のｔ１／２を、ログ濃度対時間の線形回帰分析を使用して定義する。

【０６６５】
実施例４７：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－Ｃｙ５．５共役体のインビボおよびエクスビボ撮像
Ｃｙ５．５蛍光タグ付加ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ分子を代理として使用し、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の標的化および生体内分布効率を調査する。インビボに続いてエクスビボで、ＩＶＩＳ　５０光学撮像システム（Ｃａｌｉｐｅｒ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｈｏｐｋｉｎｔｏｎ，ＭＡ）を用いる蛍光撮像を使用し、ＬＨＲＨ受容体陽性腫瘍細胞の皮下成長異種移植片を担持するヌードマウスにおいて実験を行う。つまり、ＬＨＲＨ受容体陽性腫瘍細胞を担持する雌ｎｕ／ｎｕマウスに、高用量または低用量のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－Ｃｙ５．５、および対応する用量の非標的化Ｃｙ５．５タグ付加ＸＴＥＮ対照の単一静脈注射を付与する。注射前、次いで注射後約８、２４、４８、および７２時間に、生きた麻酔下動物上で、ＩＶＩＳ　５０光学撮像システムを使用して全身走査を得る。７２時間の最後の時点で動物全体の蛍光の分布を測定した後、腫瘍、ならびに肝臓、肺、心臓、脾臓、および腎臓を含む健常な器官を切除し、それらの蛍光を撮像システムによって登録および処理する。蛍光剤の波長を一致させるように、Ｃｙ５．５励起（６１５～６６５ｎｍ）および放出（６９５～７７０ｎｍ）フィルターを選択する。ＣＣＤチップの小／中ビニングを使用し、画像において各マウスの観察可能なシグナルから少なくとも数千カウントを得るように、およびＣＣＤチップの飽和を避けるように、露出時間を最適化する。定量化のための画像を正規化するために、Ｃｙ５．５スペクトル領域に対して背景励起および放出フィルターを使用し、背景蛍光画像を得る。蛍光の強度は、異なる色として表され（青色は最低強度を反映し、赤色は最高強度を示す）、得られた画像を使用し、共役体および対照の取り込みを評価する。

【０６６６】
実施例４８：葉酸塩－ＸＴＥＮ－Ｃｙ５．５共役体のインビボおよびエクスビボ撮像
Ｃｙ５．５蛍光タグ付加葉酸塩－ＸＴＥＮ分子を代理として使用し、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の標的化および生体内分布効率を調査する。インビボに続いてエクスビボで、ＩＶＩＳ　５０光学撮像システム（Ｃａｌｉｐｅｒ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｈｏｐｋｉｎｔｏｎ，ＭＡ）を用いる蛍光撮像を使用し、葉酸塩受容体陽性腫瘍細胞の皮下成長異種移植片を担持するヌードマウスにおいて実験を行う。培養培地は、高い葉酸塩含有量を含むため、これらのマウスに移植される葉酸塩受容体陽性腫瘍細胞は、抗生物質を持たない５～１０％熱不活性化ＦＣＳを含有する無葉酸塩細胞培養培地中で成長される。同様に、通常の齧歯類食餌は、高濃度の葉酸を含有するため、この研究に使用されるヌードマウスは、血清葉酸塩濃度を低減するように、腫瘍移植前の２週間、および撮像分析期間の間、葉酸塩を含まない食餌で維持される。

【０６６７】
つまり、葉酸塩受容体陽性腫瘍細胞を担持する雌ｎｕ／ｎｕマウスに、高用量または低用量の葉酸塩－ＸＴＥＮ－Ｃｙ５．５、および対応する用量の非標的化Ｃｙ５．５タグ付加ＸＴＥＮ対照の単一静脈注射を付与する。注射前、次いで注射後約８、２４、４８、および７２時間に、生きた麻酔下動物上で、ＩＶＩＳ　５０光学撮像システムを使用して全身走査を得る。７２時間の最後の時点で動物全体の蛍光の分布を測定した後、腫瘍、ならびに肝臓、肺、心臓、脾臓、および腎臓を含む健常な器官を切除し、それらの蛍光を撮像システムによって登録および処理する。蛍光剤の波長を一致させるように、Ｃｙ５．５励起（６１５～６６５ｎｍ）および放出（６９５～７７０ｎｍ）フィルターを選択する。ＣＣＤチップの小／中ビニングを使用し、画像において各マウスの観察可能なシグナルから少なくとも数千カウントを得るように、およびＣＣＤチップの飽和を避けるように、露出時間を最適化する。定量化のための画像を正規化するために、Ｃｙ５．５スペクトル領域に対して背景励起および放出フィルターを使用し、背景蛍光画像を得る。蛍光の強度は、異なる色として表され（青色は最低強度を反映し、赤色は最高強度を示す）、得られた画像を使用し、共役体および対照の取り込みを評価する。

【０６６８】
実施例４９：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の薬物動態分析

ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物構築体のインビボ薬物動態を、マウス、ラット、カニクイザル、およびイヌを使用し、タンパク質組成物の標準方法を使用して評価する。ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物構築体の組成物は、インビボ投与に適合する水性緩衝液（例えば、リン酸塩緩衝生理食塩水、トリス緩衝生理食塩水、またはＨｅｐｅｓ緩衝生理食塩水）中に提供される。組成物を適切な用量で、複数の経路を介して、最も好ましくは静脈内または皮下経路を介して投与する。血液試料を、０．０８～５０４時間の範囲の適切な時点で採取し、血漿中に処理する。血漿試料を、ＥＬＩＳＡ、ＨＰＬＣ、および／またはＬＣ－ＭＳ／ＭＳを含む多様な方法のうちの１つによって、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の濃度について分析する。ＥＬＩＳＡ分析は、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の２つの成分、例えば、ＸＴＥＮ／ＬＨＲＨ、ＸＴＥＮ／薬物部分、ＬＨＲＨ／薬物部分、および／またはＸＴＥＮ／ＸＴＥＮの組合せを認識することができるサンドウィッチＥＬＩＳＡ形式を使用して行う。典型的に、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の１つの成分を認識する抗体は、９６ウェルマイクロタイタープレートのウェル上にコーティングされる。ウェルをブロックして洗浄し、次いで、血清安定性試料を異なる希釈でウェルに添加し、コーティングされた抗体による共役体の捕捉を可能にする。次いで、ウェルを広く洗浄し、結合されたタンパク質を、第２のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役成分に対するビオチニル化抗体または適切な二次抗体のいずれかを使用して検出する。次いで、ウェルを再度洗浄した後、ストレプトアビジン－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（ビオチニル化検出抗体に相補的）または二次抗体－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（非ビオチニル化検出抗体に相補的）を添加する。適切なインキュベーションおよび最終洗浄ステップ後、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、プレートを４５０ｎＭで読み取る。次いで、共役体の濃度を、各時点に対し、測色反応をＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物較正曲線と比較することによって計算する。薬物動態パラメータを、ＷｉｎＮｏｎＬｉｎソフトウェアパッケージを使用して計算する。

【０６６９】

ＲＰ－ＨＰＬＣ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、特定の薬物に特異的な波長での紫外線吸収によって検出される。例えば、ドキソルビシンは、４８０ｎｍで検出される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行してアッセイされる。

【０６７０】

ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、三連四重極型質量分析計によってインライン検出され、定量化される。親イオン－娘イオン対は、各薬物に対して実験的に決定される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行してアッセイされる。

【０６７１】

これらの結果は、ＬＨＲＨおよび薬物部分へのＸＴＥＮの添加が、終末相半減期を著しく増加させ、ＸＴＥＮに結合されていない薬物部分を標的化する薬物動態特性を強化するという所見を支持することが予想される。

【０６７２】

実施例５０：葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の薬物動態分析

葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物構築体のインビボ薬物動態を、マウス、ラット、カニクイザル、およびイヌを使用し、タンパク質組成物の標準方法を使用して評価する。通常の餌は、高濃度の葉酸を含有するため（約６ｍｇ／ｋｇマウス食餌）、葉酸塩共役体の薬物動態研究に使用される動物は、研究開始前の２週間、および研究期間の間、葉酸塩を含まない食餌で維持される。組成物を適切な用量で、複数の経路を介して、最も好ましくは静脈内または皮下経路を介して投与する。血液試料を、０．０８～５０４時間の範囲の適切な時点

で採取し、血漿中に処理する。血漿試料を、ＥＬＩＳＡ、ＨＰＬＣ、および／またはＬＣ－ＭＳ／ＭＳを含む多様な方法のうちの１つによって、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の濃度について分析する。

【０６７３】

ＥＬＩＳＡ分析は、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の２つの成分、例えば、ＸＴＥＮ／葉酸塩、ＸＴＥＮ／薬物部分、葉酸塩／薬物部分、および／またはＸＴＥＮ／ＸＴＥＮの組合せを認識することができるサンドウィッチＥＬＩＳＡ形式を使用して行う。典型的に、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の１つの成分を認識する抗体は、９６ウェルマイクロタイタープレートのウェル上にコーティングされる。ウェルをブロックして洗浄し、次いで、血漿試料を異なる希釈でウェルに添加し、コーティングされた抗体による共役体の捕捉を可能にする。次いで、ウェルを広く洗浄し、結合されたタンパク質を、第２の葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役成分に対するビオチニル化抗体または適切な二次抗体のいずれかを使用して検出する。次いで、ウェルを再度洗浄した後、ストレプトアビジン－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（ビオチニル化検出抗体に相補的）または二次抗体－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（非ビオチニル化検出抗体に相補的）を添加する。適切なインキュベーションおよび最終洗浄ステップ後、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、プレートを４５０ｎＭで読み取る。次いで、共役体の濃度を、各時点に対し、測色反応を葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物較正曲線と比較することによって計算する。物動態パラメータを、ＷｉｎＮｏｎＬｉｎソフトウェアパッケージを使用して計算する。

【０６７４】

ＲＰ－ＨＰＬＣ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、特定の薬物に特異的な波長での紫外線吸収によって検出される。例えば、ドキソルビシンは、４８０ｎｍで検出される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行してアッセイされる。

【０６７５】

ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、三連四重極型質量分析計によってインライン検出され、定量化される。親イオン－娘イオン対は、各薬物に対して実験的に決定される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行してアッセイされる。

【０６７６】

これらの結果は、葉酸塩および薬物部分へのＸＴＥＮの添加が、終末相半減期を著しく増加させ、ＸＴＥＮに結合されていない薬物部分を標的化する薬物動態特性を強化するという所見を支持することが予想される。

【０６７７】

実施例５１：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体のインビボ有効性および毒性分析

ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、ＬＨＲＨ受容体陽性腫瘍細胞に対する非常に強力な毒素の標的送達のために意図される。そのようにして、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物構築体のインビボ薬物動態活性を、ヌードマウスに移植されたヒト腫瘍細胞発現ＬＨＲＨ受容体を使用して評価することができる。

【０６７８】

有効性研究を開始する前に、ヌードマウスにおける初期評価を実行し、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物候補の最大耐用量（ＭＴＤ）を確立する。次いで、研究期間の間に動物によって耐容される最高用量であるＭＴＤを使用して、標準異種移植モデルにおける有効性および毒性研究の用量範囲を計算する。つまり、ＭＴＤ実験を１群当たり５匹のマウスを用いて実行し、様々な用量レベル、間隔、および期間でＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の静脈内投与を評価する。必要とされる開始ＭＴＤ用量および用量群の数は、科学的文献、標

的化ＬＨＲＨ部分に関する知識、共役される薬物部分の性質、密接に関連する化合物の毒素学的特性、および初期薬物動態研究からのデータに基づく（上記参照）。体重の低減、食餌および水の消費、ならびに立毛、円背、行動パターン、呼吸パターン、振戦、けいれん、衰弱、および自傷の兆候等の標準ＭＴＤパラメータを、毎日監視する。許容されない毒性を引き起こさないＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物の最高用量は、ＭＴＤとして指定される。腫瘍異種移植研究は、３～４投与レベルのＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を含み、ＭＴＤ研究の結果に依存し、他のパラメータは、選択された腫瘍細胞系に依存する。表４２は、異種移植研究において使用することができる腫瘍系の例を提供する。したがって、関連ヒト腫瘍系からの適切な数のＬＨＲＨ受容体陽性細胞を皮下注射し、腫瘍を形成させて、そのサイズをキャリパーで測定し、容量を０．５ｘＬｘＷ^{2}として計算し、式中、Ｌは、最長軸の測定値（ミリメートル）であり、ＷはＬに垂直な軸の測定値（ミリメートル）である。所望のサイズ範囲の腫瘍体積を含むマウスを８～１０匹の動物群にランダム化することに続いて、媒体対照、遊離薬物対照、およびＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を、選択された用量および間隔で静脈内投与する。腫瘍成長の停止または後退は、腫瘍サイズおよび体積を、選択された時点でキャリパーを用いて測定することによって決定される。体重および食物消費を１～２日毎に測定し、全体的な毒性を評価する。動物の生存を毎日監視する。研究の終了時に、全ての動物を犠牲死させ、主要臓器に関して臨床病理および組織病理を行う。

【０６７９】

これらの結果は、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体が、強力な有効性および低い全身毒性によって提示されるように、陽性治療指数を生じるという所見を支持することが予想される。対照的に、等モル用量で投与された非ＬＨＲＨ標的遊離薬物は、あまり強力ではないが、さらに高度に毒性であることが予想される。媒体対照は、未制御の腫瘍成長および深刻な毒性を示すことが予想される。

【０６８０】

実施例５２：葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体のインビボ有効性および毒性分析

葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、葉酸塩受容体陽性腫瘍細胞に対する毒素成分の標的送達のために意図される。葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物構築体のインビボ薬物動態活性を、ヌードマウス上のヒト腫瘍細胞発現葉酸塩受容体異種移植片を使用して評価する。有効性研究を開始する前に、ヌードマウスにおける初期評価を実行し、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物候補の最大耐用量（ＭＴＤ）を確立する。次いで、研究期間の間に動物によって耐容される最高用量であるＭＴＤを使用して、標準異種移植モデルにおける有効性および毒性研究の用量範囲を計算する。通常の齧歯類食餌は、高濃度の葉酸を含有するため（６ｍｇ／ｋｇ食餌）、これらの研究に使用されるマウスは、研究開始前の２週間、および研究期間の間、葉酸塩を含まない食餌で維持される。ＭＴＤ実験を１群当たり５匹のマウスを用いて実行し、様々な用量レベル、間隔、および期間で葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の静脈内投与を評価する。必要とされる開始ＭＴＤ用量および用量群の数は、科学的文献、標的化葉酸塩部分に関する知識、共役される薬物部分の性質、密接に関連する化合物の毒素学的特性、および初期薬物動態研究からのデータに基づく（上記ＰＫ実施例参照）。体重の低減、食餌および水の消費、ならびに立毛、円背、行動パターン、呼吸パターン、振戦、けいれん、衰弱、および自傷の兆候等の標準ＭＴＤパラメータを、注意深く、毎日監視する。許容されない毒性を引き起こさない葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物の最高用量は、ＭＴＤとして指定される。

【０６８１】

腫瘍異種移植研究は、３～４投与レベルの葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物を含み、ＭＴＤ研究の結果に依存し、他のパラメータは、選択された腫瘍細胞系に依存する。表４２は、異種移植研究において使用することができる腫瘍系の例を記載する。葉酸塩含有量を低減するために、ヌードマウス上に移植される葉酸塩受容体陽性腫瘍細胞は、抗生物質を持たない５～１０％熱不活性化ウシ胎仔血清を含有する無葉酸塩細胞培養培地中で成長される。同様に、血清葉酸塩濃度を低減するために、異種移植研究に使用されるマウスは、腫瘍移植

前の２週間、および研究期間の間、葉酸塩を含まない食餌で維持される。関連系からの適切な数の葉酸塩受容体陽性細胞を皮下注射し、腫瘍を形成させて、そのサイズをキャリパーで測定し、容量を０．５ｘＬｘＷ^{2}として計算し、式中、Ｌは、最長軸の測定値（ミリメートル）であり、ＷはＬに垂直な軸の測定値（ミリメートル）である。所望のサイズ範囲の腫瘍体積を含むマウスを８～１０匹の動物群にランダム化することに続いて、媒体対照、遊離薬物対照、および葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物を、選択された用量および間隔で静脈内投与する。腫瘍成長の停止または後退は、腫瘍サイズおよび体積を、選択された時点でキャリパーを用いて測定することによって決定される。体重および食物消費を１～２日毎に測定し、全体的な毒性を評価する。動物の生存を毎日監視する。研究の終了時に、全ての動物を犠牲死させ、臨床病理および組織病理審査のために主要臓器を除去する。

【０６８２】

標的化学療法葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、マウスモデルにおける葉酸塩受容体陽性腫瘍上の遊離細胞毒性薬物単独よりも有効であり、毒性が低いことが予想される。

【０６８３】

実施例５３：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を評価するためのヒト臨床試験設計

標的化学療法は、全身化学療法の有効性を高め、副作用を低減することを目的とする近代的手法である。ＬＨＲＨは、生殖器官において機能するペプチドである。その受容体は、特に、ある腫瘍上に集中するが、ほとんどの正常組織中では発現しないため、ＬＨＲＨ受容体は、悪性腫瘍の選択的崩壊のための理想的な標的である。実際に、乳癌の約５２％、卵巣癌および子宮内膜癌の約８０％、および前立腺癌の約８５％の検体は、ＬＨＲＨ受容体を介して標的可能である。注目すべきは、ＬＨＲＨ依存性治療は、三重陰性乳房腫瘍に対して特に有用であり、エストロゲンもしくはプロゲステロン受容体またはＨＥＲ２を過剰発現しないため、多くの使用可能な標的薬物での処置に適していない。進行した子宮内膜癌、卵巣癌、または前立腺癌の患者は、これらの悪性腫瘍が、再発しやすい、および／または現行の処置に対して耐性であり得るため、特に不良な転帰を有することが多い。ＬＨＲＨの１つ以上のコピーを担持するＸＴＥＮを３つ以上の薬物分子を担持するＸＴＥＮに融合し、標的ペプチド－薬物共役体を創製することは、治療指数および半減期を大幅に改善することが予想され、これがＭＴＤをはるかに下回るレベルでの投薬を可能にし、投与頻度および費用を低減する（用量当たりに必要な薬物を低減する）。

【０６８４】

ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物組成物の臨床評価を、進行した乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、および前立腺または膀胱癌に苦しむ患者において行い、治験は、ヒトにおけるＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の有効性および安全性を確認するように設計される。患者におけるそのような研究は、３つの相を含む。最初に、第Ｉ相の安全性および薬物動態研究を行い、最大耐用量（ＭＴＤ）を決定し、ヒトにおける用量限定毒性、薬物動態、および予備薬力学を特徴付ける。これらの初期研究は、標準の治癒的または緩和的手段を使用することができないか、またはそれらがもはや有効でない、もしくは耐容されない、転移性または切除不可能な癌のある患者において行うことができ、患者におけるＬＨＲＨ受容体陽性状態が登録条件である。第Ｉ相研究のスキームは、単一上昇用量のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を使用すること、および生化学、ＰＫ、および臨床パラメータを測定することであり、後次の第ＩＩ相および第ＩＩＩ相治験において使用される治療ウィンドウを構築する、投与量および循環薬物のＭＴＤならびに閾値および最大濃度の決定を可能にすると同時に、今後の研究において追跡される潜在的毒性および有害事象を定義する。

【０６８５】

ヒト患者の第ＩＩ相臨床研究は、独立して、ＬＨＲＨ受容体陽性の進行（ステージ３もしくは４）または再発した乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、および前立腺癌または膀胱癌患者において行われる。この治験は、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体単独、および特定の適応において用いられる現在の化学療法との組合せでの有効性および安全性を評価する。患者は、静脈内投与されたＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物臨床候補を、第Ｉ相において事前に決定された用量レベルおよび計画で、標準化学療法薬の有無にかかわらず受容する。化学療

法薬およびプラシーボからなる対照アームが含まれる。一次エンドポイントは、固形癌の治療効果判定のためのガイドライン（ＲＥＣＩＳＴ）によって定義される反応速度である。二次エンドポイントとしては、安全性および耐用性、無増悪期間、および全生存が挙げられる。

【０６８６】

第ＩＩＩ相の有効性および安全性研究は、ＬＨＲＨ受容体陽性の進行した（耐性、再発）乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、および前立腺または膀胱癌患者において行い、ＲＥＣＩＳＴによって測定される無増悪生存等の統計的に有意な臨床エンドポイントに到達する能力を試験する。この治験も、二次エンドポイントとしての全生存について統計的に検出力があり、４００人超の患者における登録が予想される。有効性の結果は、標準統計方法を使用して決定する。この研究において、毒性および有害事象マーカーについても追跡し、記載される方法において使用されるときに、化合物が安全であることを検証する。

【０６８７】

実施例５４：葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体を評価するためのヒト臨床試験設計

標的化学療法は、全身化学療法の有効性を高め、副作用を低減することを目的とする近代的手法である。葉酸としても知られる葉酸塩、ビタミンＢ$_9$は、ある生物学的経路における共因子として、ヌクレオチド生合成および機能のために全ての生細胞が必要とする重要な栄養素である。葉酸塩受容体は、急速に分裂する悪性腫瘍、特に卵巣癌および非小細胞肺癌を処置するための治療開発の焦点である。葉酸塩受容体の発現は、正常な卵巣においてごくわずかであるが、上皮卵巣癌の約９０％は、多くの肺腺癌と同様に、葉酸塩受容体を過剰発現し、それによって、行われる治療の可能性を開く。葉酸塩の１つ以上のコピーを担持するＸＴＥＮを３つ以上の薬物分子を担持するＸＴＥＮに融合し、標的ペプチド－薬物共役体を創製することは、治療指数を改善することが予想され、延長された半減期は、 最大耐用量（ＭＴＤ）をはるかに下回るレベルでの投薬を可能にし、投与頻度および費用を低減する（用量当たりに必要な薬物を低減する）。

【０６８８】

葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物組成物の臨床評価は、再発または難治性進行腫瘍を持つ患者、または他の化学療法を使用することに失敗した白金耐性卵巣癌および非小細胞肺癌に苦しむ患者において行う。臨床試験は、ヒトにおいて標準治療を超える、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の有効性および利点を決定するように設計される。患者におけるそのような研究は、３つの相を含む。最初に、第Ｉ相の安全性および薬物動態研究を行い、ＭＴＤを決定し、ヒトにおける用量限定毒性、薬物動態、および予備薬力学を特徴付ける。これらの初期研究は、再発したか、または難治性の進行腫瘍を有し、標準の治癒的または緩和的手段を使用することができないか、またはそれらがもはや有効でない、もしくは耐容されない葉酸塩受容体陽性状態を持つ患者において行うことができる。第Ｉ相研究は、単一上昇用量の葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体を使用すること、および生化学、ＰＫ、および臨床パラメータを測定することであり、ＭＴＤの決定を可能にし、後次の第ＩＩ相および第ＩＩＩ相治験において使用される治療ウィンドウを構築する、投与量および循環薬物の閾値および最大濃度を確立すると同時に、今後の研究において追跡される潜在的毒性および有害事象を定義する。

【０６８９】

ヒト患者の第ＩＩ相臨床研究は、独立して、葉酸塩受容体陽性の白金耐性卵巣癌患者集団、多数の化学療法に失敗した非小細胞肺癌患者、および再発または難治性の進行腫瘍に苦しむ患者において行われる。この治験は、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体単独、および特定の適応において用いられる現在の化学療法との組合せでの有効性および安全性を評価する。患者は、静脈内投与された葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物臨床候補を、第Ｉ相研究において決定された用量レベルおよび計画で、標準化学療法薬の有無にかかわらず受容する。化学療法薬およびプラシーボからなる対照アームが含まれる。一次エンドポイントは、固形癌の治療効果判定のためのガイドライン（ＲＥＣＩＳＴ）によって定義される反応速度である。二次エンドポイントとしては、安全性および耐用性、無増悪期間、および全生存が

挙げられる。

【０６９０】

第ＩＩＩ相の有効性および安全性研究は、葉酸塩受容体陽性の白金耐性卵巣癌患者、非小細胞肺癌患者、または進行腫瘍再発または難治性癌患者において行い、ＲＥＣＩＳＴによって測定される無増悪生存等の統計的に有意な臨床エンドポイントに到達する能力を試験する。この治験も、二次エンドポイントとしての全生存について統計的に検出力があり、４００人超の患者における登録が予想される。有効性の結果は、標準統計方法を使用して決定する。この研究において、毒性および有害事象マーカーについても追跡し、記載される方法において使用されるときに、化合物が安全であることを検証する。

【０６９１】

実施例５５：ＸＴＥＮの血清安定性

ＧＦＰのＮ末端に融合されたＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４を含有する融合タンパク質を、３７℃で最長７日間、サル血漿およびラット腎臓溶解物中でインキュベートした。図７６に示されるように、０時点、１日目、および７日目に試料を抽出し、ＳＤＳ　ＰＡＧＥに続いて、ウェスタン分析を使用する検出、およびＧＦＰに対する抗体を用いた検出によって分析した。ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４の配列は、血漿中７日間にわたってごくわずかな分解の兆候を示した。しかしながら、ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４は、３日間にわたってラット腎臓溶解物中で急速に分解された。融合タンパク質のインビボ安定性を、血漿試料中で試験し、ＧＦＰ＿ＡＥ８６４を、免疫沈降させ、ＳＤＳ　ＰＡＧＥによって上記のように分析した。注入後７日間までに採取された試料は、分解の兆候をほとんど示さなかった。これらの結果は、血清プロテアーゼに起因する分解に対するａａＴ－ＸＴＥＮの耐性を実証し、これはａａＴ－ＸＴＥＮ融合タンパク質の薬物動態特性の強化の要因である。

【０６９２】

実施例５６：エキセンジン－４に結合されたＸＴＥＮの二次構造の特性化

ＸＴＥＮ＿ＡＥ８６４－Ｅｘ４は、円偏光二色性分光によって二次構造の程度を評価した。ＣＤ分光は、Ｊａｓｃｏ　Ｐｅｌｔｉｅｒ温度コントローラ（ＴＰＣ－３４８ＷＩ）を備えたＪａｓｃｏ　Ｊ－７１５（Ｊａｓｃｏ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，Ｔｏｋｙｏ，Ｊａｐａｎ）分光偏光計上で行った。タンパク質の濃度は、２０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ７．０）、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中で０．２ｍｇ／ｍＬに調整した。光学経路長０．１ｃｍのＨＥＬＬＭＡ石英セルを使用して実験を行った。５℃、２５℃、４５℃、および６５℃でＣＤスペクトルを取得し、Ｗｉｎｄｏｗｓ（登録商標）用Ｊ－７００異形１．０８．０１（Ｂｕｉｌｄ　１）Ｊａｓｃｏソフトウェアを使用して処理した。ＣＤ測定を行う前に５分間、各温度で試料を平衡化した。１ｎｍの帯域幅および２秒の時間定数を使用し、１００ｎｍ／分の走査速度で３００ｎｍ～１８５ｎｍの全てのスペクトルを重複して記録した。図７７に示されるＣＤスペクトルは、安定した二次構造の証拠を示さず、非構造化ポリペプチドと一致する。

【０６９３】

実施例５７：ＸＴＥＮに結合することによるペプチドペイロードの可溶性および安定性の増加

ＸＴＥＮが可溶性および安定性という物理化学的特性を強化する能力を評価するために、グルカゴン＋短長ＸＴＥＮの融合タンパク質を調製し、評価した。被験物質は、中性ｐＨのトリス緩衝生理食塩水中で調製し、Ｇｃｇ－ＸＴＥＮ溶液の特性化を、逆相ＨＰＬＣおよびサイズ排除クロマトグラフィーによって行い、タンパク質が溶液中で均質および非凝集であることを確認した。データは、表４３に提示される。比較目的で、同じ緩衝液中の非修飾グルカゴンの可溶性限界を、６０μＭ（０．２ｍｇ／ｍＬ）で測定し、結果は、負荷されたＸＴＥＮの全長に対して実質的な可溶性の増加が得られたことを実証する。重要なことに、ほとんどの場合において、グルカゴン－ＸＴＥＮ融合タンパク質は、標的濃度を達成するように調製され、所与の構築体の最大可溶性限界を決定するように評価されなかった。しかしながら、ＡＦ－１４４ＸＴＥＮに結合されたグルカゴンの場合、可溶性の限界は決定され、ＸＴＥＮに結合されていないグルカゴンと比較して、６０倍の可溶性

の増加が達成されたという結果を伴う。さらに、グルカゴン－ＡＦ１４４を安定性について評価したところ、冷蔵条件下で少なくとも６ヶ月間、および３７℃で約１ヶ月間、液体製剤中で安定することが見出された（データ図示せず）。

【０６９４】

このデータは、グルカゴン等の生物学的に活性なタンパク質への短長ＸＴＥＮポリペプチドの結合が、得られる融合タンパク質によってタンパク質の可溶特性を顕著に強化すると同時に、より高いタンパク質濃度での安定性を付与することができるという結論を支持する。

【０６９５】

【表４３】

【表４３】　グルカゴン－ＸＴＥＮ構築体の可溶性

被験物質	可溶性
グルカゴン	60 μM
グルカゴン-Y36	>370 μM
グルカゴン-Y72	>293 μM
グルカゴン-AF108	>145 μM
グルカゴン-AF120	>160 μM
グルカゴン-Y144	>497 μM
グルカゴン-AE144	>467 μM
グルカゴン-AF144	>3600 μM
グルカゴン-Y288	>163 μM

【０６９６】

実施例５８：多様なペイロードと結合したＸＴＥＮの分析的サイズ排除クロマトグラフィー

サイズ排除クロマトグラフィー分析は、様々な治療タンパク質、および漸増する長さの非構造化組換えタンパク質を含有する融合タンパク質上で行った。例示的なアッセイは、ＴＳＫＧｅｌ－Ｇ４０００　ＳＷＸＬ（７．８ｍｍ　ｘ　３０ｃｍ）カラムを使用し、１ｍｇ／ｍＬ濃度の４０μｇの精製グルカゴン融合タンパク質を、２０ｍＭリン酸塩（ｐＨ６．８）、１１４ｍＭ　ＮａＣｌ中０．６ｍＬ／分の流量で分離した。クロマトグラムプロファイルは、ＯＤ２１４ｎｍおよびＯＤ２８０ｎｍを使用して監視した。全てのアッセイのカラム較正は、ＢｉｏＲａｄからのサイズ排除較正標準を使用して行い、マーカーは、サイログロブリン（６７０　ｋＤａ）ウシγ－グロブリン（１５８　ｋＤａ）、トリオボアルブミン（４４　ｋＤａ）、ブタミオグロブリン（１７　ｋＤａ）、およびビタミンＢ１２（１．３５　ｋＤａ）を含む。グルカゴン－Ｙ２８８、グルカゴン－Ｙ１４４、グルカゴン－Ｙ７２、グルカゴン－Ｙ３６の代表的なクロマトグラフプロファイルは、図７８にオーバーレイとして示される。データは、各化合物の分子量が、付着したＸＴＥＮ配列の長さに比例することを示す。しかしながら、データは、各構築体の見掛けの分子量が、球状タンパク質に対して予想されるよりも著しく大きいことも示す（同じアッセイにおいて実行された標準タンパク質との比較で示される）。評価された全ての構築体のＳＥＣ分析に基づいて、見掛けの分子量、見掛けの分子量因子（計算された分子量に対する見掛けの分子量の比として表される）、および流体力学半径（R_H（ｎｍ））が表４４に示される。結果は、５７６個以上のアミノ酸の異なるＸＴＥＮの組込みが、約３３９～７６０ｋＤａの融合タンパク質に対して見掛けの分子量を付与すること、および８６４個以上のアミノ酸のＸＴＥＮが、約８００ｋＤＡを超える見掛けの分子量を付与することを示す。実際の分子量に対する見掛けの分子量の比例増加の結果は、いくつかの異なるモチーフファミリー、すなわち、ＡＤ、ＡＥ、ＡＦ、ＡＧ、およびＡＭからのＸＴＥＮで創製された融合タンパク質の場合と一致し、少なくとも４倍の増加、および約１７倍も高い比率を伴う。さらに、様々なペイロード（およびＹ２８８に融合されたグルカゴンの場合は２８８個の残基）を持つ融合タンパク質への５７６個以上のアミノ酸を持つＸＴＥＮ融合パートナーの組込みは、７ｎｍ以上の流体力学半径をもたらし、約３～５ｎｍの糸球体孔サイズをはる

かに超える。したがって、成長およびＸＴＥＮを含む融合タンパク質は、低減した腎クリアランスを有し、終末相半減期の増加に寄与し、対応する非融合生物学的ペイロードタンパク質に対して治療効果または生物学的効果を改善することが予想される。

【０６９７】

【表４４－１】

【表４４】　様々なポリペプチドのＳＥＣ分析

構築体名称	ＸＴＥＮまたは融合パートナー	治療タンパク質	実際のMW（kDa）	見掛けのMW（kDa）	見掛けの分子量因子	R_H（nm）
AC14	Y288	グルカゴン	28.7	370	12.9	7.0
AC28	Y144	グルカゴン	16.1	117	7.3	5.0
AC34	Y72	グルカゴン	9.9	58.6	5.9	3.8
AC33	Y36	グルカゴン	6.8	29.4	4.3	2.6
AC89	AF120	グルカゴン	14.1	76.4	5.4	4.3
AC88	AF108	グルカゴン	13.1	61.2	4.7	3.9
AC73	AF144	グルカゴン	16.3	95.2	5.8	4.7
AC53	AG576	GFP	74.9	339	4.5	7.0
AC39	AD576	GFP	76.4	546	7.1	7.7
AC41	AE576	GFP	80.4	760	9.5	8.3
AC52	AF576	GFP	78.3	526	6.7	7.6
AC398	AE288	FVII	76.3	650	8.5	8.2
AC404	AE864	FVII	129	1900	14.7	10.1
AC85	AE864	エキセンジン-4	83.6	938	11.2	8.9
AC114	AM875	エキセンジン-4	82.4	1344	16.3	9.4
AC143	AM875	hGH	100.6	846	8.4	8.7
AC302	AE912 + AE144	hGH	119.1	2,287	19.2	11.0
AC227	AM875	IL-1ra	95.4	1103	11.6	9.2
AC228	AM1318	IL-1ra	134.8	2286	17.0	10.5
AC493	AE864	FIX	127.7*	3967	31.1	12.2
AC616	AE864	GLP2-2G	83.1	1427	17.2	10
AC647	AE864	グレリン	82.7	996	12	9.2
AC659	AE864	C-ペプチド	82.7	822	10	8.8
AC663	AE1296	C-ペプチド	122.2	2348	19.2	11.1

【０６９８】

【表４４－２】

構築体名称	ＸＴＥＮまたは融合パートナー	治療タンパク質	実際のMW（kDa）	見掛けのMW（kDa）	見掛けの分子量因子	R_H（nm）
AC434	AE288	aaT	71.1	500	7.0	7.7
AC435	AE576	aaT	97.5	1,127	11.6	9.5
AC345	AM875	aaT	122.6	1,390	11.3	9.9
AC450	AE288	aHer2_scFv	56.2	312	5.5	6.7
AC451	AE576	aHer2_scFv	82.6	760	9.2	8.6
AC452	AE864	aHer2_scFv	109.1	1,390	12.7	9.9

＊グリコシル化を除く

【０６９９】

実施例５９：予測アルゴリズムによる二次構造の配列の分析

アミノ酸配列は、周知のＣｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズム（Ｃｈｏｕ，Ｐ．Ｙ．，ｅｔ ａｌ．（１９７４）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，１３：２２２－４５）およびＧａｒｎｉｅｒ－Ｏｓｇｕｔｈｏｒｐｅ－Ｒｏｂｓｏｎ、または「Ｇｏｒ」方法（Ｇａｒｎｉｅｒ Ｊ，Ｇｉｂｒａｔ ＪＦ，Ｒｏｂｓｏｎ Ｂ．（１９９６）．ＧＯＲ ｍｅｔｈｏｄ ｆｏｒ ｐｒｅｄｉｃｔｉｎｇ ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｅｃｏｎｄａｒｙ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ｆｒｏｍ ａｍｉｎｏ ａｓｈｉｄ ｓｅｑｕｅｎｃｅ．Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ ２６６：５４０－５５３）等の、あるコンピュータプログラムまたはアルゴリズムを介して、二次構造について評価することができる。所与の配列について、これらのアルゴリズムは、いくつかの二次構造が存在するか、または全く存在しないかを予測することができ、例えば、αらせんまたはβシートを形成する配列の残基の総数および／またはパーセンテージ、またはランダムコイル形成をもたらすことが予測される配列の残基のパーセンテージとして表される。

【０７００】

ＸＴＥＮ「ファミリー」からのいくつかの代表的な配列は、これらの配列における二次構造の程度を評価するように、Ｃｈｏｕ－ＦａｓｍａｎおよびＧＯＲ方法のための２つのアルゴリズムツールを使用して評価された。Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎツールは、Ｗｉｌｌｉａｍ Ｒ．Ｐｅａｒｓｏｎ ａｎｄ ｔｈｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｖｉｒｇｉｎｉａによって、２００９年６月１９日に存在したワールドワイドウェブ上に位置するＵＲＬ（．ｆａｓｔａ．ｂｉｏｃｈ．ｖｉｒｇｉｎｉａ．ｅｄｕ／ｆａｓｔａ＿ｗｗｗ２／ｆａｓｔａ＿ｗｗｗ．ｃｇｉ？ｒｍ＝ｍｉｓｃ１）のインターネットサイト「Ｂｉｏｓｕｐｐｏｒｔ」において提供された。ＧＯＲツールは、Ｐｏｌｅ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｑｕｅ Ｌｙｏｎｎａｉｓによって、２００８年６月１９日に存在したワールドワイドウェブ上に位置するＵＲＬ（．ｎｐｓａ－ｐｂｉｌ．ｉｂｃｐ．ｆｒ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｓｅｃｐｒｅｄ＿ｇｏｒ４．ｐｌ）のインターネットサイト「Ｎｅｔｗｏｒｋ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ」において提供された。

【０７０１】

分析の第１ステップとして、単一ＸＴＥＮ配列を、２つのアルゴリズムによって分析した。ＡＥ８６４組成物は、アミノ酸Ｇ、Ｓ、Ｔ、Ｅ、Ｐ、およびＡからなる４つの１２アミノ酸配列モチーフの複数コピーから創製された８６４個のアミノ酸残基を持つＸＴＥＮである。配列モチーフは、モチーフ内および全体配列内に制限された反復性があり、任意の２つの連続アミノ酸の配列は、いずれか１つの１２アミノ酸モチーフにおいて２回を超えて反復しないこと、および全長ＸＴＥＮの３つの連続アミノ酸は同一でないという事実によって特徴付けられる。Ｎ末端からのＡＦ８６４配列の連続して長い部分は、Ｃｈｏｕ－ＦａｓｍａｎおよびＧＯＲアルゴリズムによって分析した（後者は、最小１７個のアミノ酸長を必要とする）。これらの配列は、ＦＡＳＴＡ形式配列を予測ツールに入力し、分析を実行することによって分析した。これらの分析結果は、表４５に提示される。

【０７０２】

これらの結果は、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎ計算によって、ＡＥおよびＡＧファミリーの短いＸＴＥＮ、少なくとも２８８個までのアミノ酸残基は、αらせんまたはβシートを有しないが、ＧＯＲアルゴリズムによって予測されるランダムコイルのパーセンテージは、７８～９９％まで異なる。５０４個の残基のＸＴＥＮ長さを１３００超に増加させた場合、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎアルゴリズムによって分析されたＸＴＥＮは、０～２％の予測されたαらせんまたはβシートのパーセンテージを有したが、計算されたランダムコイルのパーセンテージは、９４～９９％に増加した。αらせんまたはβシートを持つＸＴＥＮは、３つの連続セリン残基の１つ以上の例を持つ配列であり、予測されたβシート形成をもたらした。しかしながら、これらの配列でさえも依然として、約９９％のランダムコイル形成を有していた。

【０７０３】

この分析は、１）連続アミノ酸に対して制限された反復性を有するＧ、Ｓ、Ｔ、Ｅ、Ｐ、およびＡの複数配列モチーフから創製されたＸＴＥＮは、非常に低量のαらせんおよび

βシートを有することが予測されること、２）ＸＴＥＮの長さを増加させることが、αらせんまたはβシート形成の可能性を顕著に増加しないこと、および３）アミノ酸Ｇ、Ｓ、Ｔ、Ｅ、Ｐ、およびＡからなる非反復１２－ｍｅｒの付加によってＸＴＥＮ配列の長さを段階的に増加させることが、ランダムコイル形成のパーセンテージの増加をもたらすという結論を支持する。これらの方法によって評価された多数の配列に基づいて、制限された反復性を有する（いずれか１つのモチーフに２つ以上の同一連続アミノ酸がないと定義される）配列モチーフＧ、Ｓ、Ｔ、Ｅ、Ｐ、およびＡから創製されたＸＴＥＮは、極めて制限された二次構造を有することが予想されると結論される。３つの連続セリンを含有するモチーフを例外として、表１からの一般に任意の順序または組合せの配列モチーフを使用して、二次構造を実質的に欠くＸＴＥＮ配列をもたらし、３つの連続セリンの効果が、ＸＴＥＮの長さを増加させることによって軽減される、ＸＴＥＮポリペプチドを創製することができる。そのような配列は、本明細書に開示される発明のＸＴＥＮ含有組成物実施形態に記載される特徴を有することが予想される。

【０７０４】

【表４５－１】

【表４５】　ポリペプチド配列のＣＨＯＵ－ＦＡＳＭＡＮおよびＧＯＲ予測計算

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
AE36: LCW0402_002	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP	36	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	94.44%
AE36: LCW0402_003	GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP	36	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	94.44%
AG36: LCW0404_001	GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP	36	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	77.78%
AG36: LCW0404_003	GSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSP	36	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	83.33 %
AE42_1	TEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS	42	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	90.48%
AE42_1	TEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS	42	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント:	90.48%

【０７０５】

【表４５－２】

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
			H: 0.0 E: 0.0	
AG42_1	GAPSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGPSGP	42	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	88.10%
AG42_2	GPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASP	42	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	88.10%
AE144	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP	144	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	98.61%
AG144_1	PGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSS	144	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	91.67%
AE288	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP	288	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	99.31%
AG288_2	GSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA	288	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E:	92.71

【０７０６】

【表４５－３】

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
	TGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGA SPGTSSTGSPGTPGSGTASSSP		0.0	
AF504	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGT PGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSNPSASTGTGPGASP GTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSG TASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSNPSASTGTGPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGA SPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASP GTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSA STGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSP	504	残基総数：H: 0 E: 0 パーセント：H: 0.0 E: 0.0	94.44%
AD 576	GSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGS SESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSE SGSSEGGPGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSSESG SSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSE SGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSGGEPSESG SSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSS GSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGS GGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESP GGSSGSESGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGESPGG SSGSESGESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSGGEPSE SGSSGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESG SSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSES GESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGS SESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGESP GGSSGSESGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSEGSS GPGESS	576	残基総数：H: 7 E: 0 パーセント：H: 1.2 E: 0.0	99.65%

【０７０７】

【表４５－４】

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
AE576	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAP	576	残基総数：H: 2 E: 0 パーセント：H: 0.4 E: 0.0	99.65%
AG576	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPG SSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGAS PGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGS GTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTS STGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGS PGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPG SSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSS PSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGS GTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTS STGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSS PGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPG SSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSS TPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPG TSSTGS	576	残基総数：H: 0 E: 3 パーセント：H: 0.4 E: 0.5	99.31%
AF540	GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGS TSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTS	540	残基総数：H: 2 E: 0	99.65

【０７０８】

【表４５－５】

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
	ESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSES PSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPS GTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGT STPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTST PESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSES PSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESG SASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGT SPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAP		パーセント: H: 0.4 E: 0.0	
AD836	GSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGS GGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSSE SGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGG SSGSESGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSSESGSS EGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEG GPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSS GESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGS EGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSEG SSGPGESSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGG SSGSESGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSSESGSS EGGPGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGE SSGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSEGSSGPGESS GSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGE SPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESP GGSSGSESGSEGSSGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSESG SSGSEGSSGPGESSGSEGSSGPGESSGSEGSSGPGESS GSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGE SPGGSSGSESGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESP GGSSGSESGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESG SSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESPGGSS GSESGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESPGGSSGS	836	残基総数: H: 0 E: 0 パーセント: H: 0.0 E: 0.0	98.44%

【０７０９】

【表４５－６】

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
	ESGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSS			
AE864	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP	864	残基総数：H: 2 E: 3 パーセント：H: 0.2 E: 0.4	99.77%
AF864	GSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGS TSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSES PSGTAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAE SPGPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESP GPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGT STPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTS STAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGSTSST AESPGPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSSTAE	875	残基総数：H: 2 E: 0 パーセント：H: 0.2 E: 0.0	95.20%

【０７１０】

【表４５－７】

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
	SPGPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGPXXXGASASGAPSTXXXXSESPSGTAPG STSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGST SESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSPS GESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGE SSTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSG TAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSAS PGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPG STSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTS PSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTP ESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSPSGE SSTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESS TAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGS P			
AG864	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGT PGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASP GTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSG TASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGA SPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASP GTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSA STGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATG SPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGA SPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASP GTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGT SSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGP GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGS SPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASP	864	残基総数：H: 0 E: 0 パーセント： H: 0.0 E: 0.0	94.91%

【０７１１】

【表４５－８】

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
	GTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGT SSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGA TGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP			
AM875	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGS TSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGASASGAPSTGGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGST SESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTPGSGTASSSPGSSTP SGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGSTSSTAESPGPGSTSSTAES PGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGTSTEPSEGSAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPG STSESPSGTAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPG TSSTGSPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA P	875	残基総数：H: 7 E: 3 パーセント: H: 0.8 E: 0.3	98.63%
AM1318	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGS TSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT	1318	残基総数：H: 7 E: 0 パーセント: H: 0.7 E: 0.0	99.17%

【０７１２】

【表４５－９】

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
	STEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGPEPTGPAPSGGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESP SGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSG TAPGTSPSGESSTAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSPS GESSTAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGS PGASASGAPSTGGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGT SPSGESSTAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGT SSTGSPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGES STAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGS APGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSST PSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSTSES PSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSSTPSGA TGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP			
AM923	MAEPAGSPTSTEEGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSE SPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPES GSASPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA	924	残基総数：H: 4 E: 3 パーセント： H: 0.4 E: 0.3	98.70%

【０７１３】

【表４５－１０】

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
	PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSSTPSG ATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPSTGGT SESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTS STAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSTSSTAESP GPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETP GSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSSTAESPGPGT STPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSSTPSGATGSPGSSPSA STGTGPGASPGTSSTGSPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGSSPSASTGT GPGASPGTSSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP			
AE912	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPG ASPGTSSTGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAG	913	残基総数：H: 8　E:　3 パーセント: H:　0.9　E: 0.3	99.45%

【０７１４】

【表４５－１１】

配列名	配列	残基数	Chou-Fasman 計算	GOR 計算
	SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA P			
BC 864	GTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGS GASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEP ATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPAT SGTEPSGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSEPATSG TEPSGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTE PSGSEPATSGTEPSGTSEPSTSEPGAGSGASEPTSTEP GTSEPSTSEPGAGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGT STEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGSGASEPTSTEPGSEP ATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEPAT SGTEPSGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPT STEPGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTST EPGTSTEPSEPGSAGSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPS GSGASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGT STEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGSGASEPTSTEPGTST EPSEPGSAGSEPATSGTEPSGTSTEPSEPGSAGSEPAT SGTEPSGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSE PGSAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPG SAGTSEPSTSEPGAGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSA GTSTEPSEPGSAGTSTEPSEPGSAGSEPATSGTEPSGS GASEPTSTEPGSEPATSGTEPSGSEPATSGTEPSGSEP ATSGTEPSGSEPATSGTEPSGTSEPSTSEPGAGSEPAT SGTEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSAGSEPATSG TEPSGSGASEPTSTEPGTSTEPSEPGSA		残基総数：H: 0 E: 0 パーセント：H: 0 E: 0	99.77%

＊ H： αらせん E： βシート

【０７１５】

実施例６０：ポリペプチド配列の反復性の分析

ポリペプチドアミノ酸配列は、より短い部分列が全体ポリペプチド内で出現する回数を定量化することによって、反復性について評価することができる。例えば、２００アミノ酸残基のポリペプチドは、１９２個の重複する９アミノ酸部分列（または９－ｍｅｒ「枠」）を有するが、固有の９－ｍｅｒ部分列の数は、その配列内の反復性の量に依存する。本分析において、異なる配列を、ポリマー部分の最初の２００アミノ酸全体の各３アミノ酸枠に対する全ての固有３－ｍｅｒ部分列発生を合計し、２００アミノ酸配列内の固有の３－ｍｅｒ部分列の絶対数で割ることによって、反復性について評価した。得られた部分列スコアは、ポリペプチド内の反復性の程度の反映である。

【０７１６】

表４６に示される結果は、２または３つのアミノ酸種からなる非構造化ポリペプチドが、高い部分列スコアを有する一方で、低程度の内部反復性を持つ６つのアミノ酸Ｇ、Ｓ、Ｔ、Ｅ、Ｐ、およびＡの１２アミノ酸モチーフからなる非構造化ポリペプチドが、１０未満、場合によっては５未満の部分列スコアを有することを示す。例えば、Ｌ２８８配列は、２つのアミノ酸種を有し、短い高度に反復性の配列を有し、５０．０の部分列スコアを

もたらす。ポリペプチドＪ２８８配列は、３つのアミノ酸種を有するが、短い反復性配列も有し、３３．３の部分列スコアをもたらす。Ｙ５７６も３つのアミノ酸種を有するが、内部反復を形成せず、最初の２００アミノ酸にわたる１５．７の部分列スコアに反映される。Ｗ５７６は、４つのアミノ酸種からなるが、より高程度の内部反復性、例えば、「ＧＧＳＧ」を有し、２３．４の部分列スコアをもたらす。ＡＤ５７６は、４種の１２アミノ酸モチーフからなり、それぞれは４種のアミノ酸からなる。個別のモチーフの低程度の内部反復性に起因して、最初の２００アミノ酸にわたる全体部分列スコアは、１３．６である。対照的に、４つのモチーフからなるＸＴＥＮは、６種のアミノ酸を含有し、低程度の内部反復性を持つそれぞれは、より低い部分列スコアを有する（すなわち、ＡＥ８６４（６．１）、ＡＦ８６４（７．５）、およびＡＭ８７５（４．５））。

【０７１７】

結論：これらの結果は、それぞれが本質的に非反復性である４～６のアミノ酸種からなる１２個のアミノ酸部分列モチーフを、より長いＸＴＥＮポリペプチドに合わせることが、非反復性である全体配列をもたらすことを示す。これは、各部分列モチーフが、配列全体で複数可使用され得るという事実にかかわらない。対照的に、より少数のアミノ酸種から創製されたポリマーは、より高い部分列スコアをもたらしたが、実際の配列は、反復性の程度を低減し、より低い部分列スコアをもたらすように調整することができる。

【０７１８】

【表４６－１】

【表４６】　ポリペプチド配列の部分列スコア計算

配列名	アミノ酸配列	スコア
J288	GSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGG EGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGS GGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEG GSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGG EGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEGGSGGEG	33.3
K288	GEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGG EGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGE GEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEG EGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGE GGGEGGEGEGGGEGGEGEGGGEGGEGEGGG	46.9
L288	SSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSES SESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESS SSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSESSES SSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSSESSESSES SESSSSESSSESSESSSSESSSESSESSSES	50.0
Y288	GEGSGEGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGGSEGSEGEGGSEGSEGEGGSEGSEGEGSGEGSEG EGGSEGSEGEGSGEGSEGEGSEGGSEGEGGSEGSEGEGSGEGSEGEGGEGGSEGEGSEGSGEGE GSGEGSEGEGSEGSGEGEGSGEGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGGSEGSEGEGSEGSGEGEG GEGSGEGEGSGEGSEGEGGGEGSEGEGSGEGGEGEGSEGGSEGEGGSEGGEGEGSEGSGEGEGS EGGSEGEGSEGGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGE	26.8
Q576	GGKPGEGGKPEGGGGKPGGKPEGEGEGKPGGKPEGGGKPGGGEGGKPEGGKPEGEGKPGGGEGK PGGKPEGGGGKPEGEGKPGGGGGKPGGKPEGEGKPGGGEGGKPEGKPGEGGEGKPGGKPEGGGE GKPGGGKPGEGGKPGEGKPGGGEGGKPEGGKPEGEGKPGGGEGKPGGKPGEGGKPEGGGEGKPG GKPGEGGEGKPGGGKPEGEGKPGGGKPGGGEGGKPEGEGKPGGKPEGGGEGKPGGKPEGGGKPE GGGEGKPGGGKPGEGGKPGEGEGKPGGKPEGEGKPGGEGGGKPEGKPGGGEGGKPEGGKPGEGG KPEGGKPGEGGEGKPGGGKPGEGGKPEGGGKPEGEGKPGGGGKPGEGGKPEGGKPEGGGEGKPG GGKPEGEGKPGGGEGKPGGKPEGGGGKPGEGGKPEGGKPGGEGGGKPEGEGKPGGKPGEGGGGK PGGKPEGEGKPGEGGEGKPGGKPEGGGEGKPGGKPEGGGEGKPGGGKPGEGGKPEGGGKPGEGG KPGEGGKPEGEGKPGGGEGKPGGKPGEGGKPEGGGEGKPGGKPGGEGGGKPEGGKPGEGGKPEG	18.5
U576	GEGKPGGKPGSGGGKPGEGGKPGSGEGKPGGKPGSGGSGKPGGKPGEGGKPEGGSGGKPGGGGK PGGKPGGEGSGKPGGKPEGGGKPEGGSGGKPGGKPEGGSGGKPGGKPGSGEGGKPGGGKPGGEG KPGSGKPGGEGSGKPGGKPEGGSGGKPGGKPEGGSGGKPGGSGKPGGKPGEGGKPEGGSGGKPG GSGKPGGKPEGGGSGKPGGKPGEGGKPGSGEGGKPGGGKPGGEGKPGSGKPGGEGSGKPGGKPG SGGEGKPGGKPEGGSGGKPGGGKPGGEGKPGSGGKPGEGGKPGSGGGKPGGKPGGEGEGKPGGK	18.1

【０７１９】

【表４６－２】

配列名	アミノ酸配列	スコア
	PGEGGKPGGEGSGKPGGGGKPGGKPGGEGGKPEGSGKPGGGSGKPGGKPEGGGGKPEGSGKPGG GGKPEGSGKPGGGKPEGGSGGKPGGSGKPGGKPGEGGGKPEGSGKPGGGSGKPGGKPEGGGKPE GGSGGKPGGKPEGGSGGKPGGKPGGEGSGKPGGKPGSGEGGKPGGKPGEGSGGKPGGKPEGGSG GKPGGSGKPGGKPEGGGSGKPGGKPGEGGKPGGEGSGKPGGSGKPG	
W576	GGSGKPGKPGGSGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGGGGKP GSGSGKPGGGKPGGSGGKPGGGSGKPGKPGSGGSGKPGSGKPGGGSGGKPGKPGSGGSGGKPGK PGSGGGSGKPGKPGSGGSGGKPGKPGSGGSGGKPGKPGSGGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGS GGSGKPGKPGSGGSGKPGSGKPGSGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGSGGSGKPGKPGSGGGKP GSGSGKPGGGKPGSGSGKPGGGKPGGSGGKPGGSGGKPGKPGSGGGSGKPGKPGSGGGSGKPGK PGGSGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGSGGSGKPGKPGSGGSGGKPGKPGSGGGKPGSGSGKPG GGKPGSGSGKPGGGKPGSGSGKPGGGKPGSGSGKPGGSGKPGSGKPGGGSGGKPGKPGSGGSGK PGSGKPGSGGSGKPGKPGGSGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGGGSGKPGSGKPGGGSGKPGSG KPGGGGKPGSGSGKPGGSGGKPGKPGSGGSGGKPGKPGSGGSGKPGSGKPGGGSGGKPGKPGSG G	23.4
Y576	GEGSGEGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGGSEGSEGEGSEGSGEGEGGEGSGEGEGSGEGSEG EGGGEGSEGEGSGEGGEGEGSEGGSEGEGGSEGGEGEGSEGSGEGEGSEGGSEGEGSEGGSEGE GSEGSGEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGSEGGSEGEGGSEGSEGEGSGEGSEGEG GSEGSEGEGGGEGSEGEGSGEGSEGEGGSEGSEGEGGSEGSEGEGGEGSGEGEGSEGSGEGEGS GEGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGGSEGSEGEGSGEGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGGS EGSEGEGGSEGSEGEGGSEGSEGEGGEGSGEGEGSEGSGEGEGSGEGSEGEGSEGSGEGEGSEG SGEGEGGSEGSEGEGSEGSGEGEGGEGSGEGEGSGEGSEGEGGGEGSEGEGSEGSGEGEGSEGS GEGEGSEGGSEGEGGSEGSEGEGSEGGSEGEGSEGGSEGEGSEGSGEGEGSEGSGEGEGSGEGS EGEGGSEGGEGEGSEGGSEGEGSEGGSEGEGGEGSGEGEGGGEGSEGEGSEGSGEGEGSGEGSE	15.7
AD576	GSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSESGSSEGGPGSSE SGSSEGGPGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSSESGSS EGGPGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSGGEPSESGSS GSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSEGSSGPGESSGESPGGSSGSESGSGG EPSESGSSGSGGEPSESGSSGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGESPGGSSGSESGESPGGSS GSESGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSS GSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGESP GGSSGSESGESPGGSSGSESGSSESGSSEGGPGSGGEPSESGSSGSSESGSSEGGPGSGGEPSE SGSSGSGGEPSESGSSGESPGGSSGSESGSEGSSGPGESSGSSESGSSEGGPGSEGSSGPGESS	13.6
AE576	AGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESAT	6.1

【０７２０】

【表４６－３】

配列名	アミノ酸配列	スコア
	PESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA P	
AF540	GSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTST PESGSASPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGES STAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAP GSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTS STAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESG SASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASP GTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTS ESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSSTAE SPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAP	8.8
AF504	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSNP SASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGSNPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASP GTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSST PSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP	7.0
AE864	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP	6.1

【０７２１】

【表４６－４】

配列名	アミノ酸配列	スコア
	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP	
AF864	GSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTST PESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGES STAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGP GTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTS STAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGES STAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSSTAESPGP GTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGPXXXGASASGAPSTXXXXSE SPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSG TAPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPG TSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGTSTP ESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSESPSG TAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPG TSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPS GESSTAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP	7.5
AG868	GGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP GSNPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASP GTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTA SSSPGSSTPSGATGSPGSNPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSP GASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASP GTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASP GTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPG SGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSS TGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP	7.5
AM875	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATP	4.5

【０７２２】

【表４６－５】

配列名	アミノ酸配列	スコア
	ESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGASASGAPSTGGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPGTSPSGESS TAPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPG TSSTGSPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP	
AM1318	GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTS ESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGPEPTGPAPSGGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSTSSTAESPGPGSTSESPSGTAPG TSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPGTSPSGESSTAPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGSSTP SGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASASGAPSTGGTSPSGESST APGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS SPSASTGTGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGTSPSG ESSTAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGT APGTSTPESGSASPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSTSES PSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASS SPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP	4.5

【０７２３】

実施例６１：ＴＥＰＩＴＯＰＥスコアの計算

９ｍｅｒペプチド配列のＴＥＰＩＴＯＰＥスコアは、Ｓｔｕｒｎｉｏｌｏ［Ｓｔｕｒｎｉｏｌｏ，Ｔ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９９）Ｎａｔ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ，１７：５５５］によって記載されるポケット電位を付加することによって計算することができる。本実施例において、別個のテピトープスコアを、個別のＨＬＡ対立遺伝子に対して計算した。表４７は、一例として、白人集団において高頻度で発生する、ＨＬＡ＊０１０１Ｂのポケット電位を示す。配列Ｐ１－Ｐ２－Ｐ３－Ｐ４－Ｐ５－Ｐ６－Ｐ７－Ｐ８－Ｐ９を持つペプチドのＴＥＰＩＴＯＰＥスコアを計算するために、表４７の対応する個別のポケット電位を付加した。配列ＦＤＫＬＰＲＴＳＧを持つ９ｍｅｒペプチドのＨＬＡ＊０１０１Ｂスコアは、０、－１．３、０、０．９、０、－１．８、０．０９、０、０の合計である。

【０７２４】

長いペプチドのＴＥＰＩＴＯＰＥスコアを評価するために、配列の全ての９ｍｅｒ部分列に対してこのプロセスを繰り返すことができる。このプロセスは、他のＨＬＡ対立遺伝子によってコードされるタンパク質に対して繰り返すことができる。表４８～５１は、白人集団において高頻度で発生するＨＬＡ対立遺伝子のタンパク質産物に対するポケット電位を示す。

【０７２５】

この方法によって計算されたＴＥＰＩＴＯＰＥスコアは、約－１０～＋１０の範囲である。しかしながら、Ｐ１位において疎水性アミノ酸（ＦＫＬＭＶＷＹ）を欠く９ｍｅｒペプチドは、－１００９～－９８９の範囲の計算されたＴＥＰＩＴＯＰＥスコアを有する。この値は、生物学的に無意味であり、疎水性アミノ酸が、ＨＬＡ結合のアンカー残基として機能し、Ｐ１において疎水性残基を欠くペプチドは、ＨＬＡに対する非結合体であると見なされるという事実を反映する。ほとんどのＸＴＥＮ配列は、疎水性残基を欠くため、９ｍｅｒ部分列の全ての組合せは、－１００９～－９８の範囲のＴＥＰＩＴＯＰＥを有する。この方法は、ＸＴＥＮポリペプチドが、予測されたＴ細胞エピトープをほとんど、または全く有しないことがある。

【０７２６】

【表４７－１】

【表４７】　ＨＬＡ＊０１０１Ｂ対立遺伝子のポケット電位

アミノ酸	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
A	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
C	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
D	-999	-1.3	-1.3	-2.4	-	-2.7	-2	-	-1.9
E	-999	0.1	-1.2	-0.4	-	-2.4	-0.6	-	-1.9
F	0	0.8	0.8	0.08	-	-2.1	0.3	-	-0.4

【０７２７】

【表４７－２】

アミノ酸	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
G	-999	0.5	0.2	-0.7	-	-0.3	-1.1	-	-0.8
H	-999	0.8	0.2	-0.7	-	-2.2	0.1	-	-1.1
I	-1	1.1	1.5	0.5	-	-1.9	0.6	-	0.7
K	-999	1.1	0	-2.1	-	-2	-0.2	-	-1.7
L	-1	1	1	0.9	-	-2	0.3	-	0.5
M	-1	1.1	1.4	0.8	-	-1.8	0.09	-	0.08
N	-999	0.8	0.5	0.04	-	-1.1	0.1	-	-1.2
P	-999	-0.5	0.3	-1.9	-	-0.2	0.07	-	-1.1
Q	-999	1.2	0	0.1	-	-1.8	0.2	-	-1.6
R	-999	2.2	0.7	-2.1	-	-1.8	0.09	-	-1
S	-999	-0.3	0.2	-0.7	-	-0.6	-0.2	-	-0.3
T	-999	0	0	-1	-	-1.2	0.09	-	-0.2
V	-1	2.1	0.5	-0.1	-	-1.1	0.7	-	0.3
W	0	-0.1	0	-1.8	-	-2.4	-0.1	-	-1.4
Y	0	0.9	0.8	-1.1	-	-2	0.5	-	-0.9

【０７２８】

【表４８－１】

【表４８】　ＨＬＡ＊０３０１Ｂ対立遺伝子のポケット電位

アミノ酸	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
A	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
C	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
D	-999	-1.3	-1.3	2.3	-	-2.4	-0.6	-	-0.6
E	-999	0.1	-1.2	-1	-	-1.4	-0.2	-	-0.3
F	-1	0.8	0.8	-1	-	-1.4	0.5	-	0.9
G	-999	0.5	0.2	0.5	-	-0.7	0.1	-	0.4
H	-999	0.8	0.2	0	-	-0.1	-0.8	-	-0.5
I	0	1.1	1.5	0.5	-	0.7	0.4	-	0.6
K	-999	1.1	0	-1	-	1.3	-0.9	-	-0.2
L	0	1	1	0	-	0.2	0.2	-	-0
M	0	1.1	1.4	0	-	-0.9	1.1	-	1.1
N	-999	0.8	0.5	0.2	-	-0.6	-0.1	-	-0.6
P	-999	-0.5	0.3	-1	-	0.5	0.7	-	-0.3
Q	-999	1.2	0	0	-	-0.3	-0.1	-	-0.2
R	-999	2.2	0.7	-1	-	1	-0.9	-	0.5
S	-999	-0.3	0.2	0.7	-	-0.1	0.07	-	1.1

【０７２９】

【表４８－２】

アミノ酸	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
T	-999	0	0	-1	-	0.8	-0.1	-	-0.5
V	0	2.1	0.5	0	-	1.2	0.2	-	0.3
W	-1	-0.1	0	-1	-	-1.4	-0.6	-	-1
Y	-1	0.9	0.8	-1	-	-1.4	-0.1	-	0.3

【０７３０】

【表４９－１】

【表４９】　ＨＬＡ＊０４０１Ｂ対立遺伝子のポケット電位

アミノ酸	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
A	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
C	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
D	-999	-1.3	-1.3	1.4	-	-1.1	-0.3	-	-1.7
E	-999	0.1	-1.2	1.5	-	-2.4	0.2	-	-1.7
F	0	0.8	0.8	-0.9	-	-1.1	-1	-	-1
G	-999	0.5	0.2	-1.6	-	-1.5	-1.3	-	-1
H	-999	0.8	0.2	1.1	-	-1.4	0	-	0.08
I	-1	1.1	1.5	0.8	-	-0.1	0.08	-	-0.3
K	-999	1.1	0	-1.7	-	-2.4	-0.3	-	-0.3
L	-1	1	1	0.8	-	-1.1	0.7	-	-1
M	-1	1.1	1.4	0.9	-	-1.1	0.8	-	-0.4
N	-999	0.8	0.5	0.9	-	1.3	0.6	-	-1.4
P	-999	-0.5	0.3	-1.6	-	0	-0.7	-	-1.3
Q	-999	1.2	0	0.8	-	-1.5	0	-	0.5
R	-999	2.2	0.7	-1.9	-	-2.4	-1.2	-	-1
S	-999	-0.3	0.2	0.8	-	1	-0.2	-	0.7

【０７３１】

【表４９－２】

アミノ酸	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
T	-999	0	0	0.7	-	1.9	-0.1	-	-1.2
V	-1	2.1	0.5	-0.9	-	0.9	0.08	-	-0.7
W	0	-0.1	0	-1.2	-	-1	-1.4	-	-1
Y	0	0.9	0.8	-1.6	-	-1.5	-1.2	-	-1

【０７３２】

【表５０】

【表５０】　ＨＬＡ＊０７０１Ｂ対立遺伝子のポケット電位

アミノ酸	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
A	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
C	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
D	-999	-1.3	-1.3	-1.6	-	-2.5	-1.3	-	-1.2
E	-999	0.1	-1.2	-1.4	-	-2.5	0.9	-	-0.3
F	0	0.8	0.8	0.2	-	-0.8	2.1	-	2.1
G	-999	0.5	0.2	-1.1	-	-0.6	0	-	-0.6
H	-999	0.8	0.2	0.1	-	-0.8	0.9	-	-0.2
I	-1	1.1	1.5	1.1	-	-0.5	2.4	-	3.4
K	-999	1.1	0	-1.3	-	-1.1	0.5	-	-1.1
L	-1	1	1	-0.8	-	-0.9	2.2	-	3.4
M	-1	1.1	1.4	-0.4	-	-0.8	1.8	-	2
N	-999	0.8	0.5	-1.1	-	-0.6	1.4	-	-0.5
P	-999	-0.5	0.3	-1.2	-	-0.5	-0.2	-	-0.6
Q	-999	1.2	0	-1.5	-	-1.1	1.1	-	-0.9
R	-999	2.2	0.7	-1.1	-	-1.1	0.7	-	-0.8
S	-999	-0.3	0.2	1.5	-	0.6	0.4	-	-0.3
T	-999	0	0	1.4	-	-0.1	0.9	-	0.4
V	-1	2.1	0.5	0.9	-	0.1	1.6	-	2
W	0	-0.1	0	-1.1	-	-0.9	1.4	-	0.8
Y	0	0.9	0.8	-0.9	-	-1	1.7	-	1.1

【０７３３】

【表５１－１】

【表５１】　ＨＬＡ＊１５０１Ｂ対立遺伝子のポケット電位

アミノ酸	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
A	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
C	-999	0	0	0	-	0	0	-	0
D	-999	-1.3	-1.3	-0.4	-	-0.4	-0.7	-	-1.9

【０７３４】

【表５１－１】

アミノ酸	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
E	-999	0.1	-1.2	-0.6	-	-1	-0.7	-	-1.9
F	-1	0.8	0.8	2.4	-	-0.3	1.4	-	-0.4
G	-999	0.5	0.2	0	-	0.5	0	-	-0.8
H	-999	0.8	0.2	1.1	-	-0.5	0.6	-	-1.1
I	0	1.1	1.5	0.6	-	0.05	1.5	-	0.7
K	-999	1.1	0	-0.7	-	-0.3	-0.3	-	-1.7
L	0	1	1	0.5	-	0.2	1.9	-	0.5
M	0	1.1	1.4	1	-	0.1	1.7	-	0.08
N	-999	0.8	0.5	-0.2	-	0.7	0.7	-	-1.2
P	-999	-0.5	0.3	-0.3	-	-0.2	0.3	-	-1.1
Q	-999	1.2	0	-0.8	-	-0.8	-0.3	-	-1.6
R	-999	2.2	0.7	0.2	-	1	-0.5	-	-1
S	-999	-0.3	0.2	-0.3	-	0.6	0.3	-	-0.3
T	-999	0	0	-0.3	-	-0	0.2	-	-0.2
V	0	2.1	0.5	0.2	-	-0.3	0.3	-	0.3
W	-1	-0.1	0	0.4	-	-0.4	0.6	-	-1.4
Y	-1	0.9	0.8	2.5	-	0.4	0.7	-	-0.9

【０７３５】
実施例６２：ＧＰＣＲ　Ｃａ２＋動員活性アッセイ
組換えＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮは、Ａｌｔｅｒｓ，Ｓ．ｅｔ　ａｌ．（２０１２）ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮ：ａ　ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　ｐｒｏｔｅｉｎ　ｗｉｔｈ　ｉｍｐｒｏｖｅｄ　ｓｅｒｕｍ　ｈａｌｆ－ｌｉｆｅ　ａｎｄ　ｅｆｆｉｃａｃｙ　ｉｎ　ａ　ｒａｔ　Ｃｒｏｈｎ’ｓ　ｄｉｓｅａｓｅ　ｍｏｄｅｌ．ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ；７（１１）：ｅ５０６３０に記載の通り調製した。共役体ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮは、実施例２６に記載の通り調製し（図６８）、分取ＲＰ－ＨＰＬＣによって精製した（図７０）。ＥＭＤ　Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ　ＣｈｅｍｉＳＣＲＥＥＮヒト組換えＧＬＰ－２グルカゴンファミリー受容体カルシウム最適化された安定した細胞系を使用し、製造者の指示に従ってＧＰＣＲ　Ｃａ２＋フラックス動員活性アッセイを行った結果を図１１０に提示する。組換えおよび共役ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮの双方を、８点３倍連続希釈用量反応曲線として描いた。それぞれのＹ軸ＲＦＵを持つ４ＰＬ回帰プロットを使用して、用量反応曲線を適合し、データを、Ｘ軸上の濃度に対する絶対最大ＲＦＵのパーセンテージとして表した。組換えＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮおよび共役ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮの双方は、それぞれ４２３ｎＭおよび５２９ｎＭの予測されたＥＣ５０電位値を持つ、用量依存性アゴニスト活性を呈した。
【０７３６】
実施例６３：共役ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮのインビトロ血漿安定性アッセイ
等濃度の組換えＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮおよび共役ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮを、独立して、それぞれラット、カニクイザル、およびヒト血漿中にスパイクさせた。試料を、３７℃で最長１０日間インキュベートし、アリコートを適切な時間間隔で除去して、分析まで－８０℃で貯蔵した。様々な種の共役されたＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮの血漿安定性を、それぞれの血漿マトリックスにおいて行われた抗ＸＴＥＮ／ＧＬＰ２　ＥＬＩＳＡ上の組換えＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮの血漿安定性と比較した。抗ＸＴＥＮ／ＧＬＰ２　ＥＬＩＳＡは、捕捉抗体としての抗ＸＴＥＮマウス抗体、検出抗体としてのビオチニル化抗ヒトＧＬＰ２抗体からなる。図１１１に示されるように、共役ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮのヒト血漿におけるインビトロ安定性は、２４０時間を超える計算された安定性半減期を有する組換えＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮのそれに相当する。同様のインビトロ安定性は、ラットおよびカニクイザル血漿における２つのＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮタンパク質を用いても観察された（データ図示せず）。
【０７３７】
実施例６４：ラットにおける共役ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮの薬物動態
雌ＳＤ株ラット（２００～２２０ｇ）を、それぞれ３匹の動物群にランダムに割り当てた。組換えＧＬＰ－２Ｇ－ＸＴＥＮおよび共役ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮは、２ｍｇ／ｋｇの皮下注射により各動物に投与された。血液試料（０．２ｍＬ）を事前冷却したヘパリン化マイクロタイター管に、投与前、試験化合物投与後０．０８時間、４時間、８時間、２４時間、４８時間、７２時間、９６時間、１２０時間、および１６８時間に採取した。次いで、血液を血漿に処理し、分析まで－８０℃で即時に貯蔵した。捕捉抗体として抗ＸＴＥＮマウス抗体を使用し、検出抗体としてビオチニル化抗ヒトＧＬＰ２抗体を使用する抗ＸＴＥＮ／ＧＬＰ２　ＥＬＩＳＡを使用して、血漿試料を分析した。関連組換えＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮまたは共役ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮを、それぞれＥＬＩＳＡ較正標準として使用し、ＥＬＩＳＡを行った（図１１２）。組換えＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮ（３６（±７）時間）および共役ＧＬＰ２－２Ｇ－ＸＴＥＮ（３７（±７）時間）の計算された半減期は、同様であることが見出された。
【０７３８】
実施例６５：Ｃ末端システインを介して結合された三量体ＸＴＥＮ共役体
三量体ＸＴＥＮ共役体は、以下の手順によって調製した。１つの内部システイン残基を持つＸＴＥＮタンパク質１ｘアミノ，１ｘチオール－ＸＴＥＮ４３２（ＸＴＥＮ＿ＡＥ４３２（Ａｍ１，Ｃ４２２））のアリコートを、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０

ｍＭ　ＮａＣｌ中の５８７μＭ（２３．２３ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。トリス－［２－マレイミドエチル］アミン（ＴＭＥＡ，Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、カタログ＃３３０４３）を、無水ＤＭＦ中に溶解し、最終濃度１０ｍＭにした。ＴＭＥＡをタンパク質溶液に添加し、ＸＴＥＮのチオール基に結合した（リンカー上の５ｘモル過剰のタンパク質）。反応混合液を２５℃で２時間インキュベートし、反応の産物をＳＥＣ－ＨＰＬＣによって分析した（Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　ＢｉｏＳｅｐ－ＳＥＣ－ｓ４０００　６００　ｘ　７．８０ｍｍ、緩衝液：５０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ６．５）、３００ｍＭ　ＮａＣｌ、流量０．５ｍＬ／分、７０分間の定組成溶出）。線状ＸＴＥＮ＿４３２、ＸＴＥＮ＿８６４、およびＸＴＥＮ＿１２９６（それぞれ４３２個、８６４個、および１２９６個のアミノ酸を有する）を同条件下で分析し、反応産物を特定した（図１１３）。ピーク１は、２８分でＸＴＥＮ＿１２９６と同時に溶出し、ＸＴＥＮ＿４３２の三量体として特定された。ピーク２は、３０．５分でＸＴＥＮ＿８６４と同時に溶出し、ＸＴＥＮ＿４３２の二量体として特定された。ピーク３は、３５分でＸＴＥＮ＿４３２と同時に溶出し、ＸＴＥＮ＿４３２前駆体として特定された。三量体ＸＴＥＮ共役体、および二量体ＸＴＥＮ共役体の収率は、それぞれ１９％および３６％であった。三量体共役体３ｘＸＴＥＮ＿４３２および線状分子ＸＴＥＮ＿１２９６に対する本質的に同一の保持時間は、ＸＴＥＮタンパク質の見掛けの分子量および流体力学半径は、その幾何学構成に依存しないことを示唆する。

【０７３９】

実施例６６：Ｎ末端αアミノ基を介して結合された三量体ＸＴＥＮ共役体

三量体ＸＴＥＮ共役体は、以下の手順によって調製した。

【０７４０】

１．１ｘＤＢＣＯ－ＸＴＥＮ２８８の合成

タンパク質１ｘアミノ－ＸＴＥＮ２８８（ＸＴＥＮ＿ＡＥ２８８（Ａｍ１））のアリコートを、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中の７５８μＭ（２０ｍｇ／ｍＬ）溶液として調製した。２ｍＬのタンパク質を、無水ＤＭＦ中に溶解された０．１ｍＬの１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８．０および０．１５２ｍＬの５０ｍＭ　ＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ（Ｃｌｉｃｋ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｔｏｏｌｓ、カタログ＃Ａ１２４）と混合し、ＤＢＣＯ基をＸＴＥＮのＮ末端アミノ基に結合した。反応混合液を２５℃で２時間インキュベートし、分析的ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析した（図１１４Ａ）。０．０１％　ＴＦＡを用いて反応混合液を１５ｍＬに希釈し、１０％　ＴＦＡ溶液を使用してｐＨを約３に調整した。タンパク質溶液を、２つの等分量に分割し、各分画を分取Ｃ４　ＲＰ－ＨＰＬＣカラムＶｙｄａｃ　Ｃ４　２５０ｘ１０ｍｍ（Ｇｒａｃｅ　Ｄａｖｉｓｏｎ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ＃２１４ＴＰ５１０）上に負荷した。タンパク質は、０．０１％　ＴＦＡ中の１８０ｍＬ線形５～５０％勾配のアセトニトリルを用いて、２ｍＬ／分の流量で溶出した。１ｘＤＢＣＯ－ＸＴＥＮ２８８を含有する分画を、１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８で約ｐＨ７に調整し、真空蒸発によって濃縮した。

【０７４１】

２．３ｘアジド－ＰＥＧ４－ＴＡＥＡの合成

トリス（２－アミノエチル）アミン（ＴＡＥＡ，Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ、カタログ＃２２５６３０）を、無水ＤＭＦ中に溶解し、最終濃度２００ｍＭにした。アジド－ＰＥＧ４－ＮＨＳエステル（Ｃｌｉｃｋ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｔｏｏｌｓ、カタログ＃ＡＺ１０３）を、無水ＤＭＦ中に溶解し、最終濃度１Ｍにした。アジド－ＰＥＧ４－ＮＨＳを、５倍モル過剰でトリス（２－アミノエチル）アミンと混合し、２５℃で１時間インキュベートした。３ｘアジド－ＰＥＧ４－ＴＡＥＡを、Ｃ１８　ＲＰ－ＨＰＬＣを使用し、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｊｕｐｉｔｅｒ　Ｃ１８　５ｕ　３００Ａ　１５０ｘ４．６０ｍｍカラム、緩衝液Ａ水中の０．１％　ＴＦＡ、緩衝液Ｂアセトニトリル中の０．１％　ＴＦＡ、流量１ｍＬ／分、勾配５～５０％Ｂで４５分以内に精製した。クロマトグラフィーのピークを回収し、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ　ＭＳおよびＥＳＩ－ＭＳによって分析して、９６６Ｄａの分子量を持つ産物を検出した。３ｘアジド－ＰＥＧ４－ＴＡＥＡを、３３分の保持時

間を持つピークとして特定した（図１１４Ｂ）。１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ８．０を使用して分画を中和し、真空蒸発によって濃縮した。

【０７４２】

３．三量体ＸＴＥＮ共役体の合成

１ｘＤＢＣＯ－ＸＴＥＮ２８８を、２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．０、５０ｍＭ　ＮａＣｌ中の７．８５ｍｇ／ｍＬ（２９３μＭ）溶液として調製した。３ｘアジド－ＰＥＧ４－ＴＡＥＡを、ＲＰ－ＨＰＬＣ精製し、同じ緩衝液中で製剤化した。合成されたリンカーの濃度は決定されず、１ｘＤＢＣＯ－ＸＴＥＮ２８８および３ｘアジド－ＰＥＧ４－ＴＡＥＡを、様々な比率で経験的に混合し、２５℃で４時間インキュベートした。ＳＥＣ－ＨＰＬＣ（Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　ＢｉｏＳｅｐ－ＳＥＣ－ｓ４０００　６００ｘ７．８０ｍｍ、緩衝液：５０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ６．５）、３００ｍＭ　ＮａＣｌ、流量０．５ｍＬ／分、７０分間の定組成溶出）を使用し、共役産物を分析した。線状ＸＴＥＮ＿２８８、ＸＴＥＮ＿５７６、およびＸＴＥＮ＿８６４を同条件下で分析し、反応産物を特定した（図１１５）。ピーク１は、３０．５分でＸＴＥＮ＿８６４と同時に溶出し、ＸＴＥＮ＿２８８の三量体として特定された。ピーク２は、３４分でＸＴＥＮ＿５７６と同時に溶出し、ＸＴＥＮ＿２８８の二量体として特定された。ピーク３は、３９分でＸＴＥＮ＿２８８と同時に溶出し、ＸＴＥＮ＿２８８前駆体として特定された。ピーク４は、低分子量化合物に対応し、ＸＴＥＮ種の定量化に含まれなかった。最適化タンパク質／リンカー比での三量体ＸＴＥＮ共役体の収率は、５７％であった。三量体共役体３ｘＸＴＥＮ＿２８８および線状分子ＸＴＥＮ＿８６４に対する本質的に同一の保持時間は、ＸＴＥＮタンパク質の見掛けの分子量および流体力学半径は、その幾何学構成に依存しないことを示唆する。

【０７４３】

実施例６７：ＫＢ細胞上の３ｘＦＡ（γ），３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの選択的細胞毒性

葉酸塩受容体を担持する細胞を選択的に標的および殺傷する能力を評価した。被験物質の遊離ＭＭＡＥ、非標的化３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ共役体（毒素に結合されたＸＴＥＮ）、および葉酸塩受容体標的３ｘＦＡ（γ）、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ共役体を、葉酸塩受容体陽性ＫＢ細胞系を使用し、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ抗増殖アッセイにおいて評価した。培養培地は、高い葉酸含有量を含むため、ＫＢ細胞を、１０％熱不活性化ウシ胎仔血清を含む無葉酸培地中、３７℃、５％　ＣＯ２下で細胞生存性実験の開始前に少なくとも７日間成長させた。この培地は、実験の実行にも利用した。つまり、１ウェル当たり１０，０００個のＫＢ細胞を、９６ウェルマイクロタイターアッセイプレートの上に置いた。ＫＢ細胞は、３７℃、５％　ＣＯ２で終夜のインキュベーションによって、プレートに付着することが許された。次いで、消費された培地を除去し、葉酸競合体を含有するように指定されたウェルは、葉酸を含有するアッセイ培地を受容したが、葉酸競合体を有するように指定されないウェルは、アッセイ培地のみを受容した。プレートを３０分間、３７℃、５％　ＣＯ２でインキュベートした後、アッセイ培地を吸引し、プレートをアッセイ培地で洗浄した。次いで、遊離ＭＭＡＥ、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮ、および３ｘＦＡ（γ），３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮを、葉酸競合体の存在または不在下で、適切な用量範囲で添加した。次いで、プレートを２～４時間、３７℃、５％　ＣＯ２でインキュベートした。次いで、培地を除去し、プレートを洗浄して、新鮮な培地を導入し、プレートをさらに４８～７２時間インキュベートのを許した。適切なインキュベーション期間後、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ試薬を添加し、プレートを照度計上で読み取った。４パラメータ論理曲線適合を使用し、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍを使用して、各被験物質のＩＣ５０を決定した。

【０７４４】

結果：図１１６に示されるように、遊離ＭＭＡＥ薬物部分は、ＫＢ細胞の非常に強力な殺傷を示し、ＩＣ５０は０．８ｎＭであったが、非標的化ＸＴＥＮに共役されたＭＭＡＥの３つのコピーは、細胞殺傷において少なくとも３つのログ低減をもたらした（ＩＣ５０＞１，０００ｎＭ）。重要なことに、葉酸塩標的化ドメインの３つのコピーを、３ｘＭＭ

ＡＥ－ＸＴＥＮ共役体に付加することは、細胞殺傷を回復し、ＩＣ５０は４．２ｎＭであり、活性レベルは、遊離ＭＭＡＥに対して観察されたものに近い。等しく重要なことに、葉酸を競合体として標的化共役体に導入することは、ＫＢ細胞系上の３ｘＦＡ（γ）、３ｘＭＭＡＥ－ＸＴＥＮの観察された細胞殺傷を傷害した。葉酸塩－ＸＴＥＮ薬物共役体の強力な細胞殺傷からのこの低減（４．２ｎＭ～１，０００ｎＭ超）は、検出された細胞毒性が、実験条件下で、ＫＢ細胞系に対する薬物共役体の標的化機構として、葉酸塩の使用によって促進されたという結論を支持する。

【０７４５】

実施例６８：葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の活性および特異性についてのインビトロ細胞ベースのスクリーニング

標的葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体を使用して、葉酸塩受容体を担持する細胞を選択的に標的および殺傷する能力は、インビトロベースのスクリーニングおよび選択性アッセイを使用して評価される。

【０７４６】

各葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体、その対応する非標的化ＸＴＥＮ－薬物分子、およびそれぞれの遊離薬物対照を、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ抗増殖アッセイにおいて、葉酸塩受容体陽性および陰性細胞系の一団に対して試験する。細胞系の選択は、提案された臨床適用との関連性に基づき、ＫＢ、ＩＧＲＯＶ、ＳＫ－ＯＶ－３、ＨｅＬａ、ＬｏＶｏ、ＳＷ６２０、Ｍａｄｉｓｏｎ　１０９、Ａ５４９、Ａ３７５、ＬＳ－１７４Ｔ、ＨＴ－２９、４Ｔ１、ＳＫ－ＢＲ－３を含む。培養培地は、高い葉酸含有量を含むため、細胞は成長し、アッセイは、５～１０％熱不活性化ウシ胎仔血清（ＦＣＳ）を含有する無葉酸培地中、３７℃、５％　CO_2で行った。熱不活性化ＦＣＳは、葉酸塩受容体を発現する細胞が生存および増殖するのに十分な内因性レベルの葉酸を含有する。最適な細胞密度およびインキュベーション時間を含む適切なアッセイ条件は、５～１０％　ＦＣＳを含有する無葉酸培地中、それぞれの遊離薬物を対照として使用して事前決定する。葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、以下のように試験する。ログ相中の細胞を収集し、計数して、９６ウェルマイクロタイターアッセイプレートのそれぞれに既定の細胞密度でプレートに置く。粘着性の細胞は、３７℃、５％　CO_2で終夜のインキュベーションによって、プレートに付着することが許される。葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体および対応する対照は、用量範囲内で重複で導入し、プレートをさらに２～５日間インキュベートする。代替として、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体および対応する対照で２～６時間、細胞をパルスし、洗浄し、新鮮な培地を導入し、さらに４８～７２時間インキュベートするのを許すことができる。適切なインキュベーション期間後、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ試薬を各ウェルに添加し、軌道攪拌器上で２分間混合する。次いで、プレートを９０ｇで遠心分離し、室温でさらに１０分間インキュベートして、蛍光シグナルを安定化する。次いで、蛍光シグナルを照度計上で読み取り、IC_{50}（半最大阻害性濃度）を、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍまたは相当するソフトウェアで計算する。IC_{50}の定量的比較は、葉酸塩受容体陽性細胞系対陰性細胞系に対する細胞成長阻害および選択性の化合物活性のランク付けを可能にする。

【０７４７】

これらの結果は、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体が、葉酸塩受容体陰性細胞上ではなく、葉酸塩受容体陽性細胞上で高度に選択的な強力な殺傷を示すという所見を支持することが予想される。これは、遊離薬物部分とは異なり、それによって葉酸塩受容体陽性細胞系と陰性細胞系との間に細胞毒性の差は予想されない。ＸＴＥＮ－薬物対照は、不良な細胞毒性活性を生じることが予想される。　対照に対して好ましい活性および細胞系選択性を持つ葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、アッセイにおいて遊離競合葉酸の付加によって葉酸塩受容体の関連についてさらに検証され、障害された葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物細胞毒性を実証する。

【０７４８】

実施例６９：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の活性および特異性についてのインビト

ロ細胞ベースのスクリーニング

標的ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を使用して、ＬＨＲＨ受容体を担持する細胞を選択的に標的および殺傷する能力は、インビトロベースのスクリーニングおよび選択性アッセイを使用して評価される。各ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体、その対応する非標的化ＸＴＥＮ－薬物分子、およびそれぞれの遊離薬物対照を、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ抗増殖アッセイにおいて、ＬＨＲＨ受容体陽性および陰性細胞系の一団に対して試験する。細胞系の選択は、提案された臨床適用との関連性に基づき、ＭＣＦ－７、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１、ＨＣＣ１８０６、ＨＣＣ１９３７、ＯＶ－１０６３、ＥＦＯ－２１、ＥＦＯ－２７、ＮＩＨ：ＯＶＣＡＲ－３、ＢＧ－１、ＨＥＣ－１Ａ、ＨＥＣ－１Ｂ、Ｉｓｈｉｋａｗａ、ＫＬＥ、ＡＮ－３－ＣＡ、ＭｉａＰａＣａ、Ｐａｎｃ－１、ラットＤｕｎｎｉｎｇ Ｒ－３３２７－Ｈ、ＰＣ－８２、ＭＤＡ－ＰＣａ－２ｂ、Ｃ４－２（ＬＮＣａＰの誘導体）、Ａ５４９、Ａ２７８０、ＵＣＩ－１０７、ＳＫ－ＯＶ－３、ＳＷ ６２６、ＭＦＥ－２９６を含む。最適な細胞密度およびインキュベーション時間を含む適切なアッセイ条件は、それぞれの遊離薬物を対照として使用して事前決定する。ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、以下のように試験する。ログ相中の細胞を収集し、計数して、９６ウェルマイクロタイターアッセイプレートに既定の細胞密度でプレートに置く。粘着性の細胞は、３７℃、５％ ＣＯ２で終夜のインキュベーションによって、プレートに付着することが許される。ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体および対応する対照は、用量範囲内で重複で導入し、プレートをさらに２～５日間インキュベートする。適切なインキュベーション期間後、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ試薬を各ウェルに添加し、軌道攪拌器上で２分間混合する。次いで、プレートを９０ｘｇで遠心分離し、室温でさらに１０分間インキュベートして、蛍光シグナルを安定化する。次いで、蛍光シグナルを照度計上で読み取り、ＩＣ５０（半最大阻害性濃度）を、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍまたは相当するソフトウェアで計算する。ＩＣ５０の定量的比較は、ＬＨＲＨ受容体陽性細胞系対陰性細胞系に対する細胞成長阻害および選択性の化合物活性のランク付けを可能にする。

【０７４９】

これらの結果は、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体が、ＬＨＲＨ受容体陰性細胞上ではなく、ＬＨＲＨ受容体陽性細胞上で高度に選択的な強力な殺傷を示すという所見を支持することが予想される。これは、遊離薬物部分とは異なり、それによってＬＨＲＨ受容体陽性細胞系と陰性細胞系との間に細胞毒性の差は予想されない。ＸＴＥＮ－薬物対照は、不良な細胞毒性活性を生じることが予想される。対照に対して好ましい活性および細胞系選択性を持つＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、アッセイにおいて遊離競合葉酸の付加によってＬＨＲＨ受容体の関連についてさらに検証され、障害されたＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物細胞毒性を実証する。

【０７５０】

実施例６９：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体のインビトロ血清安定性

安定性の測定として、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を、独立して、健常なヒト、カニクイザル、および齧歯類血漿中、３７℃で最大２週間インキュベートし、一定間隔でアリコートを除去し、分析まで－８０℃で貯蔵する。ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の安定性を、遊離薬物の量、またはＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の経時的な完全性のいずれかによって評価することができる。遊離薬物は、ＲＰ－ＨＰＬＣおよび／またはＬＣ－ＭＳ／ＭＳで定量化されるが、無傷のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の量は、ＸＴＥＮ／薬物および／またはＬＨＲＨ／薬物ＥＬＩＳＡによって決定される。ＲＰ－ＨＰＬＣ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、特定の薬物に特異的な波長での紫外線吸収によって検出される。例えば、ドキソルビシンは、４８０ｎｍで検出される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行して処理される。ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に

再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、三連四重極型質量分析計によってインライン検出され、定量化される。親イオン－娘イオン対は、各薬物に対して実験的に決定される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行して処理される。定量的ＥＬＩＳＡの場合、ＥＬＩＳＡ中のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体に最適な濃度の抗体は、十字交差連続希釈分析を使用して決定される。共役体の１つの成分を認識する適切な捕捉抗体は、４℃で終夜のインキュベーションによって、９６ウェルマイクロタイタープレートの上にコーティングされる。ウェルをブロックして洗浄し、血清安定性試料を、それぞれ異なる希釈でウェルに添加し、コーティングされた抗体によるＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の最適な捕捉を可能にする。洗浄後、共役体の別の成分を認識する検出抗体を添加し、プレート上に捕捉された共役体への結合を可能にする。次いで、ウェルを再度洗浄した後、ストレプトアビジン－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（検出抗体のビオチニル化異形に相補的）または二次抗体－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（検出抗体の非ビオチニル化異形に相補的）を添加する。適切なインキュベーションおよび最終洗浄ステップ後、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、プレートを４５０ｎＭで読み取る。次いで、無傷共役体の濃度を、各時点に対し、測色反応を関連血漿型のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物で調製された較正曲線と比較することによって計算する。次いで、ヒト、カニクイザル、およびマウス血清中の共役体のｔ１／２を、ログ濃度対時間の線形回帰分析を使用して定義する。

【０７５１】

実施例７０：葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体のインビトロ血清安定性

安定性の測定として、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体を、独立して、健常なヒト、カニクイザル、および齧歯類血漿中、３７℃で最大２週間インキュベートし、一定間隔でアリコートを除去し、分析まで－８０℃で貯蔵する。葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の安定性を、遊離薬物の量、または葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の経時的な完全性のいずれかによって評価することができる。遊離薬物の存在は、上記の関連セクションに記載される、ＨＰＬＣ、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳおよび／または抗増殖アッセイで定量化される。無傷の葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の量は、ＸＴＥＮ／薬物および／または葉酸塩／薬物ＥＬＩＳＡによって決定される。ＲＰ－ＨＰＬＣ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、特定の薬物に特異的な波長での紫外線吸収によって検出される。例えば、ドキソルビシンは、４８０ｎｍで検出される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行して処理される。ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、三連四重極型質量分析計によってインライン検出され、定量化される。親イオン－娘イオン対は、各薬物に対して実験的に決定される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行して処理される。脱共役遊離薬物の存在の検出方法として抗増殖アッセイを使用するとき、葉酸塩受容体陽性または陰性細胞系を用いることができる。受容体陽性細胞系において評価を行うときは、葉酸阻害剤を添加し、受容体陰性細胞系において行うときは不要である。いずれかの受容体細胞型において、脱共役遊離薬物の濃度を増加させることは、細胞毒性の増加に寄与する。定量的ＥＬＩＳＡの場合、ＥＬＩＳＡ中の葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体に最適な濃度の抗体は、十字交差連続希釈分析を使用して決定される。共役体の一成分を認識する適切な捕捉抗体を、４℃で終夜のインキュベーションによって、９６ウェルマイクロタイタープレートの上にコーティングする。ウェルをブロックして洗浄し、血清安定性試料を、それぞれ異なる希釈でウェルに添加し、コーティングされた抗体による葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の最適な捕捉を可能にする。洗浄後、共役体の別の成分を認識する検出抗体を添加し、プレート上に捕捉された共役体への結合を可能にする。次いで、ウェルを再度洗浄した後、ストレプトアビジン－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（検出抗体のビ

オチニル化異形に相補的）または二次抗体－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（検出抗体の非ビオチニル化異形に相補的）を添加する。適切なインキュベーションおよび最終洗浄ステップ後、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、プレートを４５０ｎＭで読み取る。次いで、無傷共役体の濃度を、各時点に対し、測色反応を関連血漿型の葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物で調製された較正曲線と比較することによって計算する。次いで、ヒト、カニクイザル、およびマウス血清中の共役体のｔ１／２を、ログ濃度対時間の線形回帰分析を使用して定義する。

【０７５２】

実施例７１：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－Ｃｙ５．５共役体のインビボおよびエクスビボ撮像

Ｃｙ５．５蛍光タグ付加ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ分子を代理として使用し、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の標的化および生体内分布効率を調査する。インビボに続いてエクスビボで、ＩＶＩＳ　５０光学撮像システム（Ｃａｌｉｐｅｒ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｈｏｐｋｉｎｔｏｎ，ＭＡ）を用いる蛍光撮像を使用し、ＬＨＲＨ受容体陽性腫瘍細胞の皮下成長異種移植片を担持するヌードマウスにおいて実験を行う。つまり、ＬＨＲＨ受容体陽性腫瘍細胞を担持する雌ｎｕ／ｎｕマウスに、高用量または低用量のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－Ｃｙ５．５、および対応する用量の非標的化Ｃｙ５．５タグ付加ＸＴＥＮ対照の単一静脈注射を付与する。注射前、次いで注射後約８、２４、４８、および７２時間に、生きた麻酔下動物上で、ＩＶＩＳ　５０光学撮像システムを使用して全身走査を得る。７２時間の最後の時点で動物全体の蛍光の分布を測定した後、腫瘍、ならびに肝臓、肺、心臓、脾臓、および腎臓を含む健常な器官を切除し、それらの蛍光を撮像システムによって登録および処理する。蛍光剤の波長を一致させるように、Ｃｙ５．５励起（６１５～６６５ｎｍ）および放出（６９５～７７０ｎｍ）フィルターを選択する。ＣＣＤチップの小／中ビニングを使用し、画像において各マウスの観察可能なシグナルから少なくとも数千カウントを得るように、およびＣＣＤチップの飽和を避けるように、露出時間を最適化する。定量化のための画像を正規化するために、Ｃｙ５．５スペクトル領域に対して背景励起および放出フィルターを使用し、背景蛍光画像を得る。蛍光の強度は、異なる色によって表され、青色は最低強度を反映し、赤色は最高強度を示す。

【０７５３】

実施例７２：葉酸塩－ＸＴＥＮ－Ｃｙ５．５共役体のインビボおよびエクスビボ撮像

Ｃｙ５．５蛍光タグ付加葉酸塩－ＸＴＥＮ分子を代理として使用し、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の標的化および生体内分布効率を調査する。インビボに続いてエクスビボで、ＩＶＩＳ　５０光学撮像システム（Ｃａｌｉｐｅｒ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｈｏｐｋｉｎｔｏｎ，ＭＡ）を用いる蛍光撮像を使用し、葉酸塩受容体陽性腫瘍細胞の皮下成長異種移植片を担持するヌードマウスにおいて実験を行う。培養培地は、高い葉酸塩含有量を含むため、これらのマウスに移植される葉酸塩受容体陽性腫瘍細胞は、抗生物質を持たない５～１０％熱不活性化ＦＣＳを含有する無葉酸塩細胞培養培地中で成長される。同様に、通常の齧歯類食餌は、高濃度の葉酸を含有するため、この研究に使用されるヌードマウスは、血清葉酸塩濃度を低減するように、腫瘍移植前の２週間、および撮像分析期間の間、葉酸塩を含まない食餌で維持される。葉酸塩受容体陽性腫瘍細胞を担持する雌ｎｕ／ｎｕマウスに、高用量または低用量の葉酸塩－ＸＴＥＮ－Ｃｙ５．５、および対応する用量の非標的化Ｃｙ５．５タグ付加ＸＴＥＮ対照の単一静脈注射を付与する。注射前、次いで注射後約８、２４、４８、および７２時間に、生きた麻酔下動物上で、ＩＶＩＳ　５０光学撮像システムを使用して全身走査を得る。７２時間の最後の時点で動物全体の蛍光の分布を測定した後、腫瘍、ならびに肝臓、肺、心臓、脾臓、および腎臓を含む健常な器官を切除し、それらの蛍光を撮像システムによって登録および処理する。蛍光剤の波長を一致させるように、Ｃｙ５．５励起（６１５～６６５ｎｍ）および放出（６９５～７７０ｎｍ）フィルターを選択する。ＣＣＤチップの小／中ビニングを使用し、画像において各マウスの観察可能なシグナルから少なくとも数千カウントを得るように、およびＣＣＤチップの飽和を避けるように、露出時間を最適化する。定量化のための画像を正規化するために、Ｃｙ５．５スペクトル領域に対して背景励起および放出フィルターを使用し、背景

蛍光画像を得る。蛍光の強度は、異なる色によって表され、青色は最低強度を反映し、赤色は最高強度を示す。

【０７５４】

実施例７３：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の薬物動態分析

ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物構築体のインビボ薬物動態を、タンパク質組成物の標準方法を使用して評価する。薬物動態は、複数の種において評価されるが、マウス、ラット、カニクイザル、およびイヌは、ヒト薬物動態を予測することにおける共通使用に起因して好適である。ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物構築体の組成物は、インビボ投与に相当する水性緩衝液（例えば、リン酸緩衝生理食塩水、トリス緩衝生理食塩水、またはＨｅｐｅｓ緩衝生理食塩水）中に提供される。組成物を適切な用量で、複数の経路を介して、最も好ましくは静脈内または皮下経路を介して投与する。血液試料を、０．０８～５０４時間の範囲の適切な時点で採取し、血漿中に処理する。次いで、血漿試料を、ＥＬＩＳＡ、ＨＰＬＣ、および／またはＬＣ－ＭＳ／ＭＳを含む多様な方法のうちの１つによって、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の濃度について分析する。ＥＬＩＳＡ分析は、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の２つの成分、例えば、ＸＴＥＮ／ＬＨＲＨ、ＸＴＥＮ／薬物部分、ＬＨＲＨ／薬物部分、および／またはＸＴＥＮ／ＸＴＥＮの組合せを認識することができるサンドウィッチＥＬＩＳＡ形式を使用して行う。典型的に、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の１つの成分を認識する抗体は、９６ウェルマイクロタイタープレートのウェル上にコーティングされる。ウェルをブロックして洗浄し、次いで、血清安定性試料を、それぞれ異なる希釈でウェルに添加し、コーティングされた抗体による共役体の捕捉を可能にする。次いで、ウェルを広く洗浄し、結合されたタンパク質を、第２のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役成分に対するビオチニル化抗体または適切な二次抗体のいずれかを使用して検出する。次いで、ウェルを再度洗浄した後、ストレプトアビジン－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（ビオチニル化検出抗体に相補的）または二次抗体－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（非ビオチニル化検出抗体に相補的）を添加する。適切なインキュベーションおよび最終洗浄ステップ後、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、プレートを４５０ｎＭで読み取る。次いで、共役体の濃度を、各時点に対し、測色反応をＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物較正曲線と比較することによって計算する。薬物動態パラメータを、ＷｉｎＮｏｎＬｉｎソフトウェアパッケージを使用して計算する。ＲＰ－ＨＰＬＣ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、特定の薬物に特異的な波長での紫外線吸収によって検出される。例えば、ドキソルビシンは、４８０ｎｍで検出される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行して処理される。ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、三連四重極型質量分析計によってインライン検出され、定量化される。親イオン－娘イオン対は、各薬物に対して実験的に決定される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行して処理される。これらの結果は、ＬＨＲＨおよび薬物部分へのＸＴＥＮの添加が、終末相半減期を著しく増加させ、ＸＴＥＮに結合されていない薬物部分を標的化する薬物動態特性を強化するという所見を支持することが予想される。これは、順に、そのような共役体の、より頻繁でない、より便利な投与計画になる。

【０７５５】

実施例７４：葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の薬物動態分析

葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物構築体のインビボ薬物動態を、タンパク質組成物の標準方法を使用して評価する。薬物動態は、複数の種において評価されるが、マウス、ラット、カニクイザル、およびイヌは、ヒト薬物動態を予測することにおける共通使用に起因して好適である。通常の餌は、高濃度の葉酸を含有するため（例えば、６ｍｇ／ｋｇマウス食餌）、葉酸塩共役体の薬物動態研究に使用される動物は、研究開始前の２週間、および研究期

間の間、葉酸塩を含まない食餌で維持される。葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物構築体の組成物は、インビボ投与に適合する水性緩衝液（例えば、リン酸塩緩衝生理食塩水、トリス緩衝生理食塩水、またはＨｅｐｅｓ緩衝生理食塩水）中に提供される。組成物を適切な用量で、複数の経路を介して、最も好ましくは静脈内または皮下経路を介して投与する。血液試料を、０．０８～５０４時間の範囲の適切な時点で採取し、血漿中に処理する。次いで、血漿試料を、ＥＬＩＳＡ、ＨＰＬＣ、および／またはＬＣ－ＭＳ／ＭＳを含む多様な方法のうちの１つによって、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の濃度について分析する。ＥＬＩＳＡ分析は、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の２つの成分、例えば、ＸＴＥＮ／葉酸塩、ＸＴＥＮ／薬物部分、葉酸塩／薬物部分、および／またはＸＴＥＮ／ＸＴＥＮの組合せを認識することができるサンドウィッチＥＬＩＳＡ形式を使用して行う。典型的に、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の１つの成分を認識する抗体は、９６ウェルマイクロタイタープレートのウェル上にコーティングされる。ウェルをブロックして洗浄し、次いで、血清安定性試料を異なる希釈でウェルに添加し、コーティングされた抗体による共役体の捕捉を可能にする。次いで、ウェルを広く洗浄し、結合されたタンパク質を、第２のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役成分に対するビオチニル化抗体または適切な二次抗体のいずれかを使用して検出する。次いで、ウェルを再度洗浄した後、ストレプトアビジン－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（ビオチニル化検出抗体に相補的）または二次抗体－ホースラディッシュペルオキシダーゼ（非ビオチニル化検出抗体に相補的）を添加する。適切なインキュベーションおよび最終洗浄ステップ後、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、プレートを４５０ｎＭで読み取る。次いで、共役体の濃度を、各時点に対し、測色反応を葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物較正曲線と比較することによって計算する。薬物動態パラメータを、ＷｉｎＮｏｎＬｉｎソフトウェアパッケージを使用して計算する。ＲＰ－ＨＰＬＣ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、特定の薬物に特異的な波長での紫外線吸収によって検出される。例えば、ドキソルビシンは、４８０ｎｍで検出される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行して処理される。ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析の場合、血漿試料を、アセトニトリルまたはアセトン等の有機溶媒で処理し、タンパク質を沈殿させる。可溶性分画を真空下で蒸発させ、負荷溶液中に再溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣによって分析する。検体は、三連四重極型質量分析計によってインライン検出され、定量化される。親イオン－娘イオン対は、各薬物に対して実験的に決定される。較正標準は、既知の量の遊離薬物を対応する血漿型に添加することによって調製され、実験試料と並行して処理される。これらの結果は、葉酸塩および薬物部分へのＸＴＥＮの添加が、終末相半減期を著しく増加させ、ＸＴＥＮに結合されていない薬物部分を標的化する薬物動態特性を強化するという所見を支持することが予想される。これは、順に、そのような共役体の、より頻繁でない、より便利な投与計画になる。

【０７５６】

実施例７５：ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体のインビボ有効性および毒性分析

ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、ＬＨＲＨ受容体陽性腫瘍細胞に対する非常に強力な毒素の標的送達のために意図される。そのようにして、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物構築体のインビボ薬物動態活性を、ヌードマウスに移植されたヒト腫瘍細胞発現ＬＨＲＨ受容体を使用して評価することができる。有効性研究を開始する前に、ヌードマウスにおける初期評価を実行し、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物候補の最大耐用量（ＭＴＤ）を確立する。次いで、研究期間の間に動物によって耐容される最高用量であるＭＴＤを使用して、標準異種移植モデルにおける有効性および毒性研究の用量範囲を計算する。つまり、ＭＴＤ実験を１群当たり５匹のマウスを用いて実行し、様々な用量レベル、間隔、および期間でＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の静脈内投与を評価する。必要とされる開始ＭＴＤ用量および用量群の数は、科学的文献、標的化ＬＨＲＨ部分に関する知識、共役される薬物部分の性質、密接に関連する化合物の毒素学的特性、および初期薬物動態研究からのデータに基づく（上記参照）。体重の低減、食餌および水の消費、ならびに立毛、円背、行動パタ

ーン、呼吸パターン、振戦、けいれん、衰弱、および自傷の兆候等の標準ＭＴＤパラメータを、毎日監視する。許容されない毒性を引き起こさないＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物の最高用量は、ＭＴＤとして指定される。　腫瘍異種移植研究は、３～４投与レベルのＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を含み、ＭＴＤ研究の結果に依存し、他のパラメータは、選択された腫瘍細胞系に依存する。実施例６９は、異種移植研究において使用することができる腫瘍系の例を記載する。したがって、関連ヒト腫瘍系からの適切な数のＬＨＲＨ受容体陽性細胞を皮下注射し、腫瘍を形成させて、そのサイズをキャリパーで測定し、容量を０．５ｘＬｘＷ^{2}として計算し、式中、Ｌは、最長軸の測定値（ミリメートル）であり、ＷはＬに垂直な軸の測定値（ミリメートル）である。所望のサイズ範囲の腫瘍体積を含むマウスを８～１０匹の動物群にランダム化することに続いて、媒体対照、遊離薬物対照、およびＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を、選択された用量および間隔で静脈内投与する。腫瘍成長の停止または後退は、腫瘍サイズおよび体積を、選択された時点でキャリパーを用いて測定することによって決定される。体重および食物消費を１～２日毎に測定し、全体的な毒性を評価する。動物の生存を毎日監視する。研究の終了時に、全ての動物を犠牲死させ、主要臓器に関して臨床病理および組織病理を行う。標的細胞毒素は、悪性細胞の選択的排除に対して最も有望な戦略の一つである。これらの結果は、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体が、強力な有効性および低い全身毒性によって提示されるように、優れた治療指数を生じるという所見を支持することが予想される。対照的に、等モル用量で投与された非ＬＨＲＨ標的遊離薬物は、あまり強力ではないばかりか、さらに高度に毒性である。媒体対照は、未制御の腫瘍成長および深刻な毒性を示すことが予想される。

【０７５７】

実施例７６：　葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体のインビボ有効性および毒性分析

葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、葉酸塩受容体陽性腫瘍細胞に対する非常に強力な毒素の標的送達のために意図される。そのように、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物構築体のインビボ薬物動態活性を、ヌードマウス上のヒト腫瘍細胞発現葉酸塩受容体異種移植片を使用して評価する。有効性研究を開始する前に、ヌードマウスにおける初期評価を実行し、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物候補の最大耐用量（ＭＴＤ）を確立する。次いで、研究期間の間に動物によって耐容される最高用量であるＭＴＤを使用して、標準異種移植モデルにおける有効性および毒性研究の用量範囲を計算する。通常の齧歯類食餌は、高濃度の葉酸を含有するため（６ｍｇ／ｋｇ食餌）、これらの研究に使用されるマウスは、研究開始前の２週間、および研究期間の間、葉酸塩を含まない食餌で維持される。ＭＴＤ実験を１群当たり５匹のマウスを用いて実行し、様々な用量レベル、間隔、および期間で葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の静脈内投与を評価する。必要とされる開始ＭＴＤ用量および用量群の数は、科学的文献、標的化葉酸塩部分に関する知識、共役される薬物部分の性質、密接に関連する化合物の毒素学的特性、および初期薬物動態研究からのデータに基づく（上記参照）。体重の低減、食餌および水の消費、ならびに立毛、円背、行動パターン、呼吸パターン、振戦、けいれん、衰弱、および自傷の兆候等の標準ＭＴＤパラメータを、毎日監視する。許容されない毒性を引き起こさない葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物の最高用量は、ＭＴＤとして指定される。腫瘍異種移植研究は、３～４投与レベルの葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体を含み、ＭＴＤの結果に依存し、他のパラメータは、選択された腫瘍細胞系に依存する。実施例６９は、異種移植研究において使用することができる腫瘍系の例を記載する。葉酸塩含有量を低減するために、ヌードマウス上に移植される葉酸塩受容体陽性腫瘍細胞は、抗生物質を持たない５～１０％熱不活性化ウシ胎仔血清を含有する無葉酸塩細胞培養培地中で成長される。同様に、血清葉酸濃度を低減するために、異種移植研究に使用されるマウスは、研究開始前の２週間、および研究期間の間、葉酸塩を含まない食餌で維持される。関連系からの適切な数の葉酸塩受容体陽性細胞を皮下注射し、腫瘍を形成させて、そのサイズをキャリパーで測定し、容量を０．５ｘＬｘＷ^{2}として計算し、式中、Ｌは、最長軸の測定値（ミリメートル）であり、ＷはＬに垂直な軸の測定値（ミリメートル）である。所望のサイズ範囲の腫瘍体積を含むマウスを８～１０匹の動物群にランダム化することに続いて、媒体対照、遊離薬物対照、および葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物を、選択された用量お

よび間隔で静脈内投与する。腫瘍成長の停止または後退は、腫瘍サイズおよび体積を、選択された時点でキャリパーを用いて測定することによって決定される。体重および食物消費を１～２日毎に測定し、全体的な毒性を評価する。動物の生存を毎日監視する。研究の終了時に、全ての動物を犠牲死させ、主要臓器に関して臨床病理および組織病理を行う。標的細胞毒素は、悪性細胞の選択的排除に対して最も有望な戦略の一つである。標的化学療法葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体は、葉酸塩受容体陽性腫瘍上の遊離細胞毒性薬物単独よりも有効であり、毒性が低いことが予想される。

【０７５８】

実施例７６：　ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体の臨床適用

標的化学療法は、全身化学療法の有効性を高め、副作用を低減することを目的とする近代的手法である。ホジキンリンパ腫および全身性未分化大細胞リンパ腫に対して認可されたブレンツキシマブ　ベドチン（Ｂｒｅｎｔｕｘｉｍａｂ　ｖｅｄｏｔｉｎ（Ａｄｃｅｎｔｒｉｓ））は、有効な毒素標的療法の主な例である。ＬＨＲＨは、生殖器官において機能するペプチドである。その受容体は、特に、ある腫瘍上に集中するが、ほとんどの正常組織中では発現しないため、ＬＨＲＨ受容体は、悪性腫瘍の選択的崩壊のための理想的な標的である。実際に、乳癌の約５２％、卵巣癌および子宮内膜癌の約８０％、および前立腺癌の約８５％は、ＬＨＲＨ受容体を介して標的可能である。注目すべきは、ＬＨＲＨ依存性治療は、三重陰性乳房腫瘍に対して特に有用であり、エストロゲンもしくはプロゲステロン受容体またはＨＥＲ２を過剰発現しないため、多くの使用可能な標的薬物での処置に適していない。進行した子宮内膜癌、卵巣癌、または前立腺癌の患者は、これらの悪性腫瘍が、再発しやすい、および／または現行の処置に対して耐性であり得るため、特に不良な転帰を有することが多い。これを支持して、ＡＥＺＳ－１０８、ＬＨＲＨの標的ドキソルビシン類似体を用いた臨床研究は、これらの癌種のそれぞれが、ＬＨＲＨを用いた治療の影響を受け易いことを示す。葉酸塩の１つ以上のコピーを担持するＸＴＥＮを３つ以上の薬物分子を担持するＸＴＥＮに融合し、標的ペプチド－薬物共役体を創製することは、治療指数および半減期を大幅に改善することが予想され、これがＭＴＤをはるかに下回るレベルでの投薬を可能にし、投与頻度および費用を低減する（用量当たりに必要な薬物を低減する）。

【０７５９】

ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物組成物の臨床評価を、進行した乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、および前立腺または膀胱癌に苦しむ患者において行う。臨床試験は、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体がヒトにおいて検証され得るように設計される。患者におけるそのような研究は、３つの相を含む。最初に、第Ｉ相の安全性および薬物動態研究を行い、最大耐用量（ＭＴＤ）を決定し、ヒトにおける用量限定毒性、薬物動態、および予備薬力学を特徴付ける。これらの初期研究は、転移性または切除不可能な癌を持ち、標準の治癒的または緩和的手段を使用することができないか、またはそれらがもはや有効でない、もしくは耐容されない患者において行う。治療の有効性を強化するために、ＬＨＲＨ受容体陽性状態を登録条件とし、原発腫瘍または転移性標本の免疫組織化学、および／またはＬＨＲＨ標的分子造影剤によって決定される。第Ｉ相研究のスキームは、単一上昇用量のＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体を使用すること、および生化学、ＰＫ、および臨床パラメータを測定することである。これは、ＭＴＤの決定を可能にし、後次の第ＩＩ相および第ＩＩＩ相治験において使用される治療ウィンドウを構築する、投与量および循環薬物の閾値および最大濃度を確立する。今後の研究において追跡される潜在的な毒性および有害事象も定義する。

【０７６０】

ヒト患者の第ＩＩ相臨床研究は、独立して、ＬＨＲＨ受容体陽性の進行（ステージ３もしくは４）または再発した乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、および前立腺癌または膀胱癌患者において行われる。この治験は、ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物共役体単独、および特定の適応において用いられる現在の化学療法との組合せでの有効性および安全性を評価する。患者は、静脈内投与されたＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物臨床候補を、第Ｉ相において事前に決

定された用量レベルおよび計画で、標準化学療法薬の有無にかかわらず受容する。化学療法薬およびプラシーボからなる対照アームが含まれる。一次エンドポイントは、固形癌の治療効果判定のためのガイドライン（ＲＥＣＩＳＴ）によって定義される反応速度である。二次エンドポイントとしては、安全性および耐用性、無増悪期間、および全生存が挙げられる。

【０７６１】

第ＩＩＩ相の有効性および安全性研究は、第ＩＩ相臨床観察に応じて、ＬＨＲＨ受容体陽性の進行した（耐性、再発）乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、および前立腺または膀胱癌患者における第ＩＩ相治験設計を複製または修飾するように構成される。患者登録条件の洗練、さらなる患者の層別化（例えば、ＬＨＲＨ受容体発現レベル）、投与量、計画、標準化学療法薬の状態等をさらに調整することができる。一次エンドポイントは、ＬＨＲＨ受容体陽性として定義された患者において、ＲＥＣＩＳＴによって測定される無増悪生存である。この治験は、二次エンドポイントとしての全生存について統計的に検出力があり、４００人超の患者における登録が予想される。有害事象、重篤な有害事象、および死亡の発生率を評価する。

【０７６２】

ＬＨＲＨ－ＸＴＥＮ－薬物候補は、これらの高度に前処理された患者集団においても心毒性なしに抗癌活性を実証することが予想される。

【０７６３】

実施例７６：　葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体の臨床適用

標的化学療法は、全身化学療法の有効性を高め、副作用を低減することを目的とする近代的手法である。ホジキンリンパ腫および全身性未分化大細胞リンパ腫に対して認可されたブレンツキシマブ　ベドチン（Ｂｒｅｎｔｕｘｉｍａｂ　ｖｅｄｏｔｉｎ（Ａｄｃｅｎｔｒｉｓ））は、有効な毒素標的療法の主な例である。葉酸としても知られる葉酸塩、ビタミンB_9は、ある生物学的経路における共因子として、ヌクレオチド生合成および機能のために全ての生細胞が必要とする重要な栄養素である。急速な細胞分裂および成長を補助することにおいて特に重要である。そのように、葉酸塩受容体は、急速に分裂する悪性腫瘍、特に卵巣癌および非小細胞肺癌を処置するための治療開発の焦点である。いくつかの卵巣腫瘍型は、手術および白金を用いた化学療法の初期成功後に発生する可能性があり、その再生は、使用可能な治療に耐性となり得る。葉酸塩受容体の発現は、正常な卵巣においてごくわずかであるが、上皮卵巣癌の約９０％は、多くの肺腺癌と同様に、葉酸塩受容体を過剰発現し、それによって、行われる治療の可能性を開く。これを支持して、ＥＣ－１４５、葉酸塩の標的ビンカアルカロイド類似体を用いた臨床研究は、白金耐性卵巣癌および非小細胞肺癌が、葉酸塩を用いた治療の影響を受け易いことを示す。葉酸塩の１つ以上のコピーを担持するＸＴＥＮを３つ以上の薬物分子を担持するＸＴＥＮに融合し、標的ペプチド－薬物共役体を創製することは、治療指数および半減期を大幅に改善することが予想され、これが最大耐用量（ＭＴＤ）をはるかに下回るレベルでの投薬を可能にし、投与頻度および費用を低減する（用量当たりに必要な薬物を低減する）。

【０７６４】

葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物組成物の臨床評価は、再発または難治性進行腫瘍を持つ患者、または他の化学療法に失敗した白金耐性卵巣癌および非小細胞肺癌に苦しむ患者において行う。臨床試験は、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体がヒトにおいて検証され得るように設計される。患者におけるそのような研究は、３つの相を含む。最初に、第Ｉ相の安全性および薬物動態研究を行い、ＭＴＤを決定し、ヒトにおける用量限定毒性、薬物動態、および予備薬力学を特徴付ける。これらの初期研究は、再発または難治性の進行腫瘍を有し、標準の治癒的または緩和的手段を使用することができないか、またはそれらがもはや有効でない、もしくは耐容されない葉酸塩受容体陽性状態を持つ患者において行う。治療の有効性を強化するために、葉酸塩受容体陽性状態を登録条件とし、原発腫瘍または転移性標本の免疫組織化学、および／または葉酸塩標的分子造影剤によって決定される。第Ｉ相研究のスキームは、単一上昇用量の葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体を使用すること、および

生化学、ＰＫ、および臨床パラメータを測定することである。これは、ＭＴＤの決定を可能にし、後次の第ＩＩ相および第ＩＩＩ相治験において使用される治療ウィンドウを構築する、投与量および循環薬物の閾値および最大濃度を確立する。今後の研究において追跡される潜在的毒性および有害事象も定義する。

【０７６５】

ヒト患者の第ＩＩ相臨床研究は、独立して、葉酸塩受容体陽性の白金耐性卵巣癌患者集団、多数の化学療法に失敗した非小細胞肺癌患者、および再発または難治性の進行腫瘍に苦しむ患者において行われる。この治験は、葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体単独、および特定の適応において用いられる現在の化学療法との組合せでの有効性および安全性を評価する。患者は、静脈内投与された葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物共役体を、第Ｉ相において事前に決定された用量レベルおよび計画で、標準化学療法薬の有無にかかわらず受容する。化学療法薬およびプラシーボからなる対照アームが含まれる。一次エンドポイントは、固形癌の治療効果判定のためのガイドライン（ＲＥＣＩＳＴ）によって定義される反応速度である。二次エンドポイントとしては、安全性および耐用性、無増悪期間、および全生存が挙げられる。

【０７６６】

第ＩＩＩ相の有効性および安全性研究は、第ＩＩ相臨床観察に応じて、葉酸塩受容体陽性の白金耐性卵巣癌患者、非小細胞肺癌患者、および進行した腫瘍再発または難治性患者＜／ｃ０＞における第ＩＩ相治験設計を複製または修飾するように構成される。患者登録条件の洗練、さらなる患者の層別化（例えば、葉酸塩受容体発現レベル）、投与量、計画、標準化学療法薬の状態等をさらに調整する。一次エンドポイントは、葉酸塩受容体陽性として定義された患者において、ＲＥＣＩＳＴによって測定される無増悪生存である。この治験は、二次エンドポイントとしての全生存について統計的に検出力があり、４００人超の患者における登録が予想される。有害事象、重篤な有害事象、および死亡の発生率も評価する。

【０７６７】

葉酸塩－ＸＴＥＮ－薬物候補は、これらの高度に前処理された患者集団においても深刻な毒性なしに抗癌活性を実証することが予想される。

【０７６８】

【表５２－１】

【表５２】　ＸＴＥＮ－切断配列－親和性タグポリペプチド配列

構築体	アミノ酸配列
AC710	APTTAGAGRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPGRGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP

【０７６９】

【表５２－２】

構築体	アミノ酸配列
	TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGRHHHHHHHH
AC698	ANTPVSGNLKVEFYNSNPSDTTNSINPQFKVTNTGSSAIDLSKLTLRYYYTVDGQKDQTFWADHAAIIG SNGSYNGITSNVKGTFVKMSSSTNNADTYLEISFTGGTLEPGAHVQIQGRFAKNDWSNYTQSNDYSFKS ASQFVEWDQVTAYLNGVLVWGKEPGGSVVGSGSGSGRGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAEAAGKPGTA EAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGKATHHHHHHHH
AC815	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGS PAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPSASRSAHHHHHHHH
AC816	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPT

【０７７０】

【表５２－３】

構築体	アミノ酸配列
	STEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAASASRSAHHHHHHHH
AC763	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTAEAAGCGTAEAAGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASRSAHHHHHH HH
AC767	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPSASRSAHHHHHHHH
AC769	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTAEAAGCGTAEAAPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTAEAAGCGTAEAASTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPA GSPTSTEEGSPATAEAAGCGTAEAASPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATTAEAAG CGTAEAASETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTTAEAAGCGTAEAAAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESTAEAAGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGTAEAAGCG TAEAATEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASRSAHHHHHH HH
AC771	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE

【０７７１】

【表５２－４】

構築体	アミノ酸配列
	SGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPTAE AAGCGTAEAAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTAEAAGCGTAEAASTEPSEGS APGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPATAEAAGCGTAEAASPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATTAEAAGCGTAEAASETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGTAEAA GCGTAEAAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTTAEAAGCGTAEAAAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESTAEAAGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGSEPATSGTAEAAGCGTAEAATEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGC GTAEAASASRSAHHHHHHHH
AC817	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTESASRSAHHHHHHHH
AC818	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTESASRSAHHHHHH HH
AC780	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTEEGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPSASRSA HHHHHHHH
AC785	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTEGTSTEPSEGSAPGTSESTA

【０７７２】

【表５２－５】

構築体	アミノ酸配列
	EAAGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGTAEAAGCGTAEAATEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASRSAHHHHHHHH
AC765	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPA GSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASRSAHHHHHH HH
AC766	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPTAEAAGCGTAEAAGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESTAEAAGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASRSAHHHHHH HH
AC768	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPA GSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESTAEAAGCGTAEAATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGTAEAAGCG TAEAATEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPTAEAAGCGTAEAASASRSAHHHHHH HH
AC786	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEG

【０７７３】

【表５２－６】

構築体	アミノ酸配列
	SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTESASRSAHHHHHHHH
AC792	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGSTSSTAESPGPGSTSSTAES PGPGCTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSCSPSGEAPGTSPSG ESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPETSPSGESCTAPGSTSASRSAHHHHHHHH
AC793	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGAT GSPGCAGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTCSGATGSPGSSPSA STGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTACSSPGSSSASRSAHHHHHHHH
AC798	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTESASKSAHHHHHHHH
AC809	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTACSEGSAPSASRSAHHHHHHHH
AC810	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSCASASRSAHHHHHHHH

【０７７４】

【表５２－７】

構築体	アミノ酸配列
AC831	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGSTSSTAESPGPGSTSSTAES PGPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGTSPSG ESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSPSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTS PSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSG TAPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSST AESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGST SESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAP GSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSTPESGSASPGTSTPESGS ASPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPE SGSASPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESSTAPGSTSSTAESPGPGSTSSTAESPGPGTS PSGESSTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAP GTSTPESGSASPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSESPSGTAPGSTSSTAESPGPGTSPSGESS TAPGTSSASRSAHHHHHHHH
AC832	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTG TGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSG TASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSS TPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGP GSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTAS SSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGASPGT SSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGTP GSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSP GASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPS GATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSS TPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSP GSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGAT GSPGASSASRSAHHHHHHHH
AC819	KKQEQEEKKAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPGSCAGSPTSTEEGTSESACPE SGPGTSTEPSEGSCPGSPAGSPTSTEEGTCTEPSEGSAPGTSTEPCSGSAPGTSESATPESCPGSEPAT SGSETPGSCPATSGSETPGSPAGSCTSTEEGTSESATPESCPGTESASRSAHHHHHHHH
AC820	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTGCGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSCTPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG

【０７７５】
【表５２－８】

構築体	アミノ酸配列
	SAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSCGSAPSASRSAHHHHHHHH
AC821	KNPEQAEEQAEEQREETRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPSASRSAGSPTGCGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSCTPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPCSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESCTPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSCTPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGCSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETCGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGCAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSCGSAPSASRSAHHHHHHHH

【図面】

【図１】

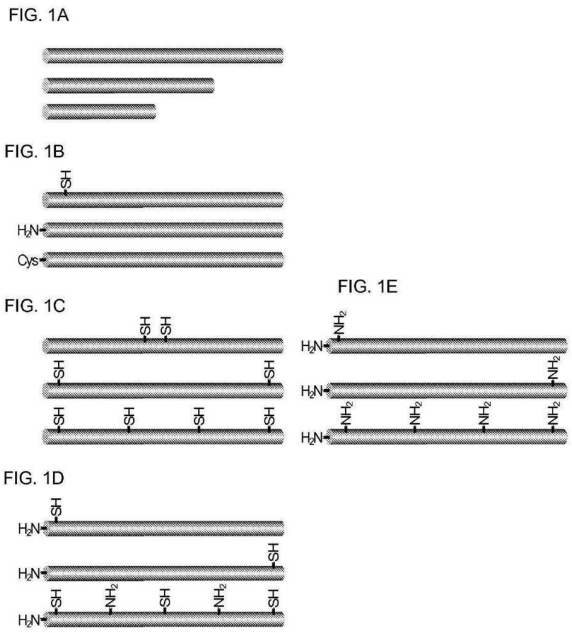
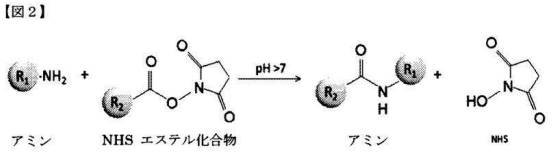
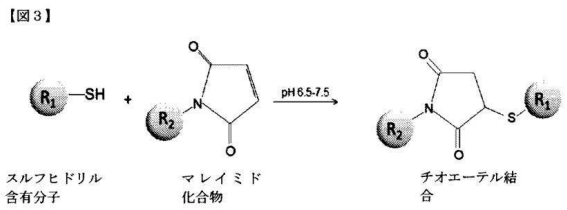


FIG. 1

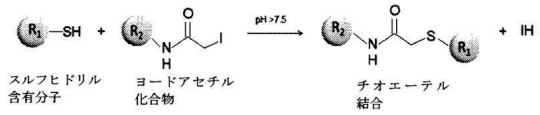
【図２】



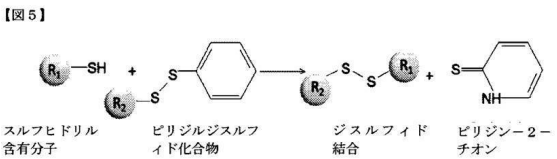
【図３】



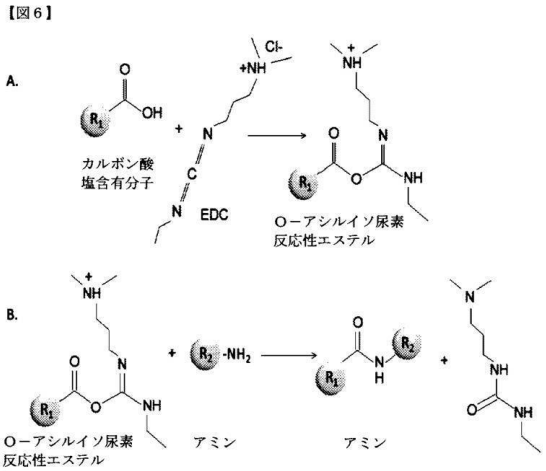
【図４】



【図５】



【図６】



【図７】

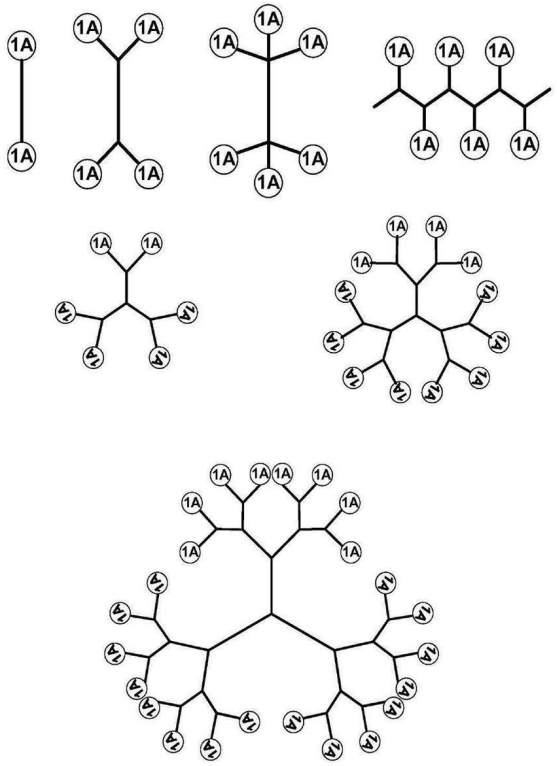


FIG. 7

【図８】

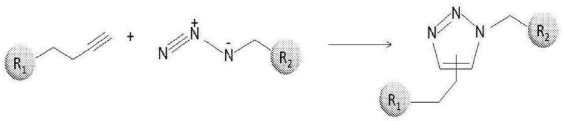


FIG. 8

【図９】

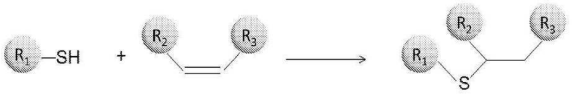
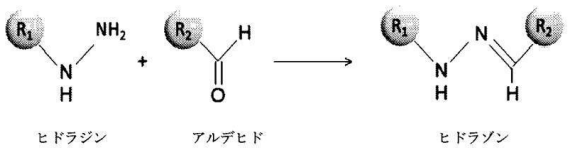


FIG. 9

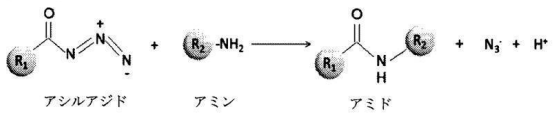
【図１０】

【図１０】



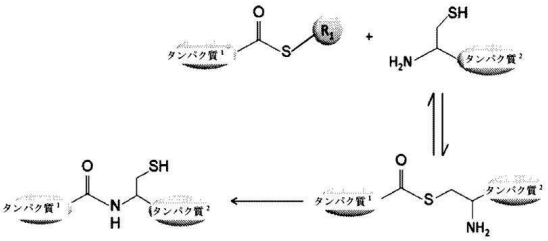
【図１１】

【図１１】



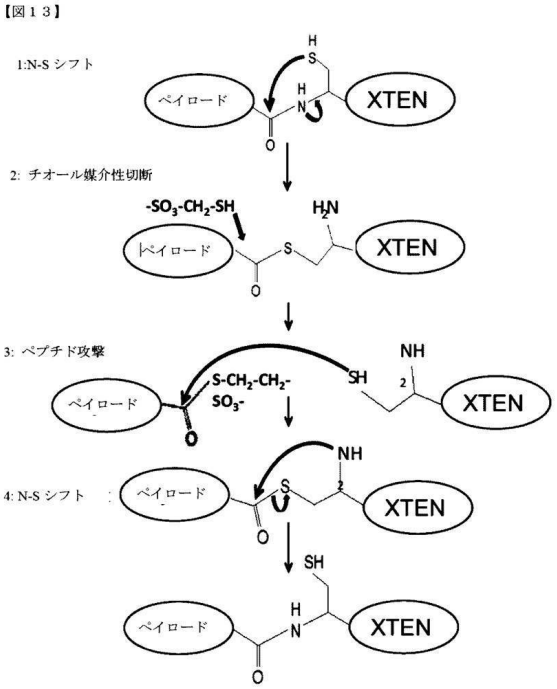
【図１２】

【図１２】



【図１３】

【図１３】



【図１４】

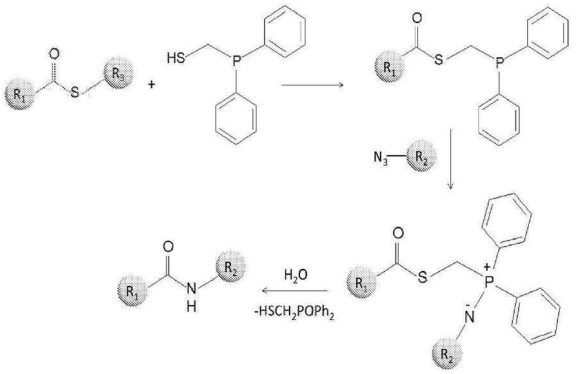
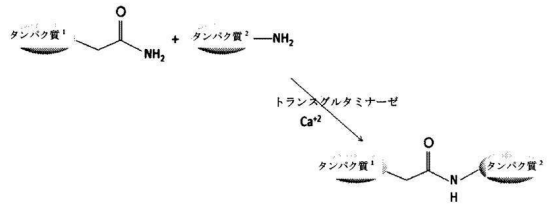


FIG. 14

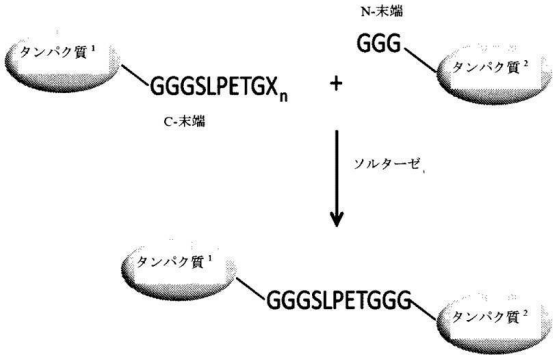
【図１５】

【図１５】



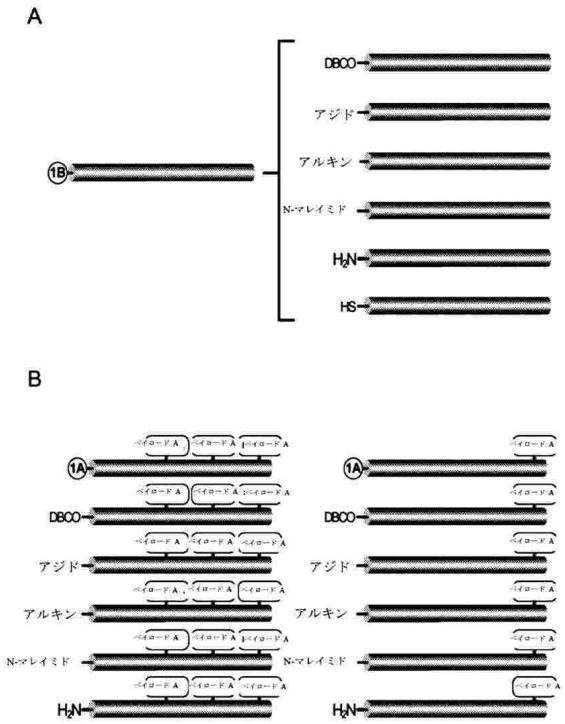
【図１６】

【図１６】



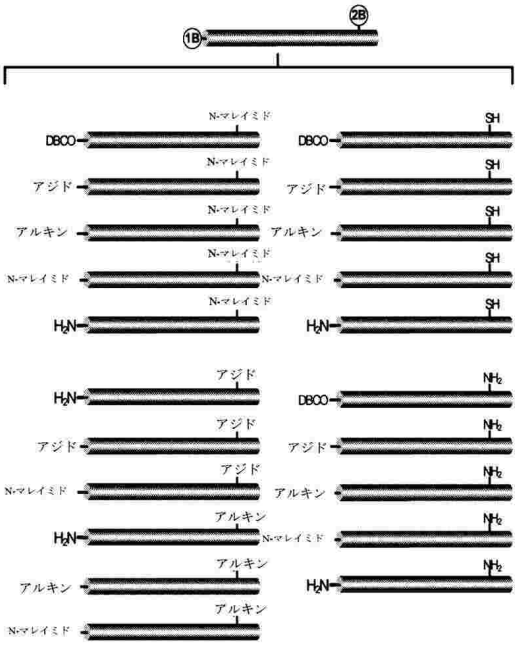
【図１７】

【図１７】

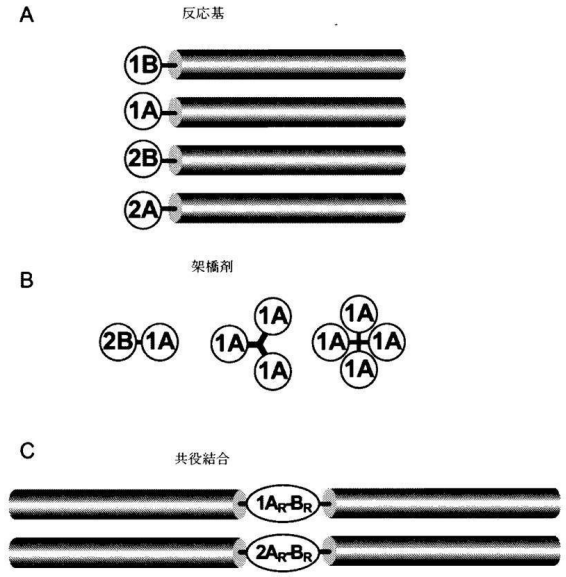


【図１８】

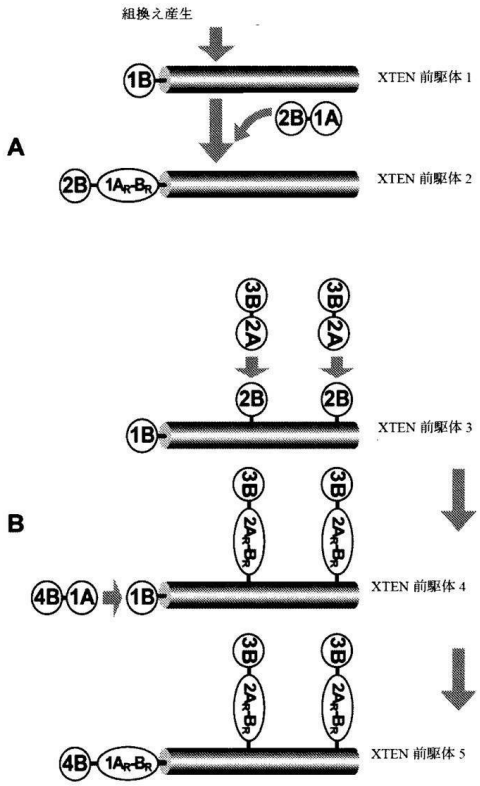
【図１８】



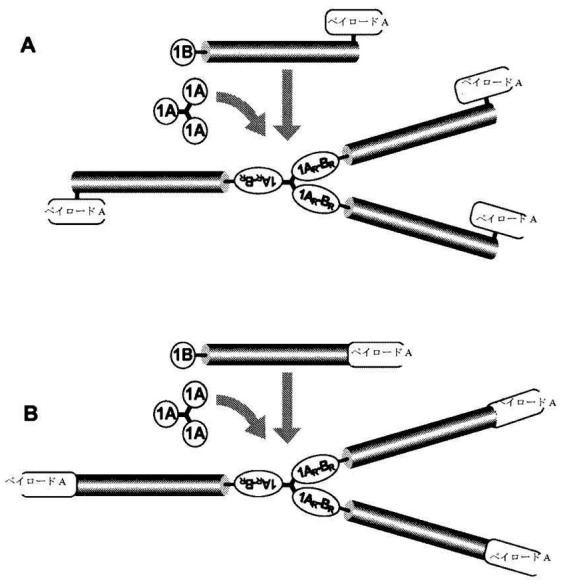
【図１９】



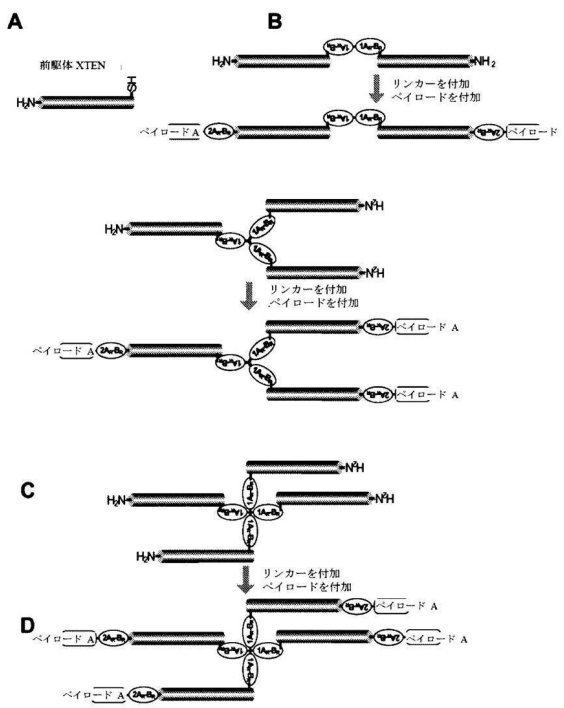
【図２０】



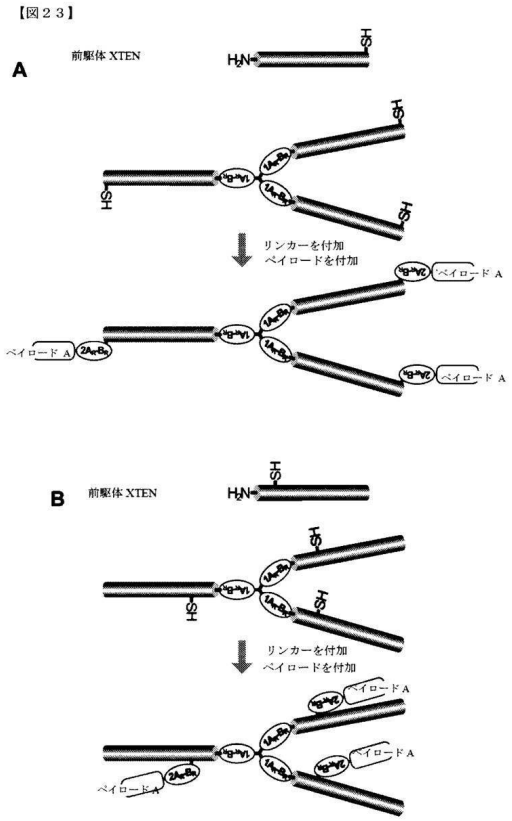
【図２１】



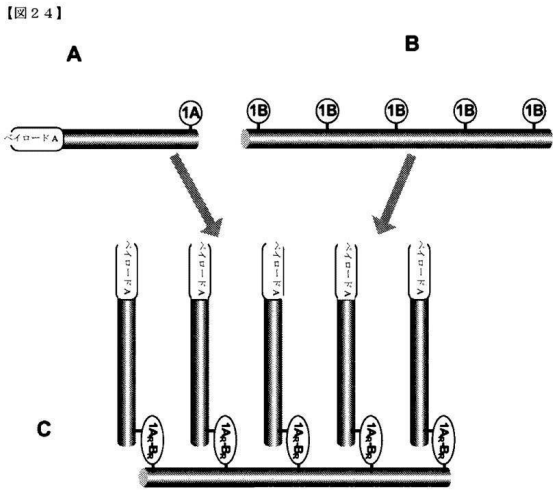
【図２２】



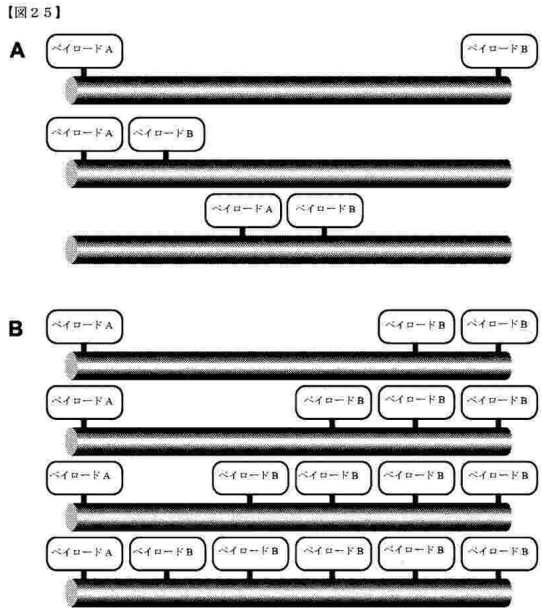
【図２３】



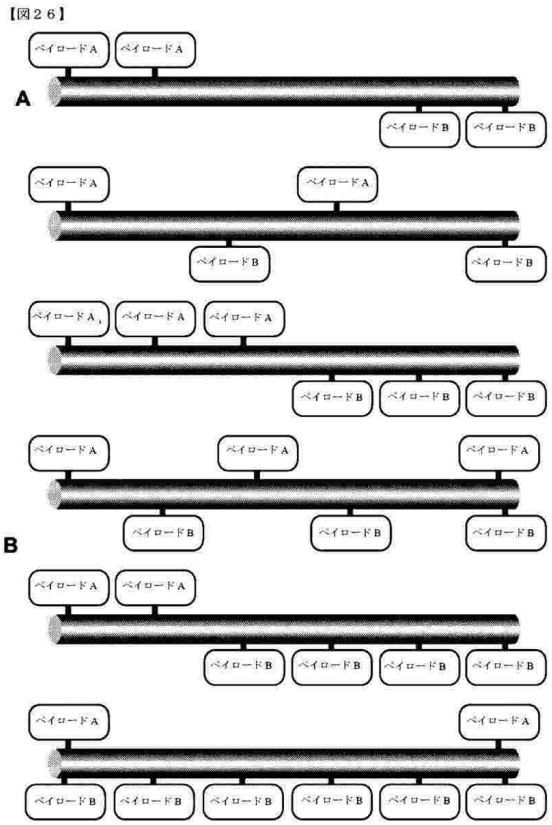
【図２４】



【図２５】

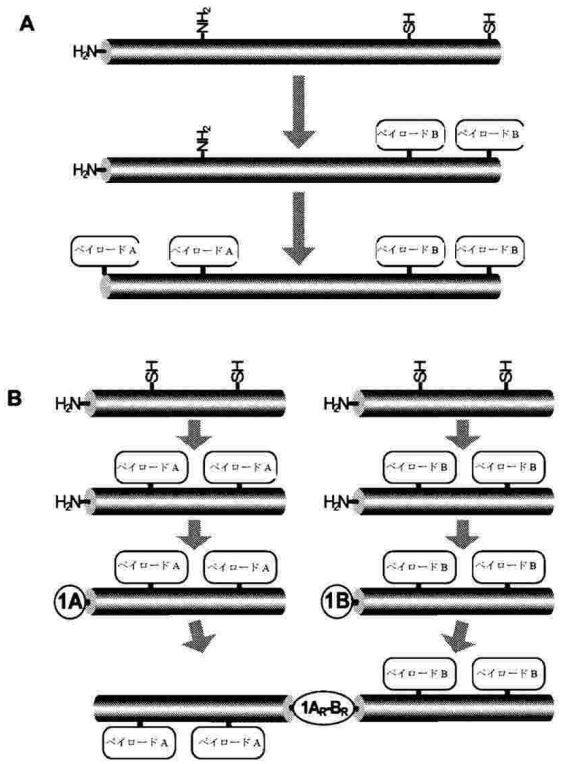


【図２６】



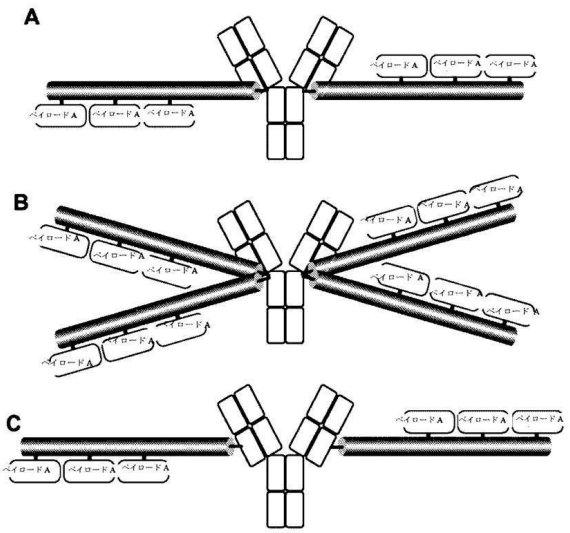
【図２７】

【図２７】



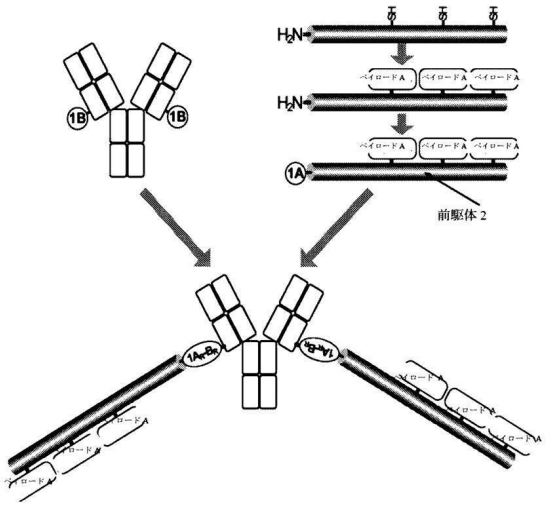
【図２８】

【図２８】



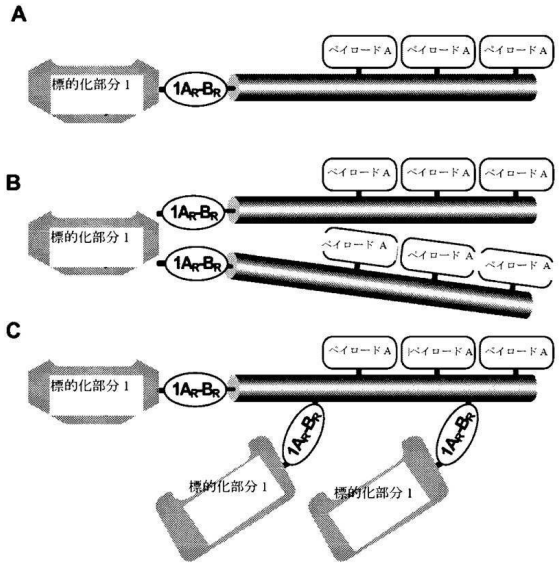
【図２９】

【図２９】



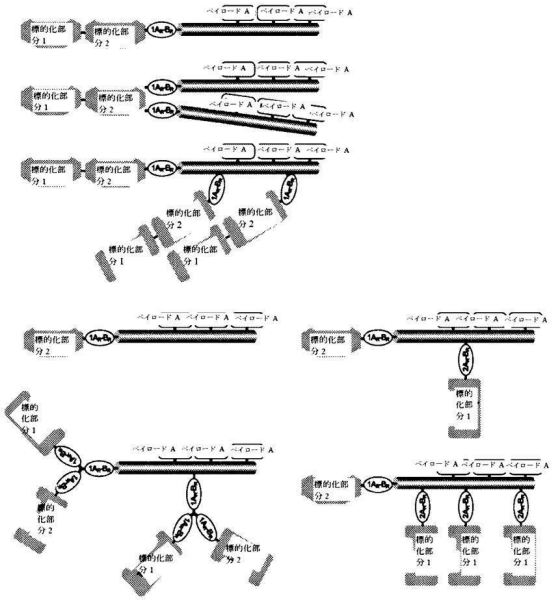
【図３０】

【図３０】



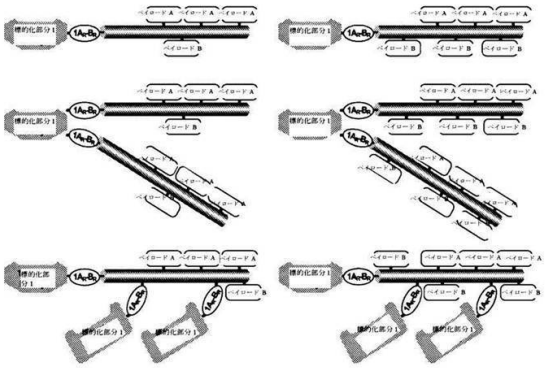
【図３１】

【図３１】



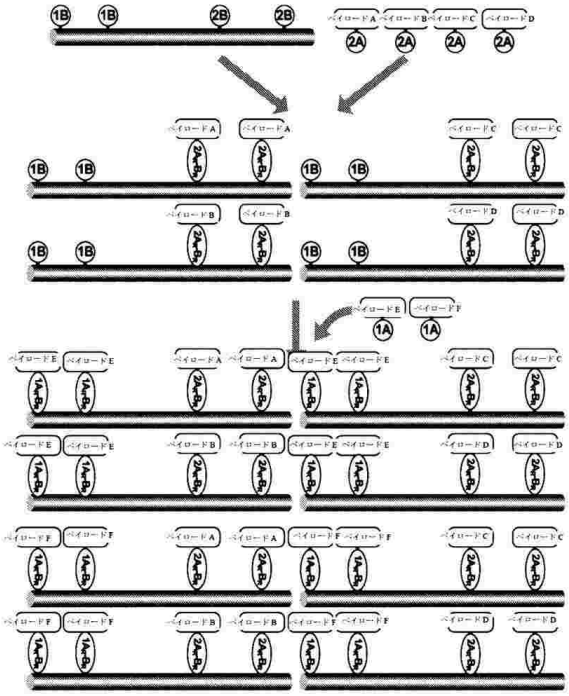
【図３２】

【図３２】



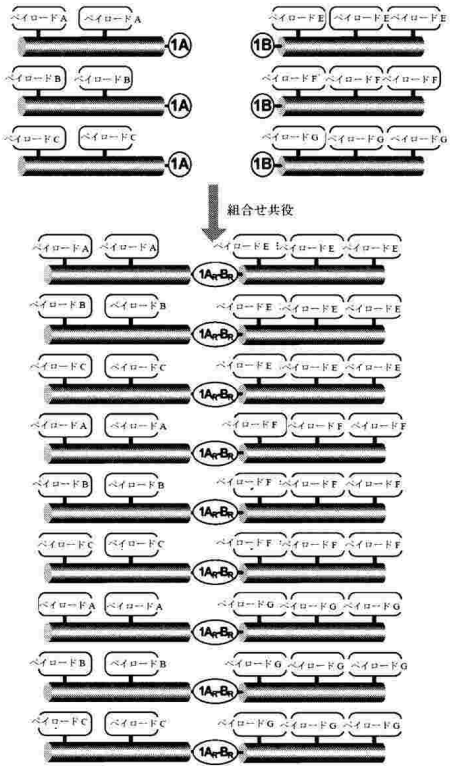
【図３３】

【図３３】

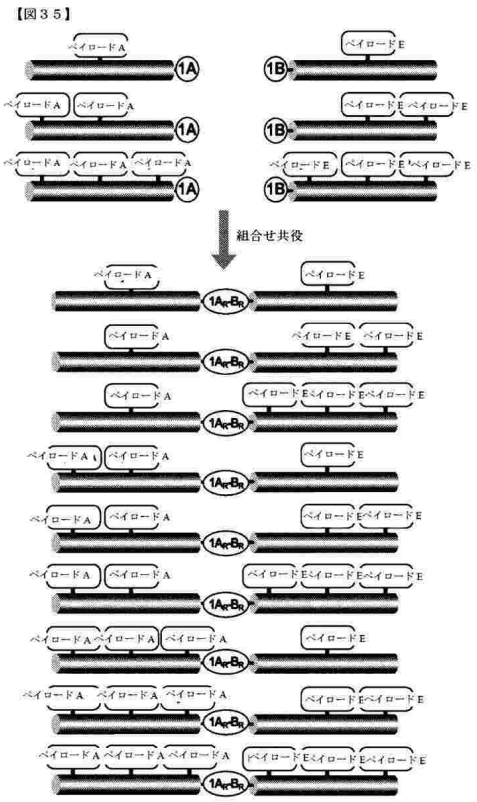


【図３４】

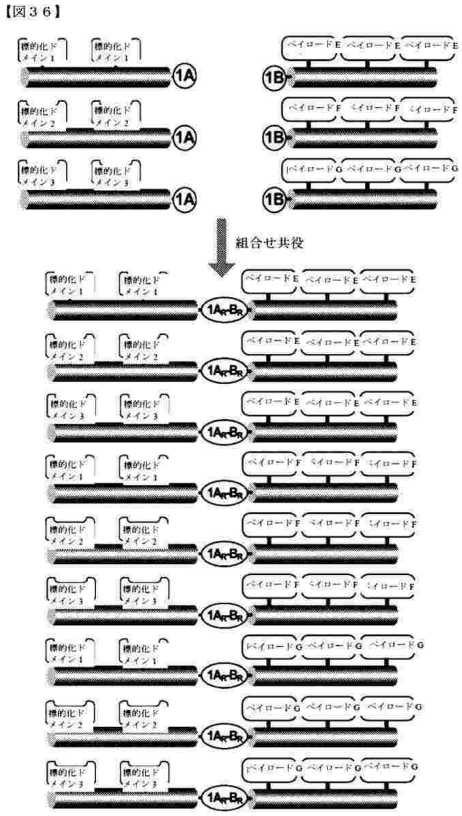
【図３４】



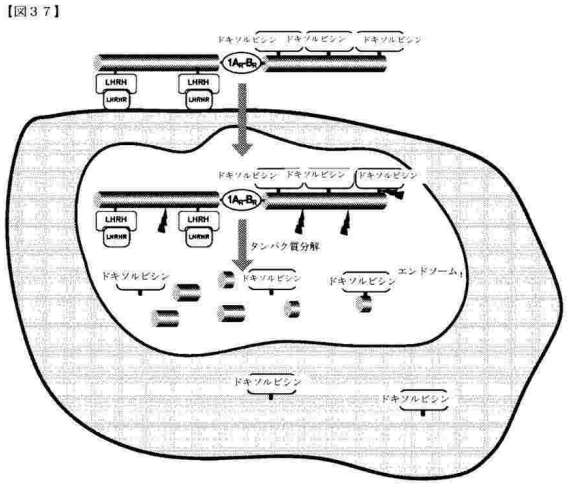
【図３５】



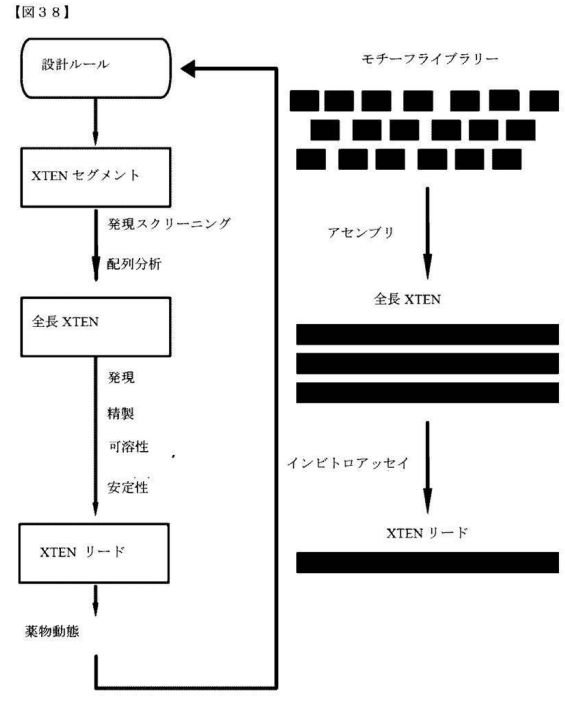
【図３６】



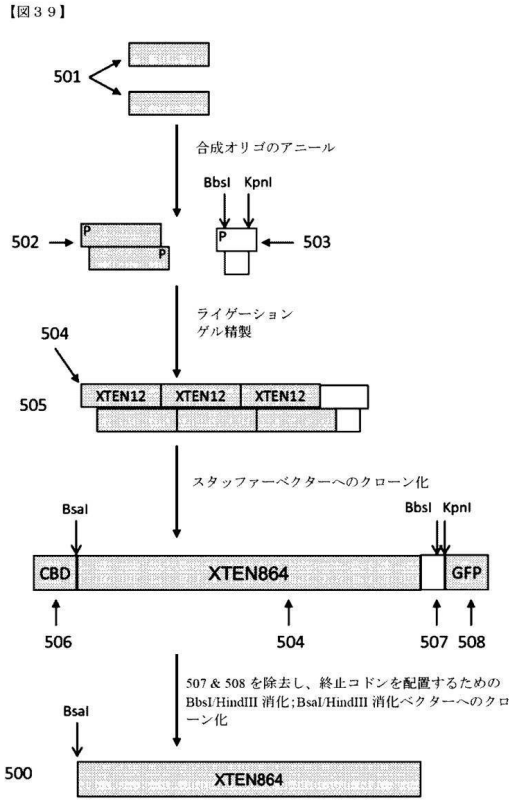
【図３７】



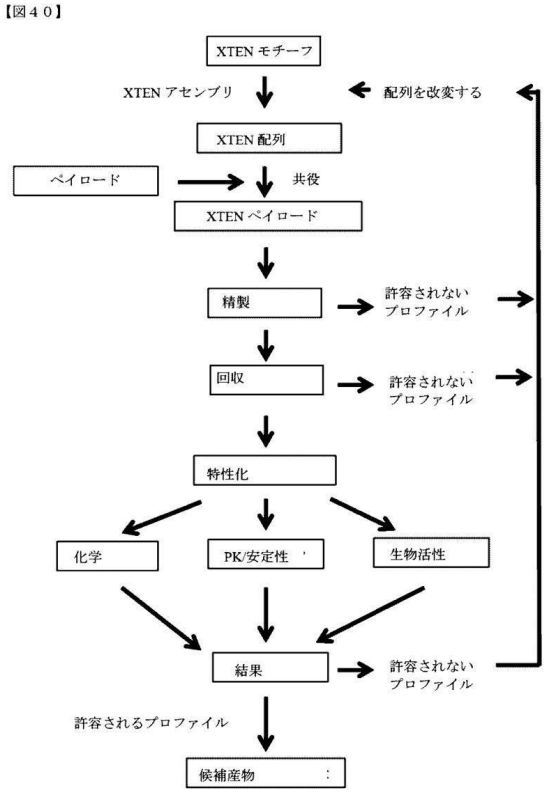
【図３８】



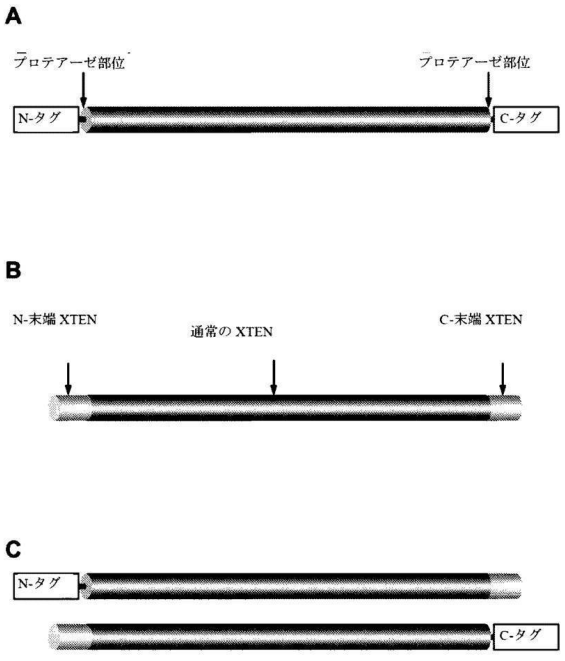
【図３９】



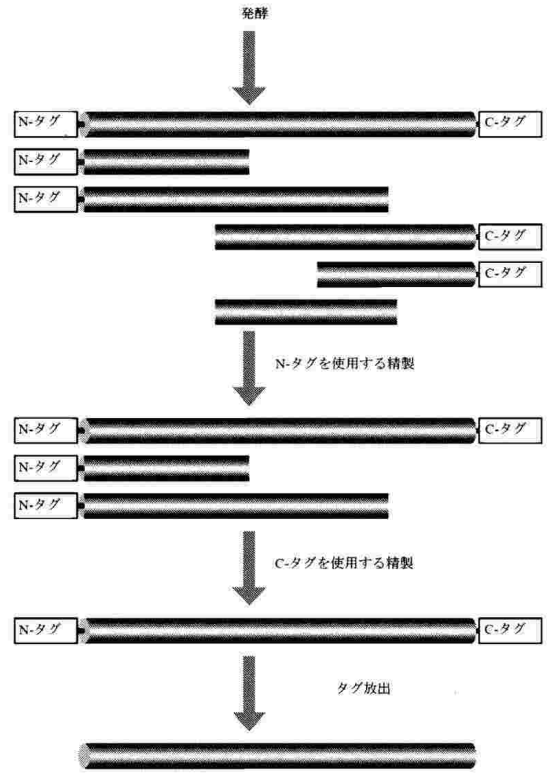
【図４０】



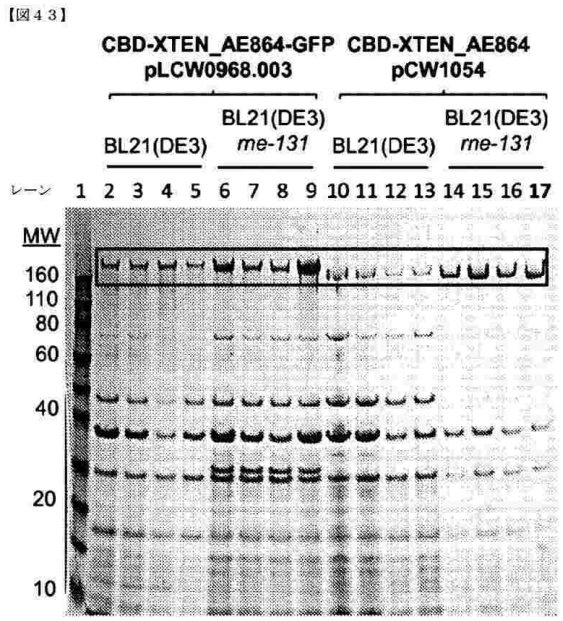
【図４１】



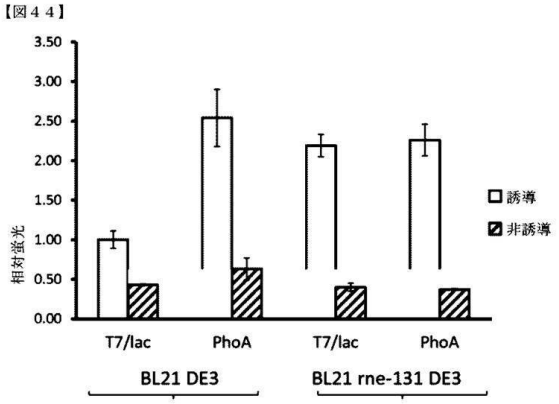
【図４２】



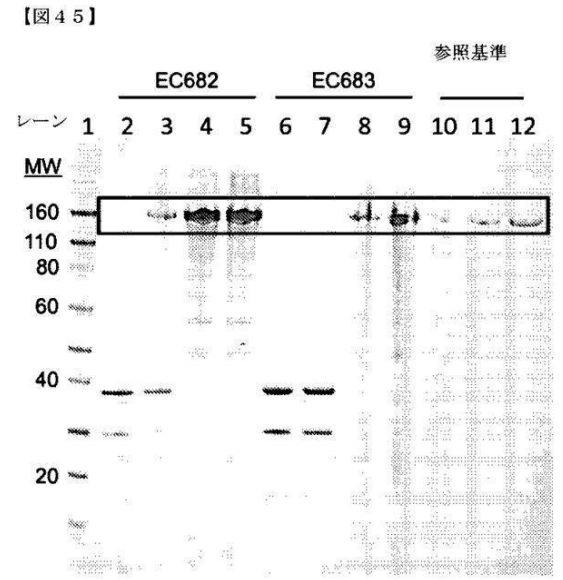
【図４３】



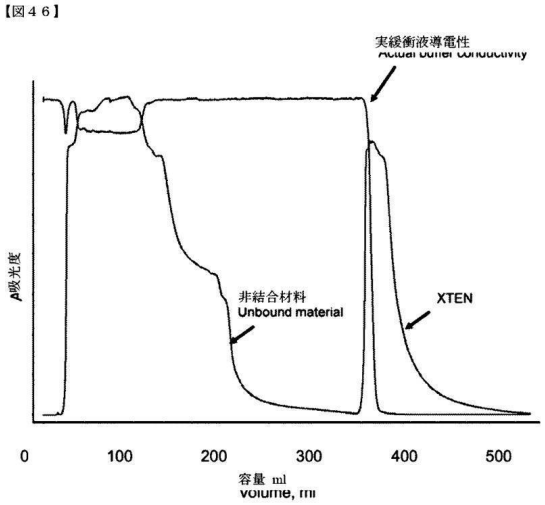
【図４４】



【図４５】



【図４６】



【図４７】

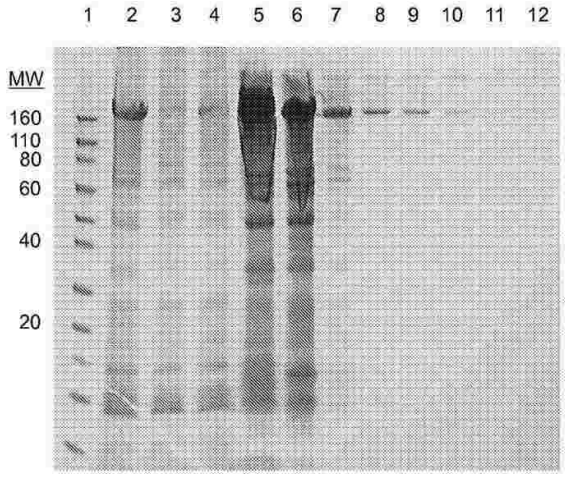


FIG. 47

【図４８】

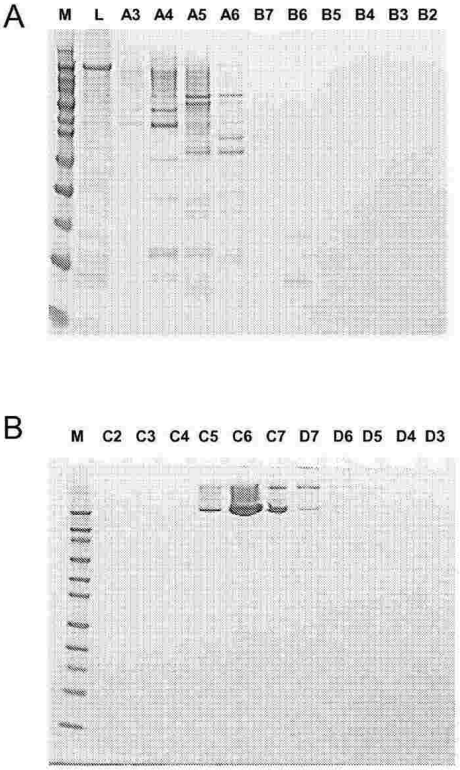
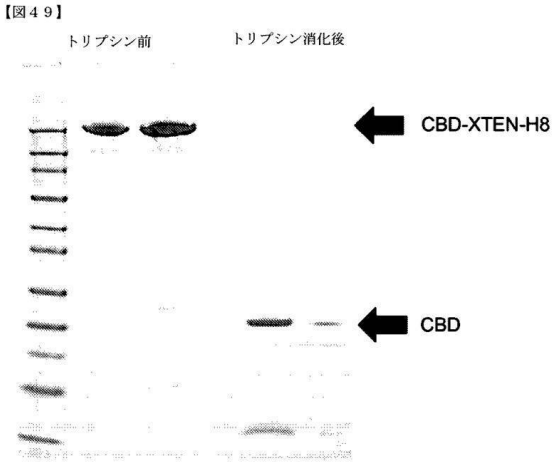
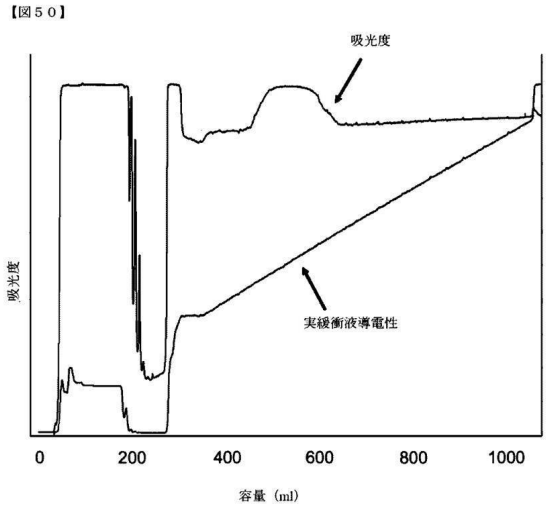


FIG. 48

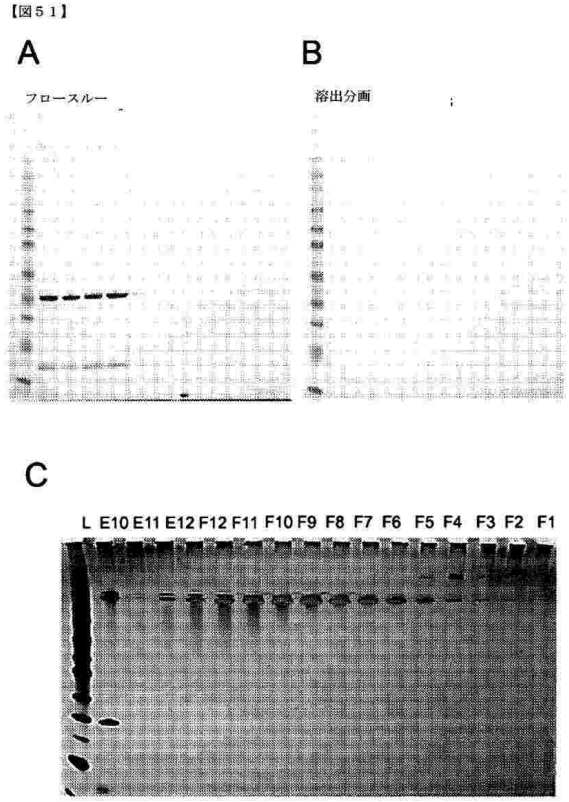
【図４９】



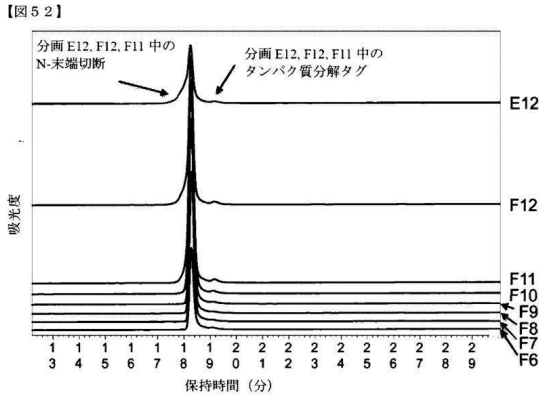
【図５０】



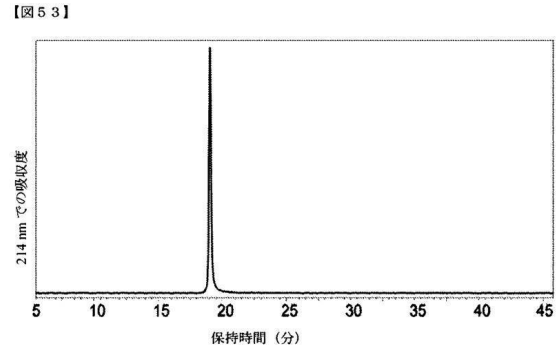
【図５１】



【図５２】



【図５３】



【図５４】

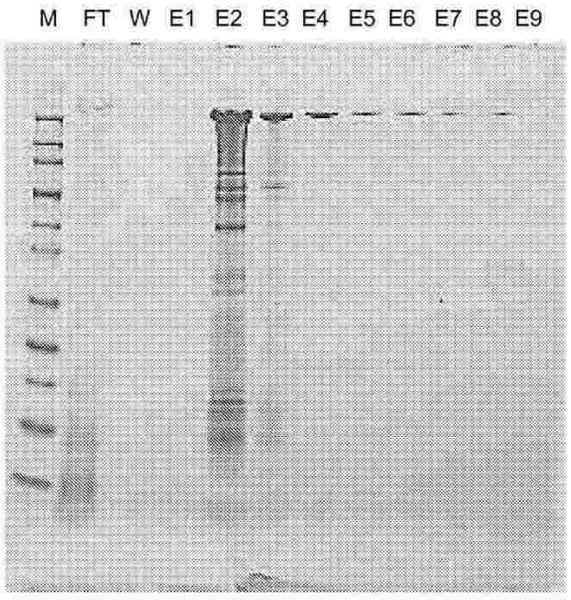


FIG. 54

【図５５】

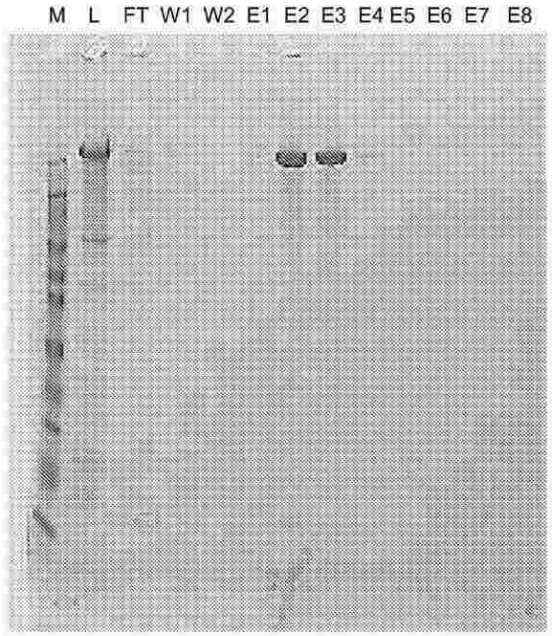
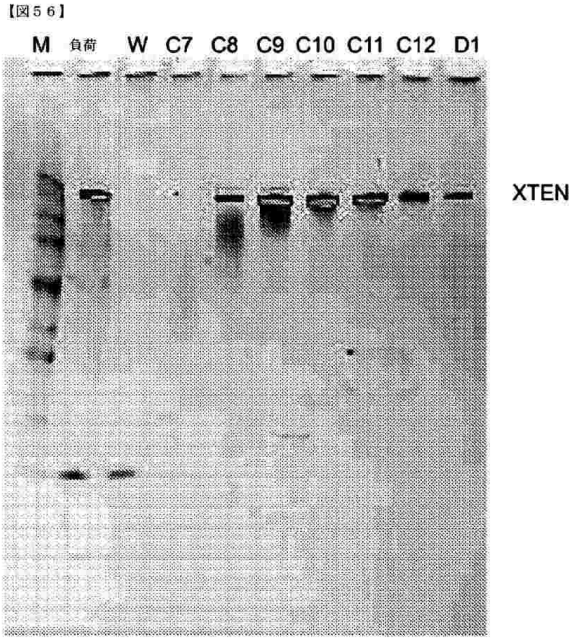
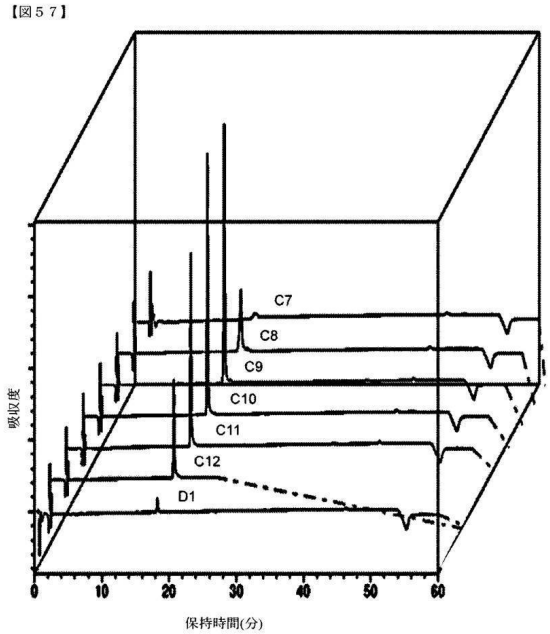


FIG. 55

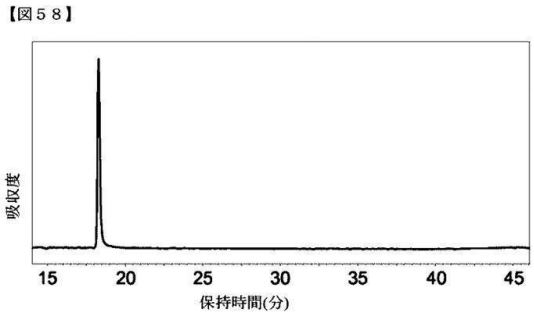
【図５６】



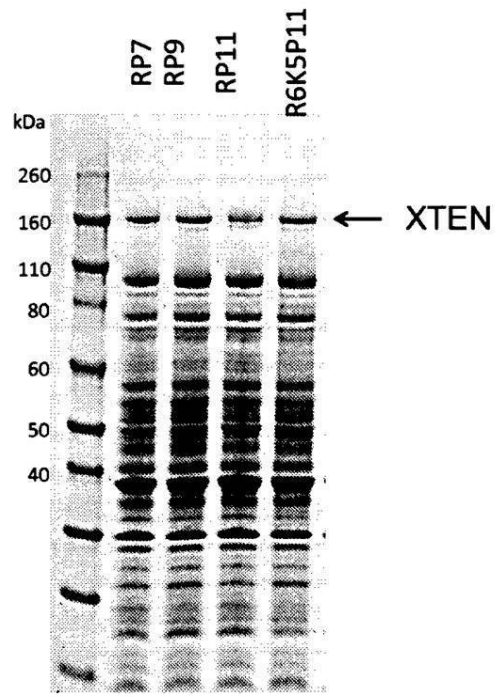
【図５７】



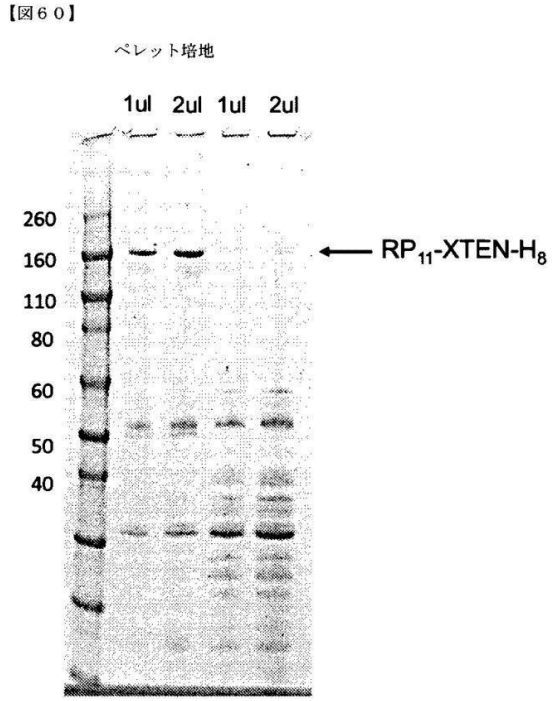
【図５８】



【図５９】



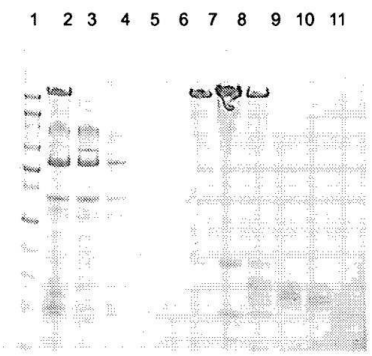
【図６０】



【図６１】

【図６１】

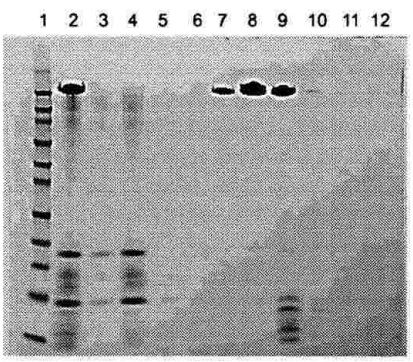
レーン 1	分子量標準
レーン 2	MacroCap SP 負荷
レーン 3	MacroCap SP フロースルー
レーン 4	MacroCap SP 追跡
レーン 5	MacroCap SP ウォッシュ
レーン 6	MacroCap SP 溶出 1
レーン 7	MacroCap SP 溶出 2
レーン 8	MacroCap SP 溶出 3
レーン 9	MacroCap SP 溶出 4
レーン 10	MacroCap SP 溶出 5
レーン 11	MacroCap SP 溶出 6



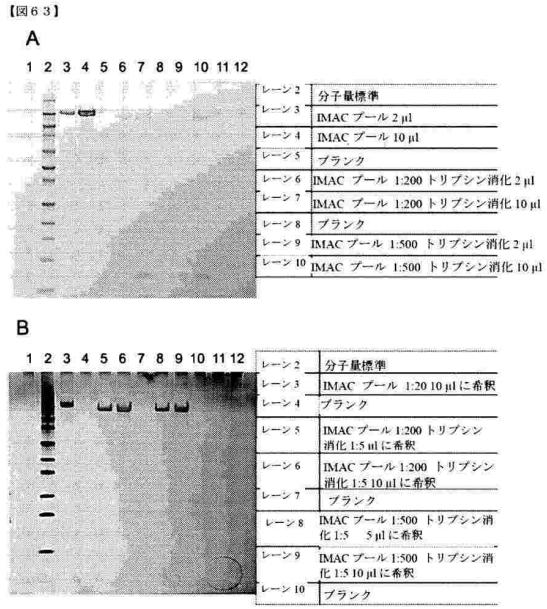
【図６２】

【図６２】

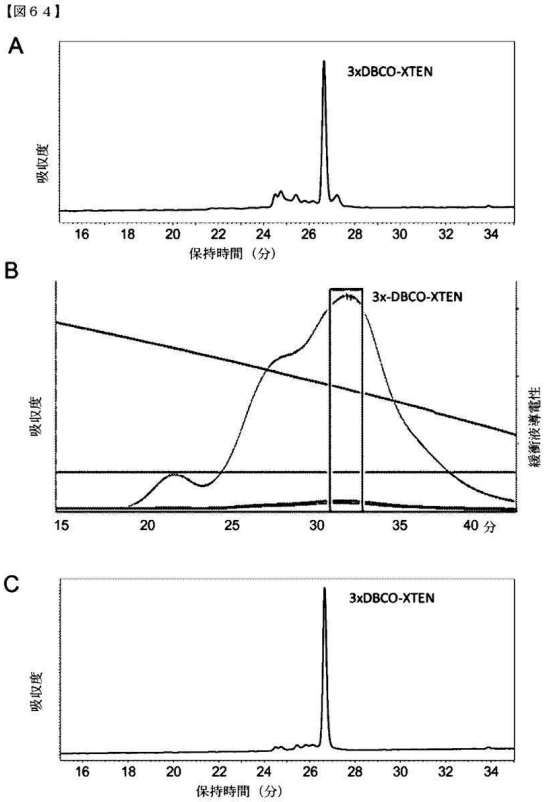
レーン 1	分子量標準
レーン 2	IMAC 負荷
レーン 3	IMAC フロースルー
レーン 4	IMAC 追跡
レーン 5	IMAC ウォッシュ
レーン 6	IMAC 溶出 1
レーン 7	IMAC 溶出 2
レーン 8	IMAC 溶出 3
レーン 9	IMAC 溶出 4
レーン 10	IMAC 溶出 5
レーン 11	IMAC 溶出 6
レーン 12	IMAC 溶出 7



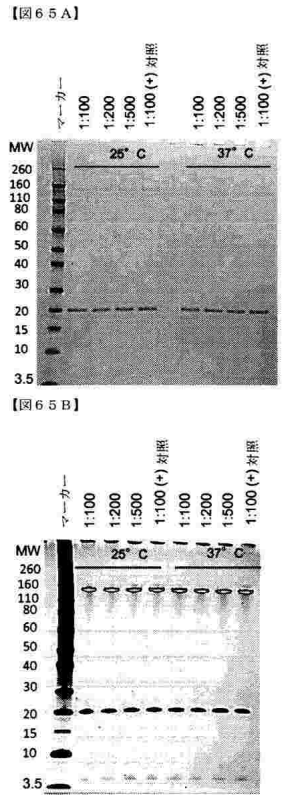
【図６３】



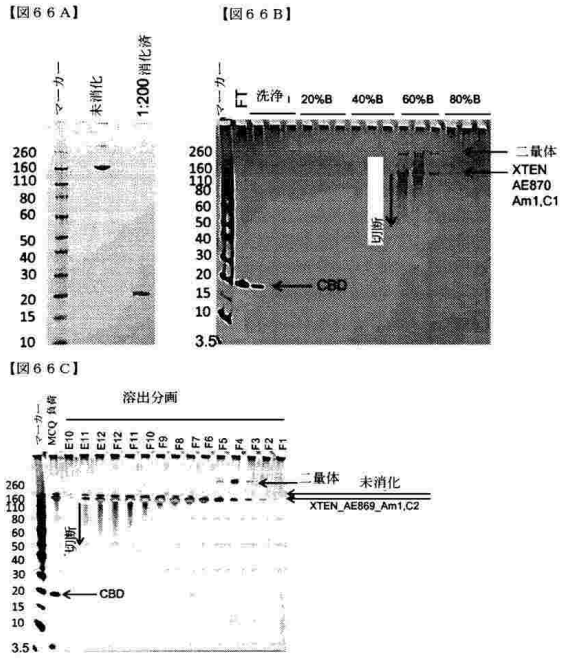
【図６４】



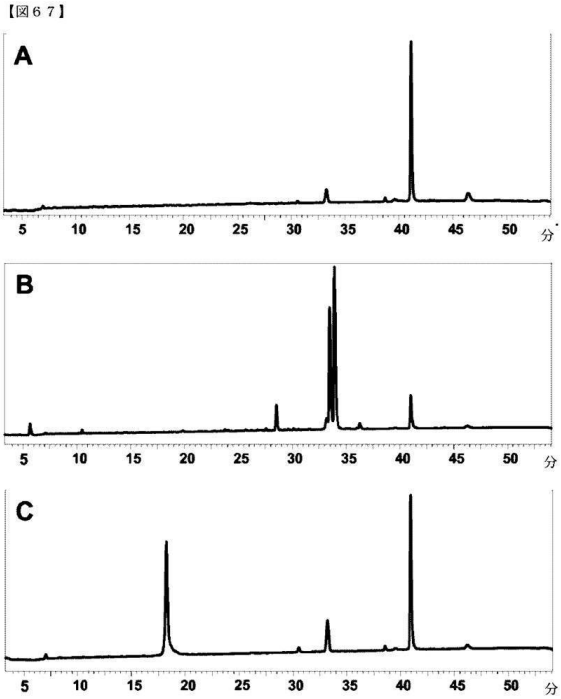
【図６５】



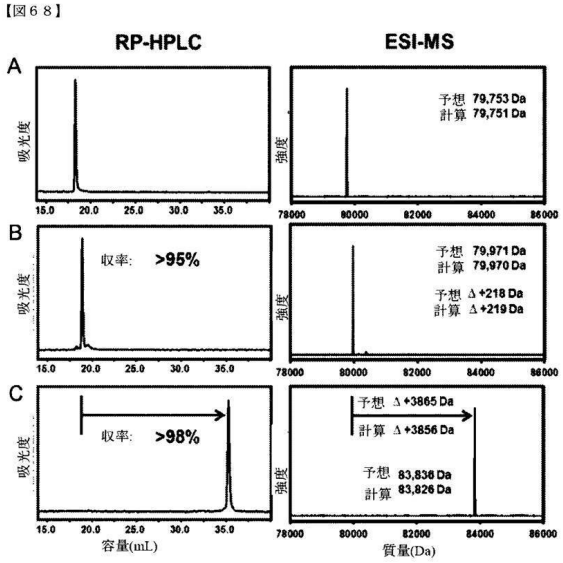
【図６６】



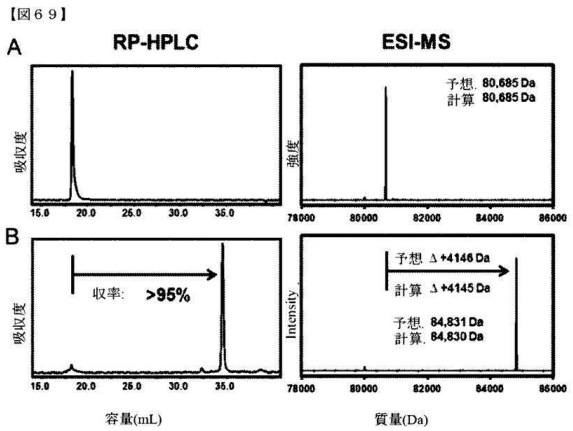
【図６７】



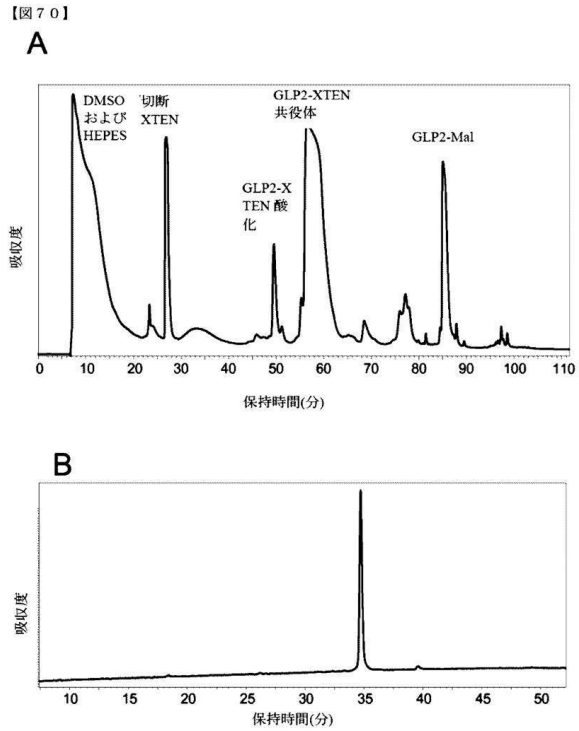
【図６８】



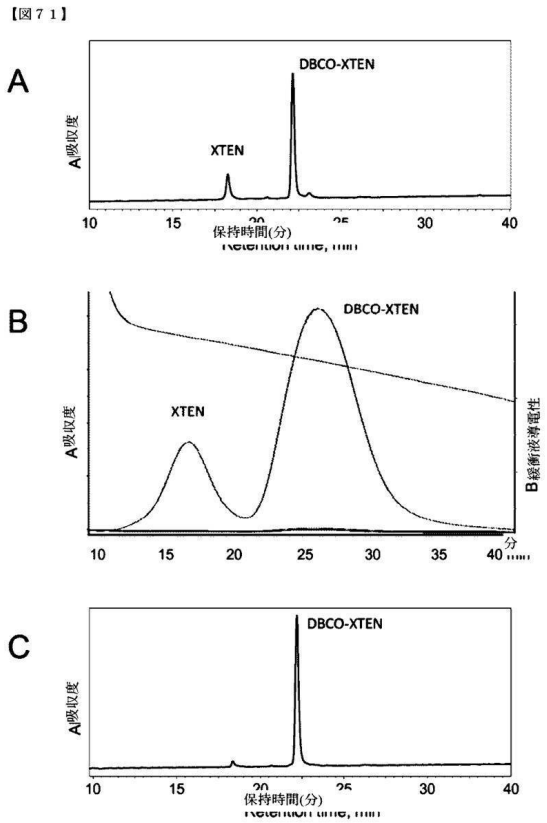
【図６９】



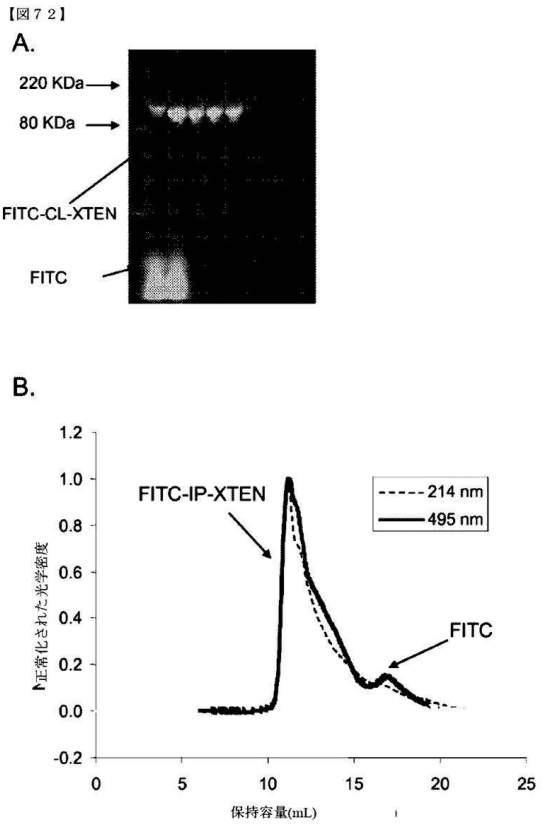
【図７０】



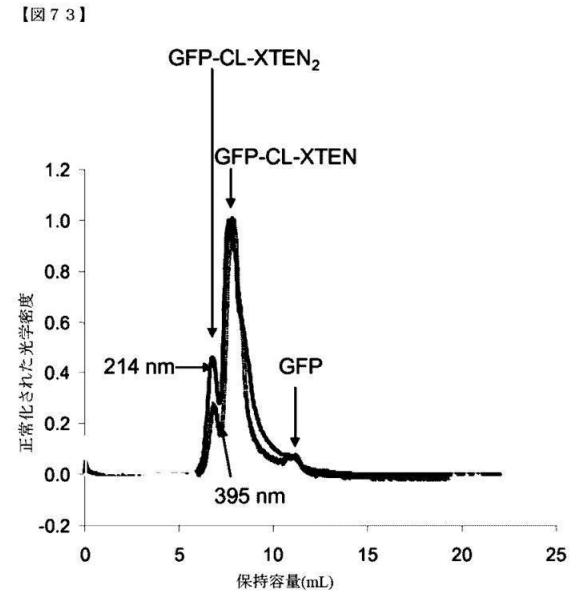
【図７１】



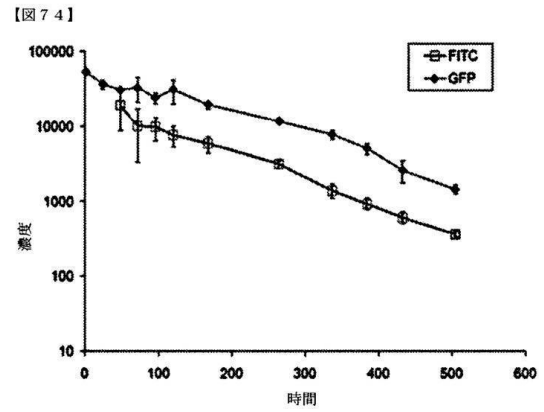
【図７２】



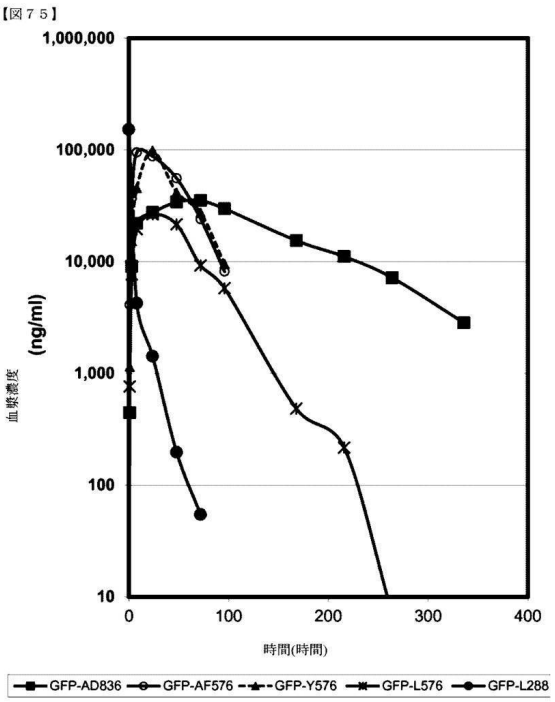
【図７３】



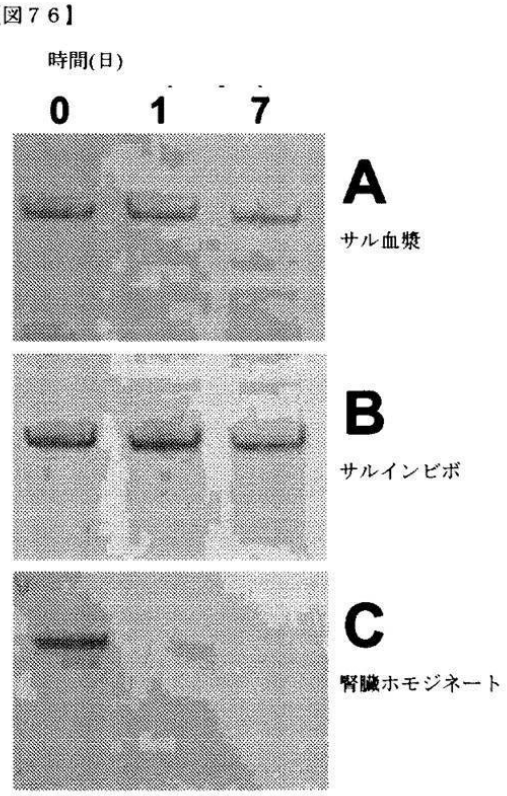
【図７４】



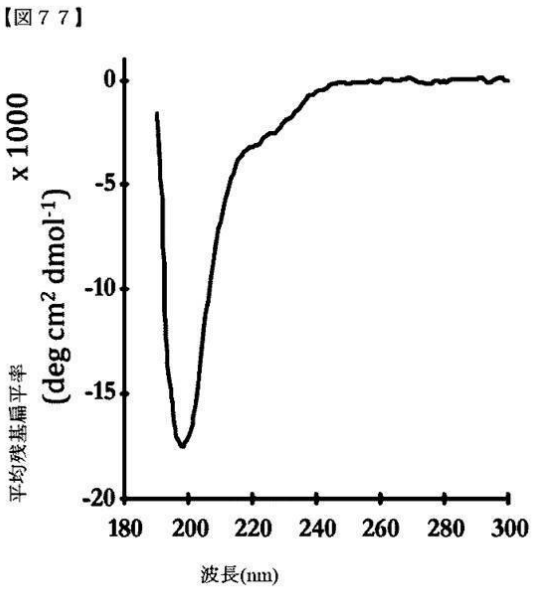
【図７５】



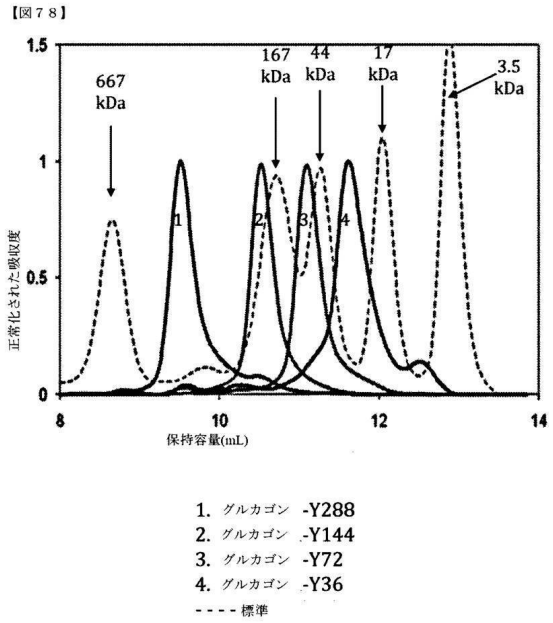
【図７６】



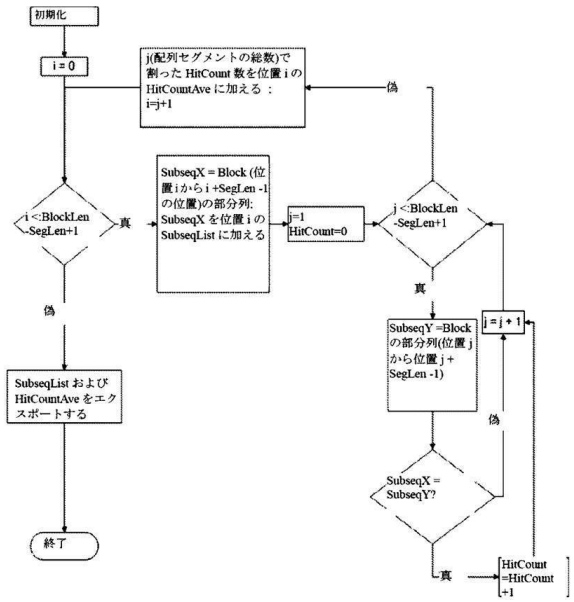
【図７７】



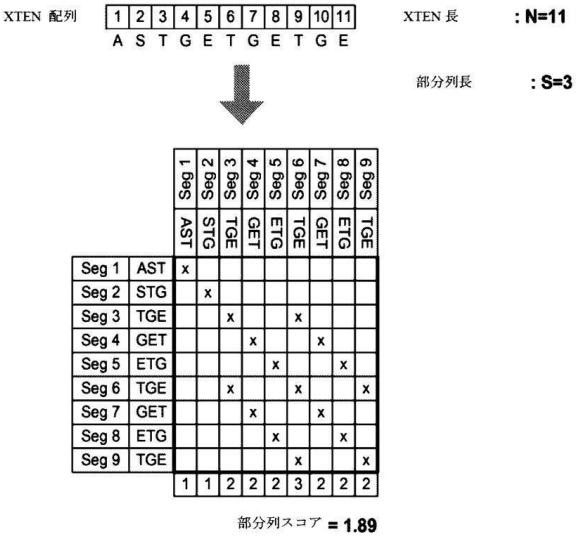
【図７８】



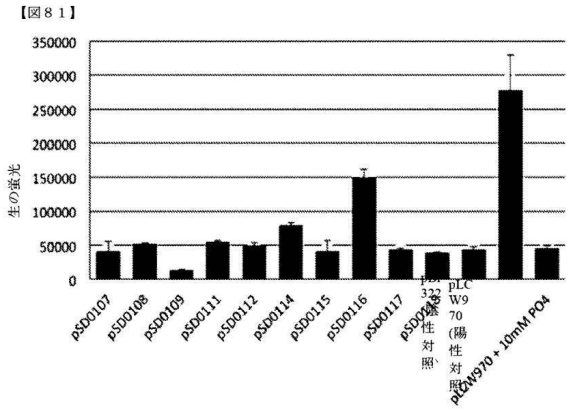
【図７９】



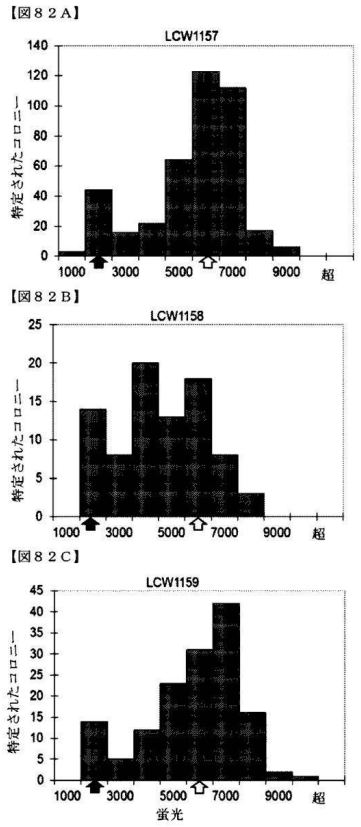
【図８０】



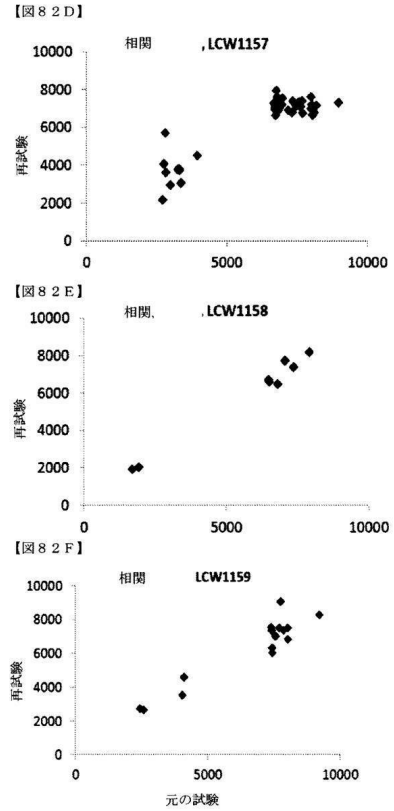
【図８１】



【図８２Ａ－Ｃ】



【図８２Ｄ－Ｆ】



【図８３】

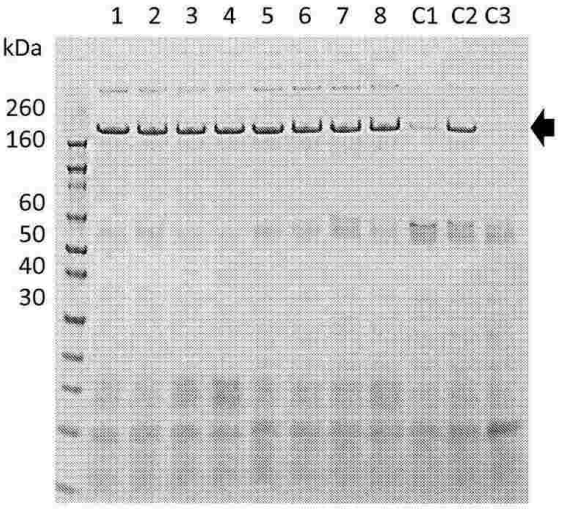


FIG. 83

【図８４】

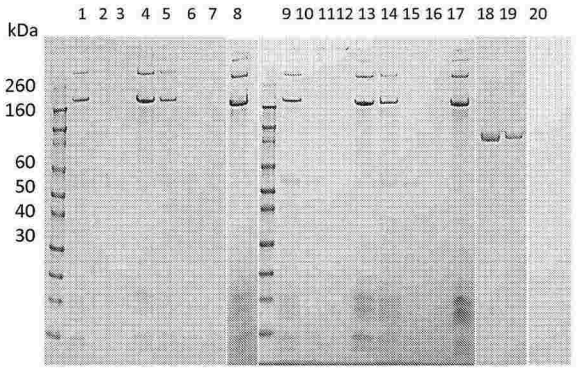
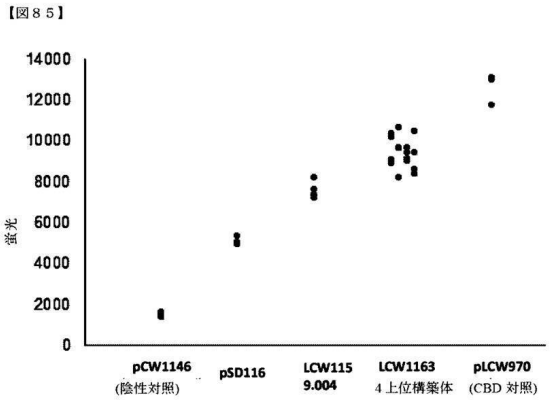
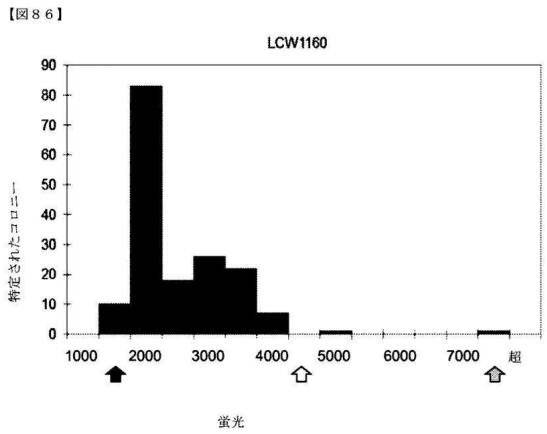


FIG. 84

【図８５】



【図８６】



【図８７】

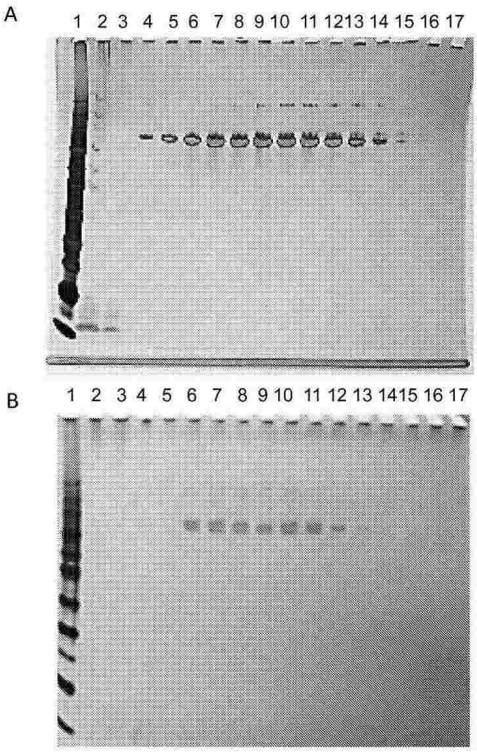
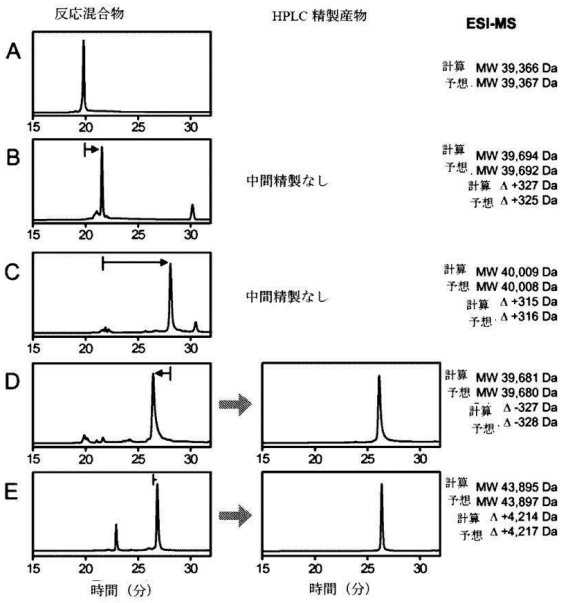
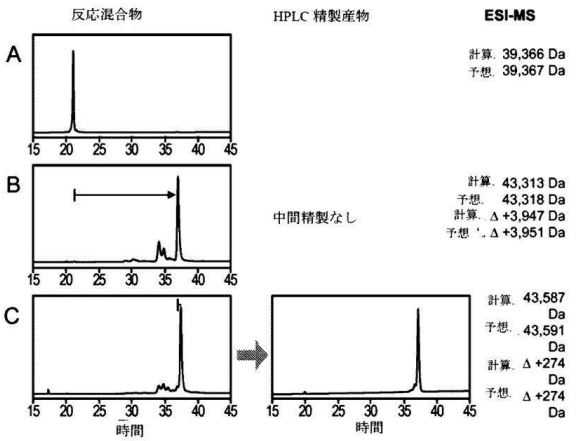


FIG. 87

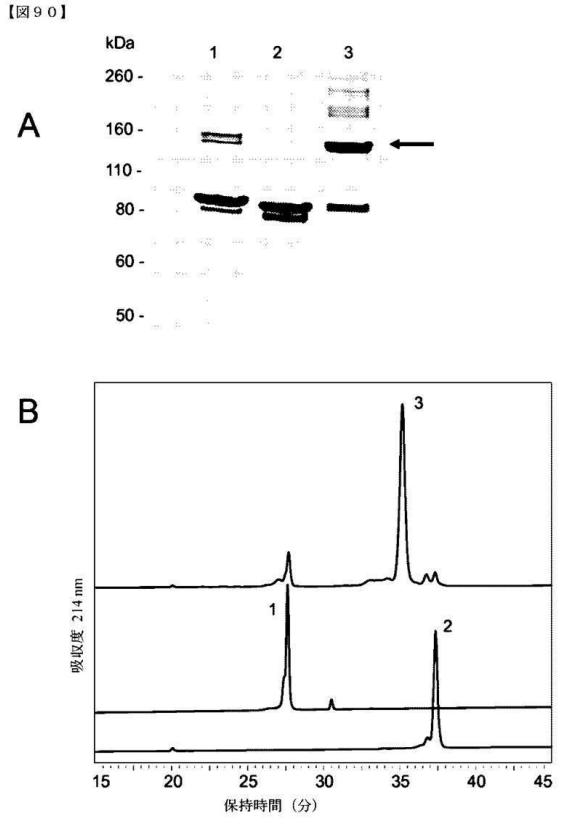
【図８８】



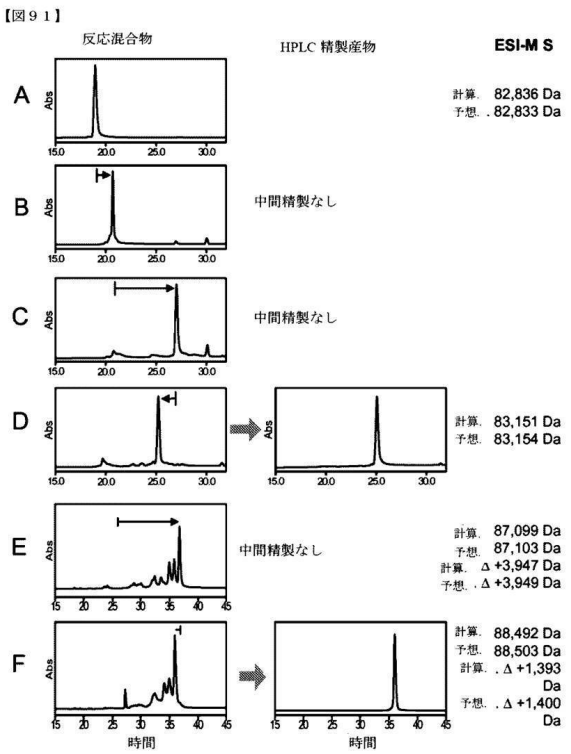
【図８９】



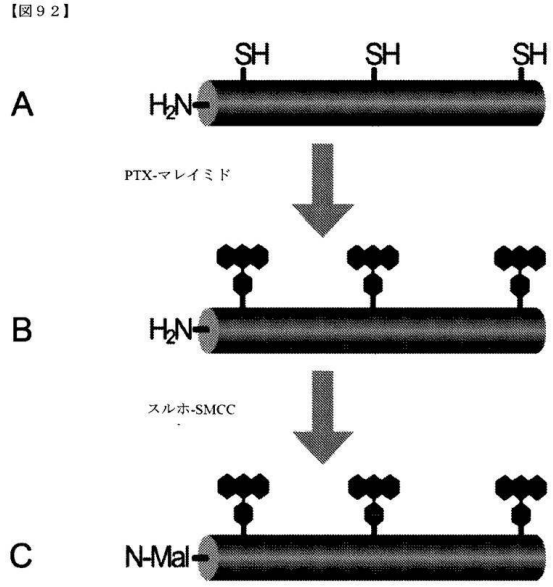
【図９０】



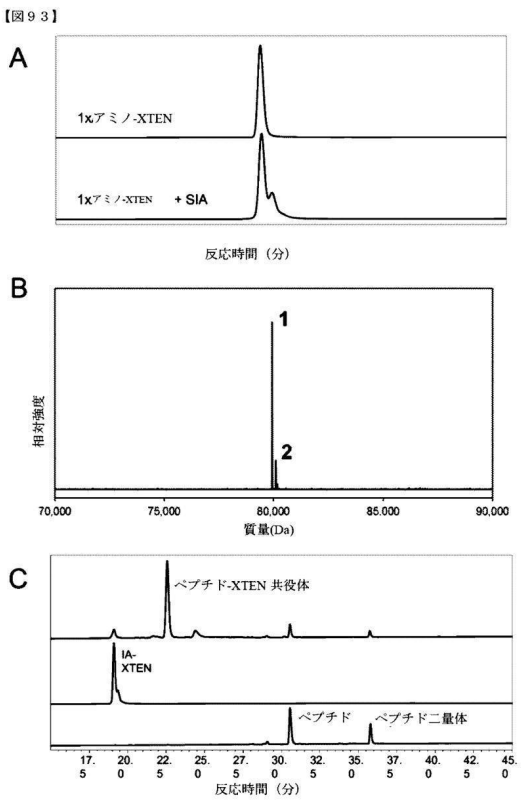
【図９１】



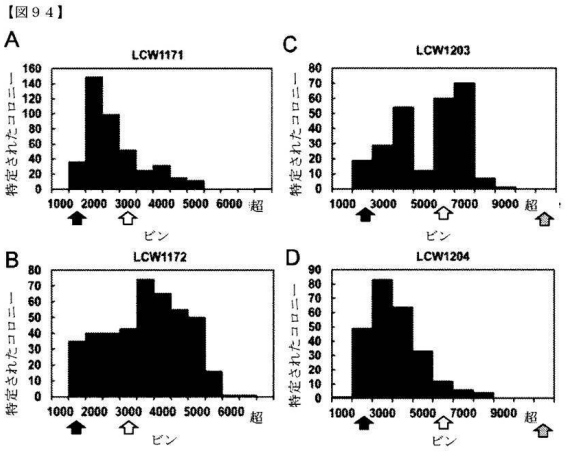
【図９２】



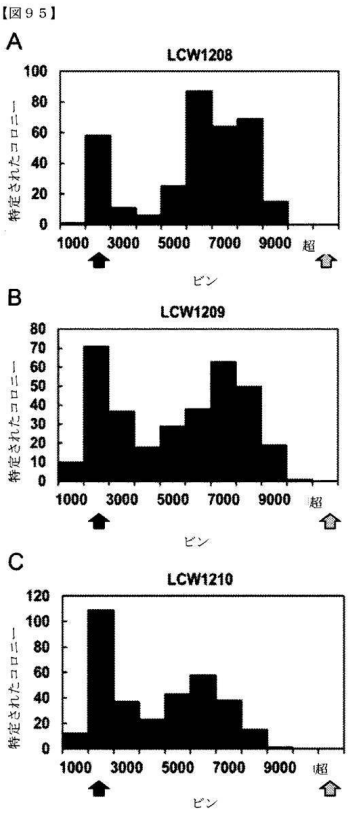
【図９３】



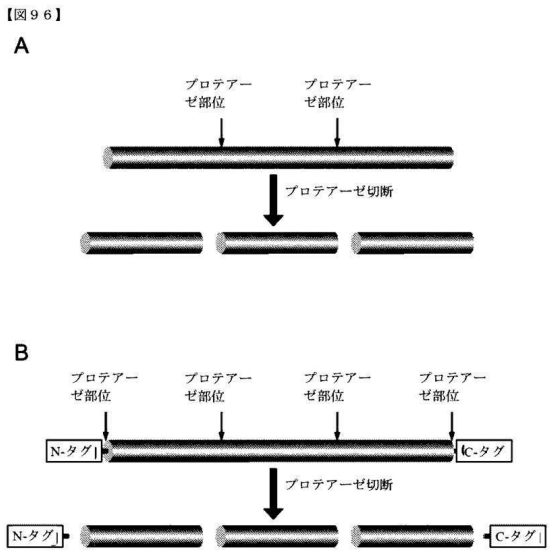
【図９４】



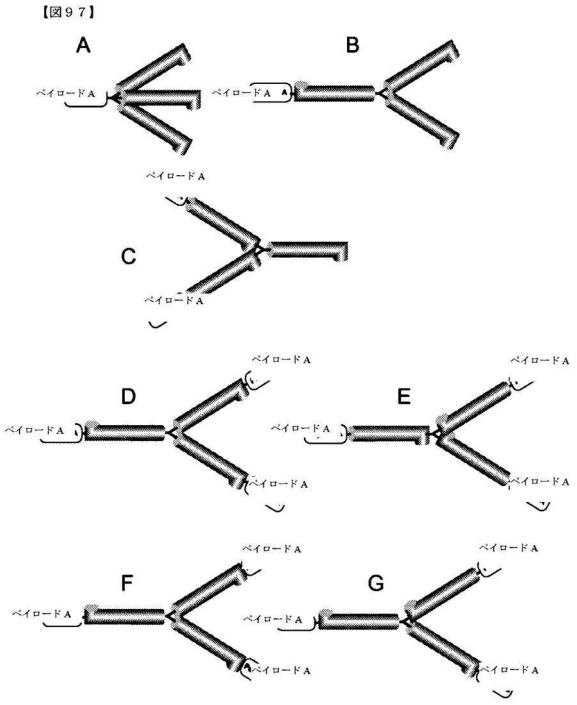
【図９５】



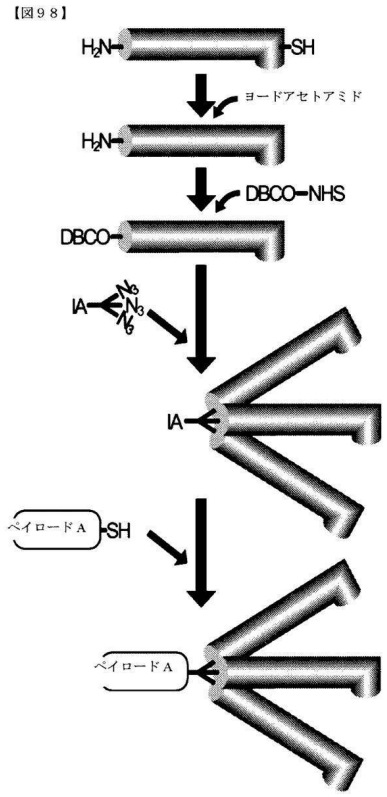
【図９６】



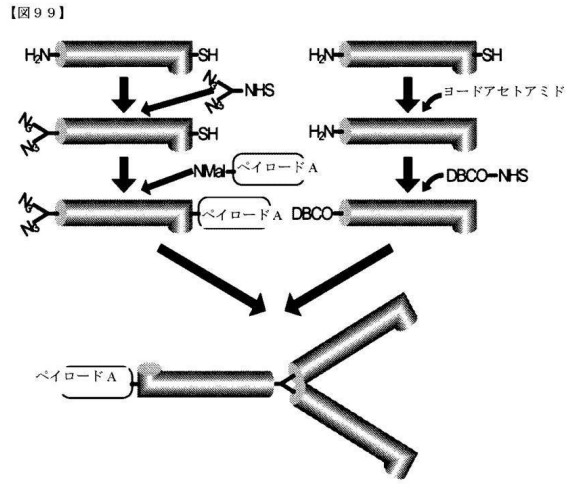
【図９７】



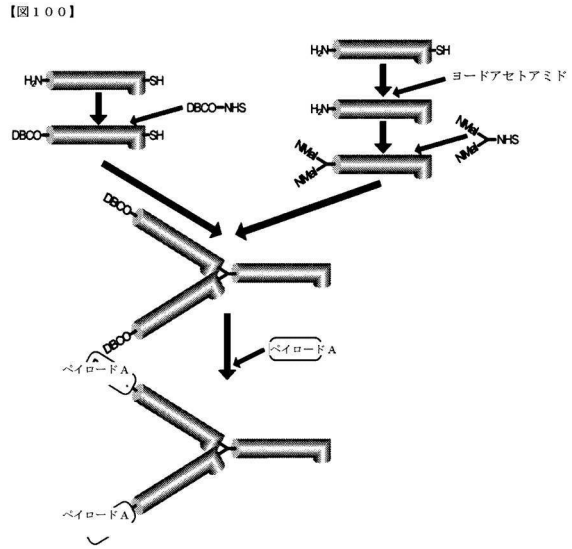
【図９８】



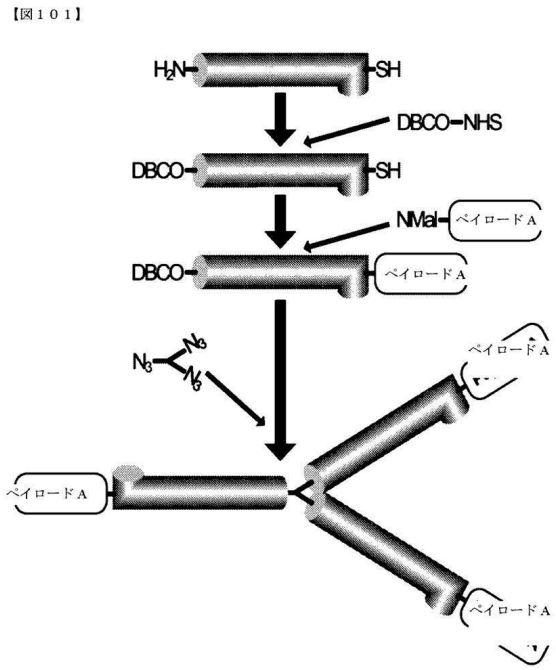
【図９９】



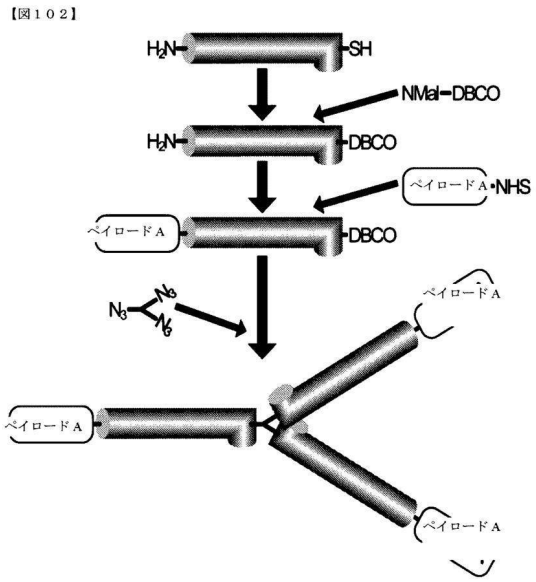
【図１００】



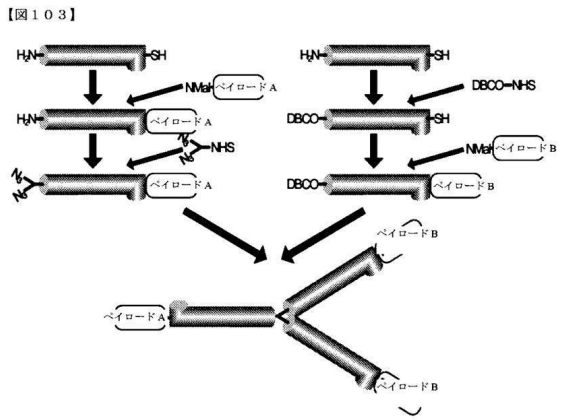
【図１０１】



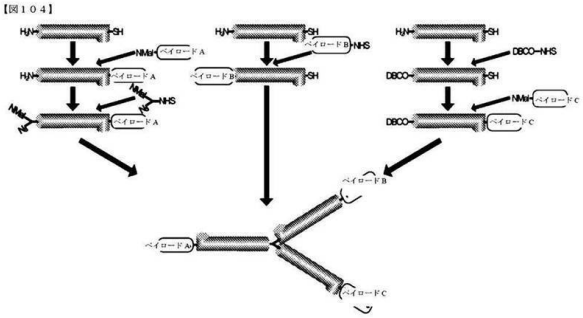
【図１０２】



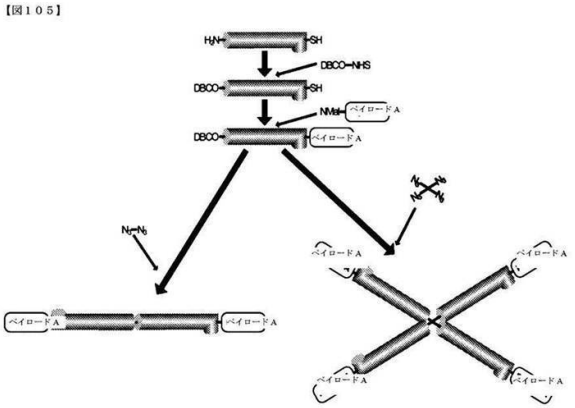
【図１０３】



【図１０４】

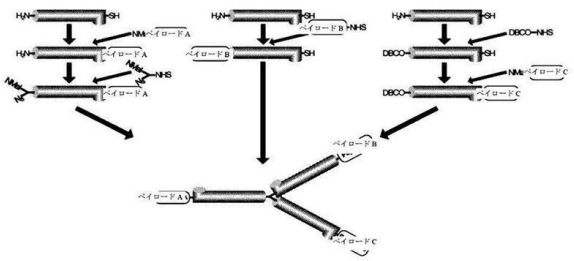


【図１０５】



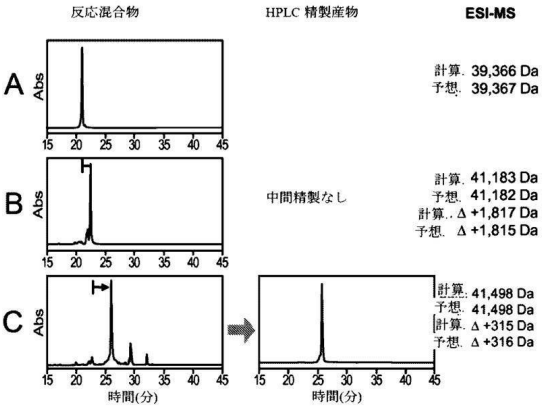
【図１０６】

【図１０６】



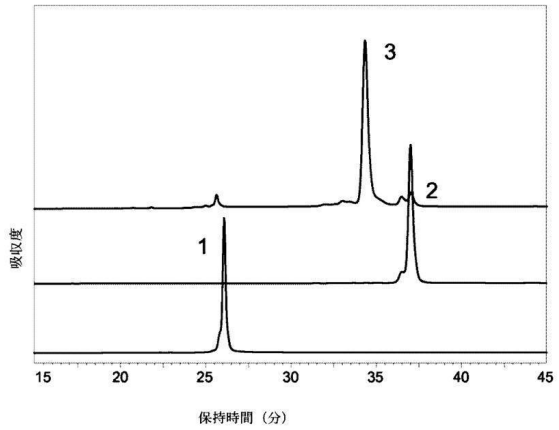
【図１０７】

【図１０７】



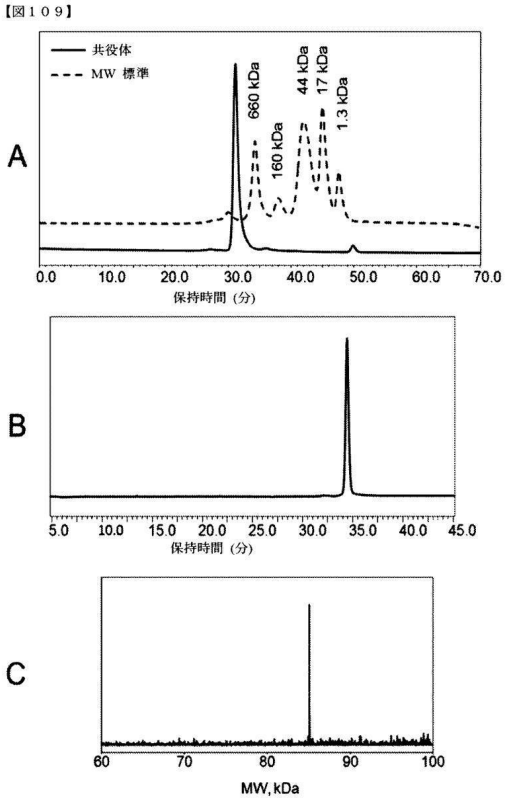
【図１０８】

【図１０８】

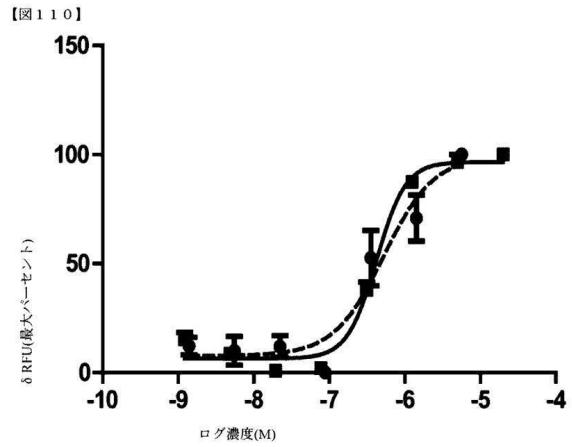


【図１０９】

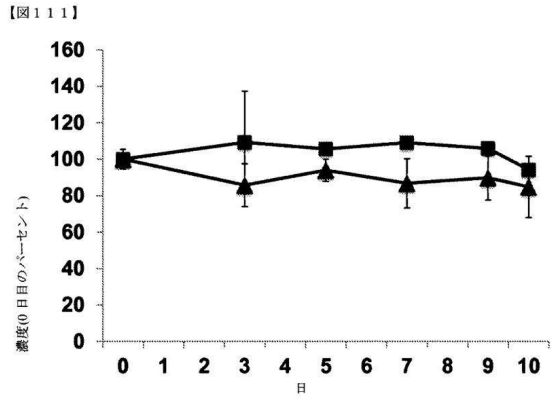
【図１０９】



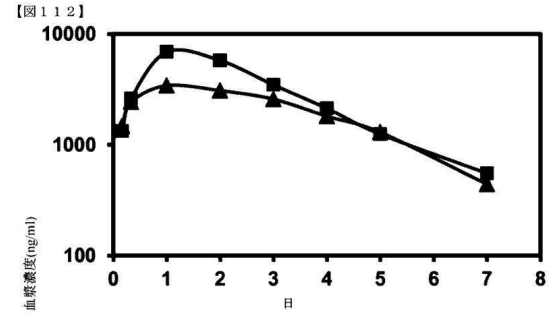
【図１１０】



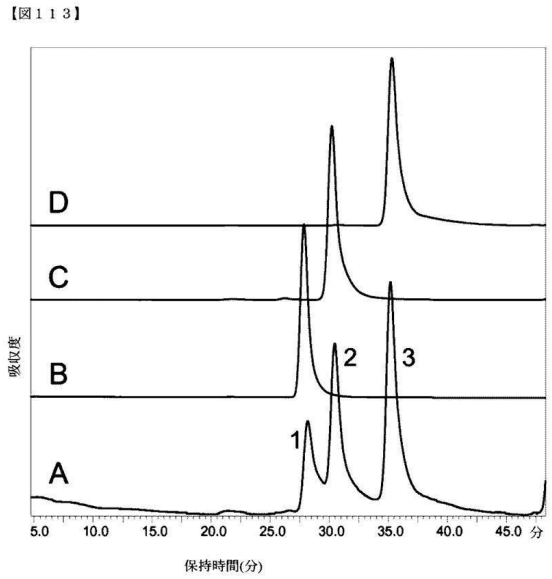
【図１１１】



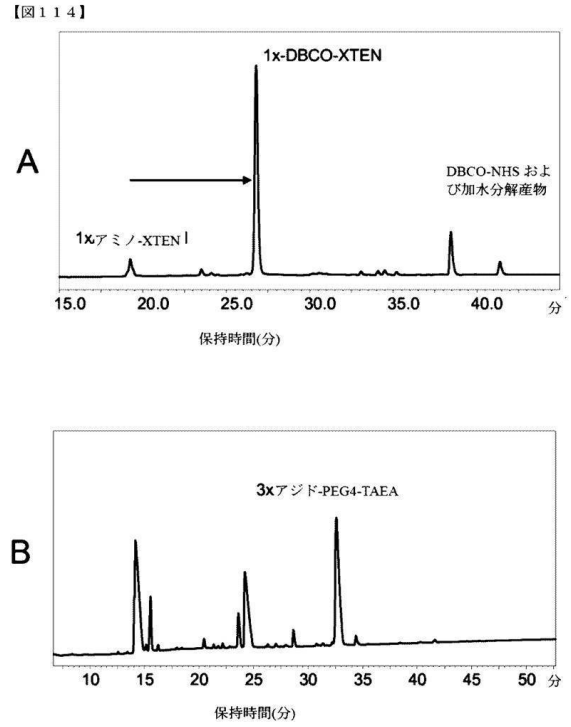
【図１１２】



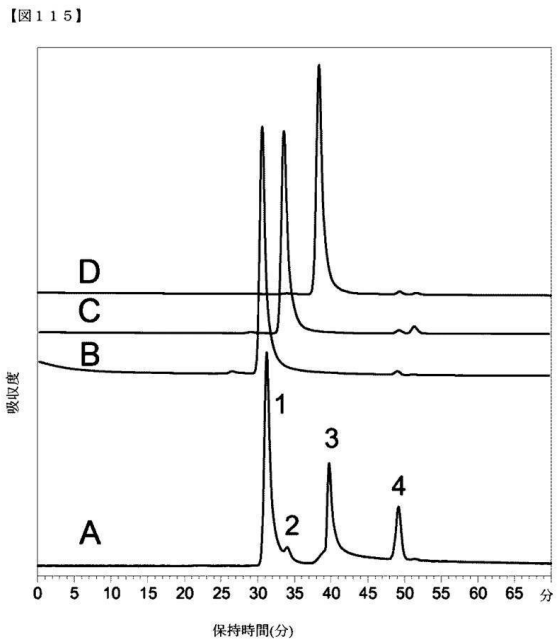
【図１１３】



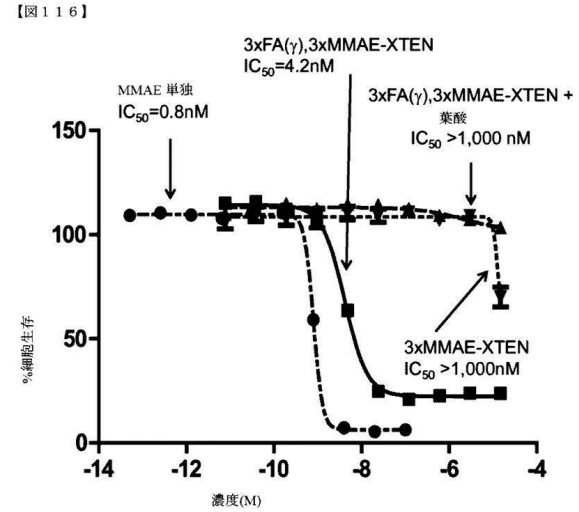
【図１１４】



【図１１５】



【図１１６】



【図１１７Ａ】

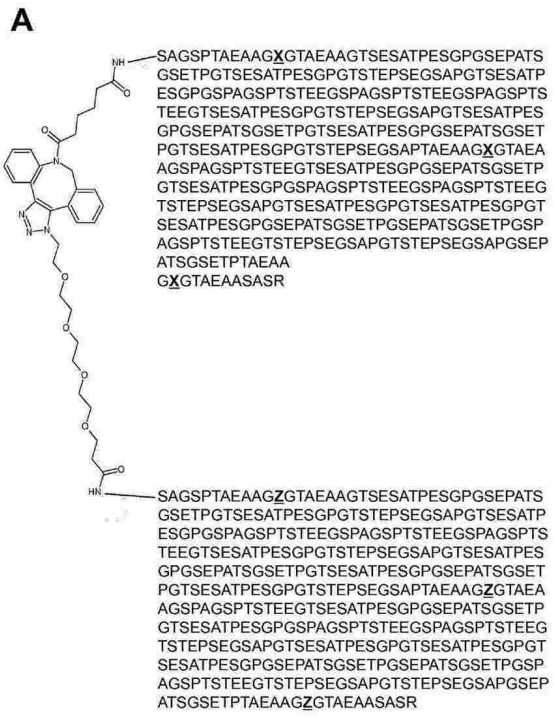
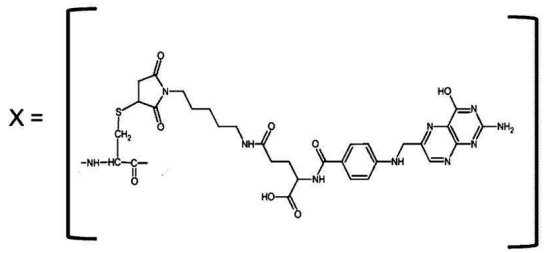


FIG. 117A

【図１１７Ｂ】

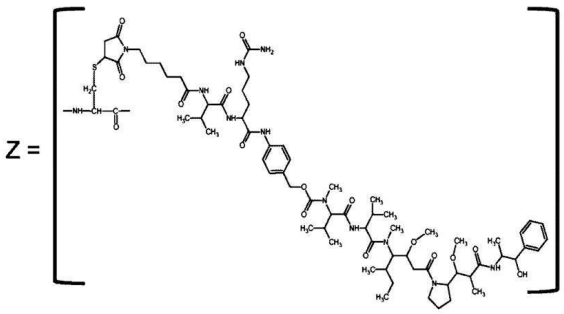
【図１１７Ｂ】



残基 X=葉酸塩 γ-Mal で修飾された Cys の残基

【図１１７Ｃ】

【図１１７Ｃ】



残基 Z= MC-Val-Cit-PAB-MMAE で修飾された Cys の残基

【配列表】

0007564143000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類
C12N 1/21 (2006.01)
C12P 21/02 (2006.01)

FI
C12N 1/21
C12P 21/02 C

米国(US)

(31)優先権主張番号 61/709,942
(32)優先日 平成24年10月4日(2012.10.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５５２， カストロ バレー， シャドー リッジ ドライブ ５８０５
(72)発明者 チアーウェイ ワン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９５０３５， ミルピタス， デイビッド レーン １４４９
(72)発明者 ブライアント マクラフリン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０３０， ミルブレー， ブロードウェイ １９０
(72)発明者 ビーーチェン シム
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０４０， マウンテン ビュー， シャワーズ ドライブ ２２５５， アパートメント ナンバー２１１
(72)発明者 シェン ディン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０６２， レッドウッド シティー， デュエイン ストリート ３６， アパートメント ナンバー１
(72)発明者 チェン グー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５３６， フリーモント， パークサイド ドライブ ２５２１

審査官 西 賢二

(56)参考文献 国際公開第２０１０／０９１１２２（WO，A１）
国際公開第２０１１／１２３８１３（WO，A２）
米国特許出願公開第２００５／０２２１５００（US，A１）

(58)調査した分野 (Int.Cl.，DB名)
C07K 1／００－１９／００
C12N 15／００－１５／９０
CAplus／REGISTRY／MEDLINE／EMBASE／BIOSIS（STN）