(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2010-514699
(P2010-514699A)
(43)公表日　平成22年5月6日(2010.5.6)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 45/00	***(2006.01)***	A61K	45/00	ZNA	4B024
A61K 31/7088	***(2006.01)***	A61K	31/7088		4C084
A61K 38/00	***(2006.01)***	A61K	37/02		4C085
A61K 39/395	***(2006.01)***	A61K	39/395	D	4C086
A61P 3/10	***(2006.01)***	A61K	39/395		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 75 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2009-543251 (P2009-543251)
(86)(22)出願日　平成19年12月21日 (2007.12.21)
(85)翻訳文提出日　平成21年7月22日 (2009.7.22)
(86)国際出願番号　PCT/US2007/088517
(87)国際公開番号　WO2008/080042
(87)国際公開日　平成20年7月3日 (2008.7.3)
(31)優先権主張番号　60/871,142
(32)優先日　平成18年12月21日 (2006.12.21)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　509087759
セントコア・オーソ・バイオテツク・インコーポレーテツド
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１９０４４ホーシヤム・リツジビユードライブ８００／８５０
(74)代理人　110000741
特許業務法人小田島特許事務所
(72)発明者　ストジヤノビク－ススリク，ベドラナ
アメリカ合衆国ニユージヤージイ州０８５５０プリンストンジヤンクシヨン・ノーチエスタードライブ２６

最終頁に続く

(54)【発明の名称】インスリン感受性および脂質プロファイルを改善するための長時間作用型ＧＬＰ－１受容体アゴニストの使用

(57)【要約】
本発明は、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニストまたは指定される部分若しくはバリアントをコードする単離された核酸、ＧＬＰ－１受容体アゴニストまたは指定される部分若しくはバリアント、ベクター、宿主細胞、トランスジェニック動物若しくは植物を包含する最低１種の新規ヒトＧＬＰ－１受容体アゴニストまたは指定される部分若しくはバリアント、ならびに、それらの作成方法、ならびに肥満におけるインスリン感受性若しくは脂質プロファイルを改善するための長時間作用型ＧＬＰ－１受容体アゴニストならびに関連する治療的および／若しくは診断的組成物、方法およびデバイスの使用を包含する使用方法を提供する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
動物若しくはヒト患者のインスリン感受性若しくは脂質プロファイルを改善するために、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニストの有効量を含んでなる組成物を最低１個の細胞、組織、器官若しくは動物に接触若しくは投与することを含んでなる、前記動物患者におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。
【請求項２】
前記有効量が、前記細胞、組織、器官若しくは動物１キログラムあたり０．００１～５０ｍｇのＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物若しくはＧＬＰ－１受容体；０．０００００１～５００ｍｇの前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物若しくはＧＬＰ－１受容体；または０．０００１～１００μｇの前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物若しくはＧＬＰ－１受容体核酸、あるいは同等な濃度である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記接触させること若しくは前記投与することが、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内（ｉｎｔｒａａｂｄｏｍｉｎａｌ）、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内（ｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌ）、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液包内、胸腔内、子宮内、膀胱内、病変内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低１様式による、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
前記有効量が、それの必要な動物で血糖値を低下させることにより前記代謝障害を処置する、請求項５に記載の方法。
【請求項５】
前記有効量が、インスリン産生細胞からのインスリン分泌を増大させることにより前記代謝障害を処置する、請求項５に記載の方法。
【請求項６】
前記有効量が、インスリン産生細胞のアポトーシスを予防することにより前記代謝障害を処置する、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記有効量が、インスリン産生細胞の増殖を増大する前記代謝障害を処置する、請求項５に記載の方法。
【請求項８】
前記ＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態が糖尿病に関係する、請求項１に記載の方法。
【請求項９】
前記ＧＬＰ－１受容体アゴニストが、配列番号１若しくは６の最低１種の１０～３１アミノ酸を含んでなる、請求項１に記載の方法。
【請求項１０】
前記ＧＬＰ－１ミメティボディが、配列番号２若しくは４の最低１種のＧＬＰ－１受容体結合領域を含んでなる、請求項１に記載の方法。
【請求項１１】
前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物核酸が、配列番号７～１４から選択される最低１種を含んでなるアミノ酸配列をコードする最低１種のポリヌクレオチド若しくはそれらに相補的なポリヌクレオチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。

【請求項１２】
前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物核酸が、Ｐ、または式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、該ミメティボディ構築物が代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドをコードする最低１種のポリヌクレオチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。
【請求項１３】
前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が配列番号２若しくは４の連続するアミノ酸の全部を含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。
【請求項１４】
前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物若しくはアゴニストが、配列番号７～１４の最低１種の連続するアミノ酸の全部を含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。
【請求項１５】
前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは配列番号１および６から選択される最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）から選択され；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；ＨはＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号２６）であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４３）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号４４）であり、ｎは１から１０までの整数

であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。

【請求項１６】

前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：

（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）

、
ここでＰは配列番号６の最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）から選択され；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；ＨはＥＳＫＹＧＰＰＣＰＳＣＰＡＰＥＦＬＧＧＰ（配列番号２７）であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＱＥＤＰＥＶＱＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＦＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＧＬＰＳＳＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４５）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＱＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＲＬＴＶＤＫＳＲＷＱＥＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＬＧＫ（配列番号４６）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。

【請求項１７】

前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：

（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）

、
ここでＰは配列番号６の最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）から選択され；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；ＨはＥＳＫＹＧＰＰＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＧＰ（配列番号２８）であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＱＥＤＰＥＶＱＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＦＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＧＬＰＳＳＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４５）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＱＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＲＬＴＶＤＫＳＲＷＱＥＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＬＧＫ（配列番号４６）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、

のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。

【請求項１８】

前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：

（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、

ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、該ミメティボディ構築物が代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４３）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号４４）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、

のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。

【請求項１９】

前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：

（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、

ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、該ミメティボディ構築物が代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＱＥＤＰＥＶＱＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＦＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＧＬＰＳＳＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４５）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＱＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＲＬＴＶＤＫＳＲＷＱＥＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＬＧＫ（配列番号４６）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、

のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。

【請求項２０】

前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは配列番号６の最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、該ミメティボディ構築物が代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。
【請求項２１】
前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）から選択され；Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。
【請求項２２】
前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり；Ｌは、該ミメティボディ構築物が代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり；ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり；ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり；ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ

構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。

【請求項２３】

前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：

（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、

ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、該ミメティボディ構築物が代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは、ＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号２６）、ＥＳＫＹＧＰＰＣＰＳＣＰＡＰＥＦＬＧＧＰ（配列番号２７）およびＥＳＫＹＧＰＰＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＧＰ（配列番号２８）から選択され、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、

のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。

【請求項２４】

前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：

（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、

ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、該ミメティボディ構築物が代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは、ＥＰＫＳＡＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＧＰ（配列番号２９）、ＥＰＫＳＡＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＡＧＧＰ（配列番号３０）、ＥＰＫＳＡＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＬＧＧＰ（配列番号３１）、ＥＰＫＳＡＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＥＧＧＰ（配列番号３２）、ＥＰＫＳＳＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＦＬＧＧＰ（配列番号３３）、ＥＰＫＳＡＤＫＴＨＡＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号３４）、ＥＰＫＳＡＤＫＡＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号３５）およびＥＰＫＳＡＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号３６）、ＡＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号３７）、ＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号３８）、ＥＳＫＹＧＰＰＣＰＳＣＰＡＰＥＡＡＧＧＰ（配列番号３９）、ＥＳＫＹＧＰＰＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号４０）、ＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号４１）ならびにＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＧＰ（配列番号４２）から選択され、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、

のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若

しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。
【請求項２５】
前記最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物が、Ｐ、または式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、
ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、該ミメティボディ構築物が代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
を含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１アゴニスト若しくはミメティボディ構築物核酸、ポリペプチドまたは抗体の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態の診断若しくは処置方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、肥満関連障害におけるインスリン感受性若しくは脂質プロファイルを改善することを包含する、生物学的に活性のタンパク質、フラグメント若しくはリガンドに特異的なＧＬＰ－１ミメティボディ（ｍｉｍｅｔｉｂｏｄｙ）構築物、指定される部分およびバリアントのような哺乳動物グルカゴン様ペプチド－１（ＧＬＰ－１）受容体アゴニスト、ＧＬＰ－１受容体アゴニストをコードするおよび相補的核酸、宿主細胞、ならびにそれらの作成および使用方法、ならびに関連する治療的製剤、投与およびデバイスに関する。
【背景技術】
【０００２】
組換えタンパク質は治療薬の一新生部類である。潜在的治療薬としての組換えタンパク質の使用は、化学修飾の使用もまた包含する治療的タンパク質製剤の進歩の機会を提供した。潜在的に（例えばタンパク質分解酵素へのそれらの曝露を阻害することにより）半減期を延長し、生物学的活性を高め、かつ／若しくは不要な副作用を低減させることによるようなこうした修飾は、治療的タンパク質の治療的有用性を潜在的に高め得る。１種のこうした修飾は、エンテラセプト（ｅｎｔｅｒａｃｅｐｔ）のような受容体タンパク質に融合した免疫グロブリンフラグメントの使用である。融合タンパク質は、より長い半減期を提供すること、若しくはＦｃ受容体結合、プロテインＡ結合および補体固定のような機能を組み込むことの試みにおいて、抗体Ｆｃドメインをもまた構築されている。
【０００３】
肥満は身体の大きさに比例した脂肪量の過剰により明示される慢性疾患である。米国人のおよそ１／３がボディマス指数に基づき太りすぎであり（ＢＭＩ＞２５ｋｇ／ｍ^2）、そして、肥満は流行性の比率に近づきつつあると考えられる。健康に対する肥満の脅威の重要性は、肥満が２型糖尿病、心血管系疾患、変形性関節症および睡眠時無呼吸のような他の疾患を発症するための基礎原因若しくは危険因子であるという事実により強調される。体重の中程度の減少（初期体重の５～１０％）でさえ、肥満関連疾患を発症する危険因子を有意に低減することができ、かつ、肥満、アテローム形成性脂質代謝異常、高血圧およびインスリン抵抗性を特徴とするメタボリック症候群の状態を改善しうる。
【０００４】

肥満を処置する必要性は広く認識されており、そして、成功裏の治療を開発するために全部の主要な製薬企業により努力がなされている。肥満は現在、１）生活習慣変更、２）減量に対する中程度の効果を有しかつ有意の副作用を伴う現在市場にある３種の薬物（Ｐｈｅｎｔｒａｍｉｎｅ、ＯｒｌｉｓａｔａおよびＳｉｂｕｔｒａｍｉｎｅ）ならびに３）外科手術により処置されている。

【０００５】

グルカゴン様ペプチド－１（ＧＬＰ－１）は、栄養摂取に応答して腸内分泌細胞から分泌される３０アミノ酸のホルモンである。ＧＬＰ－１は循環を移動しかつ膵のＧＬＰ－１受容体に結合してインスリン分泌の増大を引き起こす。加えて、ＧＬＰ－１は、循環中に放出されるグルコースの量を低下する胃排出を低下させることが示されている。これらの作用は複合して血糖値を低下させる。従って、ＧＬＰ－１の生物学的活性の機構は、それが２型糖尿病の処置のための魅力的な治療薬であり得ることを示唆する。ＧＬＰ－１はまた肥満を処置する潜在性も有する。いくつかの研究が、末梢若しくは脳室内（ＩＣＶ）いずれかで投与されるＧＬＰ－１が動物モデルで食物摂取を低下させることを示した。肥満の糖尿病患者で連続５日間ＧＬＰ－１を送達するヒトでの試験は食物摂取の低下および体重の減少をもたらした。しかしながら、ＧＬＰ－１はその例外的に短い半減期（$T_{1/2}$約１～２分）により治療薬として開発されていない。それはジペプチジルプロテアーゼ（ＤＰＰ－ＩＶ）により迅速に分解され、従ってＮ末端の２アミノ酸だけ該ペプチドの長さを減少させかつそれを不活性化する。

【０００６】

現在開発中であるか若しくは市場にある数種のＧＬＰ－１アナログが存在する。Ｂｙｅｔｔａ™はＡｍｙｌｉｎおよびＥｌｉ　Ｌｉｌｌｙにより開発された最近上市されたＧＬＰ－１アナログである。それは当初アメリカドクトカゲの唾液中で同定され、そしてＧＬＰ－１に５３％同一である。Ｂｙｅｔｔａ™はＤＰＰ－ＩＶに抵抗性であり、それでもなおそれは未だにその短いｉｎ　ｖｉｖｏ半減期（３０分未満）に部分的により１日２回食前投与を必要とする。Ｂｙｅｔｔａ™を２型糖尿病の治療として評価した臨床試験の間に、ＨｂＡ１ｃレベルは８２週の処置後におよそ１％低下した。興味深いことに、Ｂｙｅｔｔａ™を服用する患者は試験の経過の間体重の持続的減少を有し（５～１０ポンド）、ＧＬＰ－１アナログが肥満の処置に対する潜在性を有するという理論を裏付ける。リラグルチドはＮｏｖｏ　Ｎｏｒｄｉｓｋにより開発されている脂質付加ＧＬＰ－１アナログであり、そして現在臨床試験中である。該分子の薬物動態に基づき、リラグルチドは１日１回投与されるであろうことが予期される。それが週１回若しくは月１回投与され得るような増大された半減期を有するＧＬＰ－１治療は、開発中の他のＧＬＰ－１ペプチドを上回る大きな利点を有するであろう。

【０００７】

糖尿病は、効果的な薬物療法を待つ間に２０２５年までに３億超の人々を冒すであろうと推定される増大しつつある疫病である。２型糖尿病が全症例の９０～９５％を占める。持続的な上昇した血漿グルコースレベルから生じる合併症は心血管系疾患、腎症、ニューロパシーおよび網膜症を包含する。糖尿病の現在の処置は、低血糖および体重増加を包含する多様な有害な副作用を伴う。加えて、２型糖尿病の現在の処置は該疾患を治癒しないが、しかし患者がインスリン療法を必要とするまでの時間を単に延長する。

【０００８】

グルカゴン様ペプチド－１（ＧＬＰ－１）は食物消化後に腸のＬ細胞から分泌される３０アミノ酸のペプチドである。グルコース依存性のインスリン分泌作用、胃排出を遅延させる効果、ならびに食物摂取および体重の低下における役割を包含する多様な好都合な抗糖尿病作用のため、ＧＬＰ－１は２型糖尿病を処置するための潜在的治療として広範に探求されてきた。しかしながら、天然のＧＬＰ－１は、それが２分未満である半減期を伴いプロテアーゼＤＰＰ－ＩＶによりｉｎ　ｖｉｖｏで迅速に不活性化されるために実現可能な治療薬でない。エキセナチドは２型糖尿病の処置に現在承認されているＤＰＰ－ＩＶ抵抗性のＧＬＰ－１アナログである。それは、そのｉｎ　ｖｉｖｏ半減期が３０分未満であ

るために１日２回食前投与を必要とする小ペプチドである。

【０００９】

上述された薬動力学的影響に加え、ＧＬＰ－１およびエキセナチド双方はインスリンの末梢作用に正に影響を及ぼす。糖尿病ラットでの正常血糖高インスリンクランプ試験は、ＧＬＰ－１若しくはエキセナチドの慢性のしかし急性でない投与がインスリン感受性の有意の改善に至ることを示した。

【００１０】

従って、これらおよび当該技術分野で既知の他の問題の１種若しくはそれ以上を克服する改良かつ／若しくは改変されたバージョンのＧＬＰ－１治療的タンパク質を提供する必要性が存在する。

【発明の概要】

【００１１】

［発明の要約］

ミメティボディ構築物技術はペプチド治療薬に新規送達基盤を提供する。ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物はＧＬＰ－１ペプチドの持続性の様式での送達手段を提供することができ、現在開発中のＧＬＰ－１ペプチドを上回る改良を提供する。Ｂｙｅｔｔａ™は該分子の半減期が比較的短い場合であっても持続性の減量を示す。持続性の薬物動態プロファイルをもつＧＬＰ－１アナログは、食物摂取および体重をより大きな程度まで低下させかつインスリン感受性および脂質プロファイルを改善する可能性を有する。さらに、ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、開発中若しくは市場にある他のＧＬＰ－１アナログと極めて異なる。それはペプチドよりむしろ大型タンパク質であり、そしてそれは分子あたり２つのペプチドを有する。その大きさおよび二量体構造に基づき、ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は他の分子に関して識別可能な特徴を有することが期待される。例えば、二量体分子によるＧＬＰ－１受容体の活性化は単量体分子と異なり、シグナル伝達経路の差違をもたらすことが可能である。加えて、該分子の大きさが、異なる薬動力学特性をもたらしうる非常に異なる組織分布プロファイルをもたらすことが可能である。

【００１２】

本発明は、当該技術分野で既知であるものと組合せの、本明細書に記述かつ／若しくは可能にされるところの、改変タンパク質、ペプチド、免疫グロブリン、切断生成物ならびにそれらの他の指定される部分およびバリアントを包含するＧＬＰ－１ミメティボディ構築物を包含するヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト、ならびにＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の組成物、コードする若しくは相補な核酸、ベクター、宿主細胞、組成物、製剤、デバイス、トランスジェニック動物、トランスジェニック植物、ならびにそれらの作成および使用方法を提供する。

【００１３】

好ましくは、こうしたＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、Ｏ－結合グリコシル化部位（限定されるものでないがＶａｌ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができる）をＮ－結合グリコシル化部位（限定されるものでないがＡｓｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができる）に変えることにより発現、精製および／若しくは安定性について改良される。本発明は、ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物（例えばアラニン）、若しくは限定されるものでないが配列Ｖａｌ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができるｏ－グリコシル化部位に対するこうした改良を提供し、好ましいとみられるとおり、例えば限定されるものでないが配列表中に提示される以下の残基でなされるところのＡｓｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｎ－Ｘａａ－ＳｅｒのようなＮ－グリコシル化部位で置換され得る（すなわち、配列番号２、４、７～１４中の位置４４；配列番号４３、４５中の位置６４、配列番号４４、４６および５１中の位置８２；配列番号４８、５０、５３～５５中の位置８８、配列番号４７中の位置８９、配列番号４９中の位置９０；配列番号５６および６３中の位置１０３および／若しくは１８５；または配列番号６０および６１中の位置３９；配列番号６４中の位置７９、あるいは本明細書に開示されるか若しくは当該技術分野で既知のところのいずれかの他の適する位置のＮ－グリコシル化部位Ａｓ

ｎ－Ｘａａ－ＳｅｒへのＶａｌ－Ｘａａ－Ｓｅｒ（Ｏ－グリコシル化部位）の変化）。

【００１４】

ＧＬＰ－１受容体アゴニストは肥満の個体における体重の低減のための新規治療を提供するのに使用し得る。治療的有効性と相関することが既知である動物モデルにおいて、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト、ＣＮＴＯ　７３６、ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、食物摂取および脂肪量の減少により体重を減少させる。

【００１５】

本発明はまた、本明細書に記述されかつ／若しくは当該技術分野で既知のところの最低１種の単離されたＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントも提供する。ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、最低１種のＧＬＰ－１治療的ペプチド（Ｐ）に直接結合されている任意のリンカー配列（Ｌ）と直接結合されている最低１種の部分的可変領域（Ｖ）と直接結合されている最低１種のヒンジ領域若しくはそのフラグメントの少なくとも一部分（Ｈ）と直接結合されている最低１種のＣＨ２領域と直接結合されている最低１種のＣＨ３領域を場合によっては含み得る。

【００１６】

好ましい一態様において、一対のＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジ－部分的Ｖ領域配列－リンカー－治療的ペプチド配列（該対は、場合によっては、会合、あるいは限定されるものでないが最低１個のＣｙｓ－Ｃｙｓジスルフィド結合または最低１種のＣＨ４若しくは他の免疫グロブリン配列を挙げることができる共有結合により連結されていてもよい）。一態様において、ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、限定されるものでないがＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、若しくはそれらのいずれかのサブクラスなどを挙げることができる多様なタイプの免疫グロブリン分子またはそれらのいずれかの組合せを模倣する、式（Ｉ）：

ａ．（Ｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、

［ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは該アゴニスト若しくはミメティボディ構築物が代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る］

を含んでなる。

【００１７】

抗体配列の可変領域は、限定されるものでないが、最低１個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号４７～５５の最低１種の少なくとも一部分若しくはそれらのフラグメントを挙げることができる。ＣＨ２、ＣＨ３およびヒンジ領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号３２～４０を伴い２００４年６月２４日に出願されかつ２００５年１月２０日に公開されたＰＣＴ公開第ＷＯ　０５／０５６０４号（第ＰＣＴ　ＵＳ０４／１９８９８号）明細書の図３２～４０にさらに記述されるところのような最低１個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、表３に記述されるところの配列番号５６～６４の最低１種若しくはそれらのフラグメントの少なくとも一部分を挙げることができる。

【００１８】

従って、本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、ＧＬＰ－１治療的ペプチドおよびその固有の若しくは獲得されたｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｉｎ　ｖｉｖｏ若しくはｉｎ　ｓｉ

ｔｕ特性若しくは活性を提供しつつその固有の特性および機能を伴う抗体すなわち免疫グロブリンの構造若しくは機能の少なくとも一部分を模倣する。抗体の多様な部分および本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物の治療的ペプチド部分は、当該技術分野で既知であるものとともに本明細書に記述されるとおり変動し得る。

【００１９】

本発明はまた、限定されるものでないが、本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知のところの式（Ｉ）のＰ部分に対応する最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド若しくはポリペプチドの既知の生物学的活性を挙げることができる最低１種の活性を有する最低１種の単離されたＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントも提供する。

【００２０】

一局面において、本発明は、配列番号１の、または本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知のところの１個若しくはそれ以上の置換、欠失若しくは挿入を場合によっては伴う最低１種のポリペプチド配列を含んでなる最低１種の単離されたヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物を提供する。別の局面において、本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、最低１～３を含んでなる最低１個のエピトープ、最低１種のリガンド、例えば限定されるものでないがＧＬＰ－１受容体のアミノ酸配列全体、またはそれらのフラグメントへの、最低１種のＧＬＰ－１ペプチド若しくは式（Ｉ）中のミメティボディのＰ部分に対応するポリペプチドの結合を模倣し、該リガンドは、配列番号１の、または本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知のところの１個若しくはそれ以上の置換、欠失若しくは挿入を場合によっては伴う少なくとも一部分に結合する。該最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物は、場合によっては最低10^{-9}Ｍ、最低10^{-10}Ｍ、最低10^{-11}Ｍ若しくは最低10^{-12}Ｍの親和性でＧＬＰ－１受容体を結合し得る。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物は従って、限定されるものでないが受容体若しくはそのフラグメントに対する結合活性を挙げることができる対応する活性について既知の方法に従ってスクリーニングし得る。

【００２１】

本発明はさらに、本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物に対する最低１種の抗イディオタイプ抗体を提供する。抗イディオタイプ抗体若しくはフラグメントは、本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物を特異的に結合する。該抗イディオタイプ抗体は、限定されるものでないが、本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物のＧＬＰ－１リガンド結合領域を競合的に結合する、Ｈ若しくはＬ鎖の最低１個の相補性決定領域（ＣＤＲ）またはそれらのリガンド結合部分、Ｈ鎖若しくはＬ鎖可変領域、Ｈ鎖若しくはＬ鎖定常領域、枠組み領域あるいはそれらのいずれかの部分を挙げることができる免疫グロブリン分子の少なくとも一部分を含んでなるいかなるタンパク質若しくはペプチド含有分子も包含する。本発明のこうしたイディオタイプ抗体は、限定されるものでないがヒト、マウス、ウサギ、ラット、げっ歯類、霊長類などを挙げることができるいかなる哺乳動物も包含し得るか若しくはそれらに由来し得る。

【００２２】

本発明は、一局面において、最低１種の指定される配列、それらのドメイン、部分若しくはバリアントを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の抗イディオタイプ抗体、あるいはそれらの指定される部分若しくはバリアントをコードするポリヌクレオチドを含んでなる、それらに相補的、それらに対する有意の同一性を有する若しくはそれらにハイブリダイズする単離された核酸分子を提供する。本発明はさらに、前記単離されたＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の抗イディオタイプ抗体をコードする核

酸分子の最低１種を含んでなる組換えベクター、こうした核酸および／若しくは組換えベクターを含有する宿主細胞、ならびに、こうしたＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の抗イディオタイプ抗体の核酸、ベクターおよび／若しくは宿主細胞の作成および／若しくは使用方法を提供する。

【００２３】

最低１種の単離された哺乳動物ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の抗イディオタイプ抗体をコードする単離された核酸；該単離された核酸を含んでなる単離された核酸ベクター、および／あるいは該単離された核酸を含んでなる原核生物若しくは真核生物宿主細胞もまた提供される。宿主細胞は、場合によっては、ＣＯＳ－１、ＣＯＳ－７、ＨＥＫ２９３、ＢＨＫ２１、ＣＨＯ、ＢＳＣ－１、Ｈｅｐ　Ｇ２、６５３、ＳＰ２／０、２９３、ＨｅＬａ、骨髄腫若しくはリンパ腫細胞、またはそれらのいずれかの誘導体、不死化若しくは形質転換細胞から選択される最低１種であり得る。

【００２４】

本発明はまた、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の抗イディオタイプ抗体、あるいは指定される部分若しくはバリアントが検出可能かつ／若しくは回収可能な量で発現される条件下で本明細書に記述されかつ／若しくは当該技術分野で既知のところの宿主細胞を培養することを含んでなる、宿主細胞中での最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の抗イディオタイプ抗体、あるいは指定される部分若しくはバリアントの最低１種の発現方法も提供する。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の抗イディオタイプ抗体が検出可能な若しくは回収可能な量で発現されるようなｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｉｎ　ｖｉｖｏ若しくはｉｎ　ｓｉｔｕ条件下でＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の抗イディオタイプ抗体をコードする核酸を翻訳することを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の抗イディオタイプ抗体の製造方法もまた提供される。

【００２５】

ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１抗イディオタイプ抗体を回収可能な量で発現することが可能な宿主細胞またはトランスジェニック動物若しくはトランスジェニック植物を提供することを含んでなる、本発明の最低１種の単離されたヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１抗イディオタイプ抗体の製造方法もまた提供される。

【００２６】

上の方法により製造された最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物が本発明でさらに提供される。

【００２７】

本発明はまた、（ａ）本明細書に記述されるところの単離されたＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントをコードする核酸および／あるいはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物；ならびに（ｂ）適する担体若しくは希釈剤を含んでなる最低１種の組成物も提供する。担体若しくは希釈剤は場合によっては既知の方法により製薬学的に許容できることができる。組成物は場合によっては最低１種のさらなる化合物、タンパク質若しくは組成物をさらに含み得る。

【００２８】

最低１種の単離されたヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物および最低１種の製薬学的に許容できる担体若しくは希釈剤を含んでなる組成物もまた提

供される。該組成物は、場合によっては、糖尿病薬、インスリン代謝関連薬物、糖代謝関連薬物、検出可能な標識若しくはレポーター、抗感染薬、心血管（ＣＶ）系薬、中枢神経系（ＣＮＳ）薬、自律神経系（ＡＮＳ）薬、気道薬、胃腸（ＧＩ）管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬、ＴＮＦアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＴＨＥ）、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋遮断薬、抗菌薬、抗乾癬薬、コルチコステロイド、蛋白同化ステロイド、エリスロポエチン、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬、成長ホルモン、ホルモン補充薬、放射性医薬品、抗うつ薬、抗精神病薬、興奮剤、喘息薬、βアゴニスト、吸入ステロイド、エピネフリン若しくはアナログ、サイトカインまたはサイトカインアンタゴニストの最低１種から選択される最低１種の化合物若しくはタンパク質の有効量をさらに含み得る。

【００２９】

本発明はまた、治療上若しくは予防上有効な量の本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの最低１種の組成物、デバイスおよび／若しくは送達方法も提供する。

【００３０】

本発明はさらに、当該技術分野で既知かつ／若しくは本明細書に記述されるところの、細胞、組織、器官、動物若しくは患者においてかつ／または関連する状態の前、後若しくは間に最低１種のＧＬＰ－１関連状態を調節若しくは処置するために治療上有効な量を投与するための最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の方法若しくは組成物を提供する。

【００３１】

本発明はさらに、当該技術分野で既知のところの、細胞、組織、器官、動物若しくは患者においてかつ／または限定されるものでないが関連疾患若しくは処置状態の前、後若しくは間を挙げることができる多くの異なる状態で必要とされるところの最低１種の代謝、免疫、心血管、感染性、悪性および／若しくは神経学的疾患の症状を処置若しくは低減するための調節のために治療上有効な量で投与される場合の方法若しくは組成物における最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物、指定される部分若しくはバリアントを提供する。

【００３２】

本発明はさらに、当該技術分野で既知のところの、限定されるものでないが関連疾患若しくは処置状態の前、後若しくは間を挙げることができる多くの異なる状態で必要とされるところの、インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連障害、糖代謝関連障害、骨および関節の障害、心血管障害、歯若しくは口腔障害、皮膚科障害、耳、鼻若しくは喉の障害、内分泌若しくは代謝障害、胃腸障害、婦人科障害、肝若しくは胆汁障害、産科障害、血液学的障害、免疫学的若しくはアレルギー性障害、感染性疾患、筋骨格障害、腫瘍学的障害、神経学的障害、栄養障害、眼科障害、小児科障害、中毒障害、精神障害、腎障害、肺障害、またはいずれかの他の既知の障害（例えばＴｈｅ　Ｍｅｒｃｋ　Ｍａｎｕａｌ、第１７版、Ｍｅｒｃｋ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｍｅｒｃｋ　ａｎｄ　Ｃｏ．、ニュージャージー州ホワイトハウスステーション（１９９９）（引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる）を参照されたい）の最低１種の症状を処置若しくは低減するための調節のために治療上有効な量で投与される場合の方法若しくは組成物における最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物、指定される部分若しくはバリアントを提供する。

【００３３】

本発明はまた、本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物のＧＰＬ－１関連状態を診断するための最低１種の組成物、デバイスおよび／若しくは送達方法も提供する。

【００３４】

本発明はさらに、当該技術分野で既知かつ／若しくは本明細書に記述されるところの、

細胞、組織、器官、動物若しくは患者においてかつ／または関連状態の前、後若しくは間の最低１種のＧＬＰ－１関連状態を診断するための最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の方法若しくは組成物を提供する。

【００３５】

（ａ）本発明の最低１種の単離されたヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、該細胞、組織、器官若しくは動物における疾患状態の診断若しくは処置方法もまた提供される。該方法は、場合によっては、０～２４時間、１～７日、１～５２週、１～２４か月、１～５０年またはその中のいずれかの範囲若しくは値あたり、細胞、組織、器官若しくは動物１キログラムあたり０．００１～５０ｍｇの有効量、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｓｉｔｕでなされる場合は同等の濃度若しくはモル濃度を使用することをさらに含み得る。該方法は、場合によっては、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内（ｉｎｔｒａａｂｄｏｍｉｎａｌ）、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内（ｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌ）、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液包内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低１様式により接触若しくは投与することを使用することをさらに含み得る。該方法は、糖尿病薬、インスリン代謝関連薬物、糖代謝関連薬物、検出可能な標識若しくはレポーター、抗感染薬、心血管（ＣＶ）系薬、中枢神経系（ＣＮＳ）薬、自律神経系（ＡＮＳ）薬、気道薬、胃腸（ＧＩ）管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬、ＴＮＦアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋遮断薬、抗菌薬、抗乾癬薬、コルチコステロイド、蛋白同化ステロイド、エリスロポエチン、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬、成長ホルモン、ホルモン補充薬、放射性医薬品、抗うつ薬、抗精神病薬、興奮剤、喘息薬、βアゴニスト、吸入ステロイド、エピネフリン若しくはアナログ、サイトカイン、サイトカインアンタゴニスト、ビタミン、成長因子または抗酸化剤の最低１種から選択される最低１種の化合物若しくはタンパク質の有効量を含んでなる最低１種の組成物を、（ａ）の接触若しくは投与することの前、同時に若しくは後に投与することを場合によってはさらに含み得る。

【００３６】

本発明の最低１種の単離されたヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物を含んでなる医療機器もまた提供され、該デバイスは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内（ｉｎｔｒａａｂｄｏｍｉｎａｌ）、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内（ｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌ）、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液包内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低１様式により最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物を接触若しくは投与するのに適する。

【００３７】

包装資材、および溶液若しくは凍結乾燥された形態の本発明の最低１種の単離されたヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物を含んでなる容器を含んでなる、ヒトの製薬学的若しくは診断的使用のための製品もまた提供される。該製品は、場合によっては、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内（ｉｎｔｒａａｂｄｏｍｉｎａｌ）、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内（ｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌ）、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液包内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮

の送達デバイス若しくは系の一成分として該容器を有することを含み得る。
【００３８】
本発明はさらに、本明細書に記述されるいかなる発明も提供する。
【００３９】
［発明の詳細な記述］
本発明は、単離された、組換えのかつ／若しくは合成のミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント、ならびに最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物をコードする最低１種のポリヌクレオチドを含んでなる組成物およびコーディング核酸分子を提供する。本発明のこうしたミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、特定のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の配列、それらのドメイン、フラグメントおよび指定されるバリアント、ならびに、治療的組成物、方法およびデバイスを包含する前記核酸およびミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの作成および使用方法を含んでなる。
【００４０】
好ましくは、こうしたＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、Ｏ－結合グリコシル化部位（限定されるものでないがＶａｌ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができる）をＮ－結合グリコシル化部位（限定されるものでないがＡｓｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができる）に変えることにより、発現、精製および／若しくは安定性について改良される。本発明はＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物にこうした改良を提供する。
【００４１】
本発明はまた、本明細書に記述されかつ／若しくは当該技術分野で既知のところの最低１種の単離されたＧＬＰ－１ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントも提供する。ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、場合によっては、最低１種のＧＬＰ－１治療的ペプチド（Ｐ）に直接結合されている任意のリンカー配列（Ｌ）と直接結合されている最低１種の部分的可変領域（Ｖ）と直接結合されている最低１種のヒンジ領域若しくはそのフラグメント（Ｈ）と直接結合されている最低１種のＣＨ２領域と直接結合されている最低１種のＣＨ３領域を含み得る。
【００４２】
好ましい一態様において、ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、限定されるものでないがＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ若しくはそれらのいずれかのサブクラスなどを挙げることができる多様なタイプの免疫グロブリン分子またはそれらのいずれかの組合せを模倣する、式（Ｉ）：

ｂ．（（Ｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、

を含んでなり、ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ポリペプチドであり、Ｌは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｍ、ｎ、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０と１０の間かつそれらを包含する整数であり得る。
【００４３】
好ましくは、こうしたＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、Ｏ－結合グリコシル化部位（限定されるものでないがＶａｌ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができる）をＮ－結合グリコシル化部位（限定されるものでないがＡｓｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができる）に変えることにより、発現、精製および／若しくは安定性について改良される。本発明はＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ構築物にこう

した改良を提供する。

【００４４】

従って、本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、治療的ペプチドおよびその固有の若しくは獲得されたｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｉｎ　ｖｉｖｏ若しくはｉｎ　ｓｉｔｕの特性若しくは活性を提供しつつその固有の特性および機能を伴う抗体構造を模倣する。ｔ＝１の好ましい一態様において、単量体ＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジ－部分的Ｊ配列－リンカー－治療的ペプチドは、会合、若しくは限定されるものでないがＣｙｓ－Ｃｙｓジスルフィド結合を挙げることができる共有結合により他の単量体に連結され得る。抗体の多様な部分および本発明の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物のＧＬＰ－１治療的ペプチド部分は、当該技術分野で既知であるものとともに本明細書に記述されるとおり変動し得る。

【００４５】

ＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジの部分は広範囲に修飾されて本発明のバリアントを形成しうるが、但しサルベージ受容体への結合が維持される。こうしたバリアントでは、本発明の融合分子により必要とされない構造上の特徴若しくは機能的活性を提供する１個若しくはそれ以上の天然の部位を除去しうる。例えば、残基を置換若しくは欠失すること、該部位に残基を挿入すること、または該部位を含有する部分を切断することによりこれらの部位を除去しうる。挿入若しくは置換された残基は、ペプチド模倣物若しくはＤ－アミノ酸のような変えられたアミノ酸でもまたありうる。ＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジの１バリアントは、（１）ジスルフィド結合形成、（２）選択された宿主細胞との不適合性、（３）選択された宿主細胞中での発現に際しての不均一性、（４）グリコシル化、（５）補体との相互作用、（６）サルベージ受容体以外のＦｃ受容体への結合、若しくは（７）抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）に影響を及ぼすか若しくは関与する１個若しくはそれ以上の天然の部位若しくは残基を欠くことがある。例示的ＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジバリアントは以下の分子および配列を包含する：１．ジスルフィド結合形成に関与する部位が除去されている。こうした除去は、本発明の分子を産生させるのに使用される宿主細胞中に存在する他のシステイン含有タンパク質との反応を回避しうる。この目的上システイン残基を除去若しくは他のアミノ酸で置換しうる（例えばアラニル、セリル）。システイン残基が除去されている場合であっても、一本鎖ＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジドメインは非共有的に一緒に保持される二量体のＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジドメインをなお形成し得る；２．ＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジ領域は、選択された宿主細胞とそれをより適合性にするように改変される。例えば、該分子を大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）のような細菌細胞中で組換え的に発現させる場合、プロリンイミノペプチダーゼのような大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）中の消化酵素により認識されうるヒンジ中のＰＡ配列を除去しうる；３．選択された宿主細胞中で発現させる場合の不均一性を予防するためにヒンジ領域の一部分を欠失若しくは他のアミノ酸で置換する；４．１個若しくはそれ以上のグリコシル化部位を除去する。典型的にグリコシル化される残基（例えばバリン若しくはアスパラギン）は細胞溶解応答を賦与しうる。こうした残基は欠失しうるか、若しくはグリコシル化されない残基（例えばアラニン）で置換しうるか、あるいは、限定されるものでないが配列Ｖａｌ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができるｏ－グリコシル化部位を、好ましいとみられるとおり、例えば配列表中に提示される以下の残基でなされるところのＡｓｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｎ－Ｘａａ－ＳｅｒのようなＮ－グリコシル化部位で置換し得る（すなわち、配列番号２、４、７～１４中の位置４４；配列番号４３、４５中の位置６４、配列番号４４、４６および５１中の位置８２；配列番号４８、５０、５３～５５中の位置８８、配列番号４７中の位置８９、配列番号４９中の位置９０；配列番号５６および６３中の位置１０３および／若しくは１８５；または配列番号６０および６１中の位置３９；配列番号６４中の位置７９、あるいは本明細書に開示されるか若しくは当該技術分野で既知のところのいずれかの他の適する位置のＮ－グリコシル化部位Ａｓｎ－Ｘａａ－ＳｅｒへのＶａｌ－Ｘａａ－Ｓｅｒ（Ｏ－グリコシル化部位）の変化）；５．Ｃ１ｑ結合部位のような補体との相互作用に関与する部位を除去する。補体の動員は本発明の分子に有利でないことがあり、そして従ってこうしたバリアント

で回避しうる；６．サルベージ受容体以外のＦｃ受容体への結合に影響を及ぼす部位を除去する。ＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジ領域は、本発明の融合分子に必要とされないある種の白血球との相互作用のための部位を有することがあり、そして従って除去しうる；７．ＡＤＣＣ部位を除去する。ＡＤＣＣ部位は当該技術分野で既知であり；例えばＩｇＧ１中のＡＤＣＣ部位に関してＭｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２９（５）：６３３－９（１９９２）を参照されたい。これらの部位は同様に本発明の融合分子に必要とされずそして従って除去しうる。

【００４６】

リンカーポリペプチドは、該ミメティボディ構築物が代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供する。存在する場合、その化学構造は決定的に重要ではない。リンカーは、好ましくは、ペプチド結合により一緒に連結されたアミノ酸から構成される。従って、好ましい態様において、リンカーはペプチド結合により連結された１から２０までのアミノ酸から構成され、該アミノ酸は２０種の天然に存在するアミノ酸から選択される。これらのアミノ酸の数種は、当業者により十分に理解されるとおりグリコシル化されうる。より好ましい一態様において、該１ないし２０アミノ酸はグリシン、アラニン、セリン、プロリン、アスパラギン、グルタミンおよびリシンから選択される。なおより好ましくは、リンカーはグリシンおよびアラニンのような立体障害のない大多数のアミノ酸から構成される。従って、好ましいリンカーは、ポリ（Ｇｌｙ－Ｓｅｒ）、ポリグリシン（とりわけ（Ｇｌｙ）$_4$、（Ｇｌｙ）$_5$）、ポリ（Ｇｌｙ－Ａｌａ）およびポリアラニンである。リンカーの他の特定の例は：（Ｇｌｙ）$_3$Ｌｙｓ（Ｇｌｙ）$_4$（配列番号６５）、（Ｇｌｙ）$_3$ＡｓｎＧｌｙＳｅｒ（Ｇｌｙ）$_2$（配列番号６６）、（Ｇｌｙ）$_3$Ｃｙｓ（Ｇｌｙ）$_4$（配列番号６７）およびＧｌｙＰｒｏＡｓｎＧｌｙＧｌｙ（配列番号６８）である。

【００４７】

上の命名法を説明するため、例えば（Ｇｌｙ）$_3$Ｌｙｓ（Ｇｌｙ）$_4$はＧｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｌｙｓ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙを意味している。ＧｌｙおよびＡｌａの組合せもまた好ましい。ここで示されるリンカーは例示的であり；本発明の範囲内のリンカーははるかにより長くてもよく、また、他の残基を包含しうる。

【００４８】

非ペプチドリンカーもまた可能である。例えば－ＮＨ－（ＣＨ$_2$）ｓ－Ｃ（Ｏ）－（ここでｓ＝２～２０）のようなアルキルリンカーを使用し得る。これらのアルキルリンカーは、低級アルキル（例えばＣ$_1$－Ｃ$_6$）低級アシル、ハロゲン（例えばＣｌ、Ｂｒ）、ＣＮ、ＮＨ２、フェニルなどのようないかなる立体障害のない基によってもさらに置換されうる。例示的一非ペプチドリンカーは１００ないし５０００ｋＤ、好ましくは１００ないし５００ｋＤの分子量を有するＰＥＧリンカーである。ペプチドリンカーは上述されたと同一の様式で誘導体を形成するように変えてもよい。

【００４９】

本明細書で使用されるところの「ＧＬＰ－１ペプチド」または「ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体」は、最低１種のＧＬＰ－１ペプチド、ＧＬＰ－１フラグメント、ＧＬＰ－１ホモログ、ＧＬＰ－１アナログ若しくはＧＬＰ－１誘導体であり得る。ＧＬＰ－１ペプチドは、それらが膵のβ細胞のＧＬＰ－１受容体に結合することによりインスリン分泌活性を表すような天然のＧＬＰ－１（７－３７）に対する十分な相同性を有する約２５から約４５個までの天然に存在する若しくは天然に存在しないアミノ酸を有する。ＧＬＰ－１（７－３７）は、配列番号１５：Ｈｉｓ－Ａｌａ－Ｇｌｕ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ｐｈｅ－Ｔｈｒ－Ｓｅｒ－Ａｓｐ－Ｖａｌ－Ｓｅｒ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｇｌｙ－Ｇｌｎ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｌｙｓ－Ｇｌｕ－Ｐｈｅ－Ｉｌｅ－Ａｌａ－Ｔｒｐ－Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｌｙｓ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ－Ｇｌｙのアミノ酸配列を有する。

【００５０】

ＧＬＰ－１フラグメントは、ＧＬＰ－１（７－３７）またはそのアナログ若しくは誘導体のＮ末端および／若しくはＣ末端からの１個若しくはそれ以上のアミノ酸の切断後に得

られるポリペプチドである。ＧＬＰ－１ホモログは、ＧＬＰ－１（７－３７）またはそのフラグメント若しくはアナログのＮ末端および／若しくはＣ末端に１個若しくはそれ以上のアミノ酸が付加されたペプチドである。ＧＬＰ－１アナログは、ＧＬＰ－１（７－３７）の１個若しくはそれ以上のアミノ酸が修飾かつ／若しくは置換されているペプチドである。ＧＬＰ－１アナログは、該アナログがインスリン分泌活性を有するようなＧＬＰ－１（７－３７）若しくはＧＬＰ－１（７－３７）のフラグメントに対する十分な相同性を有する。ＧＬＰ－１誘導体は、ＧＬＰ－１ペプチド、ＧＬＰ－１ホモログ若しくはＧＬＰ－１アナログのアミノ酸配列を有するがしかしそのアミノ酸側基、α－炭素原子、末端アミノ基若しくは末端カルボン酸基の１個若しくはそれ以上の化学修飾を付加的に有する分子と定義される。

【００５１】

多数の活性のＧＬＰ－１フラグメント、アナログおよび誘導体が当該技術分野で既知であり、そしてこれらのアナログおよび誘導体のいずれもまた本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の一部であり得る。当該技術分野で既知の数種のＧＬＰ－１アナログおよびＧＬＰ－１フラグメントは、米国特許第５，１１８，６６６号、同第５，９７７，０７１号および同第５，５４５，６１８号明細書、ならびにＡｄｅｌｈｏｒｓｔら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６９：６２７５（１９９４）に開示されている。例は、限定されるものでないがＧＬＰ－１（７－３４）、ＧＬＰ－１（７－３５）、ＧＬＰ－１（７－３６）、Ｇｌｎ９－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｄ－Ｇｌｎ９－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｔｈｒ１６－Ｌｙｓ１８－ＧＬＰ－１（７－３７）およびＬｙｓ１８－ＧＬＰ－１（７－３７）を挙げることができる。

【００５２】

「ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物」、「ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物部分」または「ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物フラグメント」および／あるいは「ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物バリアント」などは、限定されるものでないが配列番号１の最低１種を挙げることができる最低１種のＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体の限定されるものでないがｉｎ ｖｉｔｒｏ、ｉｎ ｓｉｔｕおよび／若しくは好ましくはｉｎ ｖｉｖｏのリガンド結合を挙げることができる最低１種の生物学的活性を有するか、模倣するか若しくは刺激する。例えば、適するＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物、指定される部分若しくはバリアントはまた、最低１種のＧＬＰ－１受容体のシグナル伝達または他の測定可能若しくは検出可能な活性も調節、増大、修飾、活性化し得る。

【００５３】

本発明の方法および組成物で有用なＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、タンパク質リガンド、例えばＧＬＰ－１受容体に結合する適する親和性、および場合によってはかつ好ましくは低毒性を有することを特徴とする。とりわけ、可変領域、定常領域（ＣＨ１部分を含まない）および枠組みの部分、またはそのいずれかの部分（例えば可変Ｈ若しくはＬ鎖のＪ、Ｄ若しくはＶ領域の一部分；最低１種のヒンジ領域、定常Ｈ鎖若しくはＬ鎖の少なくとも一部分など）のような個々の成分が個別にかつ／若しくは集合的に場合によってはかつ好ましくは低免疫原性を有するＧＬＰ－１ミメティボディ構築物が本発明で有用である。本発明で使用し得るミメティボディ構築物は、症状の良好ないし優れた軽減および低毒性を伴い長期間患者を処置するそれらの能力を場合によっては特徴とする。低免疫原性および／若しくは高親和性ならびに他の定義されない特性が、達成される治療成績に貢献しうる。「低免疫原性」は、処置される患者の約７５％未満、または好ましくは約５０、４５、４０、３５、３０、３５、２０、１５、１０、９、８、７、６、５、４、３、２および／若しくは１％未満で有意のＨＡＭＡ、ＨＡＣＡ若しくはＨＡＨＡ応答を生じさせること、ならびに／あるいは処置される患者で低力価（二重抗原エンザイムイムノアッセイで測定される約３００未満、好ましくは約１００未満）を生じさせることと本明細書で定義する（例えばＥｌｌｉｏｔｔら、Ｌａｎｃｅｔ ３４４：１１２５－１１２７（１９

９４）を参照されたい）。

【００５４】

利用性。本発明の単離された核酸は、限定されるものでないがインスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連障害、過剰な体脂肪に関係するいずれかの太りすぎ状態、インスリン代謝関連障害、糖代謝関連障害、免疫障害若しくは疾患、心血管障害若しくは疾患、感染性、悪性および／若しくは神経学的障害若しくは疾患、ならびに他の既知の若しくは指定されるタンパク質関連態の最低１種から選択される最低１種のインスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連状態を調節、処置、軽減する、その発生を予防するのを助ける、若しくはその症状を低下させることを細胞、組織、器官若しくは動物（哺乳動物およびヒトを包含する）で遂げるために使用し得る、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物、それらのフラグメント若しくは指定されるバリアントの製造に使用し得る。

【００５５】

こうした方法は、症状、効果若しくは機構のこうした調節、処置、軽減、予防若しくは低下の必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニストまたは受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物あるいは指定される部分若しくはバリアントを含んでなる組成物または製薬学的組成物の有効量を投与することを含み得る。有効量は、本明細書に記述されるか若しくは関連技術分野で既知のところの既知の方法を使用して行われかつ決定されるとおり、単一若しくは複数投与あたり約０．０００１ないし５００ｍｇ／ｋｇの、または単一若しくは複数投与あたり０．０１～５０００μｇ／ｍｌ血清濃度の血清濃度あるいはその中のいずれかの有効範囲若しくは値を達成するための量を含み得る。

【００５６】

引用。本明細書で引用される全部の刊行物若しくは特許は、それらが本発明の時点での従来技術を示すためにかつ／若しくは本発明の記述および使用可能性を提供するために、引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる。刊行物は、いかなる学術的若しくは特許刊行物、または全部の録音・録画、電子若しくは印刷形式を包含するいずれかの媒体形式で利用可能ないかなる他の情報も指す。以下の参考文献は引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる：Ａｕｓｕｂｅｌら編、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．、ニューヨーク州ニューヨーク（１９８７－２００５）；Ｓａｍｂｒｏｏｋら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第２版、ニューヨーク州コールドスプリングハーバー（１９８９）；ＨａｒｌｏｗとＬａｎｅ、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、ニューヨーク州コールドスプリングハーバー（１９８９）；Ｃｏｌｌｉｇａｎら編、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．、ニューヨーク（１９９４－２００５）；Ｃｏｌｌｉｇａｎら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、ニューヨーク州ニューヨーク（１９９７－２００５）。

【００５７】

本発明のミメティボディ構築物。ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、場合によっては、最低１種のＧＬＰ－１治療的ペプチド（Ｐ）に直接結合されている任意のリンカー配列（Ｌ）と直接結合されている最低１種の部分的可変領域（Ｖ）と直接結合されている最低１種のコアヒンジ領域を含んでなるような最低１種のヒンジ領域フラグメントの少なくとも一部分（Ｈ）と直接結合されている最低１種のＣＨ２領域と直接結合されている最低１種のＣＨ３領域を含み得る。好ましい一態様において、一対のＣＨ３－ＣＨ２－Ｈ－Ｖ－Ｌ－Ｐは、会合、若しくは限定されるものでないがＣｙｓ－Ｃｙｓジスルフィド結合を挙げることができる共有結合により連結され得る。従って、本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物は、治療的ペプチドおよびその固有の若しくは獲得されたｉｎ ｖｉｔｒｏ、

ｉｎ　ｖｉｖｏ若しくはｉｎ　ｓｉｔｕの特性若しくは活性を提供しつつその固有の特性および機能を伴う抗体構造を模倣する。抗体の多様な部分および本発明の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物の治療的ペプチド部分は、当該技術分野で既知であるものとともに本明細書に記述されるとおり変動し得る。

【００５８】

本発明のミメティボディ構築物は、従って、限定されるものでないが、延長された半減期、増大された活性、より特異的な活性、増大されたアビディティー、増大若しくは減少されたオフ速度（ｏｆｆ　ｒａｔｅ）、活性の選択された若しくはより適するサブセット、より小さい免疫原性、最低１種の所望の治療効果の増大された質若しくは持続期間、より少ない副作用などの最低１種を挙げることができる、既知のタンパク質と比較して最低１種の適する特性を提供する。

【００５９】

式（Ｉ）のミメティボディ構築物のフラグメントは、当該技術分野で既知かつ／若しくは本明細書に記述されるところの酵素切断、合成若しくは組換え技術により製造し得る。ミメティボディ構築物はまた、１個若しくはそれ以上の終止コドンが天然の終止部位の上流に導入された抗体遺伝子を使用して多様な切断型でも製造し得る。ミメティボディ構築物の多様な部分を慣習的技術により化学的に一緒に結合し得るか、若しくは遺伝子工学技術を使用して連続した１タンパク質として製造し得る。例えば、ヒト抗体鎖の定常領域の最低１種をコードする核酸を発現させて本発明のミメティボディ構築物での使用のための連続したタンパク質を製造し得る。例えば、一本鎖抗体に関してＬａｄｎｅｒら、米国特許第４，９４６，７７８号明細書およびＢｉｒｄ，Ｒ．Ｅ．ら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４２：４２３－４２６（１９８８）を参照されたい。

【００６０】

本明細書で使用されるところの「ヒトミメティボディ構築物」という用語は、該タンパク質の実質的にすべての部分（例えばＧＬＰ－１ペプチド、C_Hドメイン（例えばC_H2、C_H3）、ヒンジ、Ｖ）が、ただ小さな配列の変化若しくは変動を伴いヒトで実質的に非免疫原性であることが期待される抗体を指す。こうした変化若しくは変動は、場合によってはかつ好ましくは、改変されないヒト抗体若しくは本発明のミメティボディ構築物に関してヒトでの免疫原性を保持若しくは低下する。従って、ヒト抗体および対応する本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物はキメラ若しくはヒト化抗体と異なる。ヒト免疫グロブリン（例えばＨ鎖および／若しくはＬ鎖）遺伝子を発現することが可能であるヒト以外の動物若しくは細胞によりＧＬＰ－１ミメティボディ構築物を製造し得ることが指摘される。

【００６１】

それらの最低１種のタンパク質リガンドに特異的であるヒトミメティボディ構築物を、単離されたＧＬＰ－１受容体若しくは（合成ペプチドのような合成分子を包含する）その一部分のような適切なリガンドに対し設計し得る。こうしたミメティボディ構築物の製造は、最低１種のタンパク質若しくはその部分のリガンド結合領域若しくは配列を同定かつ特徴付けするための既知技術を使用して実施する。

【００６２】

好ましい一態様において、本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、最低１種の細胞株、混合細胞株、不死化細胞、または不死化かつ／若しくは培養細胞のクローン集団により産生される。不死化タンパク質産生細胞は適する方法を使用して製造し得る。好ましくは、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、機能的に再配列されているか若しくは機能的再配列を受け得かつ限定されるものでないが式（Ｉ）［ここで当該技術分野で既知のとおりＣ末端可変領域の部分をＶに、ヒンジ領域をＨに、ＣＨ２をＣＨ２におよびＣＨ３をＣＨ３に使用し得る］を挙げることができる本明細書に記述されるところのアゴニスト若しくはミメティボディ構築物の構造をさらに含んでなる最低１種のヒト免疫グロブリン遺伝子座由来の若しく

はそれに実質的に類似の配列を有するＤＮＡを含んでなる核酸若しくはベクターを提供することにより生成される。

【００６３】

本明細書で使用されるところの「機能的に再配列される」という用語は、Ｖ（Ｄ）Ｊ組換えを受けておりそれにより１免疫グロブリン鎖（例えばＨ鎖）若しくはそのいずれかの部分をコードする免疫グロブリン遺伝子を生じる免疫グロブリン遺伝子座からの核酸の１セグメントを指す。機能的に再配列された免疫グロブリン遺伝子は、例えばヌクレオチド配列決定、遺伝子セグメント間のコーディング結合部にアニーリングし得るプローブを使用するハイブリダイゼーション（例えばサザンブロッティング、ノーザンブロッティング）、若しくは遺伝子セグメント間のコーディング結合部にアニーリングし得るプライマーを用いる免疫グロブリン遺伝子の酵素的増幅（例えばポリメラーゼ連鎖反応）のような適する方法を使用して直接若しくは間接的に同定し得る。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物、または特定の可変領域若しくは特定の配列（例えば最低１種のＰ配列）を含んでなる可変領域を含んでなる部分若しくはバリアントを細胞が産生するかどうかもまた、適する方法を使用して決定し得る。

【００６４】

本発明のミメティボディ構築物、指定される部分およびバリアントは、それらの乳中でこうしたミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを産生するヤギ、ウシ、ウマ、ヒツジなどのようなトランスジェニック動物すなわち哺乳動物を提供するように、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントをコードする核酸を使用してもまた製造し得る。こうした動物は抗体をコードする配列に適用されるところの既知の方法を使用して提供し得る。例えば、限定されるものでないが米国特許第５，８２７，６９０号；同第５，８４９，９９２号；同第４，８７３，３１６号；同第５，８４９，９９２号；同第５，９９４，６１６号；同第５，５６５，３６２号；同第５，３０４，４８９号明細書など（それらのそれぞれは引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる）を参照されたい。

【００６５】

本発明のミメティボディ構築物、指定される部分およびバリアントは、植物部分若しくはそれらから培養された細胞中でこうしたミメティボディ構築物、指定される部分若しくはバリアントを産生するトランスジェニック植物および培養植物細胞（限定されるものでないがタバコおよびトウモロコシを挙げることができる）を提供するように、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントをコードする核酸を使用して付加的に製造し得る。制限しない一例として、組換えタンパク質を発現するトランスジェニックタバコ葉が、例えば誘導可能なプロモーターを使用して、大量の組換えタンパク質を提供するのに成功裏に使用されている。例えばＣｒａｍｅｒら、Ｃｕｒｒ．Ｔｏｐ．Ｍｉｃｒｏｂｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４０：９５－１１８（１９９９）およびその中に引用される参考文献を参照されたい。また、トランスジェニックトウモロコシ（ｍａｉｚｅ）すなわちトウモロコシ（ｃｏｒｎ）が、他の組換え系で産生若しくは天然の供給源から精製されたものに同等な生物学的活性を伴い商業生産レベルで哺乳動物タンパク質を発現させるのに使用されている。例えばＨｏｏｄら、Ａｄｖ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．４６４：１２７－１４７（１９９９）およびその中に引用される参考文献を参照されたい。一本鎖ミメティボディ構築物（ｓｃＦｖ）のような抗体フラグメントを包含する抗体は、タバコ種子およびバレイショ塊茎を包含するトランスジェニック植物種子からもまた大量に産生されている。例えばＣｏｎｒａｄら、Ｐｌａｎｔ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３８：１０１－１０９（１９９８）およびその中に引用される参考文献を参照されたい。従って、本発明のミメティボディ構築物、指定される部分およびバリアントは既知の方法に従ってトランスジェニック植物を使用してもまた産生し得る。例えばＦｉｓｃｈｅｒら、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ａｐｐｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．３０：９９－１０８（Ｏｃｔ、１９９９）、Ｍａら、Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１３：５２２－７（１９９５）；Ｍａら、Ｐｌａｎｔ Ｐｈｙｓｉｏｌ．１０９：３４

１－６（１９９５）；Ｗｈｉｔｅｌａｍら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓ．２２：９４０－９４４（１９９４）；およびそれらの中で引用される参考文献もまた参照されたい。上の参考文献は引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる。

【００６６】

本発明のミメティボディ構築物は広範な親和性（K_D）でヒトタンパク質リガンドを結合し得る。好ましい一態様において、本発明の最低１種のヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物は、場合によっては最低１種のタンパク質リガンドを高親和性で結合し得る。例えば、本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物は、約10^{-7}Ｍに等しいか若しくはそれ未満のK_D、あるいはより好ましくは約０．１～９．９（またはその中のいずれかの範囲若しくは値）×10^{-7}、10^{-8}、10^{-9}、10^{-10}、10^{-11}、10^{-12}若しくは10^{-13}Ｍまたはその中のいずれかの範囲若しくは値に等しいか若しくはそれ未満のK_Dで最低１種のタンパク質リガンドを結合し得る。

【００６７】

最低１種のタンパク質リガンドに対するＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物のアフィニティー若しくはアビディティーは、例えば抗体－抗原結合のアフィニティー若しくはアビディティーを測定するのに使用されるところのいずれかの適する方法を使用して実験的に測定し得る。（例えば、Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、Ｐａｕｌ，Ｗ．Ｅ．編、Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ：ニューヨーク州ニューヨーク（１９８４）中、Ｂｅｒｚｏｆｓｋｙら、“Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ａｎｔｉｇｅｎ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ”；Ｋｕｂｙ，Ｊａｎｉｓ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ：ニューヨーク州ニューヨーク（１９９２）；およびその中に記述される方法を参照されたい）。特定のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物とリガンドの相互作用の測定されるアフィニティーは、異なる条件（例えば塩濃度、ｐＨ）下で測定される場合に変動し得る。従って、アフィニティーおよび他のリガンド結合パラメータ（例えばK_D、K_a、K_d）の測定は、好ましくはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物およびリガンドの標準化された溶液、ならびに本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知の緩衝液のような標準化された緩衝液を用いて行う。

【００６８】

核酸分子。それらの指定されるフラグメント、バリアント若しくはコンセンサス配列をさらに含んでなる、配列番号１および６の少なくとも一方、ならびに抗体の少なくとも一部分の連続するアミノ酸の最低９０～１００％をコードするヌクレオチド配列（上の配列は本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物を提供するために式（Ｉ）のＰ配列として挿入される）のような本明細書に提供される情報、またはこれらの配列の最低１種を含んでなる寄託されたベクターを使用して、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントをコードする本発明の核酸分子を、本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知のところの方法を使用して得ることができる。

【００６９】

本発明の核酸分子は、ｍＲＮＡ、ｈｎＲＮＡ、ｔＲＮＡ若しくはいずれかの他の形態のようなＲＮＡの形態、または、限定されるものでないがクローニングにより得られたか若しくは合成で製造されたｃＤＮＡおよびゲノムＤＮＡを挙げることができるＤＮＡの形態、あるいはそれらのいずれかの組合せであり得る。ＤＮＡは三本鎖、二本鎖若しくは一本鎖、またはそれらのいずれかの組合せであり得る。ＤＮＡ若しくはＲＮＡの最低１本の鎖のいずれの部分も、センス鎖としてもまた知られるコーディング鎖であり得るか、または、それはアンチセンス鎖ともまた称される非コーディング鎖であり得る。

【００７０】

本発明の単離された核酸分子は、場合によっては１個若しくはそれ以上のイントロンを含むオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を含んでなる核酸分子、ＧＬＰ－１受容体

アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントのコーディング配列を含んでなる核酸分子；および、上述されたものと実質的に異なるヌクレオチド配列を含んでなるがしかし遺伝暗号の縮重により本明細書に記述されかつ／若しくは当該技術分野で既知のところの最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物をなおコードする核酸分子を包含し得る。もちろん遺伝暗号は当該技術分野で公知である。従って、本発明の特定のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントをコードするこうした縮重核酸バリアントを生成させることは当業者に慣例であろう。例えばＡｕｓｕｂｅｌら、上記を参照されたく、そしてこうした核酸バリアントは本発明に包含される。

【００７１】

本明細書に示されるとおり、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントをコードする核酸を含んでなる本発明の核酸分子は、限定されるものでないが、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物のフラグメントのアミノ酸配列を独力でコードするもの；ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物全体またはその一部分のコーディング配列；ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物、フラグメント若しくは部分のコーディング配列、ならびに最低１種のシグナルリーダー、または、限定されるものでないが転写、スプライシングおよびポリアデニル化シグナルを包含するｍＲＮＡプロセシングにおいてある役割（例えばｍＲＮＡのリボソーム結合および安定性）を演じる転写され翻訳されない配列のような非コーディング５’および３’配列を挙げることができる付加的な非コーディング配列と一緒になった最低１種のイントロンのような前述の付加的なコーディング配列を伴う若しくは伴わない融合ペプチドのコーディング配列のような付加的な配列；付加的な機能性を提供するもののような付加的なアミノ酸をコードする付加的なコーディング配列を挙げることができる。従って、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントをコードする配列は、融合されたＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物、またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物のフラグメント若しくは部分を含んでなる指定される部分若しくはバリアントの精製を容易にするペプチドをコードする配列のようなマーカー配列に融合させ得る。

【００７２】

本明細書に記述されるところのポリヌクレオチドに選択的にハイブリダイズするポリヌクレオチド。本発明は、本明細書に開示されるポリヌクレオチド、またはその指定されるバリアント若しくは部分を包含する本明細書に開示される他者に選択的ハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする単離された核酸を提供する。従って、本態様のポリヌクレオチドは、こうしたポリヌクレオチドを含んでなる核酸を単離、検出かつ／若しくは定量するために使用し得る。

【００７３】

低若しくは中程度の緊縮性のハイブリダイゼーション条件は、典型的に、しかし独占的にでなく相補配列に関して低下された配列同一性を有する配列とともに使用する。中程度および高緊縮性の条件は場合によってはより大きな同一性の配列に使用し得る。低緊縮性条件は、約４０～９９％の配列同一性を有する配列の選択的ハイブリダイゼーションを可能にし、そしてオルソロガス若しくはパラロガス配列を同定するのに使用し得る。

【００７４】

場合によっては、本発明のポリヌクレオチドは、本明細書に記述されるポリヌクレオチドによりコードされるＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの少なくとも一部分をコードすることができる。本発明のポリヌクレオチドは、本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントをコードするポリヌクレオチドへの選択的ハイブリダイゼーションに使用し得る核酸配列を包含する。例えばＡｕｓｕｂｅｌ、上記；Ｃｏｌｌｉｇａｎ、上記（それぞれ引用することより本明細書にそっくりそのまま組

み込まれる）を参照されたい。

【００７５】

核酸の構築。本発明の単離された核酸は、当該技術分野で公知のところの（ａ）組換え法、（ｂ）合成技術、（ｃ）精製技術、若しくはそれらの組合せを使用して作成し得る。

【００７６】

核酸は便宜的に本発明のポリヌクレオチドに加えて配列を含み得る。例えば、１個若しくはそれ以上のエンドヌクレアーゼ制限部位を含んでなるマルチクローニング部位をポリヌクレオチドの単離で補助するために核酸に挿入し得る。また、翻訳可能な配列を本発明の翻訳されたポリヌクレオチドの単離で補助するために挿入し得る。例えば、ヘキサヒスチジンマーカー配列は本発明のタンパク質を精製するための便宜的手段を提供する。本発明の核酸（コーディング配列を除外する）は、場合によっては本発明のポリヌクレオチドのクローニングおよび／若しくは発現のためのベクター、アダプター若しくはリンカーとなる。

【００７７】

付加的な配列を、クローニングおよび／若しくは発現においてそれらの機能を最適化するため、ポリヌクレオチドの単離で補助するため、または細胞中へのポリヌクレオチドの導入を向上させるためにこうしたクローニングおよび／若しくは発現配列に付加し得る。クローニングベクター、発現ベクター、アダプターおよびリンカーの使用は当該技術分野で公知である。例えばＡｕｓｕｂｅｌ、上記；若しくはＳａｍｂｒｏｏｋ、上記を参照されたい。

【００７８】

核酸の組換え構築方法。ＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ若しくはそれらのいずれかの組合せのような本発明の単離された核酸組成物は、当業者に既知のいずれかの数のクローニング方法論を使用して生物学的供給源から得ることができる。いくつかの態様において、適する緊縮性の条件下で本発明のポリヌクレオチドに選択的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプローブを使用して、ｃＤＮＡ若しくはゲノムＤＮＡライブラリー中の所望の配列を同定する。ＲＮＡの単離ならびにｃＤＮＡおよびゲノムライブラリーの構築は当業者に公知である。（例えばＡｕｓｕｂｅｌ、上記；若しくはＳａｍｂｒｏｏｋ、上記を参照されたい）。

【００７９】

核酸の合成構築方法。本発明の単離された核酸は既知の方法による直接化学合成によってもまた製造し得る（例えばＡｕｓｕｂｅｌら、上記を参照されたい）。化学合成は一般に一本鎖オリゴヌクレオチドを生じ、それを相補配列とのハイブリダイゼーションにより、若しくは鋳型として該一本鎖を使用するＤＮＡポリメラーゼでの重合により二本鎖ＤＮＡに転化し得る。当業者は、ＤＮＡの化学合成は約１００若しくはそれ以上の塩基の配列に制限され得る一方で、より長い配列をより短い配列の連結により得ることができることを認識するであろう。

【００８０】

組換え発現カセット。本発明は本発明の核酸を含んでなる組換え発現カセットをさらに提供する。本発明の核酸配列、例えば本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントをコードするｃＤＮＡ若しくはゲノム配列を使用して、最低１種の所望の宿主細胞に導入し得る組換え発現カセットを構築し得る。組換え発現カセットは、典型的に、意図している宿主細胞中でのポリヌクレオチドの転写を指図することができる転写開始制御配列に作動可能に連結されている本発明のポリヌクレオチドを含むことができる。異種および非異種（すなわち内因性）双方のプロモーターを本発明の核酸の発現を指図するのに使用し得る。

【００８１】

いくつかの態様において、プロモーター、エンハンサー若しくは他の要素としてはたらく単離された核酸を、本発明のポリヌクレオチドの発現を上方若しくは下方制御するように非異種の形態の本発明のポリヌクレオチドの適切な位置（上流、下流若しくはイントロ

ン中）に導入し得る。例えば、内因性プロモーターは当該技術分野で既知のところの突然変異、欠失および／若しくは置換によりｉｎ　ｖｉｖｏ若しくはｉｎ　ｖｉｔｒｏで変えることができる。本発明のポリヌクレオチドは所望のとおりセンス若しくはアンチセンスいずれの向きでも発現させ得る。センス若しくはアンチセンスいずれかの向きでの遺伝子発現の制御が、観察可能な特徴に対する直接の影響を有し得ることが認識されるであろう。別の抑制方法はセンス抑制である。センスの向きに構成された核酸の導入は、標的遺伝子の転写を阻害するための有効な手段であることが示されている。

【００８２】

ベクターおよび宿主細胞。本発明はまた、本発明の単離された核酸分子を包含するベクター、該組換えベクターで遺伝子的に工作されている宿主細胞、および当該技術分野で公知であるのところの組換え技術による最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの製造にも関する。例えばＳａｍｂｒｏｏｋら、上記；Ａｕｓｕｂｅｌら、上記（それぞれ引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる）を参照されたい。

【００８３】

ポリヌクレオチドは、場合によっては宿主中での増殖のための選択可能なマーカーを含有するベクターに結合し得る。一般に、プラスミドベクターは電気穿孔法などのような適する既知の方法を使用して細胞に導入され、他の既知の方法は、リン酸カルシウム沈殿のような沈殿物として、若しくは荷電した脂質との複合体中でのベクターの使用を包含する。ベクターがウイルスである場合、適切なパッケージング細胞株を使用してそれをｉｎ　ｖｉｔｒｏでパッケージングし得、そしてその後宿主細胞中に形質導入し得る。

【００８４】

ＤＮＡ挿入断片は適切なプロモーターに効果的に連結すべきである。発現構築物は、場合によっては転写開始、終止の少なくとも一方のための部位、および転写された領域中に翻訳のためのリボソーム結合部位をさらに含有することができる。該構築物により発現される成熟転写物のコーディング部分は、好ましくは翻訳されるべきｍＲＮＡの初めの翻訳開始および終わりに適切に配置された終止コドン（例えばＵＡＡ、ＵＧＡ若しくはＵＡＧ）を包含することができ、ＵＡＡおよびＵＡＧが哺乳動物若しくは真核生物細胞発現に好ましい。

【００８５】

発現ベクターは、好ましくは、しかし場合によっては最低１種の選択可能なマーカーを包含することができる。こうしたマーカーは、限定されるものでないが、真核生物細胞培養物のためのメトトレキサート（ＭＴＸ）、ジヒドロ葉酸還元酵素（ＤＨＦＲ、米国特許第４，３９９，２１６号；同第４，６３４，６６５号；同第４，６５６，１３４号；同第４，９５６，２８８号；同第５，１４９，６３６号；同第５，１７９，０１７号明細書、アンピシリン、ネオマイシン（Ｇ４１８）、ミコフェノール酸若しくはグルタミン合成酵素（ＧＳ、米国特許第５，１２２，４６４号；同第５，７７０，３５９号；同第５，８２７，７３９号明細書）耐性、ならびに大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）および他の細菌若しくは原核生物中で培養するためのテトラサイクリン若しくはアンピシリン耐性遺伝子（上の特許はここに引用することによりそっくりそのまま組み込まれる）を挙げることができる。上述された宿主細胞に適切な培地および培養条件は当該技術分野で既知である。適するベクターは当業者に容易に明らかであろう。ベクター構築物の宿主細胞中への導入は、リン酸カルシウムトランスフェクション、ＤＥＡＥ－デキストラン媒介性トランスフェクション、陽イオン性脂質媒介性トランスフェクション、電気穿孔法、形質導入、感染若しくは他の既知の方法により遂げることができる。こうした方法は、Ｓａｍｂｒｏｏｋ、上記、第１～４章および第１６～１８章；Ａｕｓｕｂｅｌ、上記、第１、９、１３、１５、１６章のような当該技術分野で記述されている。

【００８６】

本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、融合タンパク質のような改変された形態で発現さ

せ得、そして分泌シグナルのみならずしかしまた付加的な異種機能領域も包含し得る。例えば、付加的なアミノ酸、とりわけ荷電したアミノ酸の一領域を、宿主細胞中、精製の間、若しくはその後の取扱および貯蔵の間の安定性および難分解性を向上させるためにＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントのＮ末端に付加し得る。また、精製を容易にするために、本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントにペプチド部分を付加し得る。こうした領域はＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはその最低１種のフラグメントの最終調製前に除去し得る。こうした方法は、Ｓａｍｂｒｏｏｋ、上記、第１７．２９～１７．４２章および第１８．１～１８．７４章；Ａｕｓｕｂｅｌ、上記、第１６、１７および１８章のような多くの標準的実験室手引書に記述されている。

【００８７】

当業者は、本発明のタンパク質をコードする核酸の発現に利用可能な多数の発現系を知っている。

【００８８】

ミメティボディ構築物、それらの指定される部分若しくはバリアントの製造に有用な細胞培養物を具体的に説明するのは哺乳動物細胞である。哺乳動物細胞系はしばしば細胞の単層の形態にあることができるとは言え、哺乳動物細胞懸濁液若しくはバイオリアクターもまた使用し得る。無傷のグリコシル化されたタンパク質を発現することが可能な多数の適する宿主細胞株が当該技術分野で開発されており、そして、ＣＯＳ－１（例えばＡＴＣＣ　ＣＲＬ　１６５０）、ＣＯＳ－７（例えばＡＴＣＣ　ＣＲＬ－１６５１）、ＨＥＫ２９３、ＢＨＫ２１（例えばＡＴＣＣ　ＣＲＬ－１０）、ＣＨＯ（例えばＡＴＣＣ　ＣＲＬ　１６１０、ＤＧ－４４）およびＢＳＣ－１（例えばＡＴＣＣ　ＣＲＬ－２６）細胞株、ｈｅｐＧ２細胞、Ｐ３Ｘ６３Ａｇ８．６５３、ＳＰ２／０－Ａｇ１４、２９３細胞、ＨｅＬａ細胞などを包含し、これらは例えばＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ、バージニア州マナサスから容易に入手可能である。好ましい宿主細胞は骨髄腫およびリンパ腫細胞のようなリンパ系起源の細胞を包含する。とりわけ好ましい宿主細胞は、Ｐ３Ｘ６３Ａｇ８．６５３細胞（ＡＴＣＣ受託番号ＣＲＬ－１５８０）およびＳＰ２／０－Ａｇ１４細胞（ＡＴＣＣ受託番号ＣＲＬ－１８５１）である。

【００８９】

これらの細胞の発現ベクターは、限定されるものでないが複製起点；プロモーター（例えば後期若しくは初期ＳＶ４０プロモーター、ＣＭＶプロモーター（例えば米国特許第５，１６８，０６２号；同第５，３８５，８３９号明細書）、ＨＳＶ　ｔｋプロモーター、ｐｇｋ（ホスホグリセリン酸キナーゼ）プロモーター、ＥＦ－１αプロモーター（例えば米国特許第５，２６６，４９１号明細書）、最低１種のヒト免疫グロブリンプロモーター；エンハンサー、および／若しくはリボソーム結合部位、ＲＮＡスプライス部位、ポリアデニル化部位（例えばＳＶ４０ラージＴ　Ａｇポリ Ａ付加部位）のようなプロセシング情報部位、ならびに転写終止配列を挙げることができる発現制御配列の１種若しくはそれ以上を包含し得る。例えばＡｕｓｕｂｅｌら、上記；Ｓａｍｂｒｏｏｋら、上記を参照されたい。本発明の核酸若しくはタンパク質の製造に有用な他の細胞は、例えばＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎの細胞株およびハイブリドーマのカタログ（Ｃａｔａｌｏｇｕｅ　ｏｆ　Ｃｅｌｌ　Ｌｉｎｅｓ　ａｎｄ　Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ）（ｗｗｗ．ａｔｃｃ．ｏｒｇ）または他の既知の若しくは商業的供給源から既知かつ／若しくは入手可能である。

【００９０】

真核生物宿主細胞を使用する場合、ポリアデニル化若しくは転写終止配列が典型的にベクターに組み込まれる。終止配列の一例はウシ成長ホルモン遺伝子からのポリアデニル化配列である。転写物の正確なスプライシングのための配列もまた包含し得る。スプライシング配列の一例は、ＳＶ４０からのＶＰ１イントロン（Ｓｐｒａｇｕｅら、Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．４５：７７３－７８１（１９８３））である。加えて、宿主細胞中での複製を制御す

る遺伝子配列を当該技術分野で既知のとおりベクターに組み込み得る。

【００９１】

ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはそれらの指定される部分若しくはバリアントの精製。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、限定されるものでないがプロテインＡ精製、硫酸アンモニウム若しくはエタノール沈殿、酸抽出、陰イオン若しくは陽イオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロース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、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを挙げることができる公知の方法により組換え細胞培養物から回収かつ精製し得る。高速液体クロマトグラフィー（「ＨＰＬＣ」）もまた精製に使用し得る。例えばＣｏｌｌｉｇａｎ、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、若しくはＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、ニューヨーク州ニューヨーク（１９９７－２００５）、例えば第１、４、６、８、９、１０章（それぞれ引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる）を参照されたい。

【００９２】

本発明のミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、天然に精製される産物、化学合成手順の生成物、ならびに組換え技術により例えば酵母、高等植物、昆虫および哺乳動物細胞を包含する真核生物宿主から製造される生成物を包含する。組換え製造手順で使用される宿主に依存して、本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントはグリコシル化され得るか、若しくはグリコシル化されないことができ、グリコシル化が好ましい。こうした方法は、Ｓａｍｂｒｏｏｋ、上記、第１７．３７～１７．４２節；Ａｕｓｕｂｅｌ、上記、第１０、１２、１３、１６、１８および２０章、Ｃｏｌｌｉｇａｎ、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ、上記、第１２～１４章（全部は引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる）のような多くの標準的実験室手引書に記述されている。

【００９３】

ミメティボディ構築物、指定されるフラグメントおよび／若しくはバリアント。本発明の単離されたミメティボディ構築物は、本明細書により完全に論考されるところの本発明のポリヌクレオチドのいずれか１種によりコードされるＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント、あるいはいずれかの単離若しくは製造されたＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはそれらの指定される部分若しくはバリアントを含んでなる。

【００９４】

好ましくは、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはリガンド結合部分若しくはバリアントは最低１種のＧＬＰ－１タンパク質リガンドを結合し、そしてそれにより対応するタンパク質若しくはそのフラグメントの最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を提供する。多様な治療上若しくは診断上意義のあるタンパク質が当該技術分野で公知であり、および、こうしたタンパク質の適するアッセイ若しくは生物学的活性もまた当該技術分野で公知である。

【００９５】

本発明に適するＧＬＰ－１ペプチド、バリアントおよび誘導体の制限しない例は、配列番号１：Ｈｉｓ－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｇｌｙ－Ｘａａ５－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｘａａ９－Ｘａａ１０－Ｘａａ１１－Ｘａａ１２－Ｘａａ１３－Ｘａａ１４－Ｘａａ１５－Ｘａａ１６－Ｘａａ１７－Ｘａａ１８－Ｘａａ１９－Ｘａａ２０－Ｘａａ２１－Ｐｈｅ－Ｘａａ２３－Ｘａａ２４－Ｘａａ２５－Ｘａａ２６－Ｘａａ２７－Ｘａａ２８－Ｘａａ２９－Ｘａａ３０－Ｘａａ３１として現れ、ここで：Ｘａａ２はＡｌａ、Ｇｌｙ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ３はＧｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ５はＴｈｒ、Ａｌａ、Ｇｌｙ、Ｓｅｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ａｒｇ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘ

ａａ６はＰｈｅ、Ｈｉｓ、Ｔｒｐ若しくはＴｙｒであり；Ｘａａ７はＴｈｒ若しくはＡｓｎであり；Ｘａａ８はＳｅｒ、Ａｌａ、Ｇｌｙ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ９はＡｓｐ若しくはＧｌｕであり；Ｘａａ１０はＶａｌ、Ａｌａ、Ｇｌｙ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｍｅｔ、Ｔｙｒ、Ｔｒｐ、Ｈｉｓ、Ｐｈｅ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１１はＳｅｒ、Ｖａｌ、Ａｌａ、Ｇｌｙ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１２はＳｅｒ、Ｖａｌ、Ａｌａ、Ｇｌｙ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１３はＴｙｒ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１４はＬｅｕ、Ａｌａ、Ｍｅｔ、Ｇｌｙ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１５はＧｌｕ、Ａｌａ、Ｔｈｒ、Ｓｅｒ、Ｇｌｙ、Ｇｌｎ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１６はＧｌｙ、Ａｌａ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｇｌｎ、Ａｓｎ、Ａｒｇ、Ｃｙｓ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１７はＧｌｎ、Ａｓｎ、Ａｒｇ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１８はＡｌａ、Ｇｌｙ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ａｒｇ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１９はＡｌａ、Ｇｌｙ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｍｅｔ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ２０はＬｙｓ、Ａｒｇ、Ｈｉｓ、Ｇｌｎ、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、Ｇｌｕ若しくはＡｓｐであり；Ｘａａ２１はＧｌｕ、Ｌｅｕ、Ａｌａ、Ｈｉｓ、Ｐｈｅ、Ｔｙｒ、Ｔｒｐ、Ａｒｇ、Ｇｌｎ、Ｔｈｒ、Ｓｅｒ、Ｇｌｙ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ２３はＩｌｅ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ若しくはＧｌｕであり；Ｘａａ２４はＡｌａ、Ｇｌｙ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ２５はＴｒｐ、Ｐｈｅ、Ｔｙｒ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ２６はＬｅｕ、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ２７はＶａｌ、Ｌｅｕ、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｉｌｅ、Ａｒｇ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ２８はＬｙｓ、Ａｓｎ、Ａｒｇ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ若しくはＡｓｐであり；Ｘａａ２９はＧｌｙ、Ａｌａ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ａｒｇ、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ３０はＡｒｇ、Ｈｉｓ、Ｔｈｒ、Ｓｅｒ、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；およびＸａａ３１はＧｌｙ、Ａｌａ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ａｒｇ、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ、Ｌｙｓである。

【００９６】

ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体の別の好ましい群は、配列番号６：Ｈｉｓ－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｘａａ９－Ｘａａ１０－Ｓｅｒ－Ｘａａ１２－Ｔｙｒ－Ｘａａ１４－Ｇｌｕ－Ｘａａ１６－Ｘａａ１７－Ｘａａ１８－Ｘａａ１９－Ｌｙｓ－Ｘａａ２１－Ｐｈｅ－Ｘａａ２３－Ａｌａ－Ｔｒｐ－Ｌｅｕ－Ｘａａ２７－Ｘａａ２８－Ｇｌｙ－Ｘａａ３０に例示され、ここで：Ｘａａ２はＡｌａ、Ｇｌｙ若しくはＳｅｒであり；Ｘａａ３はＧｌｕ若しくはＡｓｐであり；Ｘａａ６はＰｈｅ若しくはＴｙｒであり；Ｘａａ７はＴｈｒ若しくはＡｓｎであり；Ｘａａ８はＳｅｒ、Ｔｈｒ若しくはＡｌａであり；Ｘａａ９はＡｓｐ若しくはＧｌｕであり；Ｘａａ１０はＶａｌ、Ｇｌｎ、Ｍｅｔ若しくはＩｌｅであり；Ｘａａ１２はＳｅｒ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１４はＬｅｕ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ若しくはＭｅｔであり；Ｘａａ１６はＧｌｙ、Ａｌａ、Ｇｌｕ若しくはＡｓｐであり；Ｘａａ１７はＧｌｎ若しくはＧｌｕであり；Ｘａａ１８はＡｌａ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１９はＡｌａ、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ若しくはＭｅｔであり；Ｘａａ２１はＧｌｕ若しくはＬｅｕであり；Ｘａａ２３はＩｌｅ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ若しくはＧｌｕであり；Ｘａａ２４はＡｌａ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ２７はＶａｌ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ２８はＬｙｓ若しくはＡｓｎであり；およびＸａａ３０はＡｒｇ若しくはＧｌｕである。

【００９７】

これらのペプチドは当該技術分野で開示されかつ／若しくは既知の方法により製造し得る。該配列中の（および特定の場合に別の方法で明記されない限り本明細を通じて）Ｘａａは指定されるアミノ酸残基、それらの誘導体若しくは修飾アミノ酸を包含する。酵素ジペプチジルペプチダーゼＩＶ（ＤＰＰ－ＩＶ）が、投与されたＧＬＰ－１の観察される迅速なｉｎ　ｖｉｖｏ不活性化の原因でありうるため、アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の情況でＤＰＰ－ＩＶの活性から保護されるＧＬＰ－１ペプチド、ホモログ、アナログおよび誘導体が好ましい。

【００９８】

最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を部分的に若しくは好ましくは実質的に提供するＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはそれらの指定される部分若しくはバリアントはＧＬＰ－１リガンドを結合し得、そしてそれによりＧＬＰ－１受容体のような最低１種のリガンドへのＧＬＰ－１の結合または他のタンパク質依存性若しくは媒介性の機構により別の方法で媒介される最低１種の活性を提供し得る。本明細書で使用されるところの「ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の活性」という用語は、最低１種のＧＬＰ－１依存性の活性をアッセイに依存して約２０～１０，０００％、好ましくは最低約６０、７０、８０、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００、５５０、６００、７００、８００、９００、１０００、２０００、３０００、４０００、５０００、６０００、７０００、８０００、９０００％若しくはそれ以上調節し得る若しくは引き起こし得るＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物を指す。

【００９９】

最低１種のタンパク質依存性の活性を提供するＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの能力は、好ましくは、本明細書に記述されかつ／若しくは当該技術分野で既知のところの最低１種の適するタンパク質の生物学的アッセイにより評価される。本発明のヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、いずれかのクラス（ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭなど）若しくはアイソタイプに類似であり得、そしてκ若しくはλ　Ｌ鎖の少なくとも一部分を含み得る。一態様において、ヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、アイソタイプ例えばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３若しくはＩｇＧ４の最低１種のＩｇＧＨ鎖可変フラグメント、ヒンジ領域、ＣＨ２およびＣＨ３を含んでなる。

【０１００】

本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、最低１種のリガンド、サブユニット、フラグメント、部分若しくはそれらのいずれかの組合せを結合する。本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物、指定される部分若しくはバリアントの最低１種のＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体は、該リガンドの最低１種の指定されるエピトープを場合によっては結合し得る。該結合エピトープは、ＧＬＰ－１受容体若しくはその部分のようなタンパク質リガンドの配列の連続するアミノ酸の最低１～３アミノ酸ないし指定される部分全体の最低１種のアミノ酸配列のいかなる組合せも含み得る。

【０１０１】

こうしたミメティボディ構築物は、既知の技術を使用してＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の式（Ｉ）の多様な部分を一緒に結合することにより、組換えＤＮＡ技術の既知技術を使用してＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物をコードする最低１種の核酸分子を製造かつ発現することにより、または化学合成のようないずれかの他の適する方法を使用することにより製造し得る。

【０１０２】

受容体のようなヒトＧＬＰ－１リガンドに結合しかつ規定されたＨ若しくはＬ鎖可変領域またはそれらの部分を含んでなるミメティボディ構築物は、ファージディスプレイ（Ｋａｔｓｕｂｅ，Ｙ．ら、Ｉｎｔ Ｊ Ｍｏｌ．Ｍｅｄ、１（５）：８６３－８６８（１９９８））のような適する方法、若しくは当該技術分野で既知のところのトランスジェニック動物を使用する方法を使用して製造し得る。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物、指定される部分若しくはバリアントは、適する宿主細胞中でコードする核酸若しくはその部分を使用して発現させ得る。

【０１０３】

本発明はまた、本明細書に記述されるアミノ酸配列と実質的に同一である配列中のアミノ酸を含んでなるミメティボディ構築物、リガンド結合フラグメントおよび免疫グロブリン鎖にも関する。好ましくは、こうしたミメティボディ構築物若しくはそのリガンド結合フラグメントは、高親和性（例えば約10^{-7}Ｍ未満若しくはそれに等しいK_D）で受容体のようなヒトＧＬＰ－１リガンドを結合し得る。本明細書に記述される配列と実質的に同一であるアミノ酸配列は、保存的アミノ酸置換ならびにアミノ酸の欠失および／若しくは挿入を含んでなる配列を包含する。保存的アミノ酸置換は、第一のアミノ酸の特性に類似である化学および／若しくは物理特性（例えば電荷、構造、極性、疎水性／親水性）を有する第二のアミノ酸による第一のアミノ酸の置換を指す。保存的置換は以下の群すなわちリシン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）およびヒスチジン（Ｈ）；アスパラギン酸（Ｄ）およびグルタミン酸（Ｅ）；アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、チロシン（Ｙ）、Ｋ、Ｒ、Ｈ、ＤおよびＥ；アラニン（Ａ）、バリン（Ｖ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、プロリン（Ｐ）、フェニルアラニン（Ｆ）、トリプトファン（Ｗ）、メチオニン（Ｍ）、システイン（Ｃ）およびグリシン（Ｇ）；Ｆ、ＷおよびＹ；Ｃ、ＳおよびＴ内の別のものによる１アミノ酸の置換を包含する。

【０１０４】

アミノ酸記号。本発明のミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを構成するアミノ酸はしばしば略記される。アミノ酸の呼称は、当該技術分野で十分に理解されるところのその一文字記号、その三文字記号、名称、若しくは３ヌクレオチコドン（１種若しくは複数）によりアミノ酸を呼称することにより示し得る（Ａｌｂｅｒｔｓ，Ｂ．ら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｔｈｅ Ｃｅｌｌ、第３版、Ｇａｒｌａｎｄ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ，Ｉｎｃ．、ニューヨーク、１９９４を参照されたい）。

【０１０５】

【表１】

一文字記号	三文字記号	名称	３ヌクレオチドコドン（１種若しくは複数）
A	Ala	アラニン	GCA, GCC, GCG, GCU
C	Cys	システイン	UGC, UGU
D	Asp	アスパラギン酸	GAC, GAU
E	Glu	グルタミン酸	GAA, GAG
F	Phe	フェニルアラニン	UUC, UUU
G	Gly	グリシン	GGA, GGC, GGG, GGU
H	His	ヒスチジン	CAC, CAU
I	Ile	イソロイシン	AUA, AUC, AUU
K	Lys	リシン	AAA, AAG
L	Leu	ロイシン	UUA, UUG, CUA, CUC, CUG, CUU
M	Met	メチオニン	AUG
N	Asn	アスパラギン	AAC, AAU
P	Pro	プロリン	CCA, CCC, CCG, CCU
Q	Gln	グルタミン	CAA, CAG
R	Arg	アルギニン	AGA, AGG, CGA, CGC, CGG, CGU
S	Ser	セリン	AGC, AGU, UCA, UCC, UCG, UCU
T	Thr	トレオニン	ACA, ACC, ACG, ACU
V	Val	バリン	GUA, GUC, GUG, GUU
W	Trp	トリプトファン	UGG
Y	Tyr	チロシン	UAC, UAU

【０１０６】

本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、本明細書に明記されるところの天然の突然変異若しくは人的操作のいずれかからの１個若しくはそれ以上のアミノ酸置換、欠失若しくは付加を包含し得る。本発明で使用し得るこうした若しくは他の配列は、限定されるものでないが配列番号４７～６４に提示される以下の配列を挙げることができる。

【０１０７】

本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、本明細書に明記されるところの天然の突然変異若しくは人的操作いずれかからの１個若しくはそれ以上のアミノ酸置換、欠失若しくは付加を包含し得る。こうした若しくは本発明で使用し得る他の配列は、限定されるものでないが、抗体配列の部分的可変領域が限定されるものでないが対応する配列番号１～９を伴い２００４年６月２４日に出願されかつ２００５年１月２０日に公開されたＰＣＴ公開第ＷＯ　０５／０５６０４号（第ＰＣＴ／ＵＳ０４／１９８９８号）明細書の図１～９にさらに記述されるところの最低１個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、表３に記述されるところの配列番号４７～５５の最低１種若しくはそれらのフラグメントの少なくとも一部分を挙げることができる、配列番号４７～６４の指定される部分に対応して示されるところの表３に提

示される以下の配列を挙げることができる。ＣＨ２、ＣＨ３およびヒンジ領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号３２～４０を伴い２００４年６月２４日に出願されかつ２００５年１月２０日に公開されたＰＣＴ公開第ＷＯ　０５／０５６０４号（第ＰＣＴ　ＵＳ０４／１９８９８号）明細書の図３２～４０にさらに記述されるところの最低１個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、表３に記述されるところの配列番号５６～６４の最低１種若しくはそれらのフラグメントの少なくとも一部分を挙げることができる。もちろん、当業者が行うとみられるアミノ酸置換の数は上述されたものを包含する多くの因子に依存する。一般的に言って、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の最低１種のアミノ酸置換、挿入若しくは欠失の数は、本明細書に明記されるところの１～３０またはその中のいずれかの範囲若しくは値のような、４０、３０、２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、１アミノ酸を超えないことができる。

【０１０８】

本発明の式Ｉ（（Ｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）において、式ＩのＶ、Ｈ、ＣＨ２、ＣＨ３部分は例えば表３に提示されるところのいずれかの適するヒト若しくはヒト適合性の配列であり得、ここで抗体配列の部分的可変領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号１～９を伴い２００４年６月２４日に出願されかつ２００５年１月２０日に公開されたＰＣＴ公開第ＷＯ　０５／０５６０４号（第ＰＣＴ　ＵＳ０４／１９８９８号）明細書の図１～９にさらに記述されるところの最低１個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、表３に記述されるところの配列番号４７～５５の最低１種若しくはそれらのフラグメントの少なくとも一部分を挙げることができ；また、ここでＣＨ２、ＣＨ３およびヒンジ領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号３２～４０を伴い２００４年６月２４日に出願されかつ２００５年１月２０日に公開されたＰＣＴ公開第ＷＯ　０５／０５６０４号（第ＰＣＴ　ＵＳ０４／１９８９８号）明細書の図３２～４０にさらに記述されるところの、若しくは当該技術分野で既知のところの最低１個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、表３に記述されるところの配列番号５６～６４の最低１種若しくはそれらのフラグメントの少なくとも一部分、またはそれらのいずれかの組合せ若しくはコンセンサス配列、あるいは好ましくはヒト起源の若しくはヒトに投与される場合の免疫原性を最小限にするように工作されたそれらのいずれかの融合タンパク質を挙げることができる。

【０１０９】

Ｐ部分は、限定されるものでないが配列番号１に提示されるもの、またはそれらのいずれかの組合せ若しくはコンセンサス配列、あるいはそれらのいずれかの融合タンパク質を挙げることができる、当該技術分野で既知若しくは本明細書に記述される最低１種のＧＬＰ－１治療的ペプチドを含み得る。好ましい一態様において、Ｐ部分は配列番号６の最低１種の配列を有する最低１種のＧＬＰ－１ペプチド、またはそれらのいずれかの組合せ若しくはコンセンサス配列、あるいはそれらのいずれかの融合タンパク質を含み得る。

【０１１０】

任意のリンカー配列は当該技術分野で既知のところのいずれの適するペプチドリンカーでもあり得る。好ましい配列は、ＧおよびＳのいずれかの組合せ、例えばＸ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－…－Ｘｎ（ここでＸはＧ若しくはＳであり得、そしてｎは５～３０であり得る）を包含する。制限しない例は、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）などを包含する。

【０１１１】

機能に不可欠である本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント中のアミノ酸は、部位特異的突然変異誘発若しくはアラニンスキャニング突然変異誘発（例えばＡｕｓｕｂｅｌ、上記、第８、１５章；ＣｕｎｎｉｎｇｈａｍとＷｅｌｌｓ、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４４：１０８１－１０８５（

１９８９））のような当該技術分野で既知の方法により同定し得る。後者の処置は分子中のすべての残基で単一アラニン突然変異を導入する。生じる変異体分子をその後、本明細書に明記されるか若しくは当該技術分野で既知のところの限定されるものでないが最低１種のタンパク質関連の活性を挙げることができる生物学的活性について試験する。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの結合に決定的に重要である部位は、結晶化、核磁気共鳴若しくは光親和性標識（Ｓｍｉｔｈら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２４：８９９－９０４（１９９２）およびｄｅ Ｖｏｓら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５５：３０６－３１２（１９９２））のような構造解析によってもまた同定し得る。

【０１１２】

本発明のミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、式（Ｉ）のＰ部分として、例えば限定されるものでないが配列番号１および６の少なくとも一方の少なくとも一部分を含み得る。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、式（Ｉ）のＰ部分として最低１種のポリペプチドの最低１個の機能的部分、すなわち配列番号１および６の少なくとも一方の最低９０～１００％をさらに場合によっては含み得る。上の列挙された活性の最低１種を高め若しくは維持し得る制限しないバリアントは、限定されるものでないが、前記ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の適する生物学的活性若しくは機能に有意に影響を及ぼさない最低１個の置換、挿入若しくは欠失に対応する最低１個の突然変異をさらに含んでなる上のポリペプチドのいずれかを挙げることができる。

【０１１３】

一態様において、Ｐのアミノ酸配列若しくはその部分は、配列番号１および６の少なくとも一方の対応する部分の対応するアミノ酸配列に対する約９０～１００％の同一性（すなわち９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００またはその中のいずれかの範囲若しくは値）を有する。好ましくは、９０～１００％のアミノ酸同一性（すなわち９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００またはその中のいずれかの範囲若しくは値）は、当該技術分野で既知のところの適するコンピュータアルゴリズムを使用して決定される。

【０１１４】

本発明のミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントからのいずれかの数の連続するアミノ酸残基を含み得、その数は、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物中の連続する残基の数の１０～１００％からよりなる整数の群から選択される。場合によっては、連続するアミノ酸のこの下位配列は、長さが最低約２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２１０、２２０、２３０、２４０、２５０若しくはそれ以上またはその中のいずれかの範囲若しくは値のアミノ酸である。さらに、こうした下位配列の数は、最低２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０のような１から２０までよりなる群から選択されるいずれかの整数若しくはそれ以上であり得る。

【０１１５】

当業者が認識するであろうとおり、本発明は、本発明の最低１種の生物学的に活性のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを包含する。生物学的に活性のミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、天然の（非合成の）、内因性の若しくは関連したおよび既知の挿入若しくは融合されたタンパク質または指定される部分若しくはバリアントの比活性の最低２０％、３０％若しくは４０％、および好ましくは最低５０％、６０％若しくは７０％、ならびに最も好ましくは最低８０％、９０％若しくは９５％～１０００％の比活性を有す

る。酵素活性および基質特異性の尺度のアッセイおよび定量方法は当業者に公知である。

【０１１６】

別の局面において、本発明は、有機部分の共有結合により修飾されている本明細書に記述されるところのヒトミメティボディ構築物およびリガンド結合フラグメントに関する。こうした修飾は、改良された薬物動態特性（例えば延長されたｉｎ　ｖｉｖｏ血清半減期）をもつＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはリガンド結合フラグメントを生じ得る。該有機部分は、直鎖状若しくは分枝状の親水ポリマー基、脂肪酸基若しくは脂肪酸エステル基であり得る。特定の態様において、親水ポリマー基は約８００ないし約１２０，０００ダルトンの分子量を有し得、そしてポリアルカングリコール（例えばポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリプロピレングリコール（ＰＰＧ））、炭水化物ポリマー、アミノ酸ポリマー若しくはポリビニルピロリドンであり得、また、脂肪酸若しくは脂肪酸エステル基は約８から約４０個までの炭素原子を含み得る。

【０１１７】

本発明の修飾ミメティボディ構築物およびリガンド結合フラグメントは、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントに直接若しくは間接的に共有結合されている１個若しくはそれ以上の有機部分を含み得る。本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはリガンド結合フラグメントに結合されている各有機部分は、独立に、親水ポリマー基、脂肪酸基若しくは脂肪酸エステル基であり得る。本明細書で使用されるところの「脂肪酸」という用語はモノカルボン酸およびジカルボン酸を包含する。該用語が本明細書で使用されるところの「親水ポリマー基」は、オクタン中でよりも水中でより溶解性である有機ポリマーを指す。例えばポリリシンはオクタン中でよりも水中でより溶解性である。従って、ポリリシンの共有結合により修飾されたＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物が本発明により包含される。本発明のミメティボディ構築物を修飾するのに適する親水ポリマーは直鎖状若しくは分枝状であり得、そして例えばポリアルカングリコール（例えばＰＥＧ、モノメトキシポリエチレングリコール（ｍＰＥＧ）、ＰＰＧなど）、炭水化物（例えばデキストラン、セルロース、オリゴ糖、多糖など）、親水性アミノ酸のポリマー（例えばポリリシン、ポリアルギニン、ポリアスパラギン酸など）、ポリアルカンオキシド（例えばポリエチレンオキシド、ポリプロピレンオキシドなど）およびポリビニルピロリドンを包含する。好ましくは、本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物を修飾する親水ポリマーは、別個の分子実体として約８００ないし約１５０，０００ダルトンの分子量を有する。例えば、PEG_{2500}、PEG_{5000}、PEG_{7500}、PEG_{9000}、PEG_{10000}、PEG_{12500}、PEG_{15000}および$PEG_{20,000}$（ここで下付き数字はポリマーの平均分子量（ダルトン）である）を使用し得る。

【０１１８】

親水ポリマー基は１ないし約６個のアルキル、脂肪酸若しくは脂肪酸エステル基で置換し得る。脂肪酸若しくは脂肪酸エステル基で置換されている親水ポリマーは適する方法を使用することにより製造し得る。例えば、アミン基を含んでなるポリマーを脂肪酸若しくは脂肪酸エステルのカルボキシレートに結合し得、そして脂肪酸若しくは脂肪酸エステル上の活性化されたカルボキシレート（例えばＮ，Ｎ－カルボニルジイミダゾールで活性化された）をポリマー上のヒドロキシル基に結合し得る。

【０１１９】

本発明のミメティボディ構築物を修飾するのに適する脂肪酸および脂肪酸エステルは、飽和であり得るかまたは１個若しくはそれ以上の不飽和単位を含有し得る。本発明のミメティボディ構築物を修飾するのに適する脂肪酸は、例えばｎ－ドデカノエート（C_{12}、ラウレート）、ｎ－テトラデカノエート（C_{14}、ミリステート）、ｎ－オクタデカノエート（C_{18}、ステアレート）、ｎ－エイコサノエート（C_{20}、アラキデート）、ｎ－ドコサノエート（C_{22}、ベヘネート）、ｎ－トリアコンタノエート（C_{30}）、ｎ－テトラコンタノエート（C_{40}）、ｃｉｓ－Δ９－オクタデカノエート（C_{18}、オレエー

ト）、全ｃｉｓ－Δ５，８，１１，１４－エイコサテトラエノエート（C_{20}、アラキドネート）、オクタン二酸、テトラデカン二酸、オクタデカン二酸、ドコサン二酸などを包含する。適する脂肪酸エステルは直鎖状若しくは分枝状低級アルキル基を含んでなるジカルボン酸のモノエステルを包含する。該低級アルキル基は１から約１２まで、好ましくは１ないし約６個の炭素原子を含み得る。

【０１２０】

修飾されたヒトミメティボディ構築物およびリガンド結合フラグメントは、１種若しくはそれ以上の修飾剤との反応によるような適する方法を使用して製造し得る。該用語が本明細書で使用されるところの「修飾剤」は、活性化基を含んでなる適する有機基（例えば親水ポリマー、脂肪酸、脂肪酸エステル）を指す。「活性化基」は、適切な条件下で第二の化学基と反応してそれにより修飾剤と該第二の化学基の間に共有結合を形成し得る化学部分すなわち官能基である。例えば、アミン反応性の活性化基は、トシレート、メシレート、ハロ（クロロ、ブロモ、フルオロ、ヨード）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミジルエステル（ＮＨＳ）などのような求電子基を包含する。チオールと反応し得る活性化基は、例えばマレイミド、ヨードアセチル、アクリロリル、ピリジルジスルフィド、５－チオール－２－ニトロ安息香酸チオール（ＴＮＢ－チオール）などを包含する。アルデヒド官能基はアミン若しくはヒドラジドを含有する分子に結合させ得、また、アジド基は三価のリン基と反応してホスホルアミデート若しくはホスホルイミド結合を形成し得る。分子中への活性化基の適する導入方法は当該技術分野で既知である（例えば、Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ，Ｇ．Ｔ．、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ：カリフォルニア州サンディエゴ（１９９６）を参照されたい）。活性化基は、有機基（例えば親水ポリマー、脂肪酸、脂肪酸エステル）に直接、または、リンカー部分、例えば１個若しくはそれ以上の炭素原子が酸素、窒素若しくはイオウのようなヘテロ原子により置換され得る二価のC_1－C_{12}基により結合し得る。適するリンカー部分は、例えばテトラエチレングリコール、－（CH_2）$_3$－、－ＮＨ－（CH_2）$_6$－ＮＨ－、－（CH_2）$_2$－ＮＨ－および－CH_2－Ｏ－CH_2－CH_2－Ｏ－CH_2－CH_2－Ｏ－ＣＨ－ＮＨ－を包含する。リンカー部分を含んでなる修飾剤は、例えば、モノ－Ｂｏｃ－アルキルジアミン（例えばモノ－Ｂｏｃ－エチレンジアミン、モノ－Ｂｏｃ－ジアミノヘキサン）を１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（ＥＤＣ）の存在下に脂肪酸と反応させて遊離アミンと脂肪酸のカルボキシレートの間でアミド結合を形成させることにより製造し得る。Ｂｏｃ保護基は、一級アミンを露出させるためのトリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）での処理により生成物から除去することができ、一級アミンは記述されるとおり別のカルボキシレートに結合させ得るか、若しくは無水マレイン酸と反応させ得そして生じる生成物を環化させて脂肪酸の活性化マレイミド誘導体を生じさせ得る。（例えばＴｈｏｍｐｓｏｎら、第ＷＯ ９２／１６２２１号明細書（その教示全体は引用することにより本明細書に組み込まれる）を参照されたい。）

【０１２１】

本発明の修飾ミメティボディ構築物は、ヒトＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはリガンド結合フラグメントを修飾剤と反応させることにより製造し得る。例えば、アミン反応性の修飾剤、例えばＰＥＧのＮＨＳエステルを使用することにより有機部分を部位非特異的様式でＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物に結合し得る。修飾ヒトミメティボディ構築物若しくはリガンド結合フラグメントは、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはリガンド結合フラグメントのジスルフィド結合（例えば鎖内ジスルフィド結合）を還元することによってもまた製造し得る。還元されたＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはリガンド結合フラグメントをその後チオール反応性の修飾剤と反応させて本発明の修飾ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物を製造し得る。本発明のミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを含んでなる修飾ヒトミメティボディ構築物およびリガンド結合フラグメントは、逆タンパク質分解（Ｆｉｓｃｈら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ.、３：１４７－１５３（１９９２）；Ｗｅ

ｒｌｅｎら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ.、５：４１１－４１７（１９９４）；Ｋｕｍａｒａｎら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉ.６（１０）：２２３３－２２４１（１９９７）；Ｉｔｏｈら、Ｂｉｏｏｒｇ．Ｃｈｅｍ.、２４（１）：５９－６８（１９９６）；Ｃａｐｅｌｌａｓら、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ.、５６（４）：４５６－４６３（１９９７））のような適する方法、およびＨｅｒｍａｎｓｏｎ，Ｇ．Ｔ．、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ：カリフォルニア州サンディエゴ（１９９６）に記述される方法を使用して製造し得る。

【０１２２】

ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物組成物。本発明はまた、天然に存在しない組成物、混合物若しくは形態で提供される、本明細書に記述されかつ／若しくは当該技術分野で既知のところの最低１、最低２、最低３、最低４、最低５、最低６種若しくはそれ以上のミメティボディ構築物またはそれらの指定される部分若しくはバリアントを含んでなる最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの組成物も提供する。こうした組成物のパーセンテージは、当該技術分野で既知若しくは本明細書に記述されるところの液体若しくは乾燥溶液（ｄｒｙ ｓｏｌｕｔｉｏｎ）、混合物、懸濁液、乳液またはコロイドとして重量、容量、濃度、モル濃度若しくは重量モル濃度でである。

【０１２３】

こうした組成物は、限定されるものでないが０．００００１、０．００００３、０．００００５、０．００００９、０．０００１、０．０００３、０．０００５、０．０００９、０．００１、０．００３、０．００５、０．００９、０．０１、０．０２、０．０３、０．０５、０．０９、０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．３、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、９９．１、９９．２、９９．３、９９．４、９９．５、９９．６、９９．７、９９．８、９９．９％を挙げることができる、その中のいずれかの範囲若しくは値での当該技術分野で既知若しくは本明細書に記述されるところの液体、気体若しくは乾燥溶液、混合物、懸濁液、乳液またはコロイドとして０．００００１～９９．９９９９重量、容量、濃度、モル濃度若しくは重量モル濃度パーセントを含み得る。本発明のこうした組成物は、従って限定されるものでないが０．００００１～１００ｍｇ／ｍｌおよび／若しくは０．００００１～１００ｍｇ／ｇを包含する。

【０１２４】

ＧＬＰ－１ミメティボディ組成物は、場合によっては、糖尿病薬、インスリン代謝関連薬物、糖代謝関連薬物、抗感染薬、心血管（ＣＶ）系薬、中枢神経系（ＣＮＳ）薬、自律神経系（ＡＮＳ）薬、気道薬、胃腸（ＧＩ）管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬などの最低１種から選択される最低１種の化合物若しくはタンパク質の有効量をさらに含み得る。本明細書に提示されるそれぞれの製剤、適応症、投薬および投与を包含するこうした薬物は当該技術分野で公知である（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｄｒｕｇｓ、第２１版、Ｓｐｒｉｎｇｈｏｕｓｅ Ｃｏｒｐ.、ペンシルバニア州スプリングハウス、２００１；Ｈｅａｌｔｈ Ｐｒｏｆｅｓｓｉｏｎａｌ’ｓ Ｄｒｕｇ Ｇｕｉｄｅ ２００１、Ｓｈａｎｎｏｎ、Ｗｉｌｓｏｎ、Ｓｔａｎｇ編、Ｐｒｅｎｔｉｃｅ－Ｈａｌｌ，Ｉｎｃ、ニュージャージー州アッパーサドルリバー；Ｐｈａｒｍｃｏｔｈｅｒａｐｙ Ｈａｎｄｂｏｏｋ、Ｗｅｌｌｓら編、Ａｐｐｌｅｔｏｎ ＆ Ｌａｎｇｅ、コネチカット州スタンフォード（それぞれ引用することにより本明細

書にそっくりそのまま組み込まれる）を参照されたい）。

【０１２５】

肥満、インスリン感受性若しくは脂質プロファイル関連薬物は、脂肪異化化合物若しくは処置、カフェイン、グリタゾン、インスリンおよび誘導体、スルホニル尿素、メグリチニド、ビグアニド、α－グルコシダーゼ阻害剤、タンパク質チロシンホスファターゼ－１Ｂ、グリコーゲン合成酵素キナーゼ３、糖新生阻害剤、ピルビン酸脱水素酵素キナーゼ（ＰＤＨ）阻害剤、脂肪分解阻害剤、脂肪酸化阻害剤、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼＩおよび／若しくはＩＩ阻害剤、β－３アドレナリン受容体アゴニスト、ナトリウムおよびグルコース共輸送体（ＳＧＬＴ）阻害剤、または：自己免疫抑制、免疫調節、Ｔ細胞の活性化、増殖、移動および／若しくはサプレッサー細胞機能、Ｔ細胞受容体／ペプチド／ＭＨＣ－ＩＩ相互作用の阻害、Ｔ細胞アネルギーの誘導、自己反応性Ｔ細胞の除去、血液脳関門を横断する輸送の低下、炎症前（Ｔｈ１）および免疫調節（Ｔｈ２）サイトカインのバランスの変化、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤の阻害、神経保護、神経膠症の低下、再ミエリン形成の促進の最低１種の１種若しくはそれ以上に作用する化合物の最低１種であり得る。

【０１２６】

最低１種の制酸剤、吸着剤若しくは抗鼓腸薬は、炭酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、炭酸カルシウム、マガルドラート、水酸化マグネシウム、酸化マグネシウム、ジメチコンおよび炭酸水素ナトリウムから選択される最低１種であり得る。最低１種の消化酵素若しくは胆石溶解剤は、パンクレアチン、パンクレリパーゼおよびウルソジオールから選択される最低１種であり得る。最低１種の止瀉薬は、アタパルジャイト、次サリチル酸ビスマス、カルシウムポリカルボフィル、塩酸ジフェノキシレート若しくは硫酸アトロピン、ロペラミド、酢酸オクトレオチド、アヘンチンキ、アヘンチンキ（カンファー入り（ｃａｍｐｈｏｒａｔｅｄ））から選択される最低１種であり得る。最低１種の緩下剤は、ビサコジル、カルシウムポリカルボフィル、カスカラサグラダ、カスカラサグラダ芳香流エキス、カスカラサグラダ流エキス、ヒマシ油、ドキュセートカルシウム、ドキュセートナトリウム、グリセリン、ラクツロース、クエン酸マグネシウム、水酸化マグネシウム、硫酸マグネシウム、メチルセルロース、鉱物油、ポリエチレングリコール若しくは電解質溶液、オオバコ、センナ、リン酸ナトリウムから選択される最低１種であり得る。最低１種の制吐剤は、塩酸クロルプロマジン、ジメンヒドリナート、メシル酸ドラセトロン、ドロナビノール、塩酸グラニセトロン、塩酸メクリジン、塩酸メトクロプロアミド、塩酸オンダンセトロン、ペルフェナジン、プロクロルペラジン、エジシル酸プロクロルペラジン、マレイン酸プロクロルペラジン、塩酸プロメタジン、スコポラミン、マレイン酸チエチルペラジン、塩酸トリメトベンズアミドから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗潰瘍薬は、シメチジン、塩酸シメチジン、ファモチジン、ランソプラゾール、ミソプロストール、ニザチジン、オメプラゾール、ラベプラゾールナトリウム、ランチジンクエン酸ビスマス、塩酸ラニチジン、スクラルファートから選択される最低１種であり得る。（例えばＮｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｄｒｕｇ Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．６４３～９５を参照されたい。）最低１種の抗糖尿病薬若しくはグルカオンは、アカルボース、クロルプロパミド、グリメピリド、グリピジド、グルカゴン、グリブリド、インスリン、塩酸メトフォルミン、ミグリトール、塩酸ピオグリタゾン、レパグリニド、マレイン酸ロシグリタゾン、トログリタゾンから選択される最低１種であり得る。最低１種の甲状腺ホルモンは、レボチロキシンナトリウム、リオチロニンナトリウム、リオトリックス、甲状腺製剤（ｔｈｙｒｏｉｄ）から選択される最低１種であり得る。

【０１２７】

最低１種の甲状腺ホルモンアンタゴニストは、メチマゾール、ヨウ化カリウム、ヨウ化カリウム（飽和溶液）、プロピルチオウラシル、放射活性ヨウ素（ヨウ化ナトリウム^{131}Ｉ）、濃ヨウ素溶液（ｓｔｒｏｎｇ ｉｏｄｉｎｅ ｓｏｌｕｔｉｏｎ）から選択される最低１種であり得る。最低１種の下垂体ホルモンは、コルチコトロピン、コシントロピン、酢酸デスモプレシン、酢酸リュープロリド、持続性コルチコトロピン、ソマトレム、

ソマトロピン、バソプレシンから選択される最低１種であり得る。最低１種の副甲状腺様薬物は、カルシフェジオール、カルシトニン（ヒト）、カルシトニン（サケ）、カルシトリオール、ジヒドロタキステロール、エチドロン酸ナトリウムから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｄｒｕｇ Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．６９６～７９６を参照されたい。）

【０１２８】

最低１種の利尿薬は、アセタゾラミド、アセタゾラミドナトリウム、塩酸アミロリド、ブメタニド、クロルタリドン、エタクリン酸ナトリウム、エタクリン酸、フロセミド、ヒドロクロロチアジド、インダパミド、マンニトール、メトラゾン、スピロノラクトン、トルセミド、トリアムテレン、尿素から選択される最低１種であり得る。最低１種の電解質若しくは補充液は、酢酸カルシウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム、クエン酸カルシウム、グルビオナートカルシウム、グルセプト酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、乳酸カルシウム、リン酸カルシウム（第二）、リン酸カルシウム（第三）、デキストラン（高分子量）、デキストラン（低分子量）、ヘタスターチ、塩化マグネシウム、硫酸マグネシウム、酢酸カリウム、炭酸水素カリウム、塩化カリウム、グルコン酸カリウム、リンゲル液、リンゲル液（乳酸加）、塩化ナトリウムから選択される最低１種であり得る。最低１種の酸性化剤若しくはアルカリ性化剤は、炭酸水素ナトリウム、乳酸ナトリウム、トロメタミンから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｄｒｕｇ Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．７９７～８３３を参照されたい。）

【０１２９】

最低１種の造血剤は、フマル酸鉄、グルコン酸鉄、硫酸鉄、硫酸鉄（乾燥）、鉄デキストラン、鉄ソルビトール、多糖－鉄複合体、グルコン酸ナトリウム第二鉄複合体から選択される最低１種であり得る。最低１種の抗凝固薬は、アルデパリンナトリウム、ダルテパリンナトリウム、ダナパロイドナトリウム、エノキサパリンナトリウム、ヘパリンカルシウム、ヘパリンナトリウム、ワルファリンナトリウムから選択される最低１種であり得る。最低１種の血液誘導体は、アルブミン５％、アルブミン２５％、抗血友病因子、抗阻害剤血液凝固薬複合体（ａｎｔｉ－ｉｎｈｉｂｉｔｏｒ ｃｏａｇｕｌａｎｔ ｃｏｍｐｌｅｘ）、アンチトロンビンＩＩＩ（ヒト）、第ＩＸ因子（ヒト）、第ＩＸ因子複合体、血漿タンパク質画分から選択される最低１種であり得る。最低１種の血栓溶解酵素は、アルテプラーゼ、アニストレプラーゼ、レテプラーゼ（組換え）、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｄｒｕｇ Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．８３４～６６を参照されたい。）

【０１３０】

最低１種のビタミン若しくはミネラルは、ビタミンＡ、ビタミンＢ群、シアノコバラミン、葉酸、ヒドロキソコバラミン、ロイコボリンカルシウム、ナイアシン、ナイアシンアミド、塩酸ピリドキシン、リボフラビン、塩酸チアミン、ビタミンＣ、ビタミンＤ、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、ビタミンＤアナログ、ドキセルカルシフェロール、パリカルシトール、ビタミンＥ、ビタミンＫアナログ、フィトナジオン、フッ化ナトリウム、フッ化ナトリウム（局所）、微量元素、クロム、銅、ヨウ素、マンガン、セレン、亜鉛から選択される最低１種であり得る。最低１種の熱素は、アミノ酸輸液（結晶）、ブドウ糖中アミノ酸輸液、電解質を含むアミノ酸輸液、ブドウ糖中電解質を含むアミノ酸輸液、肝不全のためのアミノ酸輸液、高代謝性侵襲のためのアミノ酸輸液、腎不全のためのアミノ酸輸液、ブドウ糖、脂肪乳剤、中鎖トリグリセリドから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｄｒｕｇ Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．１１３７～６３を参照されたい。）

【０１３１】

本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの組成物は、限定されるものでないが希釈剤、結合剤、安定剤、緩衝剤、塩、親油性溶媒、保存剤、アジュバントなどを挙げることができるいずれかの適する補助物質の最低１種をさらに含み得る。製薬学的に許容できる補助物質が好ましい。

こうした無菌溶液の制限しない例および製造方法は、限定されるものでないが、Ｇｅｎｎａｒｏ編、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、第１８版、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．（ペンシルバニア州イーストン）１９９０を挙げることができる当該技術分野で公知である。当該技術分野で公知若しくは本明細書に記述されるところのＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ組成物の投与様式、溶解性および／若しくは安定性に適する製薬学的に許容できる担体を慣例に選択し得る。

【０１３２】

本組成物で有用な製薬学的賦形剤および添加物は、限定されるものでないが、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、脂質ならびに炭水化物（例えば、単糖、二、三、四およびオリゴ糖を包含する糖；アルジトール、アルドン酸、エステル化糖などのような誘導体化糖；ならびに多糖若しくは糖ポリマー）を挙げることができ、それらは単独で若しくは組合せで存在し得、単独若しくは組合せで１～９９．９９重量若しくは容量％を含んでなる。例示的タンパク質賦形剤は、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）のような血清アルブミン、組換えヒトアルブミン（ｒＨＡ）、ゼラチン、カゼインなどを包含する。緩衝能力においてもまた機能し得る代表的なアミノ酸／ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの成分は、アラニン、グリシン、アルギニン、ベタイン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、システイン、リシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニン、フェニルアラニン、アスパルテームなどを包含する。１種の好ましいアミノ酸はグリシンである。

【０１３３】

本発明での使用に適する炭水化物賦形剤は、例えば、果糖、麦芽糖、ガラクトース、ブドウ糖、Ｄ－マンノース、ソルボースなどのような単糖；乳糖、ショ糖、トレハロース、セロビオースなどのような二糖；ラフィノース、メレジトース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプンなどのような多糖；およびマンニトール、キシリトール、マルチトール、ラクチトール、キシリトールソルビトール（グルチトール）、ミオイノシトールなどのようなアルジトールを包含する。本発明での使用に好ましい炭水化物賦形剤はマンニトール、トレハロースおよびラフィノースである。

【０１３４】

ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の組成物は緩衝剤すなわちｐＨ調節剤もまた包含し得；典型的には緩衝剤は有機酸若しくは塩基から調製される塩である。代表的な緩衝剤は、クエン酸、アスコルビン酸、グルコン酸、炭酸、酒石酸、コハク酸、酢酸若しくはフタル酸の塩のような有機酸の塩；トリス、塩酸トロメタミン若しくはリン酸緩衝液を包含する。本組成物での使用に好ましい緩衝剤はクエン酸塩のような有機酸塩である。

【０１３５】

加えて、本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの組成物は、ポリビニルピロリドン、フィコール（ポリマー糖）、デキストレート（ｄｅｘｔｒａｔｅ）（例えば２－ヒドロキシプロピル－？－シクロデキストリンのようなシクロデキストリン）、ポリエチレングリコールのようなポリマー性賦形剤／添加物、香味料、抗菌剤、甘味料、抗酸化剤、帯電防止剤、界面活性剤（例えば「ＴＷＥＥＮ ２０」および「ＴＷＥＥＮ ８０」のようなポリソルベート）、脂質（例えばリン脂質、脂肪酸）、ステロイド（例えばコレステロール）ならびにキレート剤（例えばＥＤＴＡ）を包含し得る。

【０１３６】

本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の組成物での使用に適するこれらならびに付加的な既知の製薬学的賦形剤および／若しくは添加物は、例えば”Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ＆ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ”、第１９版、Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｌｉａｍｓ、（１９９５）および”Ｐｈｙｓｉｃｉａｎ’ｓ Ｄｅｓｋ Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ”、第５２版、Ｍｅｄｉ

ｃａｌ　Ｅｃｏｎｏｍｉｃｓ、ニュージャージー州モントベール（１９９８）（それらの開示は引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる）に列挙されるとおり当該技術分野で既知である。好ましい担体若しくは賦形剤物質は炭水化物（例えば単糖類およびアルジトール）ならびに緩衝剤（例えばクエン酸塩）若しくはポリマー剤である。

【０１３７】

製剤。上に示されたとおり、本発明は、製薬学的に許容できる製剤中に最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを含んでなる、製薬学的若しくは家畜の使用に適する生理的食塩水若しくは選ばれた塩を含む適する緩衝剤を好ましくは包含し得る安定な製剤、ならびに、保存剤を含有する任意の保存される溶液および製剤ならびに多回使用の保存される製剤を提供する。保存される製剤は、水性希釈剤中に、最低１種の既知の若しくは最低１種のフェノール、ｍ－クレゾール、ｐ－クレゾール、ｏ－クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、硝酸フェニル水銀、フェノキシエタノール、ホルムアルデヒド、クロロブタノール、塩化マグネシウム（例えば六水和物）、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウムおよびチメロサールよりなる群から任意に選択される保存剤、またはそれらの混合物を含有する。限定されるものでないが０．００１、０．００３、０．００５、０．００９、０．０１、０．０２、０．０３、０．０５、０．０９、０．１、０．２、０．３、０．４．、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．３、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、５．０またはその中のいずれかの範囲若しくは値を挙げることができる０．００１～５％またはその中のいずれかの範囲若しくは値のような当該技術分野で既知のところのいかなる適する濃度若しくは混合物も使用し得る。制限しない例は、保存剤なし、０．１～２％ｍ－クレゾール（例えば０．２、０．３．０．４、０．５、０．９、１．０％）、０．１～３％ベンジルアルコール（例えば０．５、０．９、１．１．、１．５、１．９、２．０、２．５％）、０．００１～０．５％チメロサール（例えば０．００５、０．０１）、０．００１～２．０％フェノール（例えば０．０５、０．２５、０．２８、０．５、０．９、１．０％）、０．０００５～１．０％アルキルパラベン（１種若しくは複数）（例えば０．０００７５、０．０００９、０．００１、０．００２、０．００５、０．００７５、０．００９、０．０１、０．０２、０．０５、０．０７５、０．０９、０．１、０．２、０．３、０．５、０．７５、０．９、１．０％）などを包含する。

【０１３８】

上に示されたとおり、本発明は、包装資材、ならびに場合によっては水性希釈剤中の処方された緩衝剤および／若しくは保存剤とともに最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの溶液を含んでなる最低１本のバイアルを含んでなる製品を提供し、前記包装資材は、こうした溶液を１、２、３、４、５、６、９、１２、１８、２０、２４、３０、３６、４０、４８、５４、６０、６６、７２時間若しくはそれ以上にわたり保持し得ることを示すラベルを含んでなる。本発明はさらに、包装資材、凍結乾燥した最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを含んでなる第一のバイアル、および処方された緩衝剤若しくは保存剤の水性希釈剤を含んでなる第二のバイアルを含んでなる製品を含んでなり、前記包装資材は、該最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを水性希釈剤中で再構成して２４時間若しくはそれ以上にわたり保持し得る溶液を形成することを患者に指図するラベルを含んでなる。

【０１３９】

本発明で使用される最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構

築物または指定される部分若しくはバリアントは、本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知であるとおり、哺乳動物細胞若しくはトランスジェニックの調製物からを包含する組換え手段により製造し得るか、または他の生物学的供給源から精製し得る。

【０１４０】

本発明の製品中の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの量の範囲は、再構成に際して生じる量、すなわち湿潤／乾燥系での場合は約０．１μｇ／ｍｌから約１００ｍｇ／ｍｌまでの濃度を包含するとは言え、より低いおよびより高い濃度が操作可能であり、そして意図される送達ベヒクルに依存し、例えば、溶液製剤は、経皮貼付剤、肺、経粘膜、または浸透圧若しくはマイクロポンプ法と異なることができる。

【０１４１】

好ましくは、水性希釈剤は製薬学的に許容できる保存剤を場合によってはさらに含んでなる。好ましい保存剤は、フェノール、ｍ－クレゾール、ｐ－クレゾール、ｏ－クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウムおよびチメロサール若しくはそれらの混合物よりなる群から選択されるものを包含する。製剤中で使用される保存剤の濃度は抗菌効果を生じるのに十分な濃度である。こうした濃度は選択した保存剤に依存し、そして当業者により容易に決定される。

【０１４２】

他の賦形剤、例えば等張剤、緩衝剤、抗酸化剤、保存増強剤を場合によってはかつ好ましくは希釈剤に添加し得る。グリセリンのような等張剤は一般に既知濃度で使用する。生理学的に耐えられる緩衝剤を、好ましくは改良されたｐＨ制御を提供するために添加する。製剤は、約ｐＨ４から約ｐＨ１０までのような広範囲のｐＨ、および約ｐＨ５から約ｐＨ９までの好ましい範囲、および約６．０ないし約８．０の最も好ましい範囲を包括し得る。好ましくは本発明の製剤は約６．８と約７．８の間のｐＨを有する。好ましい緩衝剤はリン酸緩衝液、最も好ましくはリン酸ナトリウム、とりわけリン酸緩衝生理的食塩水（ＰＢＳ）を包含する。

【０１４３】

Ｔｗｅｅｎ　２０（ポリオキシエチレン（２０）ソルビタンモノラウレート）、Ｔｗｅｅｎ　４０（ポリオキシエチレン（２０）ソルビタンモノパルミテート）、Ｔｗｅｅｎ　８０（ポリオキシエチレン（２０）ソルビタンモノオレエート）、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ　Ｆ６８（ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックコポリマー）およびＰＥＧ（ポリエチレングリコール）のような製薬学的に許容できる可溶化剤、あるいはポリソルベート２０若しくは８０またはポロキサマー１８４若しくは１８８、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ？多価アルコール（ｐｏｌｙｌ）、他のブロックコポリマーのような非イオン性界面活性剤、ならびにＥＤＴＡおよびＥＧＴＡのようなキレート剤のような他の添加物を、凝集を低下させるために該製剤若しくは組成物に場合によっては添加し得る。これらの添加物は、ポンプ若しくはプラスチック容器を使用して製剤を投与する場合にとりわけ有用である。製薬学的に許容できる界面活性剤の存在はタンパク質が凝集する傾向を緩和する。

【０１４４】

本発明の製剤は、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント、ならびにフェノール、ｍ－クレゾール、ｐ－クレゾール、ｏ－クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、アルキルパラベン、（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウムおよびチメロサールよりなる群から選択される保存剤若しくはそれらの混合物を水性希釈剤中で混合することを含んでなる方法により製造し得る。最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントおよび保存剤を水性希釈剤中で混合することは、慣習的溶解および混合手順を使用して実施する。適する製剤を製造するため、例えば、緩衝溶液中の測定された量の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しく

はバリアントを、所望の濃度のタンパク質および保存剤を提供するのに十分な量で緩衝溶液中で所望の保存剤と組み合わせる。この方法の変形が当業者により認識されるであろう。例えば、成分を添加する順序、付加的な添加物を使用するかどうか、製剤を製造する温度およびｐＨは全部、使用される濃度および投与手段について最適化しうる因子である。

【０１４５】

特許請求される製剤は、澄明な溶液として、あるいは、水性希釈剤中に水、保存剤ならびに／または賦形剤、好ましくはリン酸緩衝液および／若しくは生理的食塩水ならびに選ばれた塩を含有する第二のバイアルで再構成される凍結乾燥した最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントのバイアルを含んでなる２本のバイアルとして、患者に提供し得る。単一の溶液バイアル若しくは再構成を必要とする２本のバイアルのいずれも複数回再使用し得、かつ、単一若しくは複数周期の患者処置に十分であり得、そして従って現在利用可能よりも便宜的な処置レジメンを提供し得る。

【０１４６】

本特許請求される製品は、即座ないし２４時間若しくはそれ以上にわたる投与に有用である。従って現在特許請求される製品は患者に大きな利点を提供する。本発明の製剤は、場合によっては約２から約４０？Ｃまでの温度で安全に保存し得かつタンパク質の生物学的活性を長期間保持し得、従って、６、１２、１８、２４、３６、４８、７２若しくは９６時間またはそれ以上にわたり該溶液を保持かつ／若しくは使用し得ることを示す包装ラベルを可能にする。保存される希釈剤を使用する場合、こうしたラベルは１～１２か月、半年、１年半および／若しくは２年の最低１種までの使用を包含し得る。

【０１４７】

本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの溶液は、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを水性希釈剤中で混合することを含んでなる方法により製造し得る。混合することは慣習的溶解および混合手順を使用して実施する。適する希釈剤を製造するため、例えば、水若しくは緩衝液中の測定された量の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを、所望の濃度のタンパク質および場合によっては保存剤若しくは希釈剤を提供するのに十分な量で組み合わせる。この方法の変形が当業者により認識されるであろう。例えば、成分を添加する順序、付加的な添加物を使用するかどうか、製剤を製造する温度およびｐＨは全部、使用される濃度および投与手段について最適化しうる因子である。

【０１４８】

特許請求される製品は、澄明な溶液として、あるいは、水性希釈剤を含有する第二のバイアルで再構成される凍結乾燥した最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントのバイアルを含んでなる２本のバイアルとして、患者に提供し得る。単一の溶液バイアル若しくは再構成を必要とする２本のバイアルのいずれも複数回再使用し得、かつ、単一若しくは複数周期の患者処置に十分であり得、そして従って現在利用可能よりも便宜的な処置レジメンを提供する。

【０１４９】

特許請求される製品は、澄明な溶液、あるいは、水性希釈剤を含有する第二のバイアルで再構成される凍結乾燥した最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントのバイアルを含んでなる２本のバイアルを薬局、診察室若しくは他のこうした施設（ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎ）および施設（ｆａｃｉｌｉｔｙ）に提供することにより患者に間接的に提供し得る。この場合の澄明な溶液は大きさが１リットルまで若しくはより大きくさえあり得、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの溶液のより小さい部分をより小さいバイアルへの移動のため薬局若しくは診察室により１回若しくは複数回取り出し得かつそれらの顧客および／若しくは患者に提供し得る大型

のリザーバを提供する。

【０１５０】

これらの単一バイアル系を含んでなる認識されるデバイスは、Ｈｕｍａｊｅｃｔ?、ＮｏｖｏＰｅｎ?、Ｂ－Ｄ(Ｒ)Ｐｅｎ、ＡｕｔｏＰｅｎ?およびＯｐｔｉＰｅｎ?のような溶液の送達のためのペン注入器デバイスを包含する。２本のバイアル系を含んでなる認識されるデバイスは、ＨｕｍａｔｒｏＰｅｎ(Ｒ)のような再構成した溶液の送達のためカートリッジ中で凍結乾燥した薬物を再構成するためのペン注入器デバイスを包含する。

【０１５１】

現在特許請求される製品は包装資材を包含する。包装資材は、規制当局により必要とされる情報に加え該製品を使用し得る条件を提供する。本発明の包装資材は、２本のバイアルすなわち湿潤／乾燥製品について、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを水性希釈剤中で再構成して溶液を形成しかつ該溶液を２～２４時間若しくはそれ以上にわたり使用するための患者に対する説明書を提供する。単一バイアルの溶液製品について、ラベルはこうした溶液を２～９６時間若しくはそれ以上にわたり使用し得ることを示す。現在特許請求される製品はヒトの製薬学的製品の使用に有用である。

【０１５２】

本発明の製剤は、ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントおよび選択された緩衝液、好ましくは生理的食塩水若しくは選ばれた塩を含有するリン酸緩衝液を製造され得る。最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントおよび緩衝剤を水性希釈剤中で混合することは、慣習的な溶解および混合手順を使用して実施する。適する製剤を製造するため、例えば、水若しくは緩衝液中の測定された量の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを、所望の濃度のタンパク質および緩衝剤を提供するのに十分な量で水中の所望の緩衝剤と組み合わせる。この方法の変形が当業者により認識されるであろう。例えば、成分を添加する順序、付加的な添加物を使用するかどうか、製剤を製造する温度およびｐＨは全部、使用される濃度および投与手段について最適化し得る因子である。

【０１５３】

特許請求される安定なすなわち保存される製剤は、澄明な溶液として、あるいは、水性希釈剤中に保存剤若しくは緩衝液および賦形剤を含有する第二のバイアルで再構成される凍結乾燥した最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントのバイアルを含んでなる２本のバイアルとして、患者に提供し得る。単一の溶液バイアル若しくは再構成を必要とする２本のバイアルのいずれも複数回再使用し得、かつ、単一若しくは複数周期の患者処置に十分であり得、そして従って現在利用可能よりも便宜的な処置レジメンを提供する。

【０１５４】

本明細書に記述される安定なすなわち保存される製剤若しくは溶液のいずれか中の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築または指定される部分若しくはバリアントは、当該技術分野で公知のところの、ＳＣ若しくはＩＭ注入；経皮、肺、経粘膜、植込物、浸透圧ポンプ、カートリッジ、マイクロポンプまたは当業者により認識される他の手段を包含する多様な送達方法を介して本発明により患者に投与し得る。

【０１５５】

治療的応用。本発明は、それの必要な細胞、組織、器官若しくは個体に有効量の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の組成物を投与することを含んでなる、膵の機能の増大方法を提供する。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物は、島の分化を促進し、□細胞量を増大させ、かつ／若しくはインスリン分泌を増大させうる。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物はｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで投与し得る。

【０１５６】

例えば、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の処置は、膵若しくは島移植患者またはインスリン産生細胞を必要とする他の細胞療法で使用し得る。細胞療法は、細胞の生存を高める若しくは免疫拒絶を予防するように設計されたデバイスの支援を伴い若しくは伴わずに静脈内、皮下、筋肉内若しくは腹腔内に患者に送達しうる。それはまた膵の一部分の外科的除去後の患者でも使用し得る。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物は、該処置の前若しくは後に膵の□細胞量および機能を増大させるため生存している膵若しくは島ドナーに投与し得る。それは移植前にｉｎ ｖｉｔｒｏで□細胞の増殖を刺激するのにもまた使用し得、それにより□細胞量を増大させかつ移植されれば島のアポトーシスを予防する。それはさらに、分化および増殖を刺激するためならびにアポトーシスの予防のために、インスリン産生細胞の幹、前駆細胞（ｐｒｏｇｅｎｉｔｏｒ）若しくは前駆体（ｐｒｅｃｕｒｓｏｒ）の培養物中で使用し得る。

【０１５７】

本発明は、有効量の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の組成物をそれの必要な個体に投与することを含んでなる、糖尿病になる高い危険性にさらされている個体における糖尿病の発症の遅延若しくはその予防方法を提供する。

【０１５８】

本発明は、限定されるものでないがインスリン抵抗性、高血糖、低血糖、クッシング症候群、黒色表皮症、脂肪萎縮性糖尿病、網膜症、腎症、多発ニューロパシー、単ニューロパシー、自律神経ニューロパシー、潰瘍、足潰瘍、関節の問題、感染症（例えば真菌若しくは細菌）などを挙げることができる関連する徴候および症状を包含する成人発症若しくは若年性、インスリン依存型、インスリン非依存型などを包含するＩ型若しくはＩＩ型糖尿病の最低１種を限定されるものでないが挙げることができる、細胞、組織、器官、動物若しくは患者における最低１種の糖尿病関連の免疫関連疾患の調節若しくは処置方法も提供する。例えば、Ｍｅｒｃｋ Ｍａｎｕａｌ、第１２～１７版、Ｍｅｒｃｋ ＆ Ｃｏｍｐａｎｙ、ニュージャージー州ローウェー（１９７２、１９７７、１９８２、１９８７、１９９２、１９９９）、Ｐｈａｒｍａｃｏｔｈｅｒａｐｙ Ｈａｎｄｂｏｏｋ、Ｗｅｌｌｓら編、第２版、Ａｐｐｌｅｔｏｎ ａｎｄ Ｌａｎｇｅ、コネチカット州スタンフォード（１９９８、２００１）（それぞれ引用することによりそっくりそのまま組み込まれる）を参照されたい。他の制限しない膵障害は膵炎、膵腫瘍若しくは膵癌を包含する。

【０１５９】

本発明は、高血糖をもたらす最低１種の代謝障害の調節若しくは処置方法を提供する。こうした障害の制限しない例は、肝硬変、および高血圧と関連する耐糖能障害を包含する。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物の処置は、高血糖および／若しくは糖尿病を誘発することが既知の他の医薬品とともにもまた使用し得る。こうした医薬品の制限しない例は、臓器移植で与えられるシクロスポリン若しくはＦＫ－５０６のような免疫抑制薬、ＡＩＤＳを伴う患者に処方されるプロテアーゼ阻害剤、および統合失調症の処置で使用される非定型抗精神病薬を包含する。

【０１６０】

本発明はまた、限定されるものでないが、心原性失神症候群、心筋梗塞、うっ血性心不全、卒中、虚血性卒中、出血、動脈硬化症、アテローム硬化症、糖尿病性動脈硬化性疾患、高血圧症、動脈高血圧症、腎血管性高血圧症、失神、ショック、心血管系の梅毒、心不全、肺性心、原発性肺高血圧症、心不整脈、心房異所性拍動、心房粗動、心房細動（持続性若しくは発作性）、無秩序若しくは多病巣性心房性頻脈、規則的狭ＱＲＳ頻脈（ｒｅｇｕｌａｒ ｎａｒｒｏｗ ＱＲＳ ｔａｃｈｙｃａｒｄｉａ）、特異性不整脈、心室細動、Ｈｉｓ束不整脈、房室ブロック、脚ブロック、心筋虚血障害、冠動脈疾患、狭心症、心筋梗塞、心筋症、拡張型うっ血性心筋症、拘束型心筋症、弁膜心疾患、心内膜炎、心膜疾患、心腫瘍、大動脈および末梢動脈瘤、大動脈解離、大動脈の炎症、腹部大動脈およびその側枝の閉塞、末梢血管障害、閉塞性動脈障害、末梢アテローム硬化性（ａｔｈｅｒｌｏｓｃｌｅｒｏｔｉｃ）疾患、閉塞性血栓性血管炎、機能的末梢動脈障害、レイノー現象およびレイノー病、肢端チアノーゼ、肢端紅痛症、静脈疾患、静脈血栓症、静脈瘤、動静脈

瘻、リンパ水腫、脂肪性浮腫、不安定型狭心症、再灌流傷害、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ　ｐｕｍｐ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、虚血－再灌流傷害などの最低１種を挙げることができる、細胞、組織、器官、動物若しくは患者における最低１種の心血管系疾患の調節若しくは処置方法も提供する。こうした方法は、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを含んでなる組成物若しくは製薬学的組成物の有効量をこうした調節、処置若しくは治療の必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に投与することを場合によっては含み得る。

【０１６１】

本発明のいずれの方法も、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを含んでなる組成物若しくは製薬学的組成物の有効量をこうした調節、処置若しくは治療の必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に投与することを含み得る。こうした方法は、場合によっては、前記最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニストまたは受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物、それらの指定される部分若しくはバリアントの投与が、糖尿病若しくはインスリン代謝関連薬物、ＴＮＦアンタゴニスト（限定されるものでないがＴＮＦ抗体若しくはフラグメント、可溶性ＴＮＦ受容体若しくはフラグメント、それらの融合タンパク質または小分子ＴＮＦアンタゴニストを挙げることができる）、抗リウマチ薬、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋遮断薬、抗菌薬（例えばアミノグリコシド、抗真菌薬、抗寄生虫薬、抗ウイルス薬、カルバペネム、セファロスポリン、フルオロキノロン（ｆｌｕｒｏｒｑｕｉｎｏｌｏｎｅ）、マクロライド、ペニシリン、スルホンアミド、テトラサイクリン、別の抗菌薬）、抗乾癬薬、コルチコステロイド、蛋白同化ステロイド、糖尿病関連薬、ミネラル、栄養薬、甲状腺薬、ビタミン、カルシウム関連ホルモン、止瀉薬、鎮咳薬、制吐剤、抗潰瘍薬、緩下剤、抗凝固薬、エリスロポエチン（ｅｒｙｔｈｒｏｐｉｅｉｔｉｎ）（例えばＧＬＰ－１エチン（ＧＬＰ－１ｅｔｉｎ）α）、フィルグラスチム（例えばＧ－ＣＳＦ、Ｎｅｕｐｏｇｅｎ）、サルグラモスチム（ＧＭ－ＣＳＦ、Ｌｅｕｋｉｎｅ）、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬（例えばバシリキシマブ、シクロスポリン、ダクリズマブ）、成長ホルモン、ホルモン補充薬、エストロゲン受容体調節物質、散瞳薬、毛様筋調節薬、アルキル化剤、代謝拮抗薬、有糸分裂阻害剤、放射性医薬品、抗うつ薬、抗躁薬、抗精神病薬、抗不安薬、睡眠薬、交感神経刺激薬、興奮剤、ドネペジル、タクリン、喘息医薬品、βアゴニスト、吸入ステロイド、ロイコトリエン阻害剤、メチルキサンチン、クロモリン、エピネフリン若しくはアナログ、ドルナーゼα（Ｐｕｌｍｏｚｙｍｅ）、サイトカインあるいはサイトカインアンタゴニストの最低１種から選択される最低１種の前、同時および／若しくは後に投与することをさらに含んでなる共投与若しくは併用療法をさらに含み得る。適する投薬量は当該技術分野で公知である。例えば、Ｗｅｌｌｓら編、Ｐｈａｒｍａｃｏｔｈｅｒａｐｙ　Ｈａｎｄｂｏｏｋ、第２版、Ａｐｐｌｅｔｏｎ　ａｎｄ　Ｌａｎｇｅ、コネチカット州スタンフォード（２０００）；ＰＤＲ　Ｐｈａｒｍａｃｏｐｏｅｉａ，Ｔａｒａｓｃｏｎ　Ｐｏｃｋｅｔ　Ｐｈａｒｍａｃｏｐｏｅｉａ　２０００、豪華版、Ｔａｒａｓｃｏｎ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、カリフォルニア州ロマリンダ（２０００）（それらの参考文献のそれぞれは引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる）を参照されたい。

【０１６２】

サイトカインは限定されるものでないが全部の既知のサイトカインを挙げることができる。例えばＣｏｐｅｗｉｔｈＣｙｔｏｋｉｎｅｓ．ｃｏｍを参照されたい。サイトカインアンタゴニストは、限定されるものでないがいかなる抗体、フラグメント若しくは模倣物、いかなる可溶性の受容体、フラグメント若しくは模倣物、いかなる小分子アンタゴニストまたはそれらのいかなる組合せも挙げることができる。

【０１６３】

典型的には、病理学的状態の処置は、組成物に含有されるの比活性に依存して、合計で平均して用量あたり患者１キログラムあたり最低約０．０００１から５００ミリグラムま

での最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント、および好ましくは単回若しくは複数回投与あたり患者１キログラムあたり最低約０．００１から１００ミリグラムまでのＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの範囲になる最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物またはＧＬＰ－１受容体アゴニスト組成物の有効量若しくは投薬量を投与することにより遂げられる。あるいは、有効血清濃度は単回若しくは複数回投与あたり０．００１～５０００μｇ／ｍｌの血清濃度を含み得る。適する投薬量は医学実務者に既知であり、そしてもちろん特定の疾患状態、投与されている組成物の比活性および処置を受ける特定の患者に依存することができる。いくつかの例において、所望の治療量を達成するために、反復投与、すなわち所望の１日の用量若しくは効果が達成されるまで個々の投与を反復する特定の監視若しくは計測された用量の反復個別投与を提供することが必要であり得る。

【０１６４】

好ましい用量は、場合によっては、投与あたり０．０００１、０．０００２、０．０００３、０．０００４、０．０００５．０．０００６、０．０００７、０．０００８、０００００９、０．００１、０．００２、０．００３、０．００４、０．００５、０．００６、０．００７、０．００８、０．００９、０．０１、０．０２、０．０３、０．０４、０．０５．０．０６、０．０７、０．０８、０．０９、０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９および／若しくは３０ｍｇ／ｋｇまたはそのいずれかの範囲、値若しくは画分を、あるいは、単回若しくは複数回投与あたり０．０００１、０．０００２、０．０００３、０．０００４、０．０００５．０．０００６、０．０００７、０．０００８、００００９、０．００１、０．００２、０．００３、０．００４、０．００５、０．００６、０．００７、０．００８、０．００９、０．０１、０．０２、０．０３、０．０４、０．０５．０．０６、０．０７、０．０８、０．０９、０．１、０．５、０．９、１．０、１．１、１．２、１．５、１．９、２．０、２．５、２．９、３．０、３．５、３．９、４．０、４．５、４．９、５．０、５．５、５．９、６．０、６．５、６．９、７．０、７．５、７．９、８．０、８．５、８．９、９．０、９．５、９．９、１０、１０．５、１０．９、１１、１１．５、１１．９、２０、１２．５、１２．９、１３．０、１３．５、１３．９、１４．０、１４．５、４．９、５．０、５．５．、５．９、６．０、６．５、６．９、７．０、７．５、７．９、８．０、８．５、８．９、９．０、９．５、９．９、１０、１０．５、１０．９、１１、１１．５、１１．９、１２、１２．５、１２．９、１３．０、１３．５、１３．９、１４、１４．５、１５、１５．５、１５．９、１６、１６．５、１６．９、１７、１７．５、１７．９、１８、１８．５、１８．９、１９、１９．５、１９．９、２０、２０．５、２０．９、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９６、１００、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、１０００、１５００、２０００、２５００、３０００、３５００、４０００、４５００および／若しくは５０００μｇ／ｍｌの血清濃度またはそのいずれかの範囲、値若しくは画分の血清濃度を達成するように包含し得る。

【０１６５】

あるいは、投与される投薬量は、特定の剤の薬力学的特徴ならびにその投与様式および経路；受領者の齢、健康状態および重量；症状の性質および程度、付随する処置の種類、処置の頻度、ならびに所望の効果のような既知の因子に依存して変動し得る。通常、有効成分の投薬量は体重１キログラムあたり約０．０００１ないし１００ミリグラムであり得る。投与あたり若しくは除放形態で１キログラムあたり通常０．００１ないし１０および好ましくは０．００１ないし１ミリグラムが所望の結果を得るのに有効である。

【０１６６】

制限しない一例として、ヒト若しくは動物の処置は、単一、注入、若しくは反復用量を

使用して、第１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９若しくは４０日の最低１つ、または、あるいは第１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９若しくは２０週の最低１つあるいはそれらのいずれかの組合せに、本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの一時若しくは定期的投薬量として１日あたり０．０００２、０．０００３、０．０００４、０．０００５．０．０００６、０．０００７、０．０００８、０００００９、０．００１、０．００２、０．００３、０．００４、０．００５、０．００６、０．００７、０．００８、０．００９、０．０１、０．０２、０．０３、０．０４、０．０５．０．０６、０．０７、０．０８、０．０９、０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．９、１．０、１．１、１．５、２、３、４、５、６、７、８、９若しくは１０ｍｇ／ｋｇのような０．０００１ないし１００ｍｇ／ｋｇを提供し得る。

【０１６７】

内的投与に適する投薬形態物（組成物）は、一般に、単位若しくは容器あたり約０．０００１ミリグラムから約５００ミリグラムまでの有効成分を含有する。これらの製薬学的組成物中で、有効成分は通常、組成物の総重量に基づき約０．５～９９．９９９重量％の量で存在することができる。

【０１６８】

非経口投与のためには、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを、製薬学的に許容できる非経口ベヒクルとともに溶液、懸濁剤、乳剤若しくは凍結乾燥粉末として処方し得るか、または別個に提供し得る。こうしたベヒクルの例は水、生理的食塩水、リンゲル液、ブドウ糖溶液および５％ヒト血清アルブミンである。リポソーム、および不揮発性油のような非水性ベヒクルもまた使用しうる。ベヒクル若しくは凍結乾燥粉末は、等張性（例えば塩化ナトリウム、マンニトール）ならびに化学的安定性（例えば緩衝剤および保存剤）を維持する添加物を含有しうる。該製剤は既知の若しくは適する技術により滅菌する。

【０１６９】

適する製薬学的担体は、この分野の標準的参照教科書、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ａ．Ｏｓｏｌの最新版に記述されている。

【０１７０】

治療的投与。製薬学的有効量の本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを投与するのに多くの既知のおよびの開発されたの様式を使用し得る。本発明のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物は、吸入、または本明細書に（ｈｅｒｅ　ｗｉｔｈｉｎ）記述されるか若しくは当該技術分野で既知の他の様式による投与に適する多様なデバイスおよび方法のいずれかを使用して、溶液、乳剤、コロイド若しくは懸濁剤としてまたは粉末として担体中で送達し得る。

【０１７１】

非経口製剤および投与。非経口投与のための製剤は、共通の賦形剤として滅菌水若しくは生理的食塩水、ポリエチレングリコールのようなポリアルキレングリコール、植物起源の油、水素化ナフタレンなどを含有し得る。注入のための水性若しくは油性懸濁剤は、適切な乳化剤若しくは湿潤剤および懸濁化剤を既知の方法に従って使用することにより製造し得る。注入のための剤は、水性溶液または溶媒中の無菌の注入可能な溶液若しくは懸濁液のような非毒性の経口で投与可能でない希釈剤であり得る。使用可能なベヒクル若しくは溶媒として、水、リンゲル液、等張生理的食塩水などが許容され；通常の溶媒若しくは懸濁化溶媒として無菌の不揮発性油を使用し得る。これらの目的上、天然のまたは合成若しくは半合成の脂肪油若しくは脂肪酸；天然のまたは合成若しくは半合成のモノ若しくは

ジ若しくはトリグリセリドを包含するいかなる種類の不揮発性油および脂肪酸も使用し得る。非経口投与は当該技術分野で既知であり、そして、限定されるものでないが慣習的注入手段、米国特許第５，８５１，１９８号明細書に記述されるところのガス加圧式無針注入デバイス、および米国特許第５，８３９，４４６号明細書（引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる）に記述されるところのレーザー穿孔器デバイスを挙げることができる。

【０１７２】

代替送達。本発明はさらに、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの非経口、皮下、筋肉内、静脈内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮手段による投与に関する。タンパク質、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの組成物は、非経口（皮下、筋肉内若しくは静脈内）投与のためとりわけ液体の溶液若しくは懸濁液の形態で；膣若しくは直腸投与での使用のためとりわけクリーム剤および坐剤のような半固形の形態で；頬側若しくは舌下投与のためとりわけ錠剤若しくはカプセル剤の形態で；あるいはとりわけ粉末、点鼻薬若しくはエアゾルまたはある種の剤の形態で鼻内で；あるいは、皮膚構造を改変するか若しくは経皮貼付剤中の薬物濃度を増大させるかのいずれかのためのジメチルスルホキシドのような化学的増強剤を含む（“Ｄｒｕｇ　Ｐｅｒｍｅａｔｉｏｎ　Ｅｎｈａｎｃｅｍｅｎｔ”；Ｈｓｉｅｈ，Ｄ．Ｓ．編中Ｊｕｎｇｉｎｇｅｒら、ｐｐ．５９－９０（Ｍａｒｃｅｌ　Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．ニューヨーク　１９９４（引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる））、あるいはタンパク質およびペプチドを含有する製剤の皮膚上への塗布を可能にする酸化剤（第ＷＯ　９８／５３８４７号明細書）または電気穿孔のような一過性の輸送経路を創製するか若しくはイオントフォレーシスのような皮膚を通る荷電した薬物の移動性を増大させるための電場の適用、あるいはソノフォレーシスのような超音波の適用（米国特許第４，３０９，９８９号および同第４，７６７，４０２号明細書）（上の刊行物および特許は引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる）を伴う、とりわけゲル剤、軟膏剤、ローション剤、懸濁剤若しくは貼付剤送達系（限定されるものでないがＡｌｚａ、米国カリフォルニア州によるＭａｃｒｏｆｌｕｘ™またはいずれかの他の既知の方法、デバイス若しくは技術を挙げることができる）の形態で経皮での使用のため製造し得る。

【０１７３】

肺／鼻投与。肺投与のため、好ましくは最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの組成物は、肺の下部気道若しくは洞（ｓｉｎｕｓｅｓ）に達するために有効な粒子径で送達される。本発明により、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントは、吸入による治療薬の投与のための当該技術分野で既知の多様な吸入若しくは鼻デバイスのいずれかにより送達し得る。患者の副鼻腔洞（ｓｉｎｕｓ　ｃａｖｉｔｙ）若しくは肺胞中でエアゾル化製剤を沈着させることが可能なこれらのデバイスは、定量噴霧式吸入器、ネブライザー、乾燥粉末発生デバイス、噴霧器などを包含する。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの肺若しくは鼻投与を指図するのに適する他のデバイスもまた当該技術分野で既知である。全部のこうしたデバイスは、エアゾル中のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの分注のための投与に適する製剤の使用し得る。こうしたエアゾルは溶液（水性および非水性双方）若しくは固体粒子のいずれからも構成され得る。Ｖｅｎｔｏｌｉｎ(R)定量噴霧式吸入器のような定量噴霧式吸入器は典型的に噴射剤ガスを使用し、そして吸気の間の起動を必要とする（例えば第ＷＯ　９４／１６９７０号、同第ＷＯ　９８／３５８８８号明細書を参照されたい）。Ｉｎｈａｌｅ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓにより市販されているデバイス、Ｔｕｒｂｕｈａｌｅｒ™（Ａｓｔｒａ）、Ｒｏｔａｈａｌｅｒ(R)（Ｇｌａｘｏ）、Ｄｉｓｋｕｓ(R)（Ｇｌａｘｏ）、Ｓｐｉｒｏｓ™吸入器（Ｄｕｒａ）のような乾燥粉

末吸入器およびＳｐｉｎｈａｌｅｒ(R)粉末吸入器（Ｆｉｓｏｎｓ）は混合粉末の呼吸起動を使用する（米国特許第ＵＳ　４６６８２１８号　Ａｓｔｒａ、欧州特許第ＥＰ　２３７５０７号　Ａｓｔｒａ、第ＷＯ　９７／２５０８６号　Ｇｌａｘｏ、第ＷＯ　９４／０８５５２号　Ｄｕｒａ、米国特許第ＵＳ　５４５８１３５号　Ｉｎｈａｌｅ、第ＷＯ　９４／０６４９８号明細書　Ｆｉｓｏｎｓ（引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる））。ＡＥＲｘ™　Ａｒａｄｉｇｍ、Ｕｌｔｒａｖｅｎｔ(R)ネブライザー（Ｍａｌｌｉｎｃｋｒｏｄｔ）およびＡｃｏｒｎ　ＩＩ(R)ネブライザー（Ｍａｒｑｕｅｓｔ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｐｒｏｄｕｃｔｓ）（米国特許第ＵＳ　５４０４８７１号　Ａｒａｄｉｇｍ、第ＷＯ　９７／２２３７６号明細書）（上の参考文献は引用することにより本明細書にそっくりそのまま組み込まれる）のようなネブライザーは溶液からエアゾルを生じさせる一方、定量噴霧式吸入器、乾燥粉末吸入器などは小粒子エアゾルを生成させる。商業的に入手可能な吸入デバイスのこれらの特定の例は本発明の実務に適する特定のデバイスの代表例であることを意図しており、そして本発明の範囲を制限するとして意図していない。好ましくは、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを含んでなる組成物は乾燥粉末吸入器若しくは噴霧器により送達される。本発明の最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを投与するための吸入デバイスのいくつかの望ましい特徴が存在する。例えば、吸入デバイスによる送達は有利に信頼でき、再現可能かつ正確である。吸入デバイスは、場合によっては、良好な呼吸可能性のため小さな乾燥粒子、例えば約１０？ｍ未満、好ましくは約１～５？ｍを送達し得る。

【０１７４】

ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの組成物のスプレー剤としての投与。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質を包含するスプレー剤は、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの懸濁液若しくは溶液に加圧下にノズルを通させることにより生じさせ得る。ノズルの大きさおよび構成、適用される圧ならびに液体フィード速度を、所望の出力および粒子径を達成するように選ぶことができる。例えばキャピラリー若しくはノズルフィードとともにの電場により電気スプレーを生じさせ得る。有利には、噴霧器により送達される最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の粒子は、約１０？ｍ未満、好ましくは約１μｍないし５μｇ、および最も好ましくは約２μｍないし約３μｍの範囲の粒子径を有する。

【０１７５】

噴霧器を用いる使用に適する最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の製剤は、典型的に、溶液１ｍｌあたり約１ｍｇないし約２０ｍｇの最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくは受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の濃度で水性溶液中にＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質を包含する。該製剤は、賦形剤、緩衝剤、等張剤、保存剤、界面活性剤および好ましくは亜鉛のような剤を包含し得る。該製剤はまた、賦形剤、あるいは、緩衝剤、還元剤、バルクタンパク質若しくは炭水化物のようなＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の安定化のための剤も包含し得る。ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の処方において有用なバルクタンパク質はアルブミン、プロタミンなどを包含する。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の処方において有用な典型的な炭水化物は、ショ糖、マンニトール、乳糖、トレハロース、ブドウ糖などを包含する。ＧＬＰ－１受

容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質製剤はまた、エアゾルの形成における溶液の霧化により引き起こされるＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の表面誘発性凝集を低下若しくは予防し得る界面活性剤も包含し得る。ポリオキシエチレン脂肪酸エステルおよびアルコールならびにポリオキシエチレンソルビトール脂肪酸エステルのような多様な慣習的界面活性剤を使用し得る。量は一般に製剤の０．００１と１４重量％の間の範囲にわたることができる。本発明の目的上とりわけ好ましい界面活性剤は、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリソルベート８０、ポリソルベート２０などである。ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントのようなタンパク質の製剤について当該技術分野で既知の付加的な剤もまた、該製剤中に包含し得る。

【０１７６】

ネブライザーによるＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの組成物の投与。ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質は、ジェットネブライザー若しくは超音波ネブライザーのようなネブライザーにより投与し得る。典型的には、ジェットネブライザー中では圧縮空気供給源を使用してオリフィスを通して高速空気ジェットを創製する。ガスがノズルを超えて膨脹する際に低圧領域が創製され、それが液体リザーバに接続された毛細管を通してＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の溶液を引き出す。毛細管からの液体流はそれが管を出る際に不安定な糸状体および液滴に剪断されてエアゾルを創製する。ある範囲の構成、流速およびバッフル型を使用して所定のジェットネブライザーから所望の性能の特徴を達成し得る。超音波ネブライザーにおいては、高周波電気エネルギーを使用して、典型的には圧電トランスを使用して振動性の力学的エネルギーを創製する。このエネルギーが、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の製剤に直接若しくはカップリング液によるかのいずれかで伝播されて、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質を包含するエアゾルを創製する。有利には、ネブライザーにより送達されるＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の粒子は、約１０μｍ未満、好ましくは約１μｇないし約５μｍ、および最も好ましくは約２μｍないし約３μｍの範囲の粒子径を有する。

【０１７７】

ジェット若しくは超音波いずれかのネブライザーを用いる使用に適する最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの製剤は、典型的には溶液１ｍｌあたり約１μｇないし約２０ｍｇの最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントタンパク質の濃度で水性溶液中にＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質を包含する。該製剤は賦形剤、緩衝剤、等張剤、保存剤、界面活性剤、および好ましくは亜鉛のような剤を包含し得る。該製剤はまた、賦形剤、または、緩衝剤、還元剤、バルクタンパク質若しくは炭水化物のような最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の安定化のための剤も包含し得る。最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の処方において有用なバルクタンパク質はアルブミン、プロタミンなどを包含する。最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの処方において有用な典型的な炭水化物は、ショ糖、マンニトール、乳糖、トレハロース、ブドウ糖などを包含する。最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント製剤は、エアゾルの形成において溶液の霧化により引き起こされる最低１

種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの表面誘発性凝集を低下若しくは予防し得る界面活性剤もまた包含し得る。ポリオキシエチレン脂肪酸エステルおよびアルコールならびにポリオキシエチレンソルビタル脂肪酸エステルのような多様な慣習的界面活性剤を使用し得る。量は一般に製剤の０．００１と４重量％の間の範囲にわたることができる。本発明の目的上とりわけ好ましい界面活性剤は、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリソルベート８０、ポリソルベート２０などである。最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントタンパク質のようなタンパク質の製剤について当該技術分野で既知の付加的な剤もまた製剤中に包含し得る。

【０１７８】

定量噴霧式吸入器によるＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの組成物の投与。定量噴霧式吸入器（ＭＤＩ）中では、噴射剤、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントおよびいずれかの賦形剤若しくは他の添加物が、液化圧縮ガスを包含する混合物としてキャニスター中に含有される。計量バルブの起動が、好ましくは約１０μｍ未満、好ましくは約１μｍないし約５μｍ、および最も好ましくは約２μｍないし約３μｍの大きさ範囲の粒子を含有するエアゾルとして該混合物を放出する。所望のエアゾル粒子径は、ジェットミル粉砕、噴霧乾燥、臨界点凝縮などを包含する当業者に既知の多様な方法により製造されるＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアント組成物タンパク質の製剤を使用することにより得ることができる。好ましい定量噴霧式吸入器は、３Ｍ若しくはＧｌａｘｏにより製造されかつハイドロフルオロカーボン噴射剤を使用するものを包含する。

【０１７９】

定量噴霧式吸入器デバイスを用いる使用のための最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの製剤は、一般に、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを例えば界面活性剤の助けを借りて噴射剤中に懸濁した非水性媒体中の懸濁液として含有する微粉を包含することができる。噴射剤は、トリクロロフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタノールおよび１，１，１，２－テトラフルオロエタン、ＨＦＡ－１３４ａ（ヒドロフルオロアルカン－１３４ａ）、ＨＦＡ－２２７（ヒドロフルオロアルカン－２２７）などを包含するクロロフルオロカーボン、ヒドロクロロフルオロカーボン、ヒドロフルオロカーボン若しくは炭化水素のような本目的上使用されるいずれの慣習的物質でもあり得る。好ましくは噴射剤はヒドロフルオロカーボンである。界面活性剤は、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを噴射剤中の懸濁液として安定化させる、有効成分を化学的分解に対し保護する、などのために選ぶことができる。適する界面活性剤はソルビタントリオレエート、ダイズレシチン、オレイン酸などを包含する。いくつかの場合には、エタノールのような溶媒を使用する溶液エアゾルが好ましい。タンパク質のようなタンパク質の製剤について当該技術分野で既知の付加的な剤もまた該製剤に包含し得る。

【０１８０】

当業者は、本発明の方法を、本明細書に記述されないデバイスを介する最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの組成物の肺投与により達成し得ることを認識するであろう。

【０１８１】

粘膜製剤および投与。粘膜表面を通る吸収のため、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを投与する組成物および方法は、乳剤粒子の粘膜付着を達成することにより粘膜表面を通る吸収を促進する複数のサブミクロン粒子、粘膜付着性巨大分子、生物活性ペプチドおよび水性連続層を含んでなる乳剤を包含する（米国特許第５，５１４，６７０号明細書）。本発明の乳

剤の適用に適する粘膜表面は、角膜、結膜、頬側、舌下、鼻、膣、肺、胃、腸および直腸の投与経路を包含し得る。膣若しくは直腸投与のための製剤例えば坐剤は、賦形剤として例えばポリアルキレングリコール、ワセリン、カカオバターなどを含有し得る。鼻内投与のための製剤は固体であり得、そして賦形剤として例えば乳糖を含有し得るか、または点鼻薬の水性若しくは油性溶液であり得る。頬側投与のためには、賦形剤は糖、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、糊化済デンプンなどを包含する（米国特許第５，８４９，６９５号明細書）。

【０１８２】

経口製剤および投与。経口のための製剤は、腸壁の浸透性を人工的に増大させるための補助物質（例えばレゾルシノール、ならびにポリオキシエチレンオレイルエーテルおよびｎ－ヘキサデシルポリエチレンエーテルのような非イオン性界面活性剤）の共投与、ならびに酵素的分解を阻害するための酵素阻害剤（例えば膵トリプシンインヒビター、ジイソプロピルフルオロリン酸（ＤＦＦ）およびトラシロール）の共投与に頼る。経口投与のための固体型投薬形態物の有効構成成分は、ショ糖、乳糖、セルロース、マンニトール、トレハロース、ラフィノース、マルチトール、デキストラン、デンプン、寒天、アルギン酸塩、キチン、キトサン、ペクチン、トラガカントガム、アラビアゴム、ゼラチン、コラーゲン、カゼイン、アルブミン、合成若しくは半合成のポリマーおよびグリセリドを包含する最低１種の添加物と混合し得る。これらの投薬形態物は他の型（１種若しくは複数）の添加物、例えば不活性希釈剤、ステアリン酸マグネシウムのような滑沢剤、パラベン、ソルビン酸、アスコルビン酸、α－トコフェロールのような保存剤、システインのような抗酸化剤、崩壊剤、結合剤、増粘剤、緩衝剤、甘味料、着香料、香料などもまた含有し得る。

【０１８３】

錠剤および丸剤は腸溶コーティング製剤にさらに加工し得る。経口投与のための液体製剤は医学的使用に許容できる乳剤、シロップ剤、エリキシル剤、懸濁剤および溶液製剤を包含する。これらの製剤は前記分野で通常使用される不活性希釈剤例えば水を含有しうる。リポソームもまたインスリンおよびヘパリンの薬物送達系として記述されている（米国特許第４，２３９，７５４号明細書）。より最近、混合アミノ酸の人工的ポリマー（プロテイノイド）のミクロスフェアが医薬品を送達するために使用されている（米国特許第４，９２５，６７３号明細書）。さらに、米国特許第５，８７９，６８１号および同第５，５，８７１，７５３号明細書に記述される担体化合物が、生物学的有効成分を経口で送達するために使用されるが当該技術分野で既知である。

【０１８４】

経皮製剤および投与。経皮投与のためには、最低１種のＧＬＰ－１受容体アゴニスト若しくはミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを、リポソームまたはポリマーナノ粒子、微小粒子、マイクロカプセル若しくはミクロスフェア（別の方法で述べられない限り集合的に微小粒子と称される）のような送達デバイス中に被包化する。ポリ乳酸、ポリグリコール酸およびそれらのコポリマーのようなポリヒドロキシ酸、ポリオルトエステル、ポリ無水物ならびにポリホスファゼンのような合成ポリマー、ならびにコラーゲン、ポリアミノ酸、アルブミンおよび他のタンパク質、アルギン酸塩ならびに他の多糖のような天然のポリマー、ならびにそれらの組合せから作成される微小粒子を包含する多数の適するデバイスが既知である（米国特許第５，８１４，５９９号明細書）。

【０１８５】

長時間投与および製剤。本発明の化合物を単一投与から長時間にわたり、例えば１週ないし１年間被験体に送達することがときに望ましいことがあり得る。多様な持続放出、デポー若しくは植込投薬形態物を利用し得る。例えば、投薬形態物は、体液中で低い程度の溶解性を有する化合物の製薬学的に許容できる非毒性の塩、例えば（ａ）リン酸、硫酸、クエン酸、酒石酸、タンニン酸、パモ酸、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンモノ若しくはジスルホン酸、ポリガラクツロン酸などのような多塩基性酸との酸付加塩；（ｂ）亜鉛、カルシウム、ビスマス、バリウム、マグネシウム、アルミニウム、銅、コバル

ト、ニッケル、カドミウムなどのような多価金属陽イオン、または例えばＮ，Ｎ’－ジベンジル－エチレンジアミン若しくはエチレンジアミンから形成される有機陽イオンとの塩；あるいは（ａ）および（ｂ）の組合せ、例えば亜鉛タンニン酸塩を含有し得る。加えて、本発明の化合物、若しくは好ましくはたった今記述されたもののような比較的不溶性の塩を、注入に適する例えばゴマ油とともにゲル例えばモノステアリン酸アルミニウムゲル中で処方し得る。とりわけ好ましい塩は、亜鉛塩、亜鉛タンニン酸塩、パモ酸塩などである。注入のための別の型の持続放出デポー製剤は、例えば米国特許第３，７７３，９１９号明細書に記述されるところのポリ乳酸／ポリグリコール酸ポリマーのようなゆっくりと分解する非毒性の非抗原性ポリマー中に被包化されるために分散された化合物若しくは塩を含有するとみられる。該化合物、若しくは好ましくは上述されたもののような比較的不溶性の塩は、とりわけ動物での使用のためコレステロールマトリックスのシラスティックペレット中でもまた処方し得る。付加的な持続放出、デポー若しくは植込製剤、例えば気体若しくは液体リポソームが文献で既知である（米国特許第５，７７０，２２２号明細書、および“Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ”、Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ編、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．、ニューヨーク、１９７８）。

【０１８６】

本発明を全般的に記述したので、それは、具体的説明として提供されかつ制限するとして意図していない以下の実施例を参照してより容易に理解されるであろう。

【実施例】

【０１８７】

実施例１

哺乳動物細胞中でのＧＬＰ－１ミメティボディ構築物のクローニングおよび発現。

典型的な哺乳動物発現ベクターは、ｍＲＮＡの転写の開始を媒介する最低１個のプロモーター領域、ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントのコーディング配列、ならびに転写の終止および転写物のポリアデニル化に必要とされるシグナルを含有する。付加的なエレメントは、エンハンサー、コザック配列ならびにＲＮＡスプライシングのドナーおよびアクセプター部位により隣接される介在配列を包含する。高度に効率的な転写は、ＳＶ４０からの初期および後期プロモーター、レトロウイルス例えばＲＳＶ、ＨＴＬＶＩ、ＨＩＶＩからの末端反復配列（ＬＴＲＳ）、ならびにサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）の初期プロモーターで達成し得る。しかしながら細胞エレメントもまた使用し得る（例えばヒトアクチンプロモーター）。本発明の実施における使用に適する発現ベクターは、例えばｐＩＲＥＳ１ｎｅｏ、ｐＲｅｔｒｏ－Ｏｆｆ、ｐＲｅｔｒｏ－Ｏｎ、ＰＬＸＳＮ若しくはｐＬＮＣＸ（Ｃｌｏｎｅｔｅｃｈ Ｌａｂｓ、カリフォルニア州パロアルト）、ｐｃＤＮＡ３．１（＋／－）、ｐｃＤＮＡ／Ｚｅｏ（＋／－）若しくはｐｃＤＮＡ３．１／Ｈｙｇｒｏ（＋／－）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、ＰＳＶＬおよびＰＭＳＧ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ、スウェーデン・ウプサラ）、ｐＲＳＶｃａｔ（ＡＴＣＣ ３７１５２）、ｐＳＶ２ｄｈｆｒ（ＡＴＣＣ ３７１４６）ならびにｐＢＣ１２ＭＩ（ＡＴＣＣ ６７１０９）のようなベクターを包含する。使用し得る哺乳動物宿主細胞は、ヒトＨｅｌａ ２９３、Ｈ９およびＪｕｒｋａｔ細胞、マウスＮＩＨ３Ｔ３およびＣ１２７細胞、Ｃｏｓ １、Ｃｏｓ ７およびＣＶ １、ウズラＱＣ１－３細胞、マウスＬ細胞ならびにチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞を包含する。

【０１８８】

あるいは、遺伝子は染色体中に組込まれた遺伝子を含有する安定細胞株中で発現させ得る。ｄｈｆｒ、ｇｐｔ、ネオマイシン若しくはハイグロマイシンのような選択可能なマーカーとのコトランスフェクションは、トランスフェクトされた細胞の同定および単離を可能にする。

【０１８９】

トランスフェクトされた遺伝子は、大量のコードされるＧＬＰ－１ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントを発現させるためにまた増幅もし得る。ＤＨ

ＦＲ（ジヒドロ葉酸還元酵素）マーカーは、数百若しくは数千コピーさえの目的の遺伝子を保有する細胞株を開発するのに有用である。別の有用な選択マーカーは酵素グルタミン合成酵素（ＧＳ）（Ｍｕｒｐｈｙら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．２２７：２７７－２７９（１９９１）；Ｂｅｂｂｉｎｇｔｏｎら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　１０：１６９－１７５（１９９２））である。これらのマーカーを使用して、哺乳動物細胞を選択培地中で増殖させ、そして最高の耐性を伴う細胞を選択する。これらの細胞株は染色体中に組込まれた増幅された遺伝子（１種若しくは複数）を含有する。チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）およびＮＳＯ細胞がＧＬＰ－１ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの製造にしばしば使用される。

【０１９０】

発現ベクターｐＣ１およびｐＣ４は、ラウス肉腫ウイルスの強力なプロモーター（ＬＴＲ）（Ｃｕｌｌｅｎら、Ｍｏｌｅｃ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．５：４３８－４４７（１９８５））およびＣＭＶ－エンハンサーの１フラグメント（Ｂｏｓｈａｒｔら、Ｃｅｌｌ　４１：５２１－５３０（１９８５））を含有する。例えば制限酵素切断部位ＢａｍＨＩ、ＸｂａＩおよびＡｓｐ７ｌ８を含むマルチクローニング部位が目的の遺伝子のクローニングを容易にする。ベクターは、３’イントロンに加えラットプレプロインスリン遺伝子のポリアデニル化および終止シグナルを含有する。

【０１９１】

ＣＨＯ細胞でのクローニングおよび発現。ベクターｐＣ４をＧＬＰ－１ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントの発現に使用する。プラスミドｐＣ４はプラスミドｐＳＶ２－ｄｈｆｒ（ＡＴＣＣ受託番号３７１４６）の誘導体である。該プラスミドはＳＶ４０初期プロモーターの制御下にマウスＤＨＦＲ遺伝子を含有する。これらのプラスミドでトランスフェクトされるジヒドロ葉酸活性を欠くチャイニーズハムスター卵巣若しくは他の細胞は、化学療法剤メトトレキサートを補充した選択培地（例えばα－ＭＥＭ、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、メリーランド州ゲイターズバーク）中で細胞を増殖させることにより選択し得る。メトトレキサート（ＭＴＸ）に耐性の細胞中でのＤＨＦＲ遺伝子の増幅は十分に報告されている（例えば、Ｆ．Ｗ．Ａｌｔら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２５３：１３５７－１３７０（１９７８）；Ｊ．Ｌ．ＨａｍｌｉｎとＣ．Ｍａ、Ｂｉｏｃｈｅｍ．ｅｔ　Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ　１０９７：１０７－１４３（１９９０）；およびＭ．Ｊ．ＰａｇｅとＭ．Ａ．Ｓｙｄｅｎｈａｍ、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　９：６４－６８（１９９１）を参照されたい）。増大する濃度のＭＴＸ中で増殖させた細胞は、ＤＨＦＲ遺伝子の増幅の結果として標的酵素ＤＨＦＲを過剰産生することにより該薬物に対する耐性を発生する。第二の遺伝子がＤＨＦＲ遺伝子に連結される場合、それは通常共増幅かつ過剰発現される。１，０００コピー以上の増幅された遺伝子（１種若しくは複数）を保有する細胞株を開発するのにこのアプローチを使用し得ることが当該技術分野で既知である。その後、メトトレキサートを取り去る場合に、宿主細胞の１個若しくはそれ以上の染色体に組込まれた増幅された遺伝子を含有する細胞株が得られる。

【０１９２】

プラスミドｐＣ４は、目的の遺伝子を発現させるためにラウス肉腫ウイルスの末端反復配列（ＬＴＲ）の強力なプロモーター（Ｃｕｌｌｅｎら、Ｍｏｌｅｃ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．５：４３８－４４７（１９８５））およびヒトサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）の前初期遺伝子のエンハンサーから単離された１フラグメント（Ｂｏｓｈａｒｔら、Ｃｅｌｌ　４１：５２１－５３０（１９８５））を含有する。プロモーターの下流に、遺伝子の組込みを可能にするＢａｍＨＩ、ＸｂａＩおよびＡｓｐ７ｌ８制限酵素切断部位がある。これらのクローニング部位の後に該プラスミドは３’イントロンおよびラットプレプロインスリン遺伝子のポリアデニル化部位を含有する。他の高効率プロモーター、例えばヒトｂ－アクチンプロモーター、ＳＶ４０初期若しくは後期プロモーターまたは他のレトロウイルス例えばＨＩＶおよびＨＴＬＶＩからの末端反復配列もまた発現に使用し得る。ＣｌｏｎｔｅｃｈのＴｅｔ－ＯｆｆおよびＴｅｔ－Ｏｎ遺伝子発現系ならびに類似の系を、ＧＬ

Ｐ－１を哺乳動物細胞中で調節された方法で発現させるのに使用し得る（Ｍ．ＧｏｓｓｅｎとＨ．Ｂｕｊａｒｄ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８９：５５４７－５５５１（１９９２））。ｍＲＮＡのポリアデニル化のため、例えばヒト成長ホルモン若しくはグロビン遺伝子からの他のシグナルを同様に使用し得る。染色体中に組込まれた目的の遺伝子を保有する安定細胞株は、ｇｐｔ、Ｇ４１８若しくはハイグロマイシンのような選択可能なマーカーとのコトランスフェクションに際してもまた選択し得る。初めに１種以上の選択可能なマーカー、例えばＧ４１８およびメトトレキサートを使用することが有利である。

【０１９３】

プラスミドｐＣ４を制限酵素で消化し、そしてその後当該技術分野で既知の手順により仔ウシ腸ホスファターゼを使用して脱リン酸化する。ベクターをその後１％アガロースゲルから単離する。

【０１９４】

本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物のＨＣおよびＬＣ可変領域に対応する完全なＧＬＰ－１ミメティボディ構築物または指定される部分若しくはバリアントをコードするＤＮＡ配列を既知の方法の段階に従って使用する。適するヒト定常領域（すなわちＨＣおよびＬＣ領域）をコードする単離された核酸もまた本構築物中で使用する。

【０１９５】

単離された可変および定常領域をコードするＤＮＡならびに脱リン酸化したベクターをその後Ｔ４　ＤＮＡリガーゼを用いて連結する。大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）ＨＢ１０１若しくはＸＬ－１　Ｂｌｕｅ細胞をその後形質転換し、そして例えば制限酵素分析を使用してプラスミドｐＣ４に挿入されたフラグメントを含有する細菌を同定する。

【０１９６】

活性のＤＨＦＲ遺伝子を欠くチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞をトランスフェクションに使用する。５μｇの発現プラスミドｐＣ４をリポフェクションを使用して０．５μｇのプラスミドｐＳＶ２－ｎｅｏとコトランスフェクトする。プラスミドｐＳＶ２ｎｅｏは、支配的選択可能マーカー、すなわちＧ４１８を包含する抗生物質の一群に対する耐性を賦与する酵素をコードするＴｎ５からのｎｅｏ遺伝子を含有する。細胞を１μｇ／ｍｌのＧ４１８を補充したα－ＭＥＭに播種する。２日後に細胞をトリプシン処理し、そして１０、２５若しくは５０ｎｇ／ｍｌのメトトレキサートおよび１μｇ／ｍｌのＧ４１８を補充したα－ＭＥＭ中でハイブリドーマクローニングプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ、独国）に播種する。約１０～１４日後に単一クローンをトリプシン処理し、そしてその後多様な濃度のメトトレキサート（５０ｎＭ、１００ｎＭ、２００ｎＭ、４００ｎＭ、８００ｎＭ）を使用して６ウェルペトリ皿若しくは１０ｍｌフラスコに播種する。最高濃度のメトトレキサートで増殖するクローンをその後なおより高濃度のメトトレキサート（１ｍＭ、２ｍＭ、５ｍＭ、１０ｍＭ、２０ｍＭ）を含有する新たな６ウェルプレートに移す。１００～２００ｍＭの濃度で増殖するクローンが得られるまで同一の手順を反復する。所望の遺伝子産物の発現を例えばＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびウエスタンブロット若しくは逆相ＨＰＬＣ分析により分析する。

【０１９７】

実施例２

本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物の制限しない例。

ＧＬＰ－１は経口グルコース投与後に腸のＬ細胞から分泌される３７アミノ酸のペプチドである。生物学的に活性のＧＬＰ－１（７－３７）ペプチド、バリアント若しくは誘導体を組み込むミメティボディ構築物の構築物は、該ペプチドのｉｎ　ｖｉｖｏ寿命を延長しかつ２型糖尿病患者で血糖を低下させるための新規療法を提供すると期待される。天然のＧＬＰ－１（７－３７）ペプチド若しくはＤＰＰ－ＩＶ抵抗性アナログをコードするペプチドをミメティボディ構築物の足場構造に組み込み得る。これらの分子の数種を作成し、そして、生じるミメティボディ構築物は機能的なｉｎ　ｖｉｔｒｏの細胞に基づくアッセイで活性を示した。多様なｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイおよびｉｎ　ｖｉｖｏモデルをこ

れらの研究で使用し得、そして効力は相互に若しくは本明細書に提示される結果と比較可能でないかもしれないことに注意すべきである。

【０１９８】

ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物のバリアントを生成させるため、ミメティボディ構築物中のＧＬＰ－１ペプチド、リンカー、ヒンジ若しくはＣＨ２およびＣＨ３配列を、発現、効力、安定性若しくはエフェクター機能を改良するために欠失、付加、置換、変異若しくは修飾し得た。

【０１９９】

野性型ＧＬＰ－１配列ならびにＧＬＰ－１（Ａ２Ｓ）若しくはＧＬＰ－１（Ａ２Ｇ）のようなＤＤＰ－ＩＶ抵抗性ＧＬＰ－１バリアントをミメティボディ構築物の足場構造に組込み得る。ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物の特性を改良するために該ペプチドの突然変異を行い得る。例えば、アミノ末端残基での突然変異はシグナル伝達を改良しうる一方、らせん状ドメイン中の突然変異は該ヘリックスを安定化することができかつそれによりミメティボディ構築物の受容体への結合および／若しくは安定性を改良しうる。

【０２００】

ＧＬＰ－１ペプチドとＦｃ領域の間の結合の柔軟性若しくは安定性を変動させるためにリンカーの長さおよび組成を変異させ得る。多様なアイソタイプを該分子のヒンジ領域に組み込み得る。加えて、該分子を安定化するためにミメティボディ構築物のヒンジ領域内で突然変異を行い得る。例えば、ヒトＩｇＧ４ヒンジを、ミメティボディ構築物中の鎖間ジスルフィド結合を安定化するためにＳｅｒ^{228}－＞Ｐｒｏバリアントを作成するように変異させ得る。ミメティボディ構築物のＦｃ部分内の変動を行って、該分子の安定性を改良しかつＦｃＲ結合のようなエフェクター機能を変えることができる。例えば、Ａｌａ／Ａｌａ突然変異を伴うＩｇＧ４のようなヒト若しくはマウスアイソタイプ（またはこれらの分子の変形物）を使用し得る。

【０２０１】

本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物。本発明の特定の制限しない一例は、式（Ｉ）：

（（Ｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、

［ここでＰは単一コピーの生物活性ＧＬＰ－１ペプチド（７－３６）であり、ＬはＧｌｙ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒいずれかのフレキシブルリンカーのタンデム反復であり、ＶはＶ$_H$配列のＣ末端すなわち天然に存在するＩｇＧのＪ領域であり、Ｈは完全なＩｇＧ１ヒンジ領域であり、そしてＣＨ２およびＣＨ３はＩｇＧ１アイソタイプサブクラスのものである］

のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物（アミノ酸配列番号２、４若しくは７０、ＤＮＡ配列番号１、３および６９に対応する）である。この構築物の半減期はＧＬＰ－１ペプチド単独またはそのバリアント若しくは誘導体のものの多数倍でありかつＩｇＧのものに類似であろうことが期待される。

【０２０２】

上述された基本構造に加え、潜在的に好都合な生物学的特徴をもつバリアントを記述する。これらは、自己会合する低下された傾向、低下された免疫エフェクター機能若しくは低下された免疫原性を有しうる構築物を包含する。生物学的に活性のペプチドの改良されたコンホメーションおよび血液脳関門を横断する移動のような所望の特徴を賦与する他の改変が予見される。提案されるバリアントおよび改変は、所望の活性をもつ構築物を生じるようにいずれかの様式で組合せうる。

【０２０３】

組換えＤＮＡ法を使用して、中間体ベクターにＧＬＰ－１ペプチドを免疫グロブリンシグナルペプチドとヒトＪ配列の間で挿入した。これは、該ベクター中に存在する制限部位と適合性の端をもつ相補合成オリゴヌクレオチドを使用して行った。これらのオリゴヌク

レオチドは、ＧＬＰ－１ペプチドのコーディング配列および２個のＧＧＧＳ反復配列から構成されるフレキシブルリンカーを含んだ。前述の機能エレメントを含有する制限フラグメントをその後発現ベクター中に移した。このベクターは、抗ＣＤ４免疫グロブリンのプロモーターおよびエンハンサーならびにヒトＩｇＧ１ヒンジ配列、ＨＣ定常領域２（ＣＨ２）および定常領域３（ＣＨ３）のコーディング配列、ならびに細菌中でのプラスミドの複製および選択ならびに哺乳動物細胞中での安定発現体の選択のための必要なエレメントを含有した。

【０２０４】

このプラスミドをＨＥＫ２９３Ｅ細胞に導入し、そしてｗｔ　ＧＬＰ－１　ＭＭＢの発現が一過性にトランスフェクトした細胞中で達成された。ＧＬＰ－１　ＭＭＢの精製は標準的プロテインＡおよびＳｕｐｅｒｏｓｅ　１２アフィニティークロマトグラフィーにより達成し、トランスフェクトした細胞１Ｌあたりおよそ１．５ｍｇを生じた。このタンパク質が下述される実験の出発原料であった。

【０２０５】

例示的一ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物のアミノ酸配列は配列番号２、４および７０である）。機能的ドメインをペプチドコーディング配列の上に注記する。Ｊ配列は、ＧＬＰ－１二量体に適正なコンホメーションをとらせ、また、該二量体を免疫グロブリンの球状構造から突出させかつ２個のＧＬＰ－１受容体間の間隙に貫通させるためのなおより大きな柔軟性を提供するであろうと考えられる。ＩｇＧ１ヒンジ領域に３個のシステインが存在する。第一のものは免疫グロブリンＬ鎖（ＬＣ）と正常に対形成し、および他の２個は２個のＨＣ間の鎖間結合に参画するとみられる。ＣＨ２およびＣＨ３領域が該タンパク質の嵩を構成する。免疫グロブリンが長い血清半減期を有すると考えられる理由の１つは、飲作用された免疫グロブリンを細胞外間隙に戻すことにより血清半減期を延長する、ＦｃＲｎを結合するそれらの能力である。ＦｃＲｎの結合部位はＣＨ２およびＣＨ３領域の結合部と重なる（Ｓｈｅｉｌｄｓら、２００１、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、ｖｏｌ．２７６（９）、６５９１－６６０４）。

【０２０６】

２本のＩｇＧ　Ｈ鎖は、ヒンジ領域中に位置するシステイン間のジスルフィド結合を介して細胞のプロセシングの間に集成されてホモ二量体を形成することが公知である。改変されたペプチド間でもまたこれが発生して集成されたＧＬＰ－１ミメティボディ構築物を形成するであろうことが期待される。加えて、ＧＬＰ－１ペプチド中の２個のシステイン間の鎖内ジスルフィド結合もまた生じるであろうことが期待される。ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物の期待される構造は２個のＧＬＰ－１ペプチドを含有する。結合配列の柔軟性と一緒になったＮ末端での該ペプチドの空間的配置が、該ペプチドに生物活性二量体を形成させるはずである。

【０２０７】

実施例３

ＦＡＣＳ結合アッセイ。

ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物の活性をｉｎ　ｖｉｔｒｏ　ＦＡＣＳ結合アッセイで試験した。ＧＬＰ－１　ＭＭＢがＧＬＰ－１Ｒを結合するかどうかを決定するため、ＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞（1×10^{6}細胞）をＧＬＰ－１　ＭＭＢ（２０ｎＭ）と４℃で２時間インキュベートした。細胞を洗浄し、そして蛍光標識した二次検出抗体（１μｇ／ｍＬヤギ抗ヒトＩｇＧ、Ｆｃ　γ特異的）を４℃で３０分間添加した。フローサイトメトリーを介して細胞の蛍光強度をモニターした。ＧＬＰ－１　ＭＭＢはＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞に結合する。ＧＬＰ－１　ＭＭＢは対照ＨＥＫ２９３細胞に結合しない。ＧＬＰ－１ペプチドアナログ（Ａ２Ｓ）は、ＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞への結合についてＧＬＰ－１　ＭＭＢと競合することが可能である。

【０２０８】

実施例４

ｃＡＭＰアッセイ。
ＧＬＰ－１は、その受容体すなわちＧタンパク質共役型受容体に結合してシグナル伝達分子３’，５’－環状ＡＭＰ（ｃＡＭＰ）の用量依存性の増加をもたらす。ｃＡＭＰはＧＬＰ－１Ｒを発現する細胞中でのｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）で測定し得る。簡潔には、Ｒｉｎｍ細胞（１００，０００細胞）を、増大する濃度のＧＬＰ－１ペプチド（０～３０ｎＭ）若しくはＧＬＰ－１　ＭＭＢ（０～１００ｎＭ）とともにインキュベートした。細胞を溶解し、そしてアルカリホスファターゼ標識ｃＡＭＰ複合物および化学発光基質（Ｔｒｏｐｉｘ(R)　ＣＤＰＤ(R)）を使用する競合アッセイを使用してｃＡＭＰの量を測定した。ｗｔ　ＧＬＰ－１　ＭＭＢの濃度依存性のｃＡＭＰ活性はＧＬＰ－１ペプチドに匹敵する（それぞれEC_{50}＝１１ｎＭ対０．４ｎＭ）。類似の実験で、ＩｇＧ４の足場構造中のＧＬＰ－１（Ａ２Ｇ）ＭＭＢおよびＩｇＧ４の足場構造中のＧＬＰ－１（Ａ２Ｓ）ＭＭＢは、双方ともＲｉｎｍ細胞中のｃＡＭＰレベルをＩｇＧ４の足場構造中のｗｔ　ＧＬＰ－１　ＭＭＢよりも有意により高レベルに増大させた。

【０２０９】

実施例５

ＤＰＰ－ＩＶ切断アッセイ。
ＧＬＰ－１はＤＰＰ－ＩＶにより急速に不活性化されるため、無傷の（すなわち切断されない）ＧＬＰ－１　ＭＭＢを定量するためのｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイを確立した。簡潔には、ＧＬＰ－１　ＭＭＢ若しくはペプチド（１．２ｎＭ）をＤＰＰ－ＩＶ（１μｇ／ｍＬ、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）と室温でインキュベートした。多様な時間（０、５、１０、１５、２０、３０、４０分）後にＤＰＰ－ＩＶ阻害剤（１００μＭ、Ｌｉｎｃｏ）を添加して反応をクエンチした。無傷のＧＬＰ－１　ＭＭＢ若しくはペプチドの量を、ＧＬＰ－１　Ａｃｔｉｖｅ　ＥＬＩＳＡ（Ｌｉｎｃｏ）、およびそれぞれの標準曲線のためＧＬＰ－１　ＭＭＢ若しくはペプチドを使用して測定した。ＧＬＰ－１　ＭＭＢは、ＧＬＰ－１ペプチドに関してＤＰＰ－ＩＶによる切断に対し有意により抵抗性であった。

【０２１０】

実施例６

ヒト血清安定性アッセイ。
他の血清プロテアーゼがＧＬＰ－１　ＭＭＢを切断かつ不活性化することが可能でなかったことを確認するために血清中でのＧＬＰ－１　ＭＭＢの安定性もまた測定した。簡潔には、ＧＬＰ１ペプチド若しくはＧＬＰ１　ＭＭＢ（３０ｎＭ）をヒト血清中３７℃でインキュベートした。多様な時間後に反応をＤＰＰ－ＩＶ阻害剤（１００μＭ、Ｌｉｎｃｏ）でクエンチし、そしてＬｉｎｃｏからのＧＬＰ－１　Ａｃｔｉｖｅ　ＥＬＩＳＡを使用してサンプルを分析した。ＧＬＰ－１　ＭＭＢはヒト血清中で２４時間安定である一方、ペプチドは迅速に崩壊される。

【０２１１】

実施例７

ＧＬＰ－１　ＭＭＢはＲＩＮｍ細胞中でインスリン分泌を引き起こす。
インスリン分泌におけるＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果を試験するため、ＲＩＮｍ細胞を増大する濃度のＧＬＰ－１（７－３６）ペプチド（０～５ｎＭ）、エキセンジン－４ペプチド（０～５ｎＭ）または多様なＧＬＰ－１ミメティボディ構築物（５若しくは５０ｎＭ）で処理し、そして分泌されるインスリンの量をＥＬＩＳＡを介して測定した。試験した全部のＧＬＰ－１　ＭＭＢがＲＩＮｍ細胞中のインスリン分泌の刺激において活性を有した。５０ｎＭで、ＭＭＢは野性型ＧＬＰ－１（７－３６）ペプチドのものに匹敵する活性を有した。

【０２１２】

実施例８

ＧＬＰ－１　ＭＭＢはｄｂ／ｄｂマウスにおいてグルコースレベルを低下させる。
６週齢のｄｂ／ｄｂマウスを２時間絶食させ、そしてその後ベヒクル、ＧＬＰ－１ペプ

チド若しくはＧＬＰ－１（Ａ２Ｓ）ＭＭＢを静脈内投与した。投与後０．５、１、２、３および４時間に血糖をモニターした。ＧＬＰ－１ペプチドは３０分で血糖を低下させたが、しかし、ありそうにはＧＬＰ－１ペプチドの短い半減期により６０分までに血糖が再度増大し始めた。相対的に、ＧＬＰ－１ペプチドの用量より１００倍より低い用量のＧＬＰ－１（Ａ２Ｓ）ＭＭＢは４時間全体を通じて血糖の低下を誘発した。加えて血糖の低下は用量依存的であった。

【０２１３】

実施例９

マウスおよびカニクイザルにおけるＧＬＰ－１　ＭＭＢの薬物動態。

４種のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物（Ａ２Ｇ、Ａ２Ｓ、エキセジン（ｅｘｅｄｉｎ）－ｃａｐおよびｗｔ）の薬物動態を測定するため、Ｃ５７／Ｂｌ６マウスに１ｍｇ／ｋｇのＭＭＢを静脈内投与した。多様な時点でマウスを殺した後に心穿刺を介して血漿を得た。多様なＥＬＩＳＡを使用してＦｃ、全ＭＭＢ、活性ＭＭＢおよびそれらが動物中で代謝されたところの活性ペプチドを測定した。活性ＭＭＢは該ミメティボディ構築物のＦｃ領域になお結合されている該ペプチドの無傷のＮ末端を反映する。該ペプチド中の第二のアミノ酸（アラニン）のセリン若しくはグリシンいずれかでの置換は循環中の活性ＭＭＢの寿命を延長した。

【０２１４】

カニクイザルに１．０ｍｇ／ｋｇの４種の異なるＧＬＰ－１　ＭＭＢ構築物を静脈内注入し、そして投与後１０分から５日までの多様な時点で血清サンプルを採取した。血清サンプルをＥＬＩＳＡにより評価して無傷のＭＭＢを定量した。全４種のＭＭＢが急速な分布期次いでより遅い消失期を表す。構築物のそれぞれについて薬物動態定数を計算し、Ｔ＝０からＴ＝１２０時間までのＡＵＣにより決定される類似の曝露を伴うおよそ３日の$T_{1/2}$を示した。

【０２１５】

実施例１０

インスリン感受性若しくは脂質プロファイルのための処置を裏付けるエビデンスを示す、正常ラットへのＣＮＴＯ　７３６の脳室内（ｉｃｖ）投与。

インスリン感受性および脂質代謝に対するＣＮＴＯ　７３６（表４、配列番号７０）の急性処置の効果を、高脂肪食で１０週間維持したＣ５７Ｂｌマウス（ＤＩＯマウス）で評価した。ＣＮＴＯ　７３６（１．０若しくは０．１ｍｇ／ｋｇ）、エキセンジン－４（７．１μｇ／ｋｇ）またはベヒクルを腹腔内注入により投与し、そして高インスリン正常血糖クランプを投与２時間後に実施した。インスリン感受性および脂質代謝に対するＣＮＴＯ　７３６の慢性処置の効果を、高脂肪食で１０週間維持したＣ５７Ｂｌマウスで評価した。第７から１０週の間に、マウスにＣＮＴＯ　７３６（１．０若しくは０．１ｍｇ／ｋｇ）、エキセンジン－４（７．１μｇ／ｋｇ）またはベヒクルを腹腔内注入により連日投与し、そして高インスリン正常血糖クランプを最終投与２時間後に全動物で実施した。

【０２１６】

高インスリン正常血糖クランプは、アセプロマジン（６．２５ｍｇ／ｋｇ）／ミダゾラム（６．２５ｍｇ／ｋｇ）／フェンタニル（０．３１２５ｍｇ／ｋｇ）麻酔下に以下の様式で実施した。マウスはクランプ１０時間前まで高脂肪食および水への自由接近を有した。グルコースおよびグリセロールのターンオーバーの基礎速度を、１４Ｃ－グルコース（ｐ：０．２μＣｉ；ｃ：０．３μＣｉ／ｈ、Ａｍｅｒｓｈａｍ、英国リトルシャルフォント）および３Ｈ－グリセロール（ｐ：０．６？Ｃｉ；ｃ：０．９？Ｃｉ／ｈ、Ａｍｅｒｓｈａｍ）のプライミド（ｐｒｉｍｅｄ）（ｐ）連続（ｃ）注入を６０分間与えることにより測定した。その後、インスリンをプライムド（４．５ｍＵ）連続（６．８ｍＵ／ｈ）ｉ．ｖ．注入でおよそ２時間投与して、約４ｎｇ／ｍｌの定常状態循環インスリン濃度を達成した。１２．５％　Ｄ－グルコース溶液の可変注入を使用して、尾出血（＜３μｌ、Ｆｒｅｅｓｔｙｌｅ、ＴｈｅｒａＳｅｎｃｅ、Ｄｉｓｅｔｒｏｎｉｃ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　ＢＶ、オランダ・フィアネン）を介し１０分間隔で測定されるところの正

常血糖を維持した。基礎期間（５０および６０分後）ならびにクランプ期間（７０、８０および９０分後）に血液サンプル（６０μｌ）を抜き出し、グルコース、ＦＦＡ、インスリン、１４Ｃ－グルコースおよび３Ｈ－グリセロールの血漿濃度を測定した。

【０２１７】

ＶＬＤＬ産生を定量するため、体重１ｋｇあたり５００ｍｇのＴｒｉｔｏｎ　ＷＲ－１３３９（Ｓｉｇｍａ、米国ミズーリ州セントルイス）を無菌生理食塩水中１０％（ｗ／ｗ）溶液としてｉ．ｖ．注入して血清ＶＬＤＬクリアランスを阻害した。血液サンプル（２０μｌ）を注入後ｔ＝０、１０、２０、４０および６０分に採取して血漿トリグリセリド（ＴＧ）の濃度を測定した。ＶＬＤＬ－ＴＧ産生を濃度曲線の傾きから計算しかつμｍｏｌ／ｋｇ／分で表した。グルコースのターンオーバー速度（μｍｏｌ／分／ｋｇ）を、基礎および高インスリン状態で、１４Ｃ－グルコースの血漿比活性（ｄｐｍ／μｍｏｌ）により除算したトレーサー注入の速度（ｄｐｍ／分）として計算した。該比を体重について補正した。内因性グルコース産生（ＥＧＰ）はグルコース出現のトレーサー由来速度とグルコースの注入速度の間の差違として計算した。グルコース処理（ｇｌｕｃｏｓｅ　ｄｉｓｐｏｓａｌ）はグルコースの注入速度に対し正規化した１４Ｃ－グルコースの濃度に基づき計算した。群間のグルコースターンオーバーおよびＶＬＤＬ産生の多様な尺度の統計学的有意性（ｐ＜０．０５）を分散分析により検定した。

【０２１８】

実施例１１

ＧＬＰ－１　ＭＭＢでの急性および慢性処置後の基礎および高インスリン状態のＤＩＯマウスにおける体重、血糖値、インスリン、グリセロールおよび脂肪酸濃度。

表１に示されるとおり、体重および血漿パラメータは、高用量のＣＮＴＯ　７３６の投与後の基礎状態での低下されたグルコース濃度およびエキセンジン－４処置マウスでの高インスリン状態での上昇されたインスリン濃度を除き、ＣＮＴＯ　７３６若しくはエキセンジン－４での急性処置後に有意に変化しなかった。高用量のＣＮＴＯ　７３６での慢性処置はＤＩＯマウスで有意の体重減少を誘導した（表２）。双方の用量のＣＮＴＯ　７３６およびエキセンジン－４は空腹時血糖値を低下させた。グリセロールおよび脂肪酸濃度は処置に応答して変化しなかった。

【０２１９】

【表２】

急性	基礎				高インスリン			
	ベヒクル	CNTO 736 1mgk	CNTO 736 0.1mgk	エキセンジン	ベヒクル	CNTO 736 1mgk	CNTO 736 0.1 mgk	エキセンジン
体重 (g)	30.9 ± 2.3	31.2 ± 2.2	31.3 ± 1.6	31.4 ± 0.9	30.9 ± 2.3	31.2 ± 2.2	31.3 ± 1.6	31.4 ± 0.9
グルコース (mmol/l)	6.2 ± 2.4	4.4 ± 1.0*	5.5 ± 1.2	4.6 ± 1.1	7.2 ± 1.0	8.0 ± 0.8	7.3 ± 0.5	7.7 ± 0.9
FFA (mmol/l)	1.3 ± 0.6	1.1 ± 0.5	1.1 ± 0.5	1.0 ± 0.22	0.7 ± 0.3	0.6 ± 0.4	0.7 ± 0.3	0.5 ± 0.2
インスリン (ng/ml)	1.1 ± 0.7	0.9 ± 0.6	1.1 ± 0.8	0.7 ± 0.5	3.1 ± 1.3	4.5 ± 1.7	3.5 ± 1.3	4.4 ± 0.8*
グリセロール (mmol/l)	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0

表1．基礎若しくは高インスリン状態でCNTO 736、エキセンジン－4若しくはベヒクルの単回i. p. 注入を受領したDIOマウスでの体重および血漿パラメータ。値は群あたり最低8マウスの平均±SDを表す。*対照に対しp＜0．05。

【０２２０】

【表３】

慢性	基礎				高インスリン			
	ベヒクル	CNTO 736 1mgk	CNTO 736 0.1mgk	エキセンジン	ベヒクル	CNTO 736 1mgk	CNTO 736 0.1mgk	エキセンジン
体重 (g)	27.3 ± 1.8	25.1 ± 1.3*	26.1 ± 1.9	26.3 ± 2.0	27.3 ± 1.8	25.1 ± 1.3*	26.1 ± 1.9	26.3 ± 2.0
グルコース (mmol/l)	6.0 ± 1.0	4.1 ± 0.8**	4.3 ± 1.0**	4.9 ± 1.1*	6.9 ± 0.9	7.6 ± 0.9	7.6 ± 1.1	7.3 ± 0.9
FFA (mmol/l)	1.1 ± 0.3	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.3	1.0 ± 0.3	0.5 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1
インスリン (ng/ml)	1.0 ± 0.7	1.4 ± 1.3	1.1 ± 0.6	1.4 ± 0.7	5.4 ± 2.4	5.0 ± 1.9	4.6 ± 1.0	4.4 ± 0.9
グリセロール (mmol/l)	0.2 ＋ 0.0	0.2 ＋ 0.1	0.2 ＋ 0.0	0.2 ＋ 0.1	0.2 ＋ 0.1	0.1 ＋ 0.1	0.1 ＋ 0.1	0.1 ＋ 0.1

表2. 基礎若しくは高インスリン状態でCNTO 736、エキセンジン－4若しくはベヒクルの慢性i. p. 注入を受領したDIOマウスでの体重および血漿パラメータ。値は群あたり最低11マウスの平均±SDを表す。*対照に対しp＜0. 05。**対照に対しp＜0. 01。

【０２２１】

実施例１２

ＧＬＰ－１　ＭＭＢでの急性処置後のＤＩＯマウスでの高インスリン正常血糖クランプ。

食餌誘発性肥満を伴うＣ５７Ｂｌマウスの４群（それぞれｎ＝１２）を、１ｍｇ／ｋｇおよび０．１ｍｇ／ｋｇのＣＮＴＯ　７３６、７．１μｇ／ｍｌのエキセナチドおよびＰＢＳで腹腔内でにより処置した。投与２時間後にマウスを高インスリン正常血糖クランプにかけた。

【０２２２】

得られたデータは、ＣＮＴＯ　７３６およびエキセナチドでの急性処置が基礎グルコース産生を減少させかつ全身グルコース処理を増大させる傾向があることを示唆するが、しかし、該差違は、ありそうには基礎およびクランプ状態の間に達成される変動するインスリン濃度により、処置群のいずれの間でも統計学的有意性に達しない。インスリンで刺激される肝グルコース産生のパーセントは処置に応答して変化しなかった。

【０２２３】

体重２５０～３５０ｇのＳｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットに、以下の座標すなわち－０．８０ｍｍ前方、十字縫合に対し＋１．２ｍｍ外側、十字縫合に対し－３．２ｍｍ腹側で側脳室にカニューレ挿入した。カニューレが適切に配置されたことを確認するため動物をアンジオテンシンＩＩ試験に提出した。ラットを逆転明／暗周期および取り扱いに馴化させた。給餌基礎を確立するため、単回ＰＢＳ注入後に２４時間絶食／再給餌測定を行った。動物をＰＢＳ注入からの２４時間食餌摂取に従い均一に分配した（１０動物の３群）。ＰＢＳ注入７～１０日後にラットを２４時間絶食させ、そして暗周期に進入する前にｉｃｖ投与した。ラットに5□Ｌの容量でＣＮＴＯ　７３６（３ｎｍｏｌ）、エキセンジン－４（３ｎｍｏｌ）若しくはＰＢＳいずれかを投与した。食餌摂取および水摂取を投与後０～１２および１２～２４時間から測定し、ならびに体重を２４および４８時間後に測定した。投与後最初の１２時間に、エキセンジン－４およびＣＮＴＯ　７３６処置で食餌および水摂取の有意の減少が存在した。投与後第二の１２時間（１２～２４時間）に、エキセンジン－４およびＣＮＴＯ　７３６双方の処置で食餌摂取の有意の減少が存在したが、しかし水摂取の減少はエキセンジン－４処置でのみ観察された。２４および４８時間双方で、エキセンジン－４処置で体重の有意の減少が存在したが、しかしＣＮＴＯ　７３６で存在しなかった。

【０２２４】

実施例１４

ＧＬＰ－１　ＭＭＢでの慢性処置後のＤＩＯマウスでの高インスリン正常血糖クランプ。

食餌誘発性肥満を伴うＣ５７Ｂｌマウスの４群（それぞれｎ＝１２）をＣＮＴＯ７３６（１若しくは０．１ｍｇ／ｋｇ）、エキセンジン－４（７．１□ｇ／ｋｇ）またはＰＢＳで連日４週間腹腔内処置した。最終投与２時間後にマウスを高インスリン正常血糖クランプにかけた。

【０２２５】

双方の用量のＣＮＴＯ　７３６での慢性処置は基礎肝グルコース産生を有意に低下させたが、しかしエキセナチドはしなかった。高用量のＣＮＴＯ　７３６およびエキセンジン－４は高インスリン状態で全身グルコース処理を有意に増大した。双方の用量のＣＮＴＯ　７３６およびエキセンジン－４は肝グルコース産生のインスリン阻害を増大させた。一緒にすれば、ＣＮＴＯ　７３６およびエキセンジン－４双方は、肝グルコース産生の阻害およびグルコース処理の増強を包含するインスリンの作用を改善する。エキセンジン－４と対照的に、ＣＮＴＯ　７３６は空腹状態で糖新生を有意に減少させた。

【０２２６】

実施例１５

脂肪分解に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。

いずれの用量のＣＮＴＯ　７３６若しくはエキセンジン－４の急性若しくは慢性投与も、基礎（空腹時）若しくは高インスリン状態でのグリセロールターンオーバーに影響しなかった。また、該薬物のいずれも血漿遊離脂肪酸（ＦＦＡ）濃度に影響しなかった（表１および２）。

【０２２７】

実施例１６

脂肪分解に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。

いずれの用量のＣＮＴＯ　７３６若しくはエキセンジン－４の急性若しくは慢性投与も、基礎（空腹時）若しくは高インスリン状態でのグリセロールターンオーバーに影響しなかった。また、該薬物のいずれも血漿遊離脂肪酸（ＦＦＡ）濃度に影響しなかった（表１および２）。

【０２２８】

実施例１７

ＧＬＰ－ＭＭＢ、エキセナチドおよびベヒクルでの急性および慢性処置に応答してのＶＬＤＬ産生。

ＣＮＴＯ　７３６およびエキセナチドでの急性処置はＶＬＤＬ産生の基礎若しくは高インスリンの速度を変化しなかった。対照的に、いずれの用量のＣＮＴＯ　７３６での慢性処置もＶＬＤＬ産生の基礎および高インスリンの速度を有意に低下したが、しかしエキセナチドはしなかった。

【０２２９】

要約：開示されるデータは、ＧＬＰ－１　ＭＭＢの慢性投与が食餌誘発性肥満を伴うマウスで末梢インスリン感受性を改善することを示唆する。エキセンジン－４と対照的にＣＮＴＯ７３６は新規グルコース産生を阻害した。さらに、ＧＬＰ－１　ＭＭＢの慢性投与はＶＬＤＬ産生を減少させた。

【０２３０】

利点：２型糖尿病を処置するための治療薬としてのＧＬＰ－１　ＭＭＢの使用は他のＧＬＰ－１アナログを上回る以下の利点を提供する。例えば、それはＧＬＰ－１ペプチドの半減期を延長することがありそうである。また、ミメティボディ構築物の足場構造中の野生型ＧＬＰ－１ペプチドは、プロテアーゼ分解、とりわけＤＰＰ－ＩＶに対し抵抗性である。これは、変異体ペプチドよりむしろ野生型ＧＬＰ－１ペプチドでの処置を見込みうる。ＧＬＰ－１は天然のペプチドであるため、ＧＬＰ－１ミメティボディ構築物で処置される患者で、変異ＧＬＰ－１アナログで処置される患者でよりも少ない免疫応答が存在しうる。加えて、ＧＬＰ－１　ＭＭＢの大きな大きさはそれが血液脳関門を横断することを妨げうる。悪心および不安が脳中のＧＬＰ－１Ｒを結合するＧＬＰ－１と関連づけられているため、これは一利点を提供しうる。さらに、該ミメティボディ構築物基盤は、各ミメテ

ィボディ構築物分子上の２ペプチドの発現をもたらす。これはＧＬＰ－１ペプチドが相互と相互作用することを可能にして細胞表面ＧＬＰ－１受容体に対する親和性を増大し得る二量体リガンドを形成しうる。

【０２３１】

本発明は前述の記述および実施例にとりわけ記述される以外の方法で実施し得ることが明らかであろう。

【０２３２】

そのインスリン分泌効果に加え、ＣＮＴＯ　７３６は、インスリンに刺激される肝グルコース産生およびインスリンに刺激されるグルコース処理を包含する末梢インスリン感受性を有意に改善する。

【０２３３】

ＣＮＴＯ　７３６は肝糖新生を阻害する（がしかしエキセンジン－４はしない）。これは、２型糖尿病患者における空腹時血糖のより良好な制御および従ってより良好な処置結果を見込むことが期待される。

【０２３４】

ＣＮＴＯ　７３６はＶＬＤＬ産生を減少させる（がしかしエキセンジン－４はしない）。これは、糖尿病と頻繁に関連する脂質代謝異常、肥満および心血管系障害の処置に付加的な利益を提供しうる。加えて、ＧＬＰ－１　ＭＭＢは糖尿病の非存在下でこれらの疾患を処置する可能性を有する。

【０２３５】

本発明は前述の記述および実施例にとりわけ記述される以外の方法で実施し得ることが明らかであろう。

【０２３６】

本発明の多数の改変および変形が上の教示に照らして可能であり、そして従って本発明の範囲内にある。

【０２３７】

【表４】

表3

配列番号			全AA数	領域	
				FR1	FR4
47	H鎖可変領域	Vh1	125	1-31	81-125
48		Vh2	97	1-30	80-97
49		Vh3a	102	1-30	80-102
50		Vh3b	102	1-30	80-102
51		Vh3c	94	1-30	80-94
52		Vh4	106	1-30	80-106
53		Vh5	97	1-30	80-97
54		Vh6	91	1-30	80-91
55		Vh7	91	1-30	80-91

配列番号			AA数	領域						
				ヒンジ1	ヒンジ 2	ヒンジ3	ヒンジ4	CH2	CH3	CH4
56	H鎖可変領域	IgA1	354	103-122				123-222	223-354	
57		IgA2	340	103-108				109-209	210-340	
58		IgD	384	102-135	319-497			160-267	268-384	
59		IgE	497					104-210	211-318	319-497
60		IgG1	339	99-121				122-223	224-339	
61		IgG2	326	99-117				118-219	220-326	
62		IgG3	377	99-115		131-145	146-168	169-270	271-377	
63		IgG4	327	99-110	324-476			111-220	221-327	
64		IgM	476					105-217	218-323	324-476

【０２３８】

【表５】

Table 4: MMB CNTO 736 GLP-1 amino acid sequence

```
SIGNAL SEQUENCE.....
Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln
ATG GCT TGG GTG TGG ACC TTG CTA TTC CTG ATG GCG GCC GCC CAA

.....GLP-1.....
Ser Ile Gln Ala His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser
AGT ATA CAG GCC CAT GCT GAA GGG ACC TTT ACT AGT GAT GTA AGT

.....
Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu
TCT TAT TTG GAA GGC CAA GCT GCC AAG GAA TTC ATT GCT TGG CTG

.....LINKER..... VH.....
Val Lys Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu
GTG AAA GGC CGA GGA GGT GGA TCC GGT GGA GGC TCC GGT ACC TTA

.....HINGE.....
Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
GTC ACC GTC TCC TCA GAG CCC AAA TCT TGT GAC AAA ACT CAC ACG

.....CH2.....
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC

.....
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG

.....
Thr Pro glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC

.....
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT
.....
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg GLu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr tyr
AAT GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC

.....
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
CGG GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT

.....
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA GCC

.....CH3.....
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA

.....
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAT GAG CTG ACC AAG
```

【０２３９】

【表６】

```
……….
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC

……….
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC AAC

……….
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC

……….
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
CTC TAC AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG

……….
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC

……. STOP
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys (SEQ ID NO:69)
TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA  (SEQ ID NO:70)
```

【配列表】

2010514699000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2007/088517

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K38/26 A61P5/48 A61P5/50 A61P3/06 A61P3/04
A61P3/10

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005/097175 A (CENTOCOR INC [US]; O'NEIL KARYN [US]; PICHA KRISTEN [US]) 20 October 2005 (2005-10-20)	1-8,12, 25
Y	examples 4, 7, 8, 10-15, 17, 18 claims 1-3, 28-30 page 60 paragraph 177	1-8,12, 25
Y	WO 01/66135 A (NOVO NORDISK AS [DK]) 13 September 2001 (2001-09-13) examples 1, 2 page 2 lines 18-30	1-8,12, 25
X,P	WO 2007/076319 A (CENTOCOR INC [US]; O'NEIL KARYN T [US]; PICHA KRISTEN [US]; STOJANOVIC) 5 July 2007 (2007-07-05) examples 1-13 paragraphs 151, 152	1-8,12, 25

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
23 September 2008	14/10/2008

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Habedanck, Robert

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2007/088517

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2007/081302 A (CENTOCOR INC [US]; O'NEIL KARYN T [US]; PICHA KRISTEN [US]) 19 July 2007 (2007-07-19) examples 1-15, 17-26 page 3 line 26 - page 4 line 25 page 66 paragraphs 184, 185	1-8,12, 25
X,P	WO 2007/046834 A (CENTOCOR INC [US]; O'NEIL KARYN T [US]; PICHA KRISTEN [US]; O'NEIL JOH) 26 April 2007 (2007-04-26) examples 1-23 page 63 paragraph 194 - page 64 paragraph 198	1-8,12, 25
X,P	PARLEVLIET, T.E.; SCHROEDER-VAN DER LEST, P.J.; CORSSMIT, P.E.; PICHA, K.; ET AL.: "CNTO736, a novel GLP-1 analogue, ameliorates insulin resistance and reduces VLDL production in high-fat-fed C57BI/6 mice" 67TH ANNU MEET SCI SESS AM DIABETES ASSOC, [Online] 22 June 2007 (2007-06-22), XP002496821 Retrieved from the Internet: URL:http://integrity.prous.com/integrity/servlet/xmlxsl/pk_ref_list.xml_show_ficha_ref?p_ref_id=1111353> [retrieved on 2008-09-18] abstract	1-8,12, 25
X,P	PARLEVLIET, E.T.; ET AL.: "CNTO0736, a novel GLP-1 anaolgue A, ameliorates insulin resistance and reduces VLDL production in high-fat-fed C57BI/6 mice" &TH DUTCH ENDO-NEURO-PSYCHO MEET, [Online] XP002496822 Retrieved from the Internet: URL:http://integrity.prous.com/integrity/servlet/xmlxsl/pk_ref_list.xml_show_ficha_ref?p_ref_id=1112933> [retrieved on 2008-09-18] abstract	1-8,12, 25
X,P	PICHA K M ET AL: "Sustained GLP-1R-dependent control of glucose homeostasis by a GLP-1 mimetibody" DIABETOLOGIA, vol. 50, no. Suppl. 1, September 2007 (2007-09), page S245, XP002496823 & 43RD ANNUAL MEETING OF THE EUROPEAN-ASSOCIATION-FOR-THE-STUDY-OF-DIABETES; AMSTERDAM, NETHERLANDS; SEPTEMBER 18-21, 2007 ISSN: 0012-186X abstract	1-8,12, 25

International Application No. PCT/US2007/088517

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 9-11, 13-24

The specific sequences of claims 9-11 and 13-24 have, according to PCT Rule 13ter.1.d, not been searched since the Sequence Listing as present in the description does not comply with WIPO Standard ST 25 prescribed in the administrative instructions under Rule 5.2. The Sequence Listing has not been furnished in machine readable form as provided for in the same instructions and the applicant has not remedied the disclosed deficiency within the time limit fixed in the invitation pursuant to PCT Rule 13ter.1.a.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.2), should the problems which led to the Article 17(2)PCT declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2007/088517

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

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

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

2. ☒ Claims Nos.: 9-11, 13-24
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

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

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

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

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

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

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

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2007/088517

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005097175 A	20-10-2005	AR 049014 A1	21-06-2006
		AU 2005231359 A1	20-10-2005
		BR PI0509528 A	07-08-2007
		CA 2563379 A1	20-10-2005
		EP 1750754 A2	14-02-2007
		KR 20070004078 A	05-01-2007
		US 2007135338 A1	14-06-2007
WO 0166135 A	13-09-2001	AT 309818 T	15-12-2005
		AU 3725401 A	17-09-2001
		DE 60114996 D1	22-12-2005
		DE 60114996 T2	10-08-2006
		EP 1263458 A1	11-12-2002
		ES 2253353 T3	01-06-2006
		JP 2003525908 T	02-09-2003
WO 2007076319 A	05-07-2007	EP 1968645 A2	17-09-2008
WO 2007081302 A	19-07-2007	AU 2005339797 A1	19-07-2007
		CA 2603359 A1	19-07-2007
		EP 1871811 A2	02-01-2008
		KR 20080005378 A	11-01-2008
WO 2007046834 A	26-04-2007	AU 2005337493 A1	26-04-2007
		CA 2592065 A1	26-04-2007
		EP 1843788 A2	17-10-2007
		JP 2008525477 T	17-07-2008
		KR 20070090036 A	04-09-2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2007/088517

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

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

   a. type of material

   [X] a sequence listing

   [ ] table(s) related to the sequence listing

   b. format of material

   [X] on paper

   [ ] in electronic form

   c. time of filing/furnishing

   [X] contained in the international application as filed

   [ ] filed together with the international application in electronic form

   [ ] furnished subsequently to this Authority for the purpose of search

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

3. Additional comments:

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		テーマコード（参考）
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61P	3/10	
A61P	*3/04*	*(2006.01)*	A61P	43/00	１１１
A61P	*19/02*	*(2006.01)*	A61P	43/00	１０５
A61P	*19/08*	*(2006.01)*	A61P	3/04	
A61P	*9/00*	*(2006.01)*	A61P	19/02	
A61P	*1/02*	*(2006.01)*	A61P	19/08	
A61P	*17/00*	*(2006.01)*	A61P	9/00	
A61P	*27/16*	*(2006.01)*	A61P	1/02	
A61P	*3/00*	*(2006.01)*	A61P	17/00	
A61P	*1/00*	*(2006.01)*	A61P	27/16	
A61P	*15/00*	*(2006.01)*	A61P	3/00	
A61P	*7/00*	*(2006.01)*	A61P	1/00	
A61P	*37/00*	*(2006.01)*	A61P	15/00	
A61P	*37/08*	*(2006.01)*	A61P	7/00	
A61P	*21/00*	*(2006.01)*	A61P	37/00	
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	37/08	
A61P	*25/00*	*(2006.01)*	A61P	21/00	
A61P	*27/02*	*(2006.01)*	A61P	35/00	
A61P	*25/18*	*(2006.01)*	A61P	25/00	
A61P	*13/12*	*(2006.01)*	A61P	27/02	
A61P	*11/00*	*(2006.01)*	A61P	25/18	
A61P	*31/04*	*(2006.01)*	A61P	13/12	
A61P	*9/10*	*(2006.01)*	A61P	11/00	
A61P	*9/04*	*(2006.01)*	A61P	31/04	
A61P	*9/12*	*(2006.01)*	A61P	9/10	
A61P	*9/06*	*(2006.01)*	A61P	9/04	
A61P	*29/00*	*(2006.01)*	A61P	9/10	１０１
C12N	*15/09*	*(2006.01)*	A61P	9/12	
			A61P	9/06	
			A61P	29/00	
			C12N	15/00	A

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

(72)発明者 ピチヤ，クリステン
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１９３５５マルバーン・イエロースプリングスロード２０６５
(72)発明者 オニール，カリン・テイ
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１９０６３メデイア・ビーテイロード６０１

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 BA80 CA06 DA02 GA11 HA01 HA04
4C084 AA02 AA07 AA17 BA01 BA17 BA18 BA19 BA23 CA53 DA39
DC50 MA02 MA56 MA59 MA60 MA63 MA66 NA14 ZA012 ZA182
ZA332 ZA342 ZA362 ZA402 ZA422 ZA452 ZA512 ZA592 ZA662 ZA672

ZA702 ZA812 ZA892 ZA942 ZA962 ZB072 ZB112 ZB132 ZB212 ZB262
ZB352 ZC022 ZC212 ZC352
4C085 AA13 AA15 AA34 BB11 CC05
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA02 MA04 MA07 MA56 MA59
MA60 MA63 MA66 NA14 ZA01 ZA18 ZA33 ZA34 ZA36 ZA40
ZA42 ZA45 ZA51 ZA59 ZA66 ZA67 ZA70 ZA81 ZA89 ZA94
ZA96 ZB07 ZB11 ZB13 ZB21 ZB26 ZB35 ZC02 ZC21 ZC35