

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成20年10月23日 (2008.10.23)

【公表番号】特表2008-521869(P2008-521869A)

【公表日】平成20年6月26日 (2008.6.26)

【年通号数】公開・登録公報2008-025

【出願番号】特願2007-543909(P2007-543909)

【国際特許分類】

A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/28	(2006.01)
A 6 1 P	1/04	(2006.01)
A 6 1 P	1/14	(2006.01)
A 6 1 P	3/04	(2006.01)
A 6 1 P	3/06	(2006.01)
A 6 1 P	3/10	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/10	(2006.01)
A 6 1 P	9/12	(2006.01)
A 6 1 P	25/28	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 K	47/48	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 P	21/02	(2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K	37/02	Z N A
A 6 1 K	37/26	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	1/14	
A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P	3/06	
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	9/12	
A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	47/48	
C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	A
C 1 2 P	21/02	C

【手続補正書】

【提出日】平成20年9月2日(2008.9.2)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0127

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0127】

ある実施形態では、薬剤融合体または薬剤複合体は、式I：

$\text{His}^7 - \text{Xaa}^8 - \text{Xaa}^9 - \text{Gly}^{10} - \text{Xaa}^{11} - \text{Phe}^{12} - \text{Thr}^{13} - \text{Xaa}^{14} - \text{Asp}^{15} - \text{Xaa}^{16} - \text{Xaa}^{17} - \text{Xaa}^{18} - \text{Xaa}^{19} - \text{Xaa}^{20} - \text{Xaa}^{21} - \text{Xaa}^{22} - \text{Xaa}^{23} - \text{Xaa}^{24} - \text{Xaa}^{25} - \text{Xaa}^{26} - \text{Xaa}^{27} - \text{Phe}^{28} - \text{Ile}^{29} - \text{Xaa}^{30} - \text{Xaa}^{31} - \text{Xaa}^{32} - \text{Xaa}^{33} - \text{Xaa}^{34} - \text{Xaa}^{35} - \text{Xaa}^{36} - \text{Xaa}^{37} - \text{Xaa}^{38} - \text{Xaa}^{39} - \text{Xaa}^{40} - \text{Xaa}^{41} - \text{Xaa}^{42} - \text{Xaa}^{43} - \text{Xaa}^{44} - \text{Xaa}^{45}$

式I - 配列番号172

(ただし、

8位のXaaは、Ala、Gly、Ser、Thr、Leu、Ile、Val、Glu、AspまたはLysであり；

9位のXaaは、GluまたはAspであり；

11位のXaaは、Thr、Ala、Gly、Ser、Leu、Ile、Val、Glu、AspまたはLysであり；

14位のXaaは、Ser、Ala、Gly、Thr、Leu、Ile、Val、Glu、AspまたはLysであり；

16位のXaaは、Val、Ala、Gly、Ser、Thr、Leu、Ile、Tyr、Glu、Asp、TrpまたはLysであり；

17位のXaaは、Ser、Ala、Gly、Thr、Leu、Ile、Val、Glu、AspまたはLysであり；

18位のXaaは、Ser、Ala、Gly、Thr、Leu、Ile、Val、Glu、Asp、Trp、TyrまたはLysであり；

19位のXaaは、Tyr、Phe、Trp、Glu、Asp、GlnまたはLysであり；

20位のXaaは、Leu、Ala、Gly、Ser、Thr、Ile、Val、Glu、Asp、Met、Trp、TyrまたはLysであり；

21位のXaaは、Glu、AspまたはLysであり；

22位のXaaは、Gly、Ala、Ser、Thr、Leu、Ile、Val、Glu、AspまたはLysであり；

23位のXaaは、Gln、Asn、Arg、Glu、AspまたはLysであり；

24位のXaaは、Ala、Gly、Ser、Thr、Leu、Ile、Val、Arg、Glu、AspまたはLysであり；

25位のXaaは、Ala、Gly、Ser、Thr、Leu、Ile、Val、Glu、AspまたはLysであり；

26位のXaaは、Lys、Arg、Gln、Glu、AspまたはHisであり；

27位のXaaは、Leu、Glu、AspまたはLysであり；

30位のXaaは、Ala、Gly、Ser、Thr、Leu、Ile、Val、Glu、AspまたはLysであり；

31位のXaaは、Trp、Phe、Tyr、Glu、AspまたはLysであり；

32位のXaaは、Leu、Gly、Ala、Ser、Thr、Ile、Val、Glu、AspまたはLysであり、

33位のXaaは、Val、Gly、Ala、Ser、Thr、Leu、Ile、Glu

、A s pまたはL y sであり；
 3 4位のX a aは、A s n、L y s、A r g、G l u、A s pまたはH i sであり；
 3 5位のX a aは、G l y、A l a、S e r、T h r、L e u、I l e、V a l、G l u、A s pまたはL y sであり；
 3 6位のX a aは、G l y、A r g、L y s、G l u、A s pまたはH i sであり；
 3 7位のX a aは、P r o、G l y、A l a、S e r、T h r、L e u、I l e、V a l、G l u、A s pまたはL y sである、あるいは欠失しており；
 3 8位のX a aは、S e r、A r g、L y s、G l u、A s pまたはH i sである、あるいは欠失しており；
 3 9位のX a aは、S e r、A r g、L y s、G l u、A s pまたはH i sである、あるいは欠失しており；
 4 0位のX a aは、G l y、A s p、G l uまたはL y sである、あるいは欠失しており；
 4 1位のX a aは、A l a、P h e、T r p、T y r、G l u、A s pまたはL y sである、あるいは欠失しており；
 4 2位のX a aは、S e r、P r o、L y s、G l uまたはA s pである、あるいは欠失しており；
 4 3位のX a aは、S e r、P r o、G l u、A s pまたはL y sである、あるいは欠失しており；
 4 4位のX a aは、G l y、P r o、G l u、A s pまたはL y sである、あるいは欠失しており；
 および4 5位のX a aは、A l a、S e r、V a l、G l u、A s pまたはL y sである、あるいは欠失しているが；
 3 7、3 8、3 9、4 0、4 1、4 2、4 3または4 4位のアミノ酸が欠失している場合には、そのアミノ酸の下流の各アミノ酸も欠失している）
 の配列を含むG L P - 1類似体を含む。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 2 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 2 8】

別の実施形態では、薬剤融合体または薬剤複合体は、式(II)：

X a a⁷ - X a a⁸ - G l u - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - X a a¹⁶ - S e r - X a a¹⁸ - X a a¹⁹ - X a a²⁰ - G l u - X a a²² - X a a²³ - A l a - X a a²⁵ - X a a²⁶ - X a a²⁷ - P h e - I l e - X a a³⁰ - T r p - L e u - X a a³³ - X a a³⁴ - X a a³⁵ - X a a³⁶ - X a a³⁷ - X a a³⁸ - X a a³⁹ - X a a⁴⁰ - X a a⁴¹ - X a a⁴² - X a a⁴³ - X a a⁴⁴ - X a a⁴⁵ - X a a⁴⁶

式(II) - 配列番号 1 7 3

(ただし、

X a a⁷は、L - ヒスチジン、D - ヒスチジン、脱アミノ - ヒスチジン、2 - アミノ - ヒスチジン、(3 - ヒドロキシ - ヒスチジン、ホモヒスチジン、N - アセチル - ヒスチジン、 - フルオロメチル - ヒスチジン、 - メチル - ヒスチジン、3 - ピリジルアラニン、2 - ピリジルアラニンまたは4 - ピリジルアラニンであり；

X a a⁸は、A l a、G l y、V a l、L e u、I l e、L y s、A i b、(1 - アミノシクロプロピル)カルボン酸、(1 - アミノシクロブチル)カルボン酸、(1 - アミノシクロペンチル)カルボン酸、(1 - アミノシクロヘキシル)カルボン酸、(1 - アミノシクロヘプチル)カルボン酸または(1 - アミノシクロオクチル)カルボン酸であり；

X a a¹⁶は、V a lまたはL e uであり；

Xaa^{18} は、Ser、Lys または Arg であり；
 Xaa^{19} は、Tyr または Gln であり；
 Xaa^{20} は、Leu または Met であり；
 Xaa^{22} は、Gly、Glu または Alb であり；
 Xaa^{23} は、Gln、Glu、Lys または Arg であり；
 Xaa^{25} は、Ala または Val であり；
 Xaa^{26} は、Lys、Glu または Arg であり；
 Xaa^{27} は、Glu または Leu であり；
 Xaa^{30} は、Ala、Glu または Arg であり；
 Xaa^{33} は、Val または Lys であり；
 Xaa^{34} は、Lys、Glu、Asn または Arg であり；
 Xaa^{35} は、Gly または Alb であり；
 Xaa^{36} は、Arg、Gly または Lys であり；
 Xaa^{37} は、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、アミドであるか、または存在せず；
 Xaa^{38} は、Lys、Ser、アミドであるか、または存在せず；
 Xaa^{39} は、Ser、Lys、アミドであるか、または存在せず；
 Xaa^{40} は、Gly、アミドであるか、または存在せず；
 Xaa^{41} は、Ala、アミドであるか、または存在せず；
 Xaa^{42} は、Pro、アミドであるか、または存在せず；
 Xaa^{43} は、Pro、アミドであるか、または存在せず；
 Xaa^{44} は、Pro、アミドであるか、または存在せず；
 Xaa^{45} は、Ser、アミドであるか、または存在せず；
 Xaa^{46} は、アミドであるか、または存在しないが； Xaa^{38} 、 Xaa^{39} 、 Xaa^{40} 、 Xaa^{41} 、 Xaa^{42} 、 Xaa^{43} 、 Xaa^{44} 、 Xaa^{45} または Xaa^{46} が存在しない場合には、下流の各アミノ酸残基も存在しない）
 のアミノ酸配列を含む GLP - 1 類似体を含む。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0129

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0129】

本発明の別の実施形態では、薬剤融合体または薬剤複合体は、式 (III)：

$Xaa^7 - Xaa^8 - Glu - Gly - Thr - Phe - Thr - Ser - Asp - Val - Ser - Xaa^{18} - Tyr - Leu - Glu - Xaa^{22} - Xaa^{23} - Ala - Ala - Xaa^{26} - Glu - Phe - Ile - Xaa^{30} - Trp - Leu - Val - Xaa^{34} - Xaa^{35} - Xaa^{36} - Xaa^{37} - Xaa^{38}$

式 (III) - 配列番号 174

(ただし、

Xaa^7 は、L - ヒスチジン、D - ヒスチジン、脱アミノ - ヒスチジン、2 - アミノ - ヒスチジン、 β - ヒドロキシ - ヒスチジン、ホモヒスチジン、N¹ - アセチル - ヒスチジン、 γ - フルオロメチル - ヒスチジン、 δ - メチル - ヒスチジン、3 - ピリジルアラニン、2 - ピリジルアラニンまたは 4 - ピリジルアラニンであり；

Xaa^8 は、Ala、Gly、Val、Leu、Ile、Lys、 α - アミノイソ酪酸 (Alb)、(1 - アミノシクロプロピル)カルボン酸、(1 - アミノシクロブチル)カルボン酸、(1 - アミノシクロペンチル)カルボン酸、(1 - アミノシクロヘキシル)カルボン酸、(1 - アミノシクロヘプチル)カルボン酸または (1 - アミノシクロオクチル)カルボン酸であり；

Xaa^{18} は、Ser、Lys または Arg であり；

Xaa^{22} は、Gly、GluまたはAibであり；
 Xaa^{23} は、Gln、Glu、LysまたはArgであり；
 Xaa^{26} は、Lys、GluまたはArgであり；
 Xaa^{30} は、Ala、GluまたはArgであり；
 Xaa^{34} は、Lys、GluまたはArgであり；
 Xaa^{35} は、GlyまたはAibであり；
 Xaa^{36} は、ArgまたはLysであり；
 Xaa^{37} は、Gly、Ala、GluまたはLysであり；
 Xaa^{38} は、Lys、アミドであるか、または存在しない）

のアミノ酸配列を含むGLP-1ペプチドを含む。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0142

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0142】

別の実施形態では、GLP-1ペプチドは、HGE GTFTSDLSKQMEEEEAV
 RLFI EW LKNGGPS SGAPPSKKKKKKK - アミド - 配列番号175である。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0143

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0143】

別の実施形態では、GLP-1ペプチドは、HGE GTFTSDLSKQMEEEEAV
 RLFI EW LKNGGX - 配列番号176（ただし、X = PもしくはY、またはそれら
 の断片もしくは類似体）である。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0304

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0304】

【図1A】図1Aは、マウス血清アルブミン（MSA）との結合によって選択された3種のV_Hのアミノ酸配列のアラインメントを示す図である。アラインメントしたアミノ酸配列は、DOM7m-16とも呼ばれるMSA16（配列番号1）、DOM7m-12とも呼ばれるMSA12（配列番号2）およびDOM7m-26とも呼ばれるMSA26（配列番号3）と表されるV_Hに由来するものである。

【図1B】図1Bは、ラット血清アルブミン（RSA）との結合によって選択された6種のV_Hのアミノ酸配列のアラインメントを示す図である。アラインメントしたアミノ酸配列は、DOM7r-1（配列番号4）、DOM7r-3（配列番号5）、DOM7r-4（配列番号6）、DOM7r-5（配列番号7）、DOM7r-7（配列番号8）およびDOM7r-8（配列番号9）と表されるV_Hに由来するものである。

【図1C】図1Cは、ヒト血清アルブミン（HSA）との結合によって選択された6種のV_Hのアミノ酸配列のアラインメントを示す図である。アラインメントしたアミノ酸配列は、DOM7h-2（配列番号10）、DOM7h-3（配列番号11）、DOM7h-4（配列番号12）、DOM7h-6（配列番号13）、DOM7h-1（配列番号14）、DOM7h-7（配列番号15）と表されるV_H由来のものである。

【図1D】図1Dは、ヒト血清アルブミンとの結合によって選択された7種のV_Hのアミ

ノ酸配列およびコンセンサス配列（配列番号23）のアラインメントを示す図である。アラインメントした配列は、DOM7h-22（配列番号16）、DOM7h-23（配列番号17）、DOM7h-24（配列番号18）、DOM7h-25（配列番号19）、DOM7h-26（配列番号20）、DOM7h-21（配列番号21）およびDOM7h-27（配列番号22）と表されるV に由来するものである。

【図1E】図1Eは、ヒト血清アルブミンおよびラット血清アルブミンとの結合によって選択される3種のV のアミノ酸配列のアラインメントを示す図である。アラインメントしたアミノ酸配列は、DOM7h-8（配列番号24）、DOM7r-13（配列番号25）およびDOM7r-14（配列番号26）と表されるV に由来するものである。

【図2A-B】図2Aおよび2Bは、MSA16IL-1ra（DOM7m-16/IL-1raとも呼ばれる）およびIL-1raMSA16（IL-1ra/DOM7m-16とも呼ばれる）融合体をそれぞれ発現させるために用いられるベクターの概略マップを示す図である。

【図2C】図2C~2Dは、IL-1raMSA16融合体（IL-1ra/DOM7m-16とも呼ばれる）をコードするヌクレオチド配列（配列番号27）および融合体のアミノ酸配列（配列番号28）を例示する図である。

【図2D】図2C~2Dは、IL-1raMSA16融合体（IL-1ra/DOM7m-16とも呼ばれる）をコードするヌクレオチド配列（配列番号27）および融合体のアミノ酸配列（配列番号28）を例示する図である。

【図2E】図2E~2Fは、MSA16IL-1ra融合体（DOM7m-16/IL-1raとも呼ばれる）をコードするヌクレオチド配列（配列番号29）および融合体のアミノ酸配列（配列番号30）を例示する図である。

【図2F】図2E~2Fは、MSA16IL-1ra融合体（DOM7m-16/IL-1raとも呼ばれる）をコードするヌクレオチド配列（配列番号29）および融合体のアミノ酸配列（配列番号30）を例示する図である。

【図2G】図2G~2Hは、血清アルブミンと結合しなかったダミーIL-1ra融合体をコードするヌクレオチド配列（配列番号31）および融合体のアミノ酸配列（配列番号32）を例示する図である。

【図2H】図2G~2Hは、血清アルブミンと結合しなかったダミーIL-1ra融合体をコードするヌクレオチド配列（配列番号31）および融合体のアミノ酸配列（配列番号32）を例示する図である。

【図3】図3Aは、IL-1が、HeLa細胞によるIL-8の産生を誘導することを示す、およびELISAアッセイにおいてIL-8が検出される機構を示す例を示す図である。図3Bは、IL-1ra（ ）、MSA16IL-1ra（ ）およびIL-1raMSA16（ ）が、IL-1によって誘導される、培養MRC-5細胞によるIL-8の分泌を各々阻害したことを示すグラフを示す図である。観察された阻害は、IL-1ra、MSA16IL-1raおよびIL-1raMSA16について用量依存性であった。

【図4】図4A~4Cは、IL-1ra（ ）、MSA16IL-1ra（ ）の双方とも、マウス血清アルブミンを含まない（4A）、5%マウス血清アルブミンを含む（4B）または10%マウス血清アルブミンを含む（4C）アッセイにおいて、IL-1によって誘導される、培養MRC-5細胞によるIL-8の分泌を阻害したということを示すグラフを示す図である。観察された阻害は、試験したすべての条件下で、IL-1raおよびMSA16IL-1raについて用量依存性であった。

【図5】MSA16IL1-ra融合体およびIL-1raMSA16融合体は双方とも血清アルブミンと結合したが、ダミーIL1-ra融合体は結合しなかったということを実証するELISAの結果の図式的提示を示す図である。

【図6A-1】図6Aはヒト血清アルブミン（HSA）とのクローンDOM7h-1結合（6A）の、BIACORE親和性データを示すセンソグラムおよび表を示す図である。

【図6A-2】図6A-1の続き。

【図 6 B - 1】図 6 B は H S A との D O M 7 h - 7 結合 (6 B) の、 B I A C O R E 親和性データを示すセンソグラムおよび表を示す図である。

【図 6 B - 2】図 6 B - 1 の続き。

【図 6 C - 1】図 6 C はラット血清アルブミン (R S A) との D O M 7 r - 1 結合の、 B I A C O R E 親和性データを示すセンソグラムおよび表を示す図である。

【図 6 C - 2】図 6 C - 1 の続き。

【図 7】D O M 7 h - 1、D O M 7 r - 1、D O M 7 h - 2、D O M 7 r - 3、D O M 7 h - 7、D O M 7 h - 8、D O M 7 r - 8、D O M 7 r - 13、D O M 7 r - 14、D O M 7 m - 16、D O M 7 h - 22、D O M 7 h - 23、D O M 7 h - 26、D O M 7 r - 16、D O M 7 m - 26、D O M 7 r - 27 および D O M 7 R - 31 の、それらが結合する血清アルブミンに対する親和性を示す表を示す図である。

【図 8】図 8 A は G e n B a n k に受託番号 N M _ 1 7 3 8 4 2 として寄託されるヒトインターロイキン 1 受容体アンタゴニスト (I L - 1 r a) をコードする核酸のヌクレオチド配列 (配列番号 3 3) を例示する図である。この核酸は、位置 6 5 で始まるオープンリーディングフレームを有する。図 8 B は、図 8 A (配列番号 3 3) に示される核酸によってコードされるヒト I L - 1 r a (配列番号 3 4) のアミノ酸配列を例示する図である。成熟タンパク質は、152 個のアミノ酸残基 (配列番号 3 4 のアミノ酸残基 2 6 ~ 1 7 7) からなる。

【図 9】C D 1 系統雄動物への単回の静脈内 (i . v .) 注射 (用量は約 1 . 5 m g / k g とした) 後の、マウス血清における M S A 結合性 d A b / H A エピトープタグ融合タンパク質の濃度 (μ g / m L) を経時的に (日) 示すグラフを示す図である。血清濃度は、ヤギ抗 H A (A b c a m , U K) 捕捉とプロテイン L - H R P (I n v i t r o g e n , U S A) 検出試薬とを用い、E L I S A によって測定した。既知濃度の M S A 結合性 d A b / H A 融合体の標準曲線は、1 x マウス血清の存在下で設定し、試験サンプルとの比較性を確実にした。1 コンパートメントモデルでのモデリング (W i n N o n l i n S o f t w a r e , P h a r s i g h t C o r p . , U S A) により、M S A 結合性 d A b / H A エピトープタグ融合タンパク質は、最終相 $t^{1/2}$ 29 . 1 時間および曲線下面積 559 時間 \cdot μ g / m l を有するとわかった。

【図 10】ラット血清アルブミン (R S A) との結合によって選択した V のアミノ酸配列のアミノ酸配列を例示する図である。例示される配列は、D O M 7 r - 15 (配列番号 37)、D O M 7 r - 16 (配列番号 38)、D O M 7 r - 17 (配列番号 39)、D O M 7 r - 18 (配列番号 40)、D O M 7 r - 19 (配列番号 41) と表される V に由来するものである。

【図 11 A - 1】図 11 A は、ラット血清アルブミン (R S A) と結合する V のアミノ酸配列のアミノ酸配列を例示する図である。例示される配列は、D O M 7 r - 20 (配列番号 42)、D O M 7 r - 21 (配列番号 43)、D O M 7 r - 22 (配列番号 44)、D O M 7 r - 23 (配列番号 45)、D O M 7 r - 24 (配列番号 46)、D O M 7 r - 25 (配列番号 47)、D O M 7 r - 26 (配列番号 48)、D O M 7 r - 27 (配列番号 49)、D O M 7 r - 28 (配列番号 50)、D O M 7 r - 29 (配列番号 51)、D O M 7 r - 30 (配列番号 52)、D O M 7 r - 31 (配列番号 53)、D O M 7 r - 32 (配列番号 54)、D O M 7 r - 33 (配列番号 55) と表される V に由来するものである。

【図 11 A - 2】図 11 A - 1 の続き。

【図 11 A - 3】図 11 A - 2 の続き。

【図 11 B】図 11 B は、ラット血清アルブミン (R S A) と結合する V のアミノ酸配列のアミノ酸配列を例示する図である。例示される配列は、D O M 7 r - 20 (配列番号 42)、D O M 7 r - 21 (配列番号 43)、D O M 7 r - 22 (配列番号 44)、D O M 7 r - 23 (配列番号 45)、D O M 7 r - 24 (配列番号 46)、D O M 7 r - 25 (配列番号 47)、D O M 7 r - 26 (配列番号 48)、D O M 7 r - 27 (配列番号 49)、D O M 7 r - 28 (配列番号 50)、D O M 7 r - 29 (配列番号 51)、D O M

7 r - 3 0 (配列番号 5 2)、D O M 7 r - 3 1 (配列番号 5 3)、D O M 7 r - 3 2 (配列番号 5 4)、D O M 7 r - 3 3 (配列番号 5 5)と表される V に由来するものである。

【図 1 2】C D 1 系統雄動物への単回の静脈内 (i . v .) 注射 (用量は約 1 . 5 m g / k g とした) 後の、マウス血清中の、各々 H A エピトープタグを含む、D O M 7 m - 1 6、D O M 7 m - 2 6 または M S A と結合しない対照 d A b の濃度 (初期用量の %) を経時的に示すグラフを示す図である。血清濃度は、ヤギ抗 H A (A b c a m , U K) 捕捉とプロテイン L - H R P (I n v i t r o g e n , U S A) 検出試薬とを用い、E L I S A に よって測定した。既知濃度の M S A 結合性 d A b / H A 融合体の標準曲線は、1 x マウス血清の存在下で設定し、試験サンプルとの比較性を確実にした。1 コンパートメントモデルでのモデリング (W i n N o n l i n S o f t w a r e , P h a r s i g h t C o r p . , U S A) により、対照 d A b は 2 0 分という最終相 $t^{1/2}$ を有していたのに対し、D O M 7 m - 1 6、D O M 7 m - 2 6 は血清中で有意に長く持続した。

【図 1 3】マウスコラーゲン誘導関節炎 (C I A) モデルにおける関節炎の治療において D O M 7 m - 1 6 / I L - 1 r a は、I L - 1 r a またはエンブレル (登録商標) (e n t a r e c e p t ; I m m u n e x C o r p o r a t i o n) よりもより有効であったということを示すグラフを示す図である。関節炎は、誘導し、2 1 日目に開始して、マウスを 0 . 4 m g / K g のデキサメタゾン (ステロイド)、1 m g / K g の D O M 7 m - 1 6 / I L - 1 r a (I L - 1 r a / 抗 - S A 1 m g / k g) または 1 0 m g / K g の D O M 7 m - 1 6 / I L - 1 r a (I L - 1 r a / 抗 - S A 1 0 m g / k g)、1 m g / K g の I L - 1 r a または 1 0 m g / K g の I L - 1 r a、5 m g / K g のエンブレル (登録商標) (e n t a r e c e p t ; I m m u n e x C o r p o r a t i o n) または生理食塩水で治療した。結果は、この研究では、D O M 7 m - 1 6 / I L - 1 r a は、I L - 1 r a またはエンブレル (登録商標) (e n t a r e c e p t ; I m m u n e x C o r p o r a t i o n) よりもより有効であったということを示す。I L - 1 r a に対する反応は、予想通り用量依存的であり、D O M 7 m - 1 6 / I L - 1 r a に対する反応も用量依存的であった。1 m g / K g の D O M 7 m - 1 6 / I L - 1 r a での治療の平均スコアは、1 0 m g / k g の I L - 1 r a での治療によって得られた平均スコアよりも一貫して低かった。これらの結果は、この研究では、D O M 7 m - 1 6 / I L - 1 r a での治療は、I L - 1 r a よりも 1 0 倍より有効であったということを示す。

【図 1 4 A - B】図 1 4 A ~ 1 4 G は、サボリンポリペプチドのアミノ酸配列を例示する図である。図 1 4 A は、S w i s s p r o t 受託番号 P 2 7 5 5 9 (配列番号 6 0) として寄託されるサボリン - 2 前駆体のアミノ酸配列を例示する。シグナルペプチドは、配列番号 6 0 のアミノ酸 1 ~ 2 4 である。図 1 4 B は、S w i s s p r o t 受託番号 P 2 7 5 6 0 (配列番号 6 1) として寄託されるサボリン - 3 のアミノ酸配列を例示する。図 1 4 C は、S w i s s p r o t 受託番号 P 2 7 5 6 1 (配列番号 6 2) として寄託されるサボリン - 4 前駆体のアミノ酸配列を例示する。シグナルペプチドは、配列番号 6 2 のアミノ酸 1 ~ 2 4 である。図 1 4 D は、S w i s s p r o t 受託番号 Q 4 1 3 8 9 (配列番号 6 3) として寄託されるサボリン - 5 のアミノ酸配列を例示する。図 1 4 E は、S w i s s p r o t 受託番号 P 2 0 6 5 6 (配列番号 6 4) として寄託されるサボリン - 6 前駆体のアミノ酸配列を例示する。シグナルペプチドは、配列番号 6 4 のアミノ酸 1 ~ 2 4 であり、可能性のあるプロペプチドは、配列番号 6 4 のアミノ酸 2 7 8 ~ 2 9 9 である。成熟ポリペプチドは、配列番号 6 4 のアミノ酸 2 5 ~ 2 7 7 (配列番号 6 5) である。図 1 4 F は、S w i s s p r o t 受託番号 Q 4 1 3 9 1 (配列番号 6 6) として寄託されるサボリン - 7 のアミノ酸配列を例示する。図 1 4 G は、サボリン - 6 のいくつかの変異体およびアイソフォームを包含するコンセンサスアミノ酸配列 (配列番号 6 7) を例示する。

【図 1 4 C - D】図 1 4 C は、S w i s s p r o t 受託番号 P 2 7 5 6 1 (配列番号 6 2) として寄託されるサボリン - 4 前駆体のアミノ酸配列を例示する。シグナルペプチドは、配列番号 6 2 のアミノ酸 1 ~ 2 4 である。図 1 4 D は、S w i s s p r o t 受託番号 Q 4 1 3 8 9 (配列番号 6 3) として寄託されるサボリン - 5 のアミノ酸配列を例示する。

【図14E-F】図14Eは、Swissprot受託番号P20656（配列番号64）として寄託されるサボリン-6前駆体のアミノ酸配列を例示する。シグナルペプチドは、配列番号64のアミノ酸1～24であり、可能性のあるプロペプチドは、配列番号64のアミノ酸278～299である。成熟ポリペプチドは、配列番号64のアミノ酸25～277（配列番号65）である。図14Fは、Swissprot受託番号Q41391（配列番号66）として寄託されるサボリン-7のアミノ酸配列を例示する。

【図14G】図14Gは、サボリン-6のいくつかの変異体およびアイソフォームを包含するコンセンサスアミノ酸配列（配列番号67）を例示する。

【図15】WO2004/041862に開示されている、マウス血清アルブミンと結合するいくつかのラクダ科動物V_HHのアミノ酸配列を例示する図である。配列A（配列番号72）、配列B（配列番号73）、配列C（配列番号74）、配列D（配列番号75）、配列E（配列番号76）、配列F（配列番号77）、配列G（配列番号78）、配列H（配列番号79）、配列I（配列番号80）、配列J（配列番号81）、配列K（配列番号82）、配列L（配列番号83）、配列M（配列番号84）、配列N（配列番号85）、配列O（配列番号86）、配列P（配列番号87）、配列Q（配列番号88）。

【図16A】図16(a)は、[Pro⁹]GLP-1-Dom7h8融合体をコードするヌクレオチド配列（配列番号177）および融合体のアミノ酸配列（配列番号179）を例示する図である。

【図16B】図16(b)は、[Pro⁹]GLP-1-PSS-Dom7h8融合体をコードするヌクレオチド配列（配列番号180）および融合体のアミノ酸配列（配列番号182）を例示する図である。

【図16C】図16(c)は、[Pro⁹]GLP-1-PSSGAP-Dom7h8融合体をコードするヌクレオチド配列（配列番号183）および融合体のアミノ酸配列（配列番号185）を例示する図である。

【図17】[Pro⁹]GLP-I-PSSGAP-Dom7h8融合体（ ）が、GLP-1対照、（黒塗り三角）、エキセンディン-4（黒塗り逆三角）と同等の用量依存性細胞増殖活性を有していたことを示すグラフを示す図である。基礎のゼロ対照は（ ）で示されている。

【図18】[Pro⁹]GLP-I-PSSGAP-Dom7h8融合体（ ）が、GLP-1対照、（黒塗り三角）、エキセンディン-4（黒塗り逆三角）と同等の用量依存性インスリン放出を有していたことを示すグラフを示す図である。基礎のゼロ対照は（ ）で示されている。

【図19】図19(a)～(c)は、Dom7h-8 PYY(3-36)（配列番号186）、PYY(3-36)DOM7h-8（配列番号187）および[Pro⁹]GLP-1(3-37)-DOM7h-8 PYY(3-36)（配列番号188）融合体のアミノ酸配列をそれぞれ例示する図である。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0305

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0305】

配列表

GLP-1 (7-37)

アミノ酸:HAE GTFTSDVSSY LEGQAAKEFI AWLVKGRG - 配列番号 158ヌクレオチド配列:ca tgctgaaggg acccttacca gtgatgtaag ttcttattg gaaggccaag ctgccaagga attcattgct
tggtgtgta aaggccgagg a 配列番号 159

GLP-1 (7-36)

HAE GTFTSDVSSY LEGQAAKEFI AWLVKGR 配列番号 160ca tgctgaaggg acccttacca gtgatgtaag ttcttattg gaaggccaag ctgccaagga attcattgct
tggtgtgta aaggccga - 配列番号 161**Exendin-4**HGE GTFTSDLKQ MEEEAVRLF EWLKNGGPSS GAPPPS - 配列番号 162catggt gaaggaacat ttaccagtga ctgtcaaaa cagatggaag aggaggcagt gcggttattt attgagtggc
ttaagaacgg aggaccaagt agcggggcac ctccgccatc g - 配列番号 163オキシントモジュリンHSQGTFTS DYSKYLDSRR AQDFVQWLMN TKRNRNNIA - 配列番号 164cattcac agggcacatt caccagtgc tacagcaagt atctggactc caggcgtgcc caagatttg tgcagtgggt
gatgaatacc aagaggaaca ggaataacat tgcc - 配列番号 165**Exendin-3**HSDGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS - 配列番号 166catagtga tggaacattt accagtgcac gtgtcaaaaca gatggaagag gaggcagtgc ggttatttat tgagtggctt
aagaacggag gaccaagtag cggggcacct ccgccatcg - 配列番号 167

PYY (3-36)

IKPEAPGEDA SPEELNRYYA SLRHYLNLVT RQRY - 配列番号 168

Atcaaaccg aggctcccg cgaagacgcc tcgccggagg agctgaaccg ctactacgcc tccctgcgcc
actacctcaa cctggtcacc cggcagcgg at - 配列番号 169

胃抑制ペプチド

YAEGTFISD YSIAMDKIHQ QDFVNWLLAQ KGKKNDWKHN ITQ - 配列番号 170

tacgcggaa gggacttca tcagtgacta cagtattgcc atggacaaga ttcaccaaca agactttgtg aactggctgc
tggcccaaaa ggggaagaag aatgactgga aacacaacat caccag - 配列番号 171