

【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 1 部門第 1 区分

【発行日】平成22年1月21日 (2010.1.21)

【公表番号】特表2009-521926(P2009-521926A)

【公表日】平成21年6月11日 (2009.6.11)

【年通号数】公開・登録公報2009-023

【出願番号】特願2008-548690(P2008-548690)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 38/55 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/18 (2006.01)

A 6 1 P 11/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/02 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/81 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 A

A 6 1 K 37/64

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 1/00

A 6 1 P 1/18

A 6 1 P 11/00

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 19/02

A 6 1 P 29/00 1 0 1

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

C 0 7 K 14/81 Z N A

C 1 2 P 21/02 C

【手続補正書】

【提出日】平成21年11月26日 (2009.11.26)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1 つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含み、2 つ以上のヒトプロテアーゼを阻害する、単離されたタンパク質。

【請求項 2】

各々が 10 n M 未満の K_i で前記 2 つ以上のヒトプロテアーゼを阻害する、請求項 1 に

記載のタンパク質。

【請求項 3】

各々が 1 nM 未満の K_i で前記 2 つ以上のヒトプロテアーゼを阻害する、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 4】

前記操作されたプロテアーゼ阻害性配列として、2 つ以上のヒトプロテアーゼを阻害する単一の操作された K_{unit} ドメインを含む、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 5】

前記単一の操作された K_{unit} ドメインが、各々が 10 nM 未満の K_i で 2 つ以上のヒトプロテアーゼを阻害する、請求項 4 に記載のタンパク質。

【請求項 6】

前記操作されたプロテアーゼ阻害性配列として少なくとも 2 つの K_{unit} ドメインを含む、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 7】

3 つの K_{unit} ドメインを含む、請求項 6 に記載のタンパク質。

【請求項 8】

4 つの K_{unit} ドメインを含む、請求項 6 に記載のタンパク質。

【請求項 9】

5 つの K_{unit} ドメインを含む、請求項 6 に記載のタンパク質。

【請求項 10】

少なくとも 6 つの K_{unit} ドメインを含む、請求項 6 に記載のタンパク質。

【請求項 11】

前記 K_{unit} ドメインの少なくとも 1 つが、天然に存在するヒト K_{unit} ドメインのフレームワークを含むが、プロテアーゼ結合ループ中の少なくとも 1 つの残基において該天然に存在するヒト K_{unit} ドメインと異なる、請求項 6 に記載のタンパク質。

【請求項 12】

前記 K_{unit} ドメインの少なくとも 1 つが、TFPI K_{unit} ドメインのフレームワークを含むが、プロテアーゼ結合ループ中の少なくとも 1 つの残基において該 TFPI K_{unit} ドメインと異なる、請求項 11 に記載のタンパク質。

【請求項 13】

少なくとも 15 キロダルトンの分子量を有する、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 14】

少なくとも 30 分という 相半減期を有する、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 15】

前記 K_{unit} ドメインの少なくとも 1 つが、ジスルフィド結合を 2 つだけ含む、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 16】

2 つ以上の PEG 部分で改変されている、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 17】

好中球エラスターゼ、プロテイナーゼ 3 およびカテプシン G からなる群から選択される少なくとも 2 つのプロテアーゼを阻害する、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 18】

好中球エラスターゼ、プロテイナーゼ 3 およびカテプシン G を阻害する、請求項 17 に記載のタンパク質。

【請求項 19】

関節リウマチ、多発性硬化症、クローン病、癌および慢性閉塞性肺障害からなる群から選択される障害の原因となる過剰な活性を有する 2 つ以上のプロテアーゼを阻害する、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 20】

前記タンパク質が、少なくとも2つのK u n i t zドメイン、好中球エラスターゼに特異的な第1のK u n i t zドメインおよびプロテイナーゼ3に特異的な第2のK u n i t zドメインを含む、請求項17に記載のタンパク質。

【請求項21】

前記第1のK u n i t zドメインが、前記第2のK u n i t zドメインのC末端側である、請求項20に記載のタンパク質。

【請求項22】

ヒト血漿カリクレインおよびヒト好中球エラスターゼを阻害する、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項23】

ヒト好中球エラスターゼ、プロテイナーゼ3、カテプシンGおよびトリプターゼのうちの2つ以上を阻害する、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項24】

ヒトカリクレイン6 (h K 6)、ヒトカリクレイン8 (h K 8) およびヒトカリクレイン10 (h K 1 0) のうちの2つ以上を阻害する、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項25】

h K 6 およびヒト好中球エラスターゼを阻害する、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項26】

ヒト組織カリクレイン (h . K 1) およびヒト血漿カリクレインを阻害する、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項27】

プラスミン、ヘプシン、マトリプターゼ、エンドセリアーゼ1およびエンドセリアーゼ2からなる群から選択される少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項28】

前記タンパク質が、10 n M未満のK iで各々のプロテアーゼを阻害する、請求項17、18または22～27に記載のタンパク質。

【請求項29】

(i) D X - 8 8 または D X - 8 8 のプロテアーゼ結合ループ中のアミノ酸残基の少なくとも90%を含むK u n i t zドメイン、および(i i) D X - 8 9 0 または D X - 8 9 0 のプロテアーゼ結合ループ中のアミノ酸残基の少なくとも90%を含むK u n i t zドメインを含む、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項30】

少なくとも2つのK u n i t zドメインを含み、その各々が、D X - 8 8 または D X - 8 8 のプロテアーゼ結合ループ中のアミノ酸残基の少なくとも90%を含むK u n i t zドメインである、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項31】

少なくとも2つのK u n i t zドメインを含み、その各々が、D X - 8 9 0 または D X - 8 9 0 のプロテアーゼ結合ループ中のアミノ酸残基の少なくとも90%を含むK u n i t zドメインである、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項32】

前記少なくとも2つのK u n i t zドメインが、互いに異なる、請求項6に記載のタンパク質。

【請求項33】

前記少なくとも2つのK u n i t zドメインが、可撓性親水性リンカーによって接続されている、請求項6に記載のタンパク質。

【請求項34】

前記リンカーが、15アミノ酸長未満であり、少なくとも2つのグリシン残基を含む、請求項33に記載のタンパク質。

【請求項35】

前記少なくとも2つのK u n i t zドメインが、血清アルブミン部分によって分断されていない、請求項6に記載のタンパク質。

【請求項36】

前記少なくとも2つのK u n i t zドメインが、T細胞エピトープを含まないリンカーによって接続されている、請求項6に記載のタンパク質。

【請求項37】

前記少なくとも2つのK u n i t zドメインが、中型から大型の疎水性残基および荷電残基を有しないリンカーによって接続されている、請求項6に記載のタンパク質。

【請求項38】

前記少なくとも2つのK u n i t zドメインが、グリコシル化部位を含むリンカーによって接続されている、請求項6に記載のタンパク質。

【請求項39】

3個未満のグリコシル化部位を有する、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項40】

グリコシル化部位を有しない、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項41】

N結合型グリコシル化部位を有しない、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項42】

好中球ディフェンシンの存在下で前記ヒトプロテアーゼを阻害する、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項43】

M T 6 - M M P (ロイコリジン)による分解に耐性である、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項44】

M M P - 8またはM M P - 12によって認識される切断部位を含まない、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項45】

前記プロテアーゼ阻害性配列が、ヒトプロテアーゼに結合して阻害する20アミノ酸未満のペプチドのアミノ酸配列を含む、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項46】

前記プロテアーゼ阻害性配列が、軽鎖可変ドメインとともにヒトプロテアーゼに結合して阻害する重鎖可変ドメインのアミノ酸配列を含む、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項47】

第V I I a因子と第X a因子の両方を阻害しない、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項48】

ピクニンと少なくとも2つのアミノ酸が異なる、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項49】

被験体を処置するための組成物であって、請求項1～48のいずれか1項に記載のタンパク質を含む、ここで、該被験体は、少なくとも2つの異なるプロテアーゼによって引き起こされるプロテアーゼ活性を低下させる必要がある、組成物。

【請求項50】

第1および第2のヒトプロテアーゼが原因となるヒト障害を処置するための組成物であって、複数のK u n i t zドメインを含むタンパク質を含む、該複数のK u n i t zドメインは、第1のヒトプロテアーゼを特異的に阻害するK u n i t zドメインおよび第2のヒトプロテアーゼを特異的に阻害するK u n i t zドメインを含む、組成物。

【請求項51】

(i) ヒトセリンプロテアーゼを阻害するK u n i t zドメイン、および(i i) メタロプロテアーゼの結合性および阻害に寄与するポリペプチド配列を含む、単離されたタンパク質。

【請求項52】

1本のポリペプチド鎖からなる、請求項51に記載のタンパク質。

【請求項53】

メタロプロテアーゼの結合性および阻害に寄与する前記ポリペプチド配列が、メタロプロテアーゼと結合して阻害する抗原結合フラグメントの可変ドメインを含む、請求項51に記載のタンパク質。

【請求項54】

少なくとも2本のポリペプチド鎖を含み、一方のポリペプチド鎖は、前記抗原結合フラグメントの重鎖可変ドメインを含み、他方のポリペプチド鎖は、該抗原結合フラグメントの軽鎖可変ドメインを含む、請求項53に記載のタンパク質。

【請求項55】

前記Kunitzドメインが、前記抗原結合フラグメントの重鎖可変ドメインと同じポリペプチド鎖の構成要素である、請求項54に記載のタンパク質。

【請求項56】

前記Kunitzドメインが、前記抗原結合フラグメントの軽鎖可変ドメインと同じポリペプチド鎖の構成要素である、請求項54に記載のタンパク質。

【請求項57】

前記Kunitzドメインが、前記抗原結合フラグメントの定常ドメインのC末端側である、請求項53に記載のタンパク質。

【請求項58】

2つ以上のヒトプロテアーゼを阻害するタンパク質を提供する方法であって：
第1のヒトプロテアーゼを阻害する第1のKunitzドメインおよび第2のヒトプロテアーゼを阻害する第2のKunitzドメインのアミノ酸配列を提供する工程；
複数のKunitzドメインを含むレシピエントタンパク質のアミノ酸配列を提供する工程；および
該レシピエントタンパク質の改変アミノ酸配列をコードする核酸を調製する工程であって、ここで、該レシピエントタンパク質は、(a)該レシピエントタンパク質中の該Kunitzドメインのうちの1つのもののアミノ酸が、該第1のKunitzドメインの結合性または特異性に寄与するアミノ酸残基と置換され、そして(b)該レシピエントタンパク質中の該Kunitzドメインのうちの別のもののアミノ酸が、該第2のKunitzドメインの結合性または特異性に寄与するアミノ酸残基と置換されるように改変されている、工程を含む、方法。

【請求項59】

2つ以上のヒトプロテアーゼを阻害するタンパク質を提供する方法であって：
第1のヒトプロテアーゼを阻害する第1のKunitzドメインおよび第2のヒトプロテアーゼを阻害する第2のKunitzドメインのアミノ酸配列を提供する工程；ならびに該第1および第2のKunitzドメインをコードする配列がインフレームであり、かつリンカー配列をコードする配列によって分断されているポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを調製する工程であって、ここで、(a)該リンカーは、中型または大型の疎水性残基も荷電残基も含まないか、または(b)MHC Iエピトープは、該第1および第2のKunitzドメイン由来の該第1および第2のKunitzドメインならびに該リンカー由来のアミノ酸によって形成されない工程、を含む、方法。

【請求項60】

前記第1および第2のヒトプロテアーゼが、単一のヒト疾患の原因となる、請求項58または59に記載の方法。

【請求項61】

前記調製された核酸を細胞中で発現させる工程をさらに含む、請求項58または59に記載の方法。

【請求項62】

薬学的組成物として、前記調製された核酸によってコードされるタンパク質を製剤化する工程をさらに含む、請求項 5 8 または 5 9 に記載の方法。

【請求項 6 3】

関節リウマチを処置するための組成物であって、1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質を含み、ここで、該タンパク質は、ヒト血漿カリクレイン、ヒト組織カリクレインおよびヒト好中球エラスターゼからなる群から選択される少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する、組成物。

【請求項 6 4】

前記タンパク質が、マトリクスメタロプロテアーゼ - (MMP -) 1、MMP - 2、MMP - 3、MMP - 9 および MMP - 13 からなる群から選択される少なくとも1つのプロテアーゼをさらに阻害する、請求項 6 3 に記載の組成物。

【請求項 6 5】

肺の炎症性障害を処置するための組成物であって、1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質を含み、ここで、該タンパク質は、ヒト好中球エラスターゼ、プロテイナーゼ 3、カテプシン G およびトリプターゼからなる群から選択される少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する、組成物。

【請求項 6 6】

前記タンパク質は、マトリクスメタロプロテアーゼ - (MMP -) 9 および MMP - 12 からなる群から選択される少なくとも1つのプロテアーゼをさらに阻害する、請求項 6 5 に記載の組成物。

【請求項 6 7】

前記肺の炎症性障害が、慢性閉塞性肺障害 (COPD) であり、前記少なくとも2つのプロテアーゼは、ヒト好中球エラスターゼ、プロテイナーゼ 3 (PR3) およびカテプシン G からなる群から選択される、請求項 6 5 に記載の組成物。

【請求項 6 8】

多発性硬化症を処置するための組成物であって、1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質を含み、ここで、該タンパク質は、ヒトカリクレイン 6 (hK6)、ヒトカリクレイン 8 (hK8) およびヒトカリクレイン 10 (hK10) からなる群から選択される少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する、組成物。

【請求項 6 9】

脊髄損傷を処置するための組成物であって、1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質を含み、ここで、該タンパク質は、ヒトカリクレイン 6 (hK6) とヒト好中球エラスターゼの両方を阻害する、組成物。

【請求項 7 0】

炎症性腸疾患 (IBD) を処置するための組成物であって、少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質を含み、ここで、該2つのプロテアーゼは、血漿カリクレイン、ヒト組織カリクレイン (h . K1) およびヒト好中球エラスターゼからなる群から選択される、組成物。

【請求項 7 1】

前記 IBD が、クローン病である、請求項 7 0 に記載の組成物。

【請求項 7 2】

前記タンパク質が、マトリクスメタロプロテアーゼ 9 (MMP - 9) をさらに阻害する、請求項 7 0 に記載の組成物。

【請求項 7 3】

前記タンパク質が、マトリクスメタロプロテアーゼ 9 (MMP - 9) をさらに阻害する、請求項 7 1 に記載の組成物。

【請求項 7 4】

急性膵炎を処置するための組成物であって、少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質を含み、ここで、該2つのプロテアーゼは、ヒトトリプシン 1、ヒトトリプシン 2、ヒト膵臓キモトリプシンおよ

びヒト膵臓エラスターゼからなる群から選択される、組成物。

【請求項 75】

癌を処置するための組成物であって、少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質を含み、該2つのプロテアーゼは、ヒトプラスミン、ヒトヘブシン、ヒトマトリブターゼ、ヒトエンドセリアーゼ1およびヒトエンドセリアーゼ2からなる群から選択される、組成物。

【請求項 76】

前記2つのプロテアーゼが、ヒトプラスミン、ヒトヘブシンおよびヒトマトリブターゼからなる群から選択される、請求項75に記載の組成物。

【請求項 77】

血漿カリクレイン、ヒト好中球エラスターゼおよびプラスミンからなる群から選択されるヒトプロテアーゼを阻害する操作されたK u n i t zドメインを含むタンパク質であって、ここで、該K u n i t zドメインは、14 - 38ジスルフィドを有しない、タンパク質。

【請求項 78】

前記K u n i t zドメインの結合ループが、DX - 88、DX - 890またはDX - 1000の結合ループと同一である、請求項77に記載のタンパク質。

【請求項 79】

前記K u n i t zドメインが、DX - 88、DX - 890またはDX - 1000と少なくとも95%同一であるが、システイン14およびシステイン38に相当する位置においてシステインを含まない、請求項77に記載のタンパク質。

【請求項 80】

複数のポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチドのライブラリーであって、該ポリヌクレオチドの各々は、14位および38位に相当する位置においてシステインを有しないK u n i t zドメインをコードする配列を含み、該K u n i t zドメインの第1および/または第2の結合ループ中の1つ以上の残基が、該複数のポリヌクレオチド間で異なるように、該複数のポリヌクレオチドが異なる、ライブラリー。

【請求項 81】

ウシ膵臓トリプシンインヒビター(BPTI)の配列に関して13位、16位、17位、18位、19位、31位、32位、34位および39位をコードするコドンが異なる、請求項80に記載のライブラリー。

【請求項 82】

95%以下が異なる少なくとも2つのK u n i t zドメインを含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、該K u n i t zドメインをコードする該配列は、該少なくとも2つのK u n i t zドメイン間で同一である1つ以上の残基に相当する位置において異なるコドンを使用する、ポリヌクレオチド。

【請求項 83】

前記K u n i t zドメインが、同一である、請求項82に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 84】

前記K u n i t zドメインが、同一であるが、該同一のK u n i t zドメインをコードする配列が、少なくとも10コドンにおいて異なる、請求項82に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 85】

被験体を処置するための医薬の調製における請求項1～48のいずれか1項に記載のタンパク質の使用であって、ここで、該被験体は、少なくとも2つの異なるプロテアーゼによって引き起こされるプロテアーゼ活性を低下させる必要がある、使用。

【請求項 86】

第1および第2のヒトプロテアーゼが原因となるヒト障害を処置するための医薬の調製における、複数のK u n i t zドメインを含むタンパク質の使用であって、該複数のK u n i t zドメインは、第1のヒトプロテアーゼを特異的に阻害するK u n i t zドメイン

および第2のヒトプロテアーゼを特異的に阻害するK u n i t zドメインを含む、使用。

【請求項87】

関節リウマチを処置するための医薬の調製における、1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質の使用であって、ここで、該タンパク質は、ヒト血漿カリクレイン、ヒト組織カリクレインおよびヒト好中球エラスターゼからなる群から選択される少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する、使用。

【請求項88】

前記タンパク質が、マトリクスメタロプロテアーゼ - (M M P -) 1、M M P - 2、M M P - 3、M M P - 9およびM M P - 13からなる群から選択される少なくとも1つのプロテアーゼをさらに阻害する、請求項87に記載の使用。

【請求項89】

肺の炎症性障害を処置するための医薬の調製における、1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質の使用であって、ここで、該タンパク質は、ヒト好中球エラスターゼ、プロテイナーゼ3、カテプシンGおよびトリプターゼからなる群から選択される少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する、使用。

【請求項90】

前記タンパク質は、マトリクスメタロプロテアーゼ - (M M P -) 9およびM M P - 12からなる群から選択される少なくとも1つのプロテアーゼをさらに阻害する、請求項89に記載の使用。

【請求項91】

前記肺の炎症性障害が、慢性閉塞性肺障害 (C O P D) であり、前記少なくとも2つのプロテアーゼは、ヒト好中球エラスターゼ、プロテイナーゼ3 (P R 3) およびカテプシンGからなる群から選択される、請求項89に記載の使用。

【請求項92】

多発性硬化症を処置するための医薬の調製における、1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質の使用であって、ここで、該タンパク質は、ヒトカリクレイン6 (h K 6)、ヒトカリクレイン8 (h K 8) およびヒトカリクレイン10 (h K 10) からなる群から選択される少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する、使用。

【請求項93】

脊髄損傷を処置するための医薬の調製における、1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質の使用であって、ここで、該タンパク質は、ヒトカリクレイン6 (h K 6) とヒト好中球エラスターゼの両方を阻害する、使用。

【請求項94】

炎症性腸疾患 (I B D) を処置するための医薬の調製における、少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質の使用であって、ここで、該2つのプロテアーゼは、血漿カリクレイン、ヒト組織カリクレイン (h . K 1) およびヒト好中球エラスターゼからなる群から選択される、使用。

【請求項95】

前記I B Dが、クローン病である、請求項94に記載の使用。

【請求項96】

前記タンパク質が、マトリクスメタロプロテアーゼ9 (M M P - 9) をさらに阻害する、請求項94に記載の使用。

【請求項97】

前記タンパク質が、マトリクスメタロプロテアーゼ9 (M M P - 9) をさらに阻害する、請求項95に記載の使用。

【請求項98】

急性膵炎を処置するための医薬の調製における、少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質の使用であって、ここで、該2つのプロテアーゼは、ヒトトリプシン1、ヒトトリプシン2、ヒト膵臓キモトリプシンおよびヒト膵臓エラスターゼからなる群から選択される、使用。

【請求項 99】

癌を処置するための医薬の調製における、少なくとも2つのプロテアーゼを阻害する1つ以上の操作されたプロテアーゼ阻害性配列を含むタンパク質の使用であって、該2つのプロテアーゼは、ヒトプラスミン、ヒトヘブシン、ヒトマトリブターゼ、ヒトエンドセリナーゼ1およびヒトエンドセリナーゼ2からなる群から選択される、使用。

【請求項 100】

前記2つのプロテアーゼが、ヒトプラスミン、ヒトヘブシンおよびヒトマトリブターゼからなる群から選択される、請求項99に記載の使用。