

(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2011-512134

(P2011-512134A)

(43) 公表日 平成23年4月21日(2011.4.21)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 12 N 15/09 (2006.01)	C 12 N 15/00	Z N A A 4 B 0 2 4
C 07 K 19/00 (2006.01)	C 07 K 19/00	4 C 0 8 4
C 07 K 14/705 (2006.01)	C 07 K 14/705	4 H 0 4 5
C 07 K 14/52 (2006.01)	C 07 K 14/52	
C 07 K 14/475 (2006.01)	C 07 K 14/475	

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2010-546400 (P2010-546400)	(71) 出願人	502452978 アステリオン・リミテッド イギリス国, エス10 2ティーエヌ シ エフィールド, ウエスタン・バンク, ファ ース・コート
(86) (22) 出願日	平成21年2月18日 (2009. 2. 18)	(74) 代理人	100149294 弁理士 内田 直人
(85) 翻訳文提出日	平成22年10月18日 (2010.10.18)	(74) 代理人	100137512 弁理士 奥原 康司
(86) 國際出願番号	PCT/GB2009/000437	(72) 発明者	アーティミューク, ピーター イギリス国, シェフィールド エス10 2ティーエヌ, ファース コート, ウエス タンバンク, アステリオン・リミテッド
(87) 國際公開番号	W02009/103965		
(87) 國際公開日	平成21年8月27日 (2009. 8. 27)		
(31) 優先権主張番号	0802978.7		
(32) 優先日	平成20年2月19日 (2008. 2. 19)		
(33) 優先権主張国	英國 (GB)		
(31) 優先権主張番号	0821076.7		
(32) 優先日	平成20年11月19日 (2008.11.19)		
(33) 優先権主張国	英國 (GB)		
(31) 優先権主張番号	0900539.8		
(32) 優先日	平成21年1月14日 (2009. 1. 14)		
(33) 優先権主張国	英國 (GB)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】修飾リンカー

(57) 【要約】

我々は、少なくとも第1及び第2ポリペプチドを連結するべく機能する修飾ペプチドリンカーであって、糖成分を付加するためのモチーフを含むペプチドリンカーについて記載する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ペプチドリンカーによって間接的に連結された第 1 及び第 2 のポリペプチドからなり、前記ペプチドリンカーが少なくとも 1 つの糖成分を付加する為の少なくとも 1 つのモチーフを含むように修飾されていることを特徴とする融合ポリペプチド。

【請求項 2】

前記第 1 のポリペプチドがリガンドであり、前記第 2 のポリペプチドが該リガンドの結合しうる同族の受容体である請求項 1 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 3】

前記第 2 のポリペプチドが前記の同族受容体細胞外ドメインよりなる請求項 2 に記載の融合ポリペプチド。 10

【請求項 4】

前記リガンドがサイトカインである請求項 1 から 3 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。 。

【請求項 5】

前記リガンドが血管新生促進ポリペプチドである請求項 1 から 3 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 6】

前記リガンドが成長ホルモンである請求項 1 から 3 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。 20

【請求項 7】

前記リガンドがタイプ I インターフェロンである請求項 1 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 8】

前記第 1 のポリペプチドがインターフェロン であり、前記第 2 のポリペプチドがインターフェロン受容体のインターフェロン 結合ドメインを有する、請求項 7 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 9】

前記融合ポリペプチドが、図 27、28、29、30 又は 31 に表されているアミノ酸配列を有する、請求項 8 に記載の融合ポリペプチド 30

【請求項 10】

少なくともドメインの 1 つに成長ホルモンポリペプチドを有する、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 11】

前記融合ポリペプチドが第 1 及び第 2 の成長ホルモンポリペプチドを有する、請求項 10 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 12】

前記融合ポリペプチドが、図 23、24, 25 又は 26 に示されたアミノ酸配列を有する、請求項 11 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 13】

前記リガンドがペプチドホルモンである、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 14】

前記第 1 のポリペプチド及び前記第 2 のポリペプチドがソマトスタチン 14 である、請求項 1 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 15】

前記融合ポリペプチドが、図 32, 33, 34, 35 又は 36 に示されたアミノ酸配列を有する、請求項 14 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 16】

前記第 1 のポリペプチド及び前記第 2 のポリペプチドがソマトスタチン 28 である、請求 50

項1に記載の融合ポリペプチド。

【請求項17】

前記融合ポリペプチドが、図38, 39, 40又は41に示されたアミノ酸配列を有する、請求項16に記載の融合ポリペプチド。

【請求項18】

前記第1のポリペプチドがソマトスタチン14であり、前記第2のポリペプチドがソマトスタチン28である、請求項1に記載の融合ポリペプチド。

【請求項19】

前記融合ポリペプチドが、図42又は43に示されたアミノ酸配列を有する、請求項18に記載の融合ポリペプチド。

10

【請求項20】

前記ペプチドリンカー分子が、Asn-Xaa-Ser又はAsm-Xaa-Thr（ここでXはプロリン以外のいずれかのアミノ酸）というグリコシリ化モチーフの1つのコピーを有する又はより構成される、請求項1から19のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項21】

前記ペプチドリンカー分子が、Asn-Xaa-Ser又はAsm-Xaa-Thrというグリコシリ化モチーフを含むことを特徴とするモチーフ(Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5)の少なくとも1つのコピーを有する、請求項20に記載の融合ポリペプチド。

20

【請求項22】

前記ペプチドリンカーが、

Asn1-Xaa2-Ser3Xaa4Xaa5, ここでXaa2はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

Xaa1Asn2-Xaa3-Ser4Xaa5, ここでXaa3はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

Xaa1Xaa2Asn3-Xaa4-Ser5, ここでXaa4はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

Asn1-Xaa2-Thr3Xaa4Xaa5, ここでXaa2はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

Xaa1Asn2-Xaa3-Thr4Xaa5, ここでXaa3はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；そして

Xaa1Xaa2Asn3-Xaa4-Thr5, ここでXaa4はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

より構成されるグループから選択されたアミノ酸モチーフの少なくとも1つのコピーを有する、請求項21に記載の融合ポリペプチド。

30

【請求項23】

前記ペプチドリンカーが、

Asn1-Xaa2-Ser3Gly4Ser5, ここでXaa2はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

Gly1Asn2-Xaa3-Ser4Ser5, ここでXaa3はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

Gly1Gly2Asn3-Xaa4-Ser5, ここでXaa4はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

Asn1-Xaa2-Thr3Gly4Ser5, ここでXaa2はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

Gly1Asn2-Xaa3-Thr4Ser5, ここでXaa3はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；そして

Gly1Gly2Asn3-Xaa4-Thr5, ここでXaa4はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

40

50

より構成されるグループから選択されたモチーフの少なくとも1つのコピーを有する、請求項21に記載の融合ポリペプチド。

【請求項24】

前記ペプチドリンカーが、

$\text{Asn}_1 - \text{Xaa}_2 - \text{Ser}_3 \text{Ser}_4 \text{Gly}_5$, ここで Xaa_2 はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

$\text{Gly}_1 \text{Asn}_2 - \text{Xaa}_3 - \text{Ser}_4 \text{Gly}_5$, ここで Xaa_3 はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

$\text{Ser}_1 \text{Ser}_2 \text{Asn}_3 - \text{Xaa}_4 - \text{Ser}_5$, ここで Xaa_4 はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

$\text{Asn}_1 - \text{Xaa}_2 - \text{Thr}_3 \text{Ser}_4 \text{Gly}_5$, ここで Xaa_2 はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

$\text{Ser}_1 \text{Asn}_2 - \text{Xaa}_3 - \text{Thr}_4 \text{Gly}_5$, ここで Xaa_3 はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；そして

$\text{Ser}_1 \text{Ser}_2 \text{Asn}_3 - \text{Xaa}_4 - \text{Thr}_5$, ここで Xaa_4 はプロリン以外のいずれかのアミノ酸；

より構成されるグループから選択されたモチーフの少なくとも1つのコピーを有する、請求項21に記載の融合ポリペプチド。

【請求項25】

前記ペプチドリンカー分子が、 $\text{Asn} - \text{Xaa} - \text{Ser}$ 又は $\text{Asn} - \text{Xaa} - \text{Thr}$ というグリコシル化モチーフを含むことを特徴とするモチーフ($\text{Xaa}_1 \text{Xaa}_2 \text{Xaa}_3 \text{Xaa}_4 \text{Xaa}_5$)の少なくとも1つのコピー及びモチーフ($\text{Gly}_1 \text{Gly}_2 \text{Gly}_3 \text{Gly}_4 \text{Ser}$)の少なくとも1つのコピーを有し、該ペプチドリンカーが5-50アミノ酸であることを特徴とする、請求項21に記載の融合ポリペプチド。

【請求項26】

前記ペプチドリンカー分子が、 $\text{Asn} - \text{Xaa} - \text{Ser}$ 又は $\text{Asn} - \text{Xaa} - \text{Thr}$ というグリコシル化モチーフを含むことを特徴とするモチーフ($\text{Xaa}_1 \text{Xaa}_2 \text{Xaa}_3 \text{Xaa}_4 \text{Xaa}_5$)の少なくとも1つのコピー及びモチーフ($\text{Ser}_1 \text{Ser}_2 \text{Ser}_3 \text{Ser}_4 \text{Gly}_5$)の1つのコピーを有し、該ペプチドリンカーが5-50アミノ酸であることを特徴とする、請求項21に記載の融合ポリペプチド。

【請求項27】

請求項1から6のいずれかに記載のポリペプチドをコードする核酸分子。

【請求項28】

請求項27に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項29】

請求項27又は28に記載の核酸分子又はベクターにより形質移入又は形質転換された細胞。

【請求項30】

賦形剤又は担体を含み、請求項1から26のいずれかに記載のポリペプチドを含有する医薬品組成物。

【請求項31】

前記ポリペプチドが、図46a、46b、46c、46d、46e又は46fに示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項2から4のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項32】

前記ポリペプチドが、図47a、47b、47c、47d、47e又は47fに示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項2から4のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項33】

前記ポリペプチドが、図48a、48b、48c、48d、48e又は48fに示された

10

20

30

40

50

配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 3 4】

前記ポリペプチドが、図 4 9 a、4 9 b，4 9 c，4 9 d，4 9 e 又は 4 9 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 3 5】

前記ポリペプチドが、図 5 0 a、5 0 b，5 0 c，5 0 d，5 0 e，5 0 f 又は 5 0 h に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

10

【請求項 3 6】

前記ポリペプチドが、図 5 1 a、5 1 b，5 1 c，5 1 d，5 1 e，5 1 f 又は 5 1 h に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 3 7】

前記ポリペプチドが、図 5 2 a、5 2 b，5 2 c，5 2 d，5 2 e，5 2 f 又は 5 2 h に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

20

【請求項 3 8】

前記ポリペプチドが、図 5 3 a、5 3 b，5 3 c，5 3 d，5 3 e，5 3 f 又は 5 3 h に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 3 9】

前記ポリペプチドが、図 5 4 a 又は 5 4 b に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

30

【請求項 4 0】

前記ポリペプチドが、図 5 5 a 又は 5 5 b に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 4 1】

前記ポリペプチドが、図 5 6 a 又は 5 6 b に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

30

【請求項 4 2】

前記ポリペプチドが、図 5 7 a 又は 5 7 b に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 4 3】

前記ポリペプチドが、図 5 8 a、5 8 b，5 8 c，5 8 d，5 8 e 又は 5 8 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

40

【請求項 4 4】

前記ポリペプチドが、図 5 9 a、5 9 b，5 9 c，5 d，5 9 e 又は 5 9 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 4 5】

前記ポリペプチドが、図 6 0 a、6 0 b，6 0 c，6 0 d，6 0 e 又は 6 0 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

50

【請求項 4 6】

前記ポリペプチドが、図 6 1 a、6 1 b、6 1 c、6 1 d、6 1 e 又は 6 1 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 4 7】

前記ポリペプチドが、図 6 2 a、6 2 b、6 2 c、6 2 d 又は 6 2 e に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 4 8】

前記ポリペプチドが、図 6 3 a、6 3 b、6 3 c、6 3 d 又は 6 3 e に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。 10

【請求項 4 9】

前記ポリペプチドが、図 6 4 a、6 4 b、6 4 c、6 4 d 又は 6 4 e に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 5 0】

前記ポリペプチドが、図 6 5 a、6 5 b、6 5 c、6 5 d 又は 6 5 e に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。 20

【請求項 5 1】

前記ポリペプチドが、図 6 6 a、6 6 b、6 6 c、6 6 d、6 6 e 又は 6 6 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 5 2】

前記ポリペプチドが、図 6 7 a、6 7 b、6 7 c、6 7 d、6 7 e 又は 6 7 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 5 3】

前記ポリペプチドが、図 6 8 a、6 8 b、6 8 c、6 8 d、6 8 e 又は 6 8 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。 30

【請求項 5 4】

前記ポリペプチドが、図 6 9 a、6 9 b、6 9 c、6 9 d、6 9 e 又は 6 9 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 5 5】

前記ポリペプチドが、図 7 0 a、7 0 b、7 0 c、7 0 d、7 0 e、7 0 f、7 0 g、7 0 h、7 0 i、7 0 j、7 0 k、7 0 m、7 0 n、7 0 o 又は 7 0 p に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。 40

【請求項 5 6】

前記ポリペプチドが、図 7 1 a、7 1 b、7 1 c、7 1 d、7 1 e、7 1 f、7 1 g、7 1 h、7 1 i、7 1 j、7 1 k、7 1 m、7 1 n、7 1 o 又は 7 1 p に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 5 7】

前記ポリペプチドが、図 7 2 a、7 2 b、7 2 c、7 2 d、7 2 e、7 2 f、7 2 g、7 2 h、7 2 i、7 2 j、7 2 k、7 2 m、7 2 n、7 2 o 又は 7 2 p に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 50

から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 5 8】

前記ポリペプチドが、図 7 3 a、7 3 b、7 3 c、7 3 d、7 3 e、7 3 f、7 3 g、7 3 h、7 3 i、7 3 j、7 3 k、7 3 m、7 3 n、7 3 o 又は 7 3 p に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 5 9】

前記ポリペプチドが、図 7 4 a、7 4 b、7 4 c、7 4 d、7 4 e、7 4 f、7 4 g、7 4 h、7 4 i、7 4 j、7 4 k 又は 7 4 m に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

10

【請求項 6 0】

前記ポリペプチドが、図 7 5 a、7 5 b、7 5 c、7 5 d、7 5 e、7 5 f、7 5 g、7 5 h、7 5 i、7 5 j、7 5 k 又は 7 5 m に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 6 1】

前記ポリペプチドが、図 7 6 a、7 6 b、7 6 c、7 6 d、7 6 e、7 6 f、7 6 g、7 6 h、7 6 i、7 6 j、7 6 k 又は 7 6 m に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

20

【請求項 6 2】

前記ポリペプチドが、図 7 7 a、7 7 b、7 7 c、7 7 d、7 7 e、7 7 f、7 7 g、7 7 h、7 7 i、7 7 j、7 7 k 又は 7 7 m に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

30

【請求項 6 3】

前記ポリペプチドが、図 7 8 a、7 8 b 又は 7 8 c に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 6 4】

前記ポリペプチドが、図 7 9 a、7 9 b 又は 7 9 c に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 6 5】

前記ポリペプチドが、図 8 0 a、8 0 b 又は 8 0 c に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の融合ポリペプチド。

【請求項 6 6】

請求項 3 1 - 6 5 のいずれかに記載のポリペプチドをコードする核酸分子。

40

【請求項 6 7】

請求項 6 6 に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項 6 8】

請求項 6 6 又は 6 7 に記載の核酸分子又はベクターにより形質移入又は形質転換された細胞。

【請求項 6 9】

賦形剤又は担体を含み、請求項 3 1 から 6 5 のいずれかに記載のポリペプチドを含有する医薬品組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

50

【0001】

本発明は、少なくとも第1及び第2ポリペプチドを連結するべく機能する修飾ペプチドリンカーであって、糖成分を付加するためのモチーフを含むペプチドリンカーに関する。

【背景技術】

【0002】

グリコシリ化とは、張り出した糖鎖基を蛋白、ポリペプチド又はペプチドに付加することであり、これにより該蛋白、ポリペプチド又はペプチドの活性及び/又はバイオアベイラビリティが変化する。このプロセスは、翻訳と同時又は翻訳後になされ、酵素を媒介として行われる。グリコシリ化には2つのタイプが存在する；アスパラギン側鎖へのN結合型グリコシリ化とセリン又はスレオニンアミノ酸側鎖へのO結合型グリコシリ化である。N結合型グリコシリ化は最も一般的な翻訳後修飾であり、真核細胞の小胞体内にて行われる。N結合型グリコシリ化は2つの主要なタイプよりなる；2つのN-アセチルグルコサミンを含む高マンノースオリゴサッカライド及びその他のタイプの糖グループを含む複合オリゴサッカライドである。グリコシリ化ポリペプチドに含まれるペプチドモチーフはAsn-X-Ser又はAsn-X-Thrであり、ここでXはプロリン以外のいかなるアミノ酸でもよい。これは酵素であるオリゴサッカリルトランスフェラーゼ(OT)によって触媒される；Yan & Lennarz J. Biol. Chem., Vol. 280(5), 3121-3124 (2005)参照のこと。OTはその触媒作用により、ドリコール結合ピロリン酸ドナーからオリゴサッカリル成分(Glc3Man9GlcNAc2)をアスパラギン側鎖に転移させる。核となるペントサッカライドは全てのN結合型オリゴサッカライドに共通しており、様々なN結合型オリゴサッカライドにおいて、その土台としての役割を担っている。

10

20

30

40

【0003】

O結合型グリコシリ化は一般的ではない。セリン又はスレオニン残基がこれらのアミノ酸側鎖にある酸素を介して糖とグリコシリ化により結合している。通常は、N-アセチルグルコサミンがこの結合様式により、細胞内蛋白質に結合している。

【0004】

グリコシリ化により、生物学的に活性のある蛋白の機能が変わることが知られている。例えば、WO 01/36001には、免疫原性を軽減し、薬物動態(PK)を改善する目的で、N結合型グリコシリ化を含んでいる修飾インターフェロンY複合物についての記載がある。WO 2004/020578は、IL-20受容体を介して優先的に情報伝達される、遺伝子工学により產生されたIL-20変異体のN結合型グリコシリ化について開示している。WO 2005/070138は、本来グリコシリ化されない、例えば、G-CSFといった、治療用ペプチドをO結合型グリコシリ化することにより、免疫原性を軽減し、バイオアベイラビリティを改善することができることを記載している。グリコシリ化G-CSFの更なる例はWO 2007/108882に開示されており、トランスジェニック細胞中で発現させ、G-CSFのグリコシリ化パターンが変化していた。WO 2007/022799は、天然のグリコシリ化インターフェロンと比較した場合、それと異なるグリコシリ化蛋白質を、より多量に生産し、供給する無血清条件下での組み換えグリコシリ化インターフェロンの製造過程を記載している。WO 2007/084441は、より多くのグリコシリ化を伴うことで、PKの改善した卵胞刺激ホルモン変異体及びその受胎治療への利用について開示している。WO 2007/136752は、4本の炭化水素鎖；N結合型グリコシリ化部位3つとO結合型部位1つを含む蛋白であるエリスロポエチンの均一なグリコシリ化の過程について開示している。グリコシリ化組み換え蛋白の產生に関連する問題としてグリコシリ化の均一性がある。エリスロポエチンのPKを改善する試みの更なる例が、WO 00/32772、WO 01/02017及びWO 03/029291に記載されている。

【0005】

出願人の同時係属中の出願WO 01/96565に、サイトカインとこれらの同族受容体の細胞外ドメインとの融合よりなる融合蛋白が、そのPK及びアゴニスト活性を改善す

50

ることについて記載されている。該サイトカイン及び細胞外ドメインは互いに柔軟なペプチドリンカーを介して連結されており、これによってそれぞれのドメインが互いのドメインと呼応して動くことを可能にしている。例としては成長ホルモン（G H）がある。

【0006】

G Hは2つの膜結合成長ホルモン受容体（G H R）と、G H上でサイト1及びサイト2と呼ばれる2つの別部位を介して、連なって結合する。サイト1は高親和性結合部位であり、サイト2は低親和性部位である。1つのG H分子は1つのG H Rとサイト1を介して結合する。2つ目のG H Rはサイト2を介して補充され、G H R : G H : G H R複合体を形成する。該複合体は内部移行して、遺伝子発現変動につながる情報伝達カスケードを活性化する。G H Rの細胞外ドメインは2つの連結されたドメインより構成され、各ドメインはおよそ100アミノ酸よりなり（SD-100）、細胞表面に最も近接しているC端末側SD-100ドメイン（b）と、最も離れたN端末側SD-100ドメイン（a）である。これら2つのドメインの構造変化は、ホルモン結合により、3量体G H R - G H - H G Rが形成される際に生じる。ラットに投与されたG Hキメラ融合蛋白は、天然のG Hに比べて300倍もその消失が減少し、その単回投与は、天然のG Hで見られるよりも著しく10日間での成長を促進した。該成長ホルモン融合は相互に結合するヘッドトゥーテール構造の2量体を形成し、これにより、天然においてはG Hとその結合蛋白によって生じる様な不活性ホルモンの蓄積を生じさせている。更なる例は、出願人の同時係属中の出願WO03/070765において開示されており、それには、G H中のサイト1及びサイト2への修飾を含む修飾G H融合蛋白について及び該蛋白がG H受容体活性化に対するアンタゴニストとして作用することについて記載されている。

10

20

30

【0007】

新規なキメラ融合蛋白についての更なる例は、以下に示す蛋白についての未公開の特許出願に記載されている：成長ホルモン（U S 6 0 / 9 5 1 , 1 2 2 ; 0 7 1 7 9 8 5 . 6）；修飾成長ホルモン（U K 0 7 1 9 8 1 8 . 7 ; U S 6 0 / 9 7 9 , 0 1 0）；レプチニン（U K 0 7 1 5 2 1 6 . 8 ; U S 6 0 / 9 5 6 , 3 6 0）；エリスロポエチニン（U K 0 7 1 5 1 2 6 . 9 ; U S 6 0 / 9 5 6 , 3 1 9）；顆粒球コロニー刺激ホルモン（U K 0 7 1 5 1 3 3 . 5 ; U S 6 0 / 9 5 6 , 3 0 3）；インターフェロン（U K 0 7 1 5 3 8 3 . 6 ; U S 6 0 / 9 5 6 , 3 4 3）；インターロイキン（U K 0 7 1 5 5 5 7 . 5 ; U S 6 0 / 9 5 6 , 3 7 2）；IGF-1（U K 0 7 1 5 2 1 3 . 5 ; U S 6 0 / 9 5 6 , 3 3 3）とプロラクチニン（U K 0 7 2 4 6 5 4 . 9 ; U K 0 7 2 4 6 5 6 . 4）；及びペプチドホルモンキメラ（U K 0 7 2 5 2 0 1 . 8）。これらの内容は、そのまま参考文献に記載されている。

WO03/034275において、出願人は、例えば成長ホルモンやレプチニンといった、受容体を介したシグナル伝達のアゴニストとして作用するサイトカインのオリゴマー（例としては2量体や3量体）よりなる融合蛋白について記載した。該サイトカイン部分はまた、互いに柔軟なペプチドリンカーを介して連結される。該オリゴマーは、活性を有するものの、キメラ融合蛋白と比較した場合、PKは改善されない。

【0008】

ポリペプチドを連結するペプチドリンカーモノマーは当該技術分野において既知のものである。例えば、WO2006/010891には、硬直した及びやや硬直したペプチドリンカーモノマーについて記載されており、該モノマーは、ヘリックス領域を有する他の蛋白性成長ホルモン間を直列に連結することで、その屈曲性を制限している。EP0573551には、セリンを多く含有するペプチド連結分子（Ser Ser Ser Ser Gly） \times （ここで \times は1-10コピーの間であることを特徴とする）について記載されており、該分子は、溶解性や蛋白分解酵素による代謝に対する抵抗性を改善するために、融合蛋白中のドメインや单鎖抗体フラグメントを連結するのに有効である。WO88/09344においては、グリシンを多く含有し、抗体フラグメントの重鎖と軽鎖を連結する連結分子（Gly Gly Gly Gly Ser）について記載している。このようにペプチド連結分子はポリペプチドドメインを互いに連結し、活性及び/またはPKが改

40

50

善された機能的複合体を形成する手段として確立している。

【発明の概要】

【0009】

出願人は、糖成分を付加する為のモチーフを含むように修飾し、それによって少なくとも2つの活性のあるポリペプチド結合部分間をつなぐグリコシル化ペプチドリンカーを形成する修飾ペプチド連結分子を開示する。

【0010】

本発明の1つの態様においては、ペプチドリンカーによって間接的に連結された第1及び第2のポリペプチドからなり、前記ペプチドリンカーが少なくとも1つの糖成分を付加する為の少なくとも1つのモチーフを含むように修飾されていることを特徴とする融合ポリペプチドを提供する。

本発明のより好ましい実施例においては、前記第1のポリペプチドがリガンドであり、前記第2のポリペプチドが該リガンドの結合しうる同族の受容体であり、好ましくは、前記リガンドと結合するドメインを有する又はより構成される細胞外ドメインである。

本発明の別の好ましい実施例においては、前記リガンドがケモカインである。

【0011】

“ケモカイン”とは、分裂促進性、走化性又は炎症性活性を有する細胞により分泌される、構造的に関連性のある低分子量因子のグループを指す。これらは本来、4つの保存されたシステイン残基を共有する70から100残基からなる陽イオン性蛋白である。これらの蛋白は2つのN末端にあるシステインのスペーシングに基づき、2つのグループに分類することが出来る。第1のグループでは、この2つのシステインが1残基によって隔てられている(C-x-X)のに対し、第2のグループにおいては、これらは隣り合っている(C-C)。“C-x-C”ケモカインのメンバーの例として、血小板第4因子(PF4)、血小板塩基蛋白(PBP)、インターロイキン8(IL-8)、黒色腫成長刺激活性蛋白(MGSA)、マクロファージ炎症性蛋白2(MIP-2)、マウスマジグ(m119)、ニワトリ9E3(又はpCEF-4)、ブタ肺マクロファージ走化因子I及びII(AMCF-I及びII)、前B細胞刺激因子(PBSF)及びIP10が含まれるが、これらに限定されるものではない。“C-C”グループのメンバーの例として、単球走化性蛋白1(MCP-1)、単球走化性蛋白2(MCP-2)、単球走化性蛋白3(MCP-3)、単球走化性蛋白4(MCP-4)、マクロファージ炎症性蛋白1(MIP-1-)、マクロファージ炎症性蛋白1(MIP-1-)、マクロファージ炎症性蛋白3(MIP-3-)、マクロファージ炎症性蛋白3(MIP-3-)、ケモカイン(ELC)、マクロファージ炎症性蛋白4(MIP-4)、マクロファージ炎症性蛋白5(MIP-5)、LD78、RANTES、SIS-(p500)、胸腺及び活性化制御ケモカイン(TARC)、エオタキシン、I-309、ヒト蛋白HCC-1/NCC-2、ヒト蛋白HCC-3が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【0012】

本発明の更に好ましい実施例としては、前記リガンドが血管新生促進ポリペプチドである。

【0013】

血管新生を生ずるべく、内皮細胞を促進/活性化するいくつかの成長因子が知られている。これらは血管内皮成長因子(VEGF-A)、VEGF-B、VEGF-C及びVEGF-D、形質転換成長因子(TGFb)、酸性及び塩基性纖維芽細胞増殖因子(aFGF及びbFGF)及び血小板由来成長因子(PDGF)を含む。VEGFは非常に特異的な活性部位を有する内皮細胞特異的な成長因子であり、即ち、内皮細胞の増殖、移動及び分化を促進する。VEGFは2つの同一の23kDポリペプチドよりなる複合体である。VEGFは違った分子量を有する4つの異なるポリペプチドとしても存在することが出来、各のポリペプチドはオルタナティブスプライシングにより生じたmRNAに由来する。bFGFは纖維芽細胞や内皮細胞の増殖を刺激するべく機能する成長因子である。bFG

10

20

30

40

50

GFは、分子量16.5kDaの単鎖ポリペプチドである。bFGFにはいくつかの分子形が見いだされており、これらはN末端領域の長さが異なっている。しかしながら、これら異なる分子形の生体に対する機能はどれも同一であるように見える。bFGFは分泌腺によって産生される。

【0014】

本発明の好ましい実施例としては、前記血管新生促進ポリペプチドが、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、TGFb、aFGFとbFGF及びPDGFから構成されるグループより選択されたものである。

本発明の更に好ましい実施例としては、前記リガンドが成長因子であるものである。

【0015】

インシュリン様成長因子1(IGF1)及びその同族の受容体IGF1Rは、ヒトGHと併存することで、正常な成長及び発達に必須である。これに加えて、IGF1Rはまた、悪性形質転換にも関与している(Baserga et al. 1997)。IGF1、IGF2及びインシュリン受容体は、緊密に関係しており、IGF1Rはまた、IGF2によっても活性化されうる。IGF1Rは、およそ740残基の鎖が、細胞質側にチロシンキナーゼドメインを有する膜貫通鎖(90kDa)とジスルフィド基により連結した形で構成されている。2つの鎖がジスルフィド基により連結されることにより、該受容体は細胞膜上で2:2からなる4量体を形成している(Hubbard and Till, 2000)。該鎖はいくつかのドメインから構成されており、2つのLドメイン、L1(1-150残基)及びL2(300-460残基)、は主としてホルモン結合に関与している。該Lドメインはシステインを多く含むドメイン(151-299)及びこれに続くフィブロネクチンタイプI I Iドメイン(460-700)に区分される(Baserga R, Hongo A, Rubini M, Prisco M & Valentis B (1997) "The IGF-1 receptor in cell growth, transformation and apoptosis" Biochem Biophys Acta 1332: F105-F126); Hubbard SB & Till, JH (2000) "Protein tyrosine kinase structure and function" Annu. Rev. Biochem. 59; 373-398)。

【0016】

本発明の好ましい実施例としては、前記リガンドがインシュリン様成長因子1である。

本発明の好ましい実施例としては、前記リガンドがヒトインシュリン様成長因子1であり、図1のアミノ酸配列によって表されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体ドメインが、図2のアミノ酸配列によって表されるIGF-1受容体ポリペプチドを有する又はより構成されるものである。

【0017】

本発明の好ましい実施例としては、前記リガンドがインシュリン様成長因子2である。

本発明の好ましい実施例としては、前記リガンドがヒトインシュリン様成長因子2であり、図3のアミノ酸配列によって表されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体ドメインが、図4a又は4bのアミノ酸配列によって表されるIGF-2受容体ポリペプチドを有する又はより構成されるものである。

【0018】

本発明の好ましい実施例としては、前記リガンドがサイトカインである。

サイトカインはいくつかの様々な細胞機能に関与している。これらには免疫系の調節、エネルギー代謝の制御及び成長及び発達のコントロールが含まれる。サイトカインはその効果を標的細胞の細胞表面に発現する受容体を介して媒介する。サイトカイン受容体は3つの別々のサブグループに分類することが出来る。タイプ1(成長ホルモン(GH)ファミリー)受容体は、細胞外ドメインのN末端部分にある4つの保存されたシステイン残基とC末端部分にある保存されたTrp-Ser-Xaa-Trp-Serモチーフの存在

10

20

30

40

50

によって特徴づけられている。このCys繰り返しモチーフはまた、タイプ2(インターフェロンファミリー)及びタイプ3(腫瘍壞死因子ファミリー)にも存在する。

【0019】

本発明の好ましい実施例としては、前記サイトカインが、成長ホルモン、レプチン、エリスロポエチン、プロラクチン、インターロイキン(IL)、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12のp35サブユニット、IL-13、IL-15、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、毛様体神経栄養因子(CNTF)、カルジオトロピン(CT-1)、白血球阻害因子(LIF)、インターフェロンタイプI、II又はIIIより構成されるグループから選択されたものである。 10

【0020】

本発明の好ましい実施例としては、前記インターフェロンがタイプIインターフェロンである。

好ましくは、前記タイプIインターフェロンが、インターフェロン、インターフェロン、インターフェロン、インターフェロン及びインターフェロンより構成されるグループから選択されたものである。

本発明の好ましい実施例としては、インターフェロンが、IFNA 1、IFNA 2、IFNA 4、IFNA 5、IFNA 6、IFNA 7、IFNA 8、IFNA 10、IFNA 13、IFNA 14、IFNA 16、IFNA 17、IFNA 21より構成されるグループから選択されたものである。 20

本発明の別の好ましい実施例においては、前記第1のポリペプチドがインターフェロンであり、前記第2のポリペプチドがインターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインを有している。

【0021】

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、図27、28、29、30又は31に表されているアミノ酸配列を有している。

本発明の別の好ましい実施例においては、前記サイトカインが、成長ホルモン、レプチン、エリスロポエチン、プロラクチン及びG-CSFより構成されるグループから選択されたものである。

本発明の好ましい実施例としては、成長ホルモンがヒト成長ホルモンポリペプチドである。 30

好ましくは、前記ヒト成長ホルモンポリペプチドが図5に示されるアミノ酸配列によって表されるものである。

【0022】

本発明の好ましい実施例としては、前記ヒト成長ホルモンポリペプチドが、少なくとも1つの受容体結合ドメインを修飾した修飾ヒト成長ホルモンポリペプチドである。

本発明の好ましい実施例としては、成長ホルモンの前記受容体結合ドメインがサイト1結合ドメインである。

【0023】

本発明の別の好ましい実施例においては、成長ホルモンの前記受容体結合ドメインがサイト2結合ドメインである。 40

本発明の好ましい実施例においては、前記修飾ヒト成長ホルモンがサイト1及びサイト2の両方で修飾されている。

本発明の好ましい実施例としては、前記サイト2の修飾が、図5に表わされているアミノ酸配列のグリシン120になされているものである。

本発明の別の好ましい実施例においては、前記サイト2の修飾が、アルギニン、アラニン、リジン、トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン及びグルタミン酸より構成されるグループから選択されたアミノ酸とグリシンとの置換である。

【0024】

本発明の別の好ましい実施例においては、前記置換が、グリシン120をアルギニン又 50

はリジン又はアラニンとするものである。好ましくは、前記置換がグリシン120をアルギニンとするものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体ドメインが、図6のアミノ酸配列によって表される成長ホルモン受容体ポリペプチドを有する又はより構成されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、レブチンがヒトレブチンであり、図7に示されるアミノ酸配列によって表されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体ドメインが、図8のアミノ酸配列によって表されるレブチン受容体ポリペプチドを有する又はより構成されるものである。

【0025】

本発明の好ましい実施例としては、エリスロポエチンがヒトエリスロポエチンであり、図9に示されるアミノ酸配列によって表されるものである。 10

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体ドメインが、図10のアミノ酸配列によって表されるエリスロポエチン受容体ポリペプチドを有する又はより構成されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、プロラクチンがヒトプロラクチンであり、図11に示されるアミノ酸配列によって表されるものである。

【0026】

本発明の好ましい実施例としては、プロラクチンが少なくとも1つの受容体結合ドメインで修飾されていることを特徴とする修飾ヒトプロラクチンである。

本発明の好ましい実施例としては、前記修飾プロラクチンポリペプチドが、前記アミノ酸配列が図11に示されるヒトプロラクチンの129位で修飾されていることを特徴とするアミノ酸配列を有するものである。 20

本発明の別の好ましい実施例においては、前記修飾がアミノ酸置換である。好ましくは、前記置換がグリシンアミノ酸残基をアルギニンアミノ酸残基で置き換えるものである。

好ましくは、前記修飾が更に、図11に示されるアミノ酸配列の、少なくとも9, 10、11, 12, 13又は14のN末端アミノ酸残基を欠損するものである。

【0027】

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体ドメインが、図12のアミノ酸配列によって表されるプロラクチン受容体ポリペプチドを有する又はより構成されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、G-CSFがヒトG-CSFであり、図13に示されるアミノ酸配列によって表されるものである。 30

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体ドメインが、図14のアミノ酸配列によって表されるG-CSF受容体ポリペプチドを有する又はより構成されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記リガンドがペプチドホルモンである。

【0028】

本発明の好ましい実施例としては、前記ペプチドホルモンが、抗利尿ホルモン、オキシトシン、ゴナドトロピン放出ホルモン、コルチコトロピン放出ホルモン、カルシトニン、グルカゴン、アミリン、A型ナトリウム排泄増加ホルモン、B型ナトリウム排泄増加ホルモン、グレリン、ニューロペプチドY、ニューロペプチドYY₃₋₃₆、成長ホルモン放出ホルモン、ソマトスタチン又はこれらの相同物又は類縁体より構成されるグループから選択されたものである。 40

本発明の好ましい実施例としては、前記融合蛋白が成長ホルモン放出ホルモンを有している。

【0029】

本発明の別の好ましい実施例としては、前記融合蛋白がソマトスタチン又はその相同物又は類縁体を有している。好ましくは、ソマトスタチンはソマトスタチン14であり、あるいは、ソマトスタチンはソマトスタチン28である。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合蛋白がアミノ酸配列AGCKNFFWKFTTSCを有している。

本発明の別の好ましい実施例としては、前記融合蛋白がアミノ酸配列SANSNPAM

10

20

30

40

50

A P R E R K A G C K N F F W K T F T S C を有している。

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体結合ドメインが細胞外受容体結合ドメインである。

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体結合ドメインがソマトスタチン 1 受容体のソマトスタチン結合ドメインを有している。

【0030】

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体結合ドメインがソマトスタチン 2 受容体のソマトスタチン結合ドメインを有している。

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体結合ドメインがソマトスタチン 3 受容体のソマトスタチン結合ドメインを有している。

10

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体結合ドメインがソマトスタチン 4 受容体のソマトスタチン結合ドメインを有している。

本発明の好ましい実施例としては、前記受容体結合ドメインがソマトスタチン 5 受容体のソマトスタチン結合ドメインを有している。

本発明の好ましい実施例としては、前記細胞外受容体結合ドメインがソマトスタチン結合ドメインを有する又はより構成されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記細胞外受容体結合ドメインが、表 1 に関連する図 15 のアミノ酸配列によって示されたソマトスタチン結合ドメインを有する又はより構成されるものである。

【0031】

本発明の別の好ましい実施例としては、前記第 1 のポリペプチド及び前記第 2 のポリペプチドがソマトスタチン 1~4 である。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、図 32, 33, 34, 35 又は 36 に示されたアミノ酸配列を有する。

本発明の別の好ましい実施例としては、前記第 1 のポリペプチド及び前記第 2 のポリペプチドがソマトスタチン 2~8 である。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、図 38, 39, 40 又は 41 に示されたアミノ酸配列を有する。

本発明の別の好ましい実施例としては、前記第 1 のポリペプチドがソマトスタチン 1~4 であり、前記第 2 のポリペプチドがソマトスタチン 2~8 である。

30

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、図 42 又は 43 に示されたアミノ酸配列を有する。

【0032】

本発明の別の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが卵胞刺激ホルモン (FSH) サブユニットを有する。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、図 16 のアミノ酸配列によって示された (FSH) サブユニットを有する又はより構成されるものである。

FSH サブユニットは黄体形成ホルモン (LH) 及び甲状腺刺激ホルモン (TSH) に共通する構造であることが知られており、それ故、FSH サブユニットに係る請求項は LH 及び FSH に係る請求項に相当する。それぞれのホルモンの サブユニットによって受容体特異性が生じているのである。

本発明の別の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが卵胞刺激ホルモン (FSH) サブユニットを有する。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、図 17 のアミノ酸配列によって示された (FSH) サブユニットを有する又はより構成されるものである。

【0033】

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが卵胞刺激ホルモン受容体 (FSHR) の細胞外ドメインを有する又はより構成されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、表 2 に関連する図 18 のアミノ酸配列によって示された卵胞刺激ホルモン受容体 (FSHR) の細胞外ドメインを

40

50

有する又はより構成されるものである。

本発明の別の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドがLHサブユニットを有する又はより構成されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、図19に示されたLHサブユニットを有する又はより構成されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドがLH受容体の細胞外ドメインを有する又はより構成されるものである。

【0034】

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、表3に関連する図20に示されたLH受容体の細胞外ドメインを有する又はより構成されるものである。 10

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドがTSHサブユニットを有する又はより構成されるものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、図21に示されたアミノ酸を有する又はより構成されるものである。

本発明の更に好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドがTSH受容体の細胞外ドメインを有するものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、表4に関連する図22に示されたTSH受容体の細胞外ドメインを有する又はより構成されるものである。

本発明の別の好ましい実施例としては、前記第1のポリペプチド及び第2のポリペプチドが、受容体ポリペプチドと結合するリガンド結合ドメインであり、該ドメインが直列に連結していることを特徴とするリガンド結合ドメインである。 20

【0035】

本発明の更なる好ましい実施例としては、ポリペプチドの結合ドメインが互いに同一又は類似しているものである。

本発明の別の好ましい実施例としては、前記リガンド結合ドメインが異なるものである。 。

本発明の更なる好ましい実施例としては、少なくとも1つのドメインが成長ホルモン結合ドメインを有するものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが第1及び第2の成長ホルモンポリペプチドを有するものである。 30

【0036】

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドが、図23、24、25又は26に示されたアミノ酸配列を有する。

本発明の更なる好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、成長ホルモン又は成長ホルモン変異体の、少なくとも2つの結合ドメインを有するものである。

本発明の別の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、プロラクチン又はプロラクチン変異体の、少なくとも2つの結合ドメインを有するものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記プロラクチン変異体ポリペプチドが、ヒトプロラクチンの129位に修飾を受けることを特徴とするアミノ酸配列を有するものである。

本発明の好ましい実施例においては、前記修飾がアミノ酸置換である。好ましくは、前記置換がグリシンアミノ酸残基をアルギニンアミノ酸残基で置き換えるものである。好ましくは、前記修飾が更に、少なくとも9、10、11、12、13又は14のN末端アミノ酸残基の欠損を含む。 40

本発明の別の好ましい実施例としては、ポリペプチドの結合ドメインが互いに異なるものである。

【0037】

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、成長ホルモン結合ドメインである第1の結合ドメインと、プロラクチン結合ドメインである第2の結合ドメインを有する。

好ましくは、前記ポリペプチドは成長ホルモン結合ドメイン及びプロラクチン結合ドメ 50

インより構成される。

本発明の別の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、修飾成長ホルモン結合ドメインである第1の結合ドメインと、修飾プロラクチン結合ドメインである第2の結合ドメインを有する。

好ましくは、前記ポリペプチドは修飾成長ホルモン結合ドメイン及び修飾プロラクチン結合ドメインより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記修飾成長ホルモン結合ドメインはアミノ酸位置グリシン120でのアミノ酸の置換を有するものである。

【0038】

好ましくは、前記修飾は、アルギニン、リジン、トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン及びグルタミン酸より構成されるグループから選択されたアミノ酸とグリシン120との置換である。

本発明の好ましい実施例としては、前記修飾は、アルギニンアミノ酸残基とグリシン120との置換である。

本発明の更に好ましい実施例としては、前記修飾プロラクチン結合ドメインがグリシン129の修飾を有している。好ましくは、前記修飾はアルギニンアミノ酸残基とグリシン129との置換である。好ましくは、前記修飾は更に、少なくとも9, 10, 11, 12, 13又は14のN末端アミノ酸残基の欠損を有するものである。

本発明の別の好ましい実施例としては、前記第1及び第2のポリペプチドが抗体可変領域結合ドメインを有するものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記抗体可変領域結合ドメインが同一又は類似のエピトープに結合する。

【0039】

本発明の別の好ましい実施例としては、前記抗体可変領域結合ドメインが異なるエピトープに結合し、二価である。

イムノグロブリン又は抗体の様々なフラグメントは当該技術分野において既知であり、例えば、F_ab、F_ab₂、F(a_b')₂、F_v、F_c、F_d、s_cF_vs等がある。F_abフラグメントは多量体蛋白であり、イムノグロブリン重鎖可変領域及びイムノグロブリン軽鎖可変領域の免疫活性のある部分が互いに共有結合したものから構成され、抗原に特異的に結合することが出来る。F_abフラグメントは、無処置のイムノグロブリン分子を蛋白切断（例えば、パパインによる）することにより產生される。F_ab₂フラグメントは2つの連結したF_abフラグメントからなる。これら2つのフラグメントがイムノグロブリンヒンジ領域によって連結されることにより、結果としてF(a_b')₂フラグメントが生じる。F_vフラグメントは多量体蛋白であり、イムノグロブリン重鎖可変領域及びイムノグロブリン軽鎖可変領域の免疫活性のある部分が互いに共有結合したものから構成され、抗原に特異的に結合することが出来る。フラグメントは又、1つの軽鎖可変領域のみを含む単鎖ポリペプチド、又は軽鎖可変領域の3つのCDRを含み、重鎖可変領域を伴わないフラグメント、もしくは重鎖可変領域の3つのCDRを含み、軽鎖部分を伴わないフラグメント、そして、例えば米国特許No 6,248,516に記載されている、抗体フラグメントから形成された多選択性を有する抗体であってもよい。F_vフラグメント又は単領域（ドメイン）フラグメントは、一般的には、関連する特定領域の宿主細胞株中で発現することにより產生される。これら及びその他のイムノグロブリン又は抗体フラグメントは、本発明の適用範囲内にあり、Paul, Fundamental Immunology やJaneway et al. Immunobiology（上部に引用）といった標準的な免疫学の教科書にも記載されている。今日、分子生物学により、これらのフラグメントの直接の合成（細胞での発現又は化学合成による）又はこれらの組み合わせによる合成が可能となっている。

【0040】

单一の可変領域、いわゆる単鎖抗体可変領域フラグメント（s_cF_vs）を產生することは可能である。もし特定の単クローニング抗体のハイブリドーマが存在するのであれば、R

10

20

30

40

50

T P C R により前記ハイブリドーマから抽出した m R N A から s c F v s を単離することは当業者にとって周知の範囲内である。これに代わって、 s c F v s を発現するクローンを同定するのにファージディスプレイスクリーニングを用いることが出来る。あるいは、該フラグメントは“ドメイン抗体フラグメント”である。ドメイン抗体は抗体の最も小さな結合部分である（およそ 13 kDa）。この技術の事例は U S 6, 248, 516、U S 6, 291, 158、U S 6, 127, 197 及び E P 0 3 6 8 6 8 4 に開示されており、これらの内容は全て、そのまま参考文献に記載されている。

【0041】

本発明の好ましい実施例としては、前記抗体フラグメントが単鎖抗体可変領域フラグメントである。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 46 a、46 b, 46 c, 46 d, 46 e 又は 46 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 47 a、47 b, 47 c, 47 d, 47 e 又は 47 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 48 a、48 b, 48 c, 48 d, 48 e 又は 48 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

【0042】

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 49 a、49 b, 49 c, 49 d, 49 e 又は 49 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 50 a、50 b, 50 c, 50 d, 50 e, 50 f 又は 50 h に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 51 a、51 b, 51 c, 51 d, 51 e, 51 f 又は 51 h に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 52 a、52 b, 52 c, 52 d, 52 e, 52 f 又は 52 h に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 53 a、53 b, 53 c, 53 d, 53 e, 53 f 又は 53 h に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

【0043】

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 54 a 又は 54 b に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 55 a 又は 55 b に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 56 a 又は 56 b に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 57 a 又は 57 b に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

【0044】

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 58 a、58 b, 58 c,

10

20

30

40

50

5 8 d , 5 8 e 又は 5 8 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 5 9 a 、 5 9 b , 5 9 c , 5 d , 5 9 e 又は 5 9 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 6 0 a 、 6 0 b , 6 0 c , 6 0 d , 6 0 e 又は 6 0 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 6 1 a 、 6 1 b , 6 1 c , 6 1 d , 6 1 e 又は 6 1 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。 10

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 6 2 a 、 6 2 b , 6 2 c , 6 2 d 又は 6 2 e に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

【 0 0 4 5 】

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 6 3 a 、 6 3 b , 6 3 c , 6 3 d 又は 6 3 e に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 6 4 a 、 6 4 b , 6 4 c , 6 4 d 又は 6 4 e に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。 20

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 6 5 a 、 6 5 b , 6 5 c , 6 5 d 又は 6 5 e に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 6 6 a 、 6 6 b , 6 6 c , 6 6 d , 6 6 e 又は 6 6 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

【 0 0 4 6 】

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 6 7 a 、 6 7 b , 6 7 c , 6 7 d , 6 7 e 又は 6 7 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。 30

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 6 8 a 、 6 8 b , 6 8 c , 6 8 d , 6 8 e 又は 6 8 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 6 9 a 、 6 9 b , 6 9 c , 6 9 d , 6 9 e 又は 6 9 f に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 7 0 a 、 7 0 b , 7 0 c , 7 0 d , 7 0 e , 7 0 f , 7 0 g , 7 0 h , 7 0 i , 7 0 j , 7 0 k , 7 0 m , 7 0 n , 7 0 o 又は 7 0 p に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。 40

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 7 1 a 、 7 1 b , 7 1 c , 7 1 d , 7 1 e , 7 1 f , 7 1 g , 7 1 h , 7 1 i , 7 1 j , 7 1 k , 7 1 m , 7 1 n , 7 1 o 又は 7 1 p に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

【 0 0 4 7 】

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図 7 2 a 、 7 2 b , 7 2 c , 7 2 d , 7 2 e , 7 2 f , 7 2 g , 7 2 h , 7 2 i , 7 2 j , 7 2 k , 7 2 m , 7 2 n , 7 2 o 又は 7 2 p に示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。 50

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図73a、73b、73c、73d、73e、73f、73g、73h、73i、73j、73k、73m、73n、73o又は73pに示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図74a、74b、74c、74d、74e、74f、74g、74h、74i、74j、74k又は74mに示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

【0048】

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図75a、75b、75c、75d、75e、75f、75g、75h、75i、75j、75k又は75mに示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図76a、76b、76c、76d、76e、76f、76g、76h、76i、76j、76k又は76mに示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図77a、77b、77c、77d、77e、77f、77g、77h、77i、77j、77k又は77mに示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図78a、78b又は78cに示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

【0049】

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図79a、79b又は79cに示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ポリペプチドが、図80a、80b又は80cに示された配列より構成されるグループから選択されたアミノ酸配列を有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ペプチドリンカー分子が柔軟なペプチドリンカーである。

【0050】

本発明の好ましい実施例としては、前記ペプチドリンカー分子が、Asn-Xaa-Ser又はAsm-Xaa-Thr（ここでXはプロリン以外のいずれかのアミノ酸）というグリコシル化モチーフの1つのコピーを有する又はより構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ペプチドリンカー分子が少なくとも5アミノ酸残基を有する。

本発明の好ましい実施例としては、前記ペプチドリンカーが5-50アミノ酸残基を有する。

本発明のより好ましい実施例としては、前記ペプチドリンカーが5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45又は50アミノ酸残基より構成される。

本発明の好ましい実施例としては、前記ペプチドリンカー分子が、Asn-Xaa-Ser又はAsm-Xaa-Thrというグリコシル化モチーフを含むことを特徴とするモチーフ(Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5)の少なくとも1つのコピーを有する。

【0051】

本発明の好ましい実施例としては、前記ペプチドリンカーが、Asn1-Xaa2-Ser3Xaa4Xaa5，ここでXaa2はプロリン以外の

10

20

30

40

50

いずれかのアミノ酸；

X a a 1 A s n 2 - X a a 3 - S e r 4 X a a 5 , ここで X a a 3 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

X a a 1 X a a 2 A s n 3 - X a a 4 - S e r 5 , ここで X a a 4 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

A s n 1 - X a a 2 - T h r 3 X a a 4 X a a 5 , ここで X a a 2 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

X a a 1 A s n 2 - X a a 3 - T h r 4 X a a 5 , ここで X a a 3 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；そして

X a a 1 X a a 2 A s n 3 - X a a 4 - T h r 5 , ここで X a a 4 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

より構成されるグループから選択されたアミノ酸モチーフの少なくとも 1 つのコピーを有するものである。

【0052】

好ましくは、前記ペプチドリンカーが、

A s n 1 - X a a 2 - S e r 3 G l y 4 S e r 5 , ここで X a a 2 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

G l y 1 A s n 2 - X a a 3 - S e r 4 S e r 5 , ここで X a a 3 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

G l y 1 G l y 2 A s n 3 - X a a 4 - S e r 5 , ここで X a a 4 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

A s n 1 - X a a 2 - T h r 3 G l y 4 S e r 5 , ここで X a a 2 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

G l y 1 A s n 2 - X a a 3 - T h r 4 S e r 5 , ここで X a a 3 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；そして

G l y 1 G l y 2 A s n 3 - X a a 4 - T h r 5 , ここで X a a 4 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

より構成されるグループから選択されたモチーフの少なくとも 1 つのコピーを有するものである。

【0053】

本発明の別の好ましい実施例としては、前記ペプチドリンカーが、

A s n 1 - X a a 2 - S e r 3 S e r 4 G l y 5 , ここで X a a 2 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

G l y 1 A s n 2 - X a a 3 - S e r 4 G l y 5 , ここで X a a 3 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

S e r 1 S e r 2 A s n 3 - X a a 4 - S e r 5 , ここで X a a 4 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

A s n 1 - X a a 2 - T h r 3 S e r 4 G l y 5 , ここで X a a 2 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

S e r 1 A s n 2 - X a a 3 - T h r 4 G l y 5 , ここで X a a 3 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；そして

S e r 1 S e r 2 A s n 3 - X a a 4 - T h r 5 , ここで X a a 4 はプロリン以外の
いずれかのアミノ酸；

より構成されるグループから選択されたモチーフの少なくとも 1 つのコピーを有するものである。

【0054】

本発明の好ましい実施例としては、前記ペプチドリンカーモル子が、A s n - X a a - S e r 又は A s n - X a a - T h r というグリコシル化モチーフを含むことを特徴とするモチーフ (X a a 1 X a a 2 X a a 3 X a a 4 X a a 5) の少なくとも 1 つのコピー及びモチーフ (G l y G l y G l y G l y S e r) の少なくとも 1 つのコピー

10

30

40

50

を有し、該ペプチドリンカーが5-50アミノ酸であることを特徴とするものである。

本発明の好ましい実施例としては、前記ペプチドリンカー分子が、Asn-Xaa-Ser又はAsn-Xaa-Thrというグリコシリ化モチーフを含むことを特徴とするモチーフ(Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5)の少なくとも1つのコピー及びモチーフ(Ser Ser Ser Ser Gly)の1つのコピーを有し、該ペプチドリンカーが5-50アミノ酸であることを特徴とするものである。

【0055】

本発明の好ましい実施例としては、前記融合ポリペプチドリンカーが、マンノース、ガラクトース、n-アセチルグルコサミン、n-アセチルノイラミン酸、n-グリコリルノイラミン酸、n-アセチルガラクトサミン、フコース、グルコース、ラムノース、キシロース又は、例としては、オリゴサッカライドにおけるこれらの糖の組み合わせより構成されるグループから選択された少なくとも1つの糖の付加によって修飾されたものである。

【0056】

適当な糖質成分には単糖、オリゴ糖及び多糖が含まれ、天然で生じる糖蛋白又は生体系中に存在するいかなる糖質成分をも含む。例としては、選択的に保護されうるグリコシリ又はグリコシド誘導体であり、例としては、選択的に保護されうるグルコシリ、グルコシド、ガラクトシリ又はガラクトシド誘導体がある。グリコシリ及びグリコシドグループは

及び グループを含む。適当な糖質成分には、グルコース、ガラクトース、フコース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、シアル酸及びマンノース、及び少なくとも1つのグルコース、ガラクトース、フコース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、シアル酸及びノ又はマンノースを有するオリゴ糖又は多糖が含まれる。

【0057】

糖成分のいかなる官能基も、当業者にとって周知の保護基を用いることにより、選択的に保護することが出来る(例えば、Greene et al, "Protecting groups in organic synthesis" 第2版、Wiley, New York, 1991, 参照。これらの明細は参考文献に記載されている。)。糖成分の-OH基のための適当な保護基には、アセテート(Ac)、ベンジル(Bn)、シリル(例えば、tert-ブチルジメチルシリル(TBDMSi)及びtert-ブチルジフェニルシリル(TMDPSi)、アセタール、ケタール及びメトキシメチル(MOM)が含まれる。どの保護基もペプチドリンカーへの糖成分の付加前又は後に除去してもよい。

【0058】

本発明の好ましい実施例としては、前記糖が無保護である。

特に好ましい糖成分には、Glc(Ac)4-, Glc(Bn)4-, Gal(Ac)4-, Gal(Bn)4-, Glc(Ac)4(1,4)Glc(Ac)3(1,4)Glc(Ac)4-, -Glc, Gal, -Et- -Gal, -Et- -Glc, Et- -Glc, -Et- -Man, -Et- -Lac, - -Glc(Ac)2, - -Glc(Ac)3, -Et- -Glc(Ac)2, -Et- -Glc(Ac)3, -Et- -Glc(Ac)4, -Et- -Glc(Ac)2, -Et- -Glc(Ac)3, -Et- -Glc(Ac)4, -Et- -Man(Ac)3, -Et- -Man(Ac)4, -Et- -Gal(Ac)3, -Et- -Gal(Ac)4, -Et- -Lac(Ac)5, -Et- -Lac(Ac)6, -Et- -Lac(Ac)7及びこれらの無保護相当物が含まれる。

好ましくは、糖成分を構成している、天然に存在する糖由来のサッカライド単位はどれも、それぞれが天然に存在する光学異性体であり、D体(例えば、D-グルコース又はD-ガラクトース)又はL体(例えば、L-ラムノース又はL-フコース)のいずれかでありうる。アノマー性結合は - 又は - 結合でありうる。

【0059】

本発明の更なる態様においては、グリコシリ化されうるペプチドリンカーを含むポリペ

10

20

30

40

50

チドをコードする核酸分子を提供する。

本発明の更なる態様においては、本発明に係る核酸分子を含むベクターを提供する。

本発明の好ましい実施例としては、前記ベクターは、本発明に係る核酸分子を発現するべく改造した発現ベクターである。

【0060】

本発明に係る核酸を含むベクターは、特に、該ベクターが、安定なトランスフェクションのため、ゲノムへの組み換え用の細胞に核酸を導入するのに使用しているのであれば、プロモーターやその他の制御配列を含んでいる必要はない。好ましくは、宿主細胞での転写のために、ベクター中の核酸が適当なプロモーター又はその他の制御因子に実施可能な形で連結される。該ベクターは、複数の宿主で機能する二機能性の発現ベクターであってもよい。「プロモーター」とは、転写開始部位の上流に位置するヌクレオチド配列であり、転写に必要な全ての制御領域を含んでいる。適当なプロモーターには、常時発現型、組織特異型、誘導型、発生型又は真核又は原核細胞における発現用のその他のプロモーターが含まれる。「実施可能な形で連結」とは、プロモーターから開始される転写にとて適當な位置及び向きで、同一の核酸分子の一部として連結することである。プロモーターに実施可能な形で連結されたDNAはプロモーターの「転写開始制御下にある」。

10

【0061】

好ましい実施例においては、プロモーターが常時発現型、誘導型又は調節可能型プロモーターである。

本発明の更なる態様においては、本発明に係る核酸分子又はベクターにより形質移入又は形質転換された細胞を提供する。

20

好ましくは、前記細胞は真核細胞である。あるいは、前記細胞は原核細胞である。

本発明の好ましい実施例としては、前記細胞が、真菌細胞（例えば、*Pichia* spp., *Saccharomyces* spp., *Neurospora* spp.）、昆虫細胞（例えば、*Spodoptera* spp.）、ほ乳類細胞（例えば、COS細胞、CHO細胞）、植物細胞より構成されるグループから選択されるものである。

【0062】

本発明の更なる態様においては、賦形剤又は担体を含んだ、本発明に係るポリペチドを有する医薬品組成物を提供する。

本発明の好ましい実施例としては、前記医薬品組成物が更なる治療剤と併用されるものである。

30

投与する際には、本発明に係る医薬品組成物は、調剤上容認できる調製をして投与される。該調製は、通常、調剤上容認できる濃度の塩、緩衝剤、防腐剤、適合性のある担体及びオプションとしてその他の治療剤を含んでいてもよい。

本発明に係る医薬品組成物は、注射を含む、従来のいかなる経路を介しても投与することが出来る。投与及び塗布は、例えば、経口、静脈内、腹腔内、筋肉内、体腔内、関節内、皮下、外用（眼）、真皮（例えば、皮膚又は粘膜へのクリーム脂溶物挿入）、経皮または鼻腔内であってもよい。

【0063】

本発明に係る医薬品組成物は、有効量にて投与される。“有効量”とは、単独、又は更なる用量又は相乗的に効果を発揮する剤と共に投与することで、望まれる反応を生ずる医薬品／組成物の用量である。これは、疾患の時間的進行の遅延に関与するだけでもよいが、疾患の進行を継続的に抑制することに関与する方がより好ましい。これは、従来の方法により監視することが出来、又は、診断方法によってもモニターすることが出来る。

40

対象への本医薬品組成物の投与量は、様々な限定要素に応じて、特に、使用される投与方法及び対象の状態（例えば、年齢、性別）に応じて、選択することが出来る。投与する際には、本発明に係る医薬品組成物は調剤上容認できる用量及び調剤上容認できる組成で投与される。薬に使用される場合には、塩は調剤上容認されるものでなければならないが、調剤上容認されない塩を、調剤上容認される塩を調製するために、便宜上使用してもよく、本発明の適用範囲から除外していない。こうした薬理上及び調剤上容認できる塩には

50

、以下に示す酸から調製される塩が含まれるが、これに限定されるものではない：塩化水素、臭化水素、硫酸、硝酸、リン酸、マレイン酸、酢酸、サリチル酸、クエン酸、蟻酸、マロン酸、コハク酸及びこれらの類縁体。又、調剤上容認できる塩は、ナトリウム、カリウム又はカルシウム塩といったアルカリ金属又はアルカリ土類金属塩として調製されることも可能である。

【0064】

本医薬品組成物は、もし望まれるのであれば、調剤上容認できる担体とともに併用してもよい。ここで用いられる「調剤上容認できる担体」なる用語は、ヒトへの投与に適切な1つ又は複数の適合する固体又は液体の充填剤、希釈剤又は被包物質を意味する。「担体」なる用語は、天然又は合成の、有機又は無機成分であり、活性のある成分と組み合わせることで、投与を容易にするものを意味する。本医薬品組成物の成分はまた、本発明に係る分子及び成分間で、これらの相互作用により所望の薬剤効果を実質的に損なわぬような形で、混在することが出来る。

本医薬品組成物は、塩の形での酢酸、塩の形でのクエン酸、塩の形でのホウ酸及び塩の形でのリン酸を含む、適切な緩衝剤を含んでいてもよい。

本医薬品組成物はまた、オプションとして、塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、パラオキシ安息香酸エステル及びチメロサールといった適切な防腐剤を含んでいてもよい。

【0065】

本医薬品組成物は、従来通り、単位剤形にて提供してもよく、製薬の技術分野において周知な、何らかの方法により調整してもよい。全ての方法は、活性物質を1つ又は複数の副成分を構成要素とする担体と会合させる段階を含む。一般に、該組成物は、活性化合物を液状担体、微細に分割した固体担体、又はその両方と均一かつ密に会合させることによって調製され、その後必要であれば、成形される。

経口投与に適した組成物は、カプセル、錠剤、トローチ剤といった分離した単位として提供されてもよく、各は予定された用量の活性化合物を含んでいる。その他の組成物には、水溶性の液体又はシロップ、エリキシル剤又は乳濁液といった非水溶性の液体による懸濁液が含まれる。

【0066】

非経口投与に適した組成物は、通常、滅菌した水溶性又は非水溶性調製物を含み、受容者の血液と等張であることが好ましい。該調製物は、適切な分散剤又は湿潤剤及び懸濁化剤を用いた既知の方法に従って処方されてもよい。滅菌した注射可能な調製物は又、例えば1,3-ブタンジオールといった、無害で非経口の条件を満たす希釈剤又は溶媒よりも、滅菌した注射可能な溶液又は懸濁液であってもよい。水、リンガー液及び等張食塩水は、使用される可能性のある容認しうる溶媒に含まれる。これに加えて、滅菌した不揮発性油は、通常、溶媒又は懸濁用培地として用いられる。この目的のためには、合成モノ-又はジ-グリセリドを含む、いかなる混合不揮発性油も用いることが出来る。更に、オレイン酸といった脂肪酸も注射可能な調製物に使用することが出来る。経口、皮下、静脈内、筋肉内等の投与に適した担体処方はRemington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PAに見いだすことが出来る。

【0067】

本明細書の記載及び請求を通じて、「comprise」と「contain」及びこれらの単語のバリエーション、例えば「comprising」と「comprises」、は「含まれるがこれに限定しない」ことを意味し、その他の成分、添加物、構成要素、整数又は段階を除外することは意図しておらず、又、実際のところ除外しない。

本明細書の記載及び請求を通じて、文脈が異なる内容を要求しない限り、単数形は複数形を包含する。特に、不定冠詞が使用される場合、文脈が異なる内容を要求しない限り、明細書は単数形と同様に複数形を考慮するものと理解される。

本発明の特別な態様、実施例又は例示と関連して記載された特色、整数、特徴、化合物

、化学成分又はグループは、もし、両立しえないのでないのであれば、ここで記載された他のいかなる様様、実施例又は例示にも適用しうるものと理解される。

【0068】

本発明の実施例は例示及び以下に示す図を参照して説明される：

【図面の簡単な説明】

【0069】

【図1】図1はヒトインシュリン様成長因子1のアミノ酸配列である。

【図2】図2はヒトIGF-1受容体ポリペプチド細胞外ドメインのアミノ酸配列である。

【図3】図3はヒトIGF-2のアミノ酸配列である。

10

【図4】図4aはIGF-2受容体細胞外ドメインのアミノ酸配列であり、図4bはIGF-2に対する結合ドメインである。

【図5】図5はヒト成長ホルモンのアミノ酸配列である。

【図6】図6はヒト成長ホルモン受容体細胞外ドメインのアミノ酸配列である。

【図7】図7はヒトレプチンのアミノ酸配列である。

【図8】図8はヒトレプチン受容体細胞外ドメインのアミノ酸配列である。

【図9】図9はヒトエリスロポエチンのアミノ酸配列である。

【図10】図10はヒトエリスロポエチン受容体細胞外ドメインのアミノ酸配列である。

【図11】図11はヒトプロラクチンのアミノ酸配列である。

【図12】図12はヒトプロラクチン受容体細胞外ドメインのアミノ酸配列である。

20

【図13】図13はヒトG-CSFのアミノ酸配列である。

【図14】図14はヒトG-CSF受容体細胞外ドメインのアミノ酸配列である。

【図15】図15はヒトソマトスタチン受容体1のアミノ酸配列である。

【図16】図16はヒトFSHサブユニットのアミノ酸配列である。

【図17】図17はヒトFSHサブユニットのアミノ酸配列である。

【図18】図18はヒトFSH受容体のアミノ酸配列である。

【図19】図19はヒトLHサブユニットのアミノ酸配列である。

【図20】図20はヒトLH受容体のアミノ酸配列である。

【図21】図21はヒトTSHのアミノ酸配列である。

【図22】図22はヒトTSH受容体のアミノ酸配列である。

30

【図23】図23は成長ホルモンタンデムGHT-G1を図示する：ほ乳類細胞にて発現したGH-GHタンデム。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。GH分泌シグナルは太字かつ小文字で表記。

【図24】図24は成長ホルモンタンデムGHT-G2を図示する：ほ乳類細胞にて発現したGH-GHタンデム。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。TはSと置き換わっている。GH分泌シグナルは太字かつ小文字で表記。

【図25】図25は成長ホルモンタンデムGHT-G3を図示する：ほ乳類細胞にて発現したGH-GHタンデム。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。Nの前でWはGと置き換わっている。GH分泌シグナルは太字かつ小文字で表記。

【図26】図26は成長ホルモンタンデムGHT-G4を図示する：ほ乳類細胞にて発現したGH-GHタンデム。グリコシリ化シグナル(NAT)はG4Sユニット間に位置する。GH分泌シグナルは太字かつ小文字で表記。

40

【図27】図27はインターフェロンキメラ7B1-G1を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。

【図28】図28はインターフェロンキメラ7B1-G2を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。TはSと置き換わっている。

【図29】図29はインターフェロンキメラ7B1-G3を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。Nの前でWはGと置き換わっている。

【図30】図30はインターフェロンキメラ7B1-G4を図示する。これはNATグリコシリ化モチーフを取り込んでいる。

50

【図31】図31はインターフェロン キメラ7D1-G0を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。

【図32】図32はソマトスタチン-14タンデム[SMS14-G1]を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。

【図33】図33はソマトスタチン-14タンデム[SMS14-G2]を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。TはSと置き換わっている。

【図34】図34はソマトスタチン-14タンデム[SMS14-G3]を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。Nの前でWはGと置き換わっている。

【図35】図35はソマトスタチン-14タンデム[SMS14-G4]を図示する。グリコシル化シグナル(NAT)はG4Sユニット間に位置する。

【図36】図36はソマトスタチン-14タンデム[SMS14-G6]を図示する。2つのG4SリピートにてNはGと置き換わっている。

【図37】図37はソマトスタチン-28タンデム[SMS28-G1]を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。

【図38】図38はソマトスタチン-28タンデム[SMS28-G2]を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。TはSと置き換わっている。

【図39】図39はソマトスタチン-28タンデム[SMS28-G3]を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。Nの前でWはGと置き換わっている。

【図40】図40はソマトスタチン-28タンデム[SMS28-G4]を図示する。グリコシル化シグナル(NAT)はG4Sユニット間に位置する。

【図41】図41はソマトスタチン-28タンデム[SMS28-G6]を図示する。2つのG4SリピートにてNはGと置き換わっている。

【図42】図42はソマトスタチン-28:ソマトスタチン-14タンデム[SMS2814-G1]を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。

【図43】図43はソマトスタチン-14:ソマトスタチン-28タンデム[SMS1428-G1]を図示する。中央部のG4SにてNはGと置き換わっている。

【図44】図44は非還元条件下におけるCHO F1p-In発現GHタンデム分子のウエスタンプロットを示す。レーン1;GHT-0(野生型)、レーン2;GHT-1、レーン3;GHT-2、レーン4;GHT-3、レーン5;GHT-4。

【図45】図45 野生型GHタンデム(GHT-0)又はリンカーによる変異GHタンデム分子(GHT-1-4)を発現した形質導入CHO F1p-In細胞から採取した培地サンプルの生物活性。バイオアッセイは、完全長GHRを発現したHeK293細胞を用い、ルシフェラーゼ発現とリンクさせたSTAT-5レポーター遺伝子アッセイに基づいた。全ての分子研究において該アッセイ中のGH活性が示された。

【図46a】図46aは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G1-V0未処理のアミノ酸配列である。

【図46b】図46bは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G1-V0処理済みのアミノ酸配列である。

【図46c】図46cは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G1-V1未処理のアミノ酸配列である。

【図46d】図46dは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G1-V1処理済みのアミノ酸配列である。

【図46e】図46eは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G1-V2未処理のアミノ酸配列である。

【図46f】図46fは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G1-V2処理済みのアミノ酸配列である。

【図47a】図47aは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G2-V0未処理のアミノ酸配列である。

【図47b】図47bは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G2-V0処理済みのアミノ酸配列である。

10

20

30

40

50

【図47c】図47cは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G2-V1未処理のアミノ酸配列である。

【図47d】図47dは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G2-V1処理済みのアミノ酸配列である。

【図47e】図47eは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G2-V2未処理のアミノ酸配列である。

【図47f】図47fは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G2-V2処理済みのアミノ酸配列である。

【図48a】図48aは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G3-V0未処理のアミノ酸配列である。

【図48b】図48bは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G3-V0処理済みのアミノ酸配列である。

【図48c】図48cは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G3-V1未処理のアミノ酸配列である。

【図48d】図48dは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G3-V1処理済みのアミノ酸配列である。

【図48e】図48eは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G3-V2未処理のアミノ酸配列である。

【図48f】図48fは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G3-V2処理済みのアミノ酸配列である。

【図49a】図49aは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G4-V0未処理のアミノ酸配列である。

【図49b】図49bは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G4-V0処理済みのアミノ酸配列である。

【図49c】図49cは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G4-V1未処理のアミノ酸配列である。

【図49d】図49dは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G4-V1処理済みのアミノ酸配列である。

【図49e】図49eは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G4-V2未処理のアミノ酸配列である。

【図49f】図49fは成長ホルモン融合ポリペプチド1B7-G4-V2処理済みのアミノ酸配列である。

【図50】図50aは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G1-V0のアミノ酸配列である；図50bは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G1-V1のアミノ酸配列である；図50cは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G1-V2のアミノ酸配列である；図50dは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G1-V3のアミノ酸配列である；図50eは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G1-V0のアミノ酸配列である；図50fは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G1-V1のアミノ酸配列である；図50gは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G1-V2のアミノ酸配列である；図50hは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G1-V3のアミノ酸配列である。

【図51】図51aは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G2-V0のアミノ酸配列である；図51bは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G2-V1のアミノ酸配列である；図51cは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G2-V2のアミノ酸配列である；図51dは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G2-V3のアミノ酸配列である；図51eは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G2-V0のアミノ酸配列である；図51fは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G2-V1のアミノ酸配列である；図51gは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G2-V2のアミノ酸配列である；図51hは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G2-V3のアミノ酸配列である。

10

20

30

40

50

【図52】図52aは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G3-V0のアミノ酸配列である；図52bは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G3-V1のアミノ酸配列である；図52cは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G3-V2のアミノ酸配列である；図52dは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G3-V3のアミノ酸配列である；図52eは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G3-V0のアミノ酸配列である；図52fは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G3-V1のアミノ酸配列である；図52gは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G3-V2のアミノ酸配列である；図52hは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G3-V3のアミノ酸配列である。

【図53】図53aは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G4-V0のアミノ酸配列である；図53bは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G4-V1のアミノ酸配列である；図53cは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G4-V2のアミノ酸配列である；図53dは成長ホルモン融合ポリペプチド1B8-G4-V3のアミノ酸配列である；図53eは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G4-V0のアミノ酸配列である；図53fは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G4-V1のアミノ酸配列である；図53gは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G4-V2のアミノ酸配列である；図53hは成長ホルモン融合ポリペプチド1B9-G4-V3のアミノ酸配列である。

【図54】図54a EPO-G1.1は、ほ乳類細胞にて発現したEPO-L1-EPOrEC(EPOrECに(G4S)4に基づく糖修飾リンカーを介して連結したEPO)のアミノ酸配列である(長さ=シグナル配列を除いて406アミノ酸)。シグナル配列は太字で表記；図54b EPO-G1.2は、ほ乳類細胞にて発現したEPO-L2-EPOrEC(EPOrECに(G4S)3に基づく糖修飾リンカーを介して連結したEPO)のアミノ酸配列である。配列はほ乳類細胞株にて発現した、シグナル配列を伴う全配列を表す(長さ=シグナル配列を除いて401アミノ酸)。シグナル配列は太字で表記。

【図55】図55a EPO-G2.1は、ほ乳類細胞にて発現したEPO-L1-EPOrEC(EPOrECに(G4S)4に基づく糖修飾リンカーを介して連結したEPO)のアミノ酸配列である(長さ=シグナル配列を除いて406アミノ酸)。シグナル配列は太字で表記；図55b EPO-G2.2は、ほ乳類細胞にて発現したEPO-L2-EPOrEC(EPOrECに(G4S)3に基づく糖修飾リンカーを介して連結したEPO)のアミノ酸配列である。配列はほ乳類細胞株にて発現した、シグナル配列を伴う全配列を表す(長さ=シグナル配列を除いて401アミノ酸)。シグナル配列は太字で表記。

【図56】図56a EPO-G3.1は、ほ乳類細胞にて発現したEPO-L1-EPOrEC(EPOrECに(G4S)4に基づく糖修飾リンカーを介して連結したEPO)のアミノ酸配列である(長さ=シグナル配列を除いて406アミノ酸)。シグナル配列は太字で表記；図56b EPO-G3.2は、ほ乳類細胞にて発現したEPO-L2-EPOrEC(EPOrECに(G4S)3に基づく糖修飾リンカーを介して連結したEPO)のアミノ酸配列である。配列はほ乳類細胞株にて発現した、シグナル配列を伴う全配列を表す(長さ=シグナル配列を除いて401アミノ酸)。シグナル配列は太字で表記。

【図57】図57a EPO-G4.1は、ほ乳類細胞にて発現したEPO-L1-EPOrEC(EPOrECに(G4S)4に基づく糖修飾リンカーを介して連結したEPO)のアミノ酸配列である(長さ=シグナル配列を除いて406アミノ酸)。シグナル配列は太字で表記；図57b EPO-G4.2は、ほ乳類細胞にて発現したEPO-L2-EPOrEC(EPOrECに(G4S)3に基づく糖修飾リンカーを介して連結したEPO)のアミノ酸配列である。配列はほ乳類細胞株にて発現した、シグナル配列を伴う全配列を表す(長さ=シグナル配列を除いて401アミノ酸)。シグナル配列は太字で表記。

10

20

30

40

50

【図58】図58a GCSF-G1.1。GCSF細胞外受容体ドメイン1-3(Ig, BN及びBC)にG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(1-3)をコードするアミノ酸配列。アミノ酸配列長=511アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図58b GCSF-G1.2。ほ乳類細胞株で発現した、GCSF細胞外受容体ドメイン1-3(Ig, BN及びBC)にG4S₈に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L8-GCSFrEC(1-3)をコードするアミノ酸配列。シグナル配列は太字かつ小文字で表記; アミノ酸配列長=521アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図58c GCSF-G1.3。GCSF細胞外受容体ドメイン1-2(Ig及びBN)にG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(1-2)をコードするアミノ酸配列。アミノ酸配列長=404アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図58d GCSF-G1.4。GCSF細胞外受容体ドメイン2-3(BN及びBC)にG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(2-3)をコードするアミノ酸配列。*は停止コドンを示す。シグナル配列は太字かつ小文字で表記; 図58e GCSF-G1.8bアミノ酸配列長=416アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図58e GCSF-G1.5。GCSFにG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFrEC(ドメイン1-3)を含むGCSFrEC(1-3)-L6-GCSFをコードするアミノ酸。アミノ酸配列長=511アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図58f GCSF-G1.6。ほ乳類細胞株で発現した、GCSFにG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFrEC(ドメイン2-3)を含むGCSFrEC(2-3)-L6-GCSFをコードするアミノ酸。シグナル配列は太字かつ小文字で表記; アミノ酸配列長=416アミノ酸(シグナル配列を含まず)。

【図59】図59a GCSF-G2.1。GCSF細胞外受容体ドメイン1-3(Ig, BN及びBC)にG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(1-3)をコードするアミノ酸配列。アミノ酸配列長=511アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図59b GCSF-G2.2。ほ乳類細胞株で発現した、GCSF細胞外受容体ドメイン1-3(Ig, BN及びBC)にG4S₈に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L8-GCSFrEC(1-3)をコードするアミノ酸配列。シグナル配列は太字かつ小文字で表記; アミノ酸配列長=521アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図59c GCSF-G2.3。GCSF細胞外受容体ドメイン1-2(Ig及びBN)にG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(1-2)をコードするアミノ酸配列。アミノ酸配列長=404アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図59d GCSF-G2.4。GCSF細胞外受容体ドメイン2-3(BN及びBC)にG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(2-3)をコードするアミノ酸配列。*は停止コドンを示す。シグナル配列は太字かつ小文字で表記; 図59e GCSF-G2.8bアミノ酸配列長=416アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図59e GCSF-G2.5。GCSFにG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFrEC(ドメイン1-3)を含むGCSFrEC(1-3)-L6-GCSFをコードするアミノ酸。アミノ酸配列長=511アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図59f GCSF-G2.6。ほ乳類細胞株で発現した、GCSFにG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFrEC(ドメイン2-3)を含むGCSFrEC(2-3)-L6-GCSFをコードするアミノ酸。シグナル配列は太字かつ小文字で表記; アミノ酸配列長=416アミノ酸(シグナル配列を含まず)。

【図60】図60a GCSF-G3.1。GCSF細胞外受容体ドメイン1-3(Ig, BN及びBC)にG4S₆に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(1-3)をコードするアミノ酸配列。アミノ酸配列長=511アミノ酸(シグナル配列を含まず); 図60b GCSF-G3.2。ほ乳

類細胞株で発現した、GCSF細胞外受容体ドメイン1-3 (Ig, BN及びBC) にG4S_x8に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L8-GCSFrEC(1-3)をコードするアミノ酸配列。シグナル配列は太字かつ小文字で表記；アミノ酸配列長=521アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図60c GCSF-G3.3。GCSF細胞外受容体ドメイン1-2 (Ig及びBN) にG4S_x6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(1-2)をコードするアミノ酸配列。アミノ酸配列長=404アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図60d GCSF-G3.4。GCSF細胞外受容体ドメイン2-3 (BN及びBC) にG4S_x6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(2-3)をコードするアミノ酸配列。*は停止コドンを示す。シグナル配列は太字かつ小文字で表記；図GCSF-G3.8bアミノ酸配列長=416アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図60e GCSF-G3.5。GCSFにG4S_x6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFrEC(ドメイン1-3)を含むGCSFrEC(1-3)-L6-GCSFをコードするアミノ酸。アミノ酸配列長=511アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図60f GCSF-G3.6。ほ乳類細胞株で発現した、GCSFにG4S_x6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFrEC(ドメイン2-3)を含むGCSFrEC(2-3)-L6-GCSFをコードするアミノ酸。シグナル配列は太字かつ小文字で表記；アミノ酸配列長=416アミノ酸(シグナル配列を含まず)。

【図61】図61a GCSF-G4.1。GCSF細胞外受容体ドメイン1-3 (Ig, BN及びBC) にG4S_x6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(1-3)をコードするアミノ酸配列。アミノ酸配列長=511アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図61b GCSF-G4.2。ほ乳類細胞株で発現した、GCSF細胞外受容体ドメイン1-3 (Ig, BN及びBC) にG4S_x8に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L8-GCSFrEC(1-3)をコードするアミノ酸配列。シグナル配列は太字かつ小文字で表記；アミノ酸配列長=521アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図61c GCSF-G4.3。GCSF細胞外受容体ドメイン1-2 (Ig及びBN) にG4S_x6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(1-2)をコードするアミノ酸配列。アミノ酸配列長=404アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図61d GCSF-G4.4。GCSF細胞外受容体ドメイン2-3 (BN及びBC) にG4S_x6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFを含むGCSF-L6-GCSFrEC(2-3)をコードするアミノ酸配列。*は停止コドンを示す。シグナル配列は太字かつ小文字で表記；図GCSF-G4.8bアミノ酸配列長=416アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図61e GCSF-G4.5。GCSFにG4S_x6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFrEC(ドメイン1-3)を含むGCSFrEC(1-3)-L6-GCSFをコードするアミノ酸。アミノ酸配列長=511アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図61f GCSF-G4.6。ほ乳類細胞株で発現した、GCSFにG4S_x6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したGCSFrEC(ドメイン2-3)を含むGCSFrEC(2-3)-L6-GCSFをコードするアミノ酸。シグナル配列は太字かつ小文字で表記；アミノ酸配列長=416アミノ酸(シグナル配列を含まず)。

【図62】図62a IFN-G1.1はLR7A1のアミノ酸配列である；図62b IFN-G1.2はLR7B1のアミノ酸配列である；図62c IFN-G1.3はLR7C1のアミノ酸配列である；図62d IFN-G1.4はLR7D1のアミノ酸配列である；図62e IFN-G1.5はLRa7B1のアミノ酸配列である。

【図63】図63a IFN-G2.1はLR7A1のアミノ酸配列である；図63b IFN-G2.2はLR7B1のアミノ酸配列である；図63c IFN-G2.3はLR7C1のアミノ酸配列である；図63d IFN-G2.4はLR7D1のアミノ酸配列である。

10

20

30

40

50

1のアミノ酸配列である； 図63e IFN-G2.5はLR a7B1のアミノ酸配列である。

【図64】図64a IFN-G3.1はLR 7A1のアミノ酸配列である； 図64b IFN-G3.2はLR 7B1のアミノ酸配列である； 図64c IFN-G3.3はLR 7C1のアミノ酸配列である； 図64d IFN-G3.4はLR 7D1のアミノ酸配列である； 図64e IFN-G3.5はLR a7B1のアミノ酸配列である。

【図65】図65a IFN-G4.1はLR 7A1のアミノ酸配列である； 図65b IFN-G4.2はLR 7B1のアミノ酸配列である； 図65c IFN-G4.3はLR 7C1のアミノ酸配列である； 図65d IFN-G4.4はLR 7D1のアミノ酸配列である； 図65e IFN-G4.5はLR a7B1のアミノ酸配列である。

【図66】図66a IGF1-G1.1はLR5A1のアミノ酸配列である； 図66b IGF1-G1.2はLR5B1のアミノ酸配列である； 図66c IGF1-G1.3はLR5C1のアミノ酸配列である； 図66d IGF1-G1.4はLR5D1のアミノ酸配列である； 図66e IGF1-G1.5はLR5E1のアミノ酸配列である； 図66f IGF1-G1.6はLR5F1のアミノ酸配列である。

【図67】図67a IGF1-G2.1はLR5A1のアミノ酸配列である； 図67b IGF1-G2.2はLR5B1のアミノ酸配列である； 図67c IGF1-G2.3はLR5C1のアミノ酸配列である； 図67d IGF1-G2.4はLR5D1のアミノ酸配列である； 図67e IGF1-G2.5はLR5E1のアミノ酸配列である； 図67f IGF1-G2.6はLR5F1のアミノ酸配列である。

【図68】図68a IGF1-G3.1はLR5A1のアミノ酸配列である； 図68b IGF1-G3.2はLR5B1のアミノ酸配列である； 図68c IGF1-G3.3はLR5C1のアミノ酸配列である； 図68d IGF1-G3.4はLR5D1のアミノ酸配列である； 図68e IGF1-G3.5はLR5E1のアミノ酸配列である； 図68f IGF1-G3.6はLR5F1のアミノ酸配列である。

【図69】図69a IGF1-G4.1はLR5A1のアミノ酸配列である； 図69b IGF1-G4.2はLR5B1のアミノ酸配列である； 図69c IGF1-G4.3はLR5C1のアミノ酸配列である； 図69d IGF1-G4.4はLR5D1のアミノ酸配列である； 図69e IGF1-G4.5はLR5E1のアミノ酸配列である； 図69f IGF1-G4.6はLR5F1のアミノ酸配列である。

【図70】図70a IL2-G1.1はLR6A1のアミノ酸配列である； 図70b IL2-G1.2はLR6B1のアミノ酸配列である； 図70c IL2-G1.3はLR6C1のアミノ酸配列である； 図70d IL2-G1.4はLR6D1のアミノ酸配列である； 図70e IL2-G1.5はLR6E1のアミノ酸配列である； 図70f IL2-G1.6はLR6E2のアミノ酸配列である； 図70g IL2-G1.7はLR6F1のアミノ酸配列である； 図70h IL2-G1.8はLR融合IL7ss-IL7-(G₄S)₄-IL7Rのアミノ酸配列である； 図70i IL2-G1.9はLR融合IL7ss-IL7-(G₄S)₅-IL2Rのアミノ酸配列である； 図70j IL2-G1.10はLR融合IL7Rass-IL7R-(G₄S)₄-IL7のアミノ酸配列である； 図70k IL2-G1.11はLR融合IL2gss-IL2-(G₄S)₅-IL7のアミノ酸配列である； 図70l IL2-G1.12はLR融合IL7-(G₄S)₄-IL7Rのアミノ酸配列である； 図70m IL2-G1.13はLR融合IL7-(G₄S)₅-IL2Rのアミノ酸配列である； 図70n IL2-G1.14はLR融合IL7R-(G₄S)₄-IL7のアミノ酸配列である； 図70o IL2-G1.15はLR融合IL2-(G₄S)₅-IL7のアミノ酸配列である； 図70p IL2-G1.16はLRa7B1のアミノ酸配列である。

【図71】図71a IL2-G2.1はLR6A1のアミノ酸配列である； 図71b

10

20

30

40

50

IL2-G2.2はLR6B1のアミノ酸配列である；図71c IL2-G2.3はLR6C1のアミノ酸配列である；図71d IL2-G2.4はLR6D1のアミノ酸配列である；図71e IL2-G2.5はLR6E1のアミノ酸配列である；図71f IL2-G2.6はLR6E2のアミノ酸配列である；図71g IL2-G2.7はLR6F1のアミノ酸配列である；図71h IL2-G2.8はLR融合IL7ss-IL7-(G₄S)₄-IL7Rのアミノ酸配列である；図71i IL2-G2.9はLR融合IL7ss-IL7-(G₄S)₅-IL2Rのアミノ酸配列である；図71j IL2-G2.10はLR融合IL7Rass-IL7R-(G₄S)₄-IL7のアミノ酸配列である；図71k IL2-G2.11はLR融合IL2gss-IL2-(G₄S)₅-IL7のアミノ酸配列である；図71l IL2-G2.12はLR融合IL7-(G₄S)₄-IL7Rのアミノ酸配列である；図71m IL2-G2.13はLR融合IL7-(G₄S)₅-IL2Rのアミノ酸配列である；図71n IL2-G2.14はLR融合IL7R-(G₄S)₄-IL7のアミノ酸配列である；図71o IL2-G2.15はLR融合IL2-(G₄S)₅-IL7のアミノ酸配列である；図71p IL2-G2.16はLRa7B1のアミノ酸配列である；

【図72】図72a IL2-G3.1はLR6A1のアミノ酸配列である；図72b IL2-G3.2はLR6B1のアミノ酸配列である；図72c IL2-G3.3はLR6C1のアミノ酸配列である；図72d IL2-G3.4はLR6D1のアミノ酸配列である；図72e IL2-G3.5はLR6E1のアミノ酸配列である；図72f IL2-G3.6はLR6E2のアミノ酸配列である；図72g IL2-G3.7はLR6F1のアミノ酸配列である；図72h IL2-G3.8はLR融合IL7ss-IL7-(G₄S)₄-IL7Rのアミノ酸配列である；図72i IL2-G3.9はLR融合IL7ss-IL7-(G₄S)₅-IL2Rのアミノ酸配列である；図72j IL2-G3.10はLR融合IL7Rass-IL7R-(G₄S)₄-IL7のアミノ酸配列である；図72k IL2-G3.11はLR融合IL2gss-IL2-(G₄S)₅-IL7のアミノ酸配列である；図72l IL2-G3.12はLR融合IL7-(G₄S)₄-IL7Rのアミノ酸配列である；図72m IL2-G3.13はLR融合IL7-(G₄S)₅-IL2Rのアミノ酸配列である；図72n IL2-G3.14はLR融合IL7R-(G₄S)₄-IL7のアミノ酸配列である；図72o IL2-G3.15はLR融合IL2-(G₄S)₅-IL7のアミノ酸配列である；図72p IL2-G3.16はLRa7B1のアミノ酸配列である；

【図73】図73a IL2-G4.1はLR6A1のアミノ酸配列である；図73b IL2-G4.2はLR6B1のアミノ酸配列である；図73c IL2-G4.3はLR6C1のアミノ酸配列である；図73d IL2-G4.4はLR6D1のアミノ酸配列である；図73e IL2-G4.5はLR6E1のアミノ酸配列である；図73f IL2-G4.6はLR6E2のアミノ酸配列である；図73g IL2-G4.7はLR6F1のアミノ酸配列である；図73h IL2-G4.8はLR融合IL7ss-IL7-(G₄S)₄-IL7Rのアミノ酸配列である；図73i IL2-G4.9はLR融合IL7ss-IL7-(G₄S)₅-IL2Rのアミノ酸配列である；図73j IL2-G4.10はLR融合IL7Rass-IL7R-(G₄S)₄-IL7のアミノ酸配列である；図73k IL2-G4.11はLR融合IL2gss-IL2-(G₄S)₅-IL7のアミノ酸配列である；図73l IL2-G4.12はLR融合IL7-(G₄S)₄-IL7Rのアミノ酸配列である；図73m IL2-G4.13はLR融合IL7-(G₄S)₅-IL2Rのアミノ酸配列である；図73n IL2-G4.14はLR融合IL7R-(G₄S)₄-IL7のアミノ酸配列である；図73o IL2-G4.15はLR融合IL2-(G₄S)₅-IL7のアミノ酸配列である；図73p IL2-G4.16はLRa7B1のアミノ酸配列である；

10

20

30

40

50

【図74】図74a レプチン(LEPTIN)-G1.1はLR2A1のアミノ酸配列である；図74b レプチン-G1.2はバクテリア発現の為に改変したLR2A1のアミノ酸配列である；図74c レプチン-G1.3はLR2B1のアミノ酸配列である；図74d レプチン-G1.4はLR2D1のアミノ酸配列である；図74e レプチン-G1.5はLR2E1のアミノ酸配列である；図74f レプチン-G1.6はLR2F1のアミノ酸配列である；図74g レプチン-G1.7はLR2G1のアミノ酸配列である；図74h レプチン-G1.8はLR2H1のアミノ酸配列である；図74i レプチン-G1.9はLR2I1のアミノ酸配列である；図74j レプチン-G1.10はLR2J1のアミノ酸配列である；図74k レプチン-G1.11はLR2K1のアミノ酸配列である；図74l レプチン-G1.12はLR2L1のアミノ酸配列である；図74m レプチン-G1.13はLR2M1のアミノ酸配列である；

【図75】図75a レプチン-G2.1はLR2A1のアミノ酸配列である；図75b レプチン-G2.2はバクテリア発現の為に改変したLR2A1のアミノ酸配列である；図75c レプチン-G2.3はLR2B1のアミノ酸配列である；図75d レプチン-G2.4はLR2D1のアミノ酸配列である；図75e レプチン-G2.5はLR2E1のアミノ酸配列である；図75f レプチン-G2.6はLR2F1のアミノ酸配列である；図75g レプチン-G2.7はLR2G1のアミノ酸配列である；図75h レプチン-G2.8はLR2H1のアミノ酸配列である；図75i レプチン-G2.9はLR2I1のアミノ酸配列である；図75j レプチン-G2.10はLR2J1のアミノ酸配列である；図75k レプチン-G2.11はLR2K1のアミノ酸配列である；図75l レプチン-G2.12はLR2L1のアミノ酸配列である；図75m レプチン-G2.13はLR2M1のアミノ酸配列である；

【図76】図76a レプチン-G3.1はLR2A1のアミノ酸配列である；図76b レプチン-G3.2はバクテリア発現の為に改変したLR2A1のアミノ酸配列である；図76c レプチン-G3.3はLR2B1のアミノ酸配列である；図76d レプチン-G3.4はLR2D1のアミノ酸配列である；図76e レプチン-G3.5はLR2E1のアミノ酸配列である；図76f レプチン-G3.6はLR2F1のアミノ酸配列である；図76g レプチン-G3.7はLR2G1のアミノ酸配列である；図76h レプチン-G3.8はLR2H1のアミノ酸配列である；図76i レプチン-G3.9はLR2I1のアミノ酸配列である；図76j レプチン-G3.10はLR2J1のアミノ酸配列である；図76k レプチン-G3.11はLR2K1のアミノ酸配列である；図76l レプチン-G3.12はLR2L1のアミノ酸配列である；図76m レプチン-G3.13はLR2M1のアミノ酸配列である；

【図77】図77a レプチン-G4.1はLR2A1のアミノ酸配列である；図77b レプチン-G4.2はバクテリア発現の為に改変したLR2A1のアミノ酸配列である；図77c レプチン-G4.3はLR2B1のアミノ酸配列である；図77d レプチン-G4.4はLR2D1のアミノ酸配列である；図77e レプチン-G4.5はLR2E1のアミノ酸配列である；図77f レプチン-G4.6はLR2F1のアミノ酸配列である；図77g レプチン-G4.7はLR2G1のアミノ酸配列である；図77h レプチン-G4.8はLR2H1のアミノ酸配列である；図77i レプチン-G4.9はLR2I1のアミノ酸配列である；図77j レプチン-G4.10はLR2J1のアミノ酸配列である；図77k レプチン-G4.11はLR2K1のアミノ酸配列である；図77l レプチン-G4.12はLR2L1のアミノ酸配列である；図77m レプチン-G4.13はLR2M1のアミノ酸配列である；

【図78】図78a PRL-G1.1は8B7v2のアミノ酸配列であり、これはPRL Re x tアミノ酸蛋白配列にG4Sx6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したPRLである；439アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図78b PRL-G1.2は8B8v2のアミノ酸配列であり、これはPRL Re x tにG4Sx6に基づく糖修飾リンカーを介して連結したPRL(G129R変異)である。シグナル配列は太字で表記。

10

20

30

40

50

G 1 2 9 R 変異は反転表示；(4 3 9 アミノ酸はシグナル配列を含まず)；図 7 8 c P R L - G 1 . 3 は 8 B 9 v 2 のアミノ酸配列であり、これは P R L R e x t に G 4 S x 6 に基づく糖修飾リンカーを介して連結した P R L (N 末端残基 1 - 9 欠損 / C 1 1 S / G 1 2 9 R 変異) より構成される。シグナル配列は太字で表記。C 1 1 S 及び G 1 2 9 R 変異は反転表示；4 3 0 アミノ酸(シグナル配列を含まず)。

【図 7 9】図 7 9 a P R L - G 2 . 1 は 8 B 7 v 2 のアミノ酸配列であり、これは P R L R e x t アミノ酸蛋白配列に G 4 S x 6 に基づく糖修飾リンカーを介して連結した P R L である；4 3 9 アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図 7 9 b P R L - G 2 . 2 は 8 B 8 v 2 のアミノ酸配列であり、これは P R L R e x t に G 4 S x 6 に基づく糖修飾リンカーを介して連結した P R L (G 1 2 9 R 変異) である。シグナル配列は太字で表記。G 1 2 9 R 変異は反転表示；(4 3 9 アミノ酸はシグナル配列を含まず)；図 7 9 c P R L - G 2 . 3 は 8 B 9 v 2 のアミノ酸配列であり、これは P R L R e x t に G 4 S x 6 に基づく糖修飾リンカーを介して連結した P R L (N 末端残基 1 - 9 欠損 / C 1 1 S / G 1 2 9 R 変異) より構成される。シグナル配列は太字で表記。C 1 1 S 及び G 1 2 9 R 変異は反転表示；4 3 0 アミノ酸(シグナル配列を含まず)。

【図 8 0】図 8 0 a P R L - G 3 . 1 は 8 B 7 v 2 のアミノ酸配列であり、これは P R L R e x t アミノ酸蛋白配列に G 4 S x 6 に基づく糖修飾リンカーを介して連結した P R L である；4 3 9 アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図 8 0 b P R L - G 3 . 2 は 8 B 8 v 2 のアミノ酸配列であり、これは P R L R e x t に G 4 S x 6 に基づく糖修飾リンカーを介して連結した P R L (G 1 2 9 R 変異) である。シグナル配列は太字で表記。G 1 2 9 R 変異は反転表示；(4 3 9 アミノ酸はシグナル配列を含まず)；図 8 0 c P R L - G 3 . 3 は 8 B 9 v 2 のアミノ酸配列であり、これは P R L R e x t に G 4 S x 6 に基づく糖修飾リンカーを介して連結した P R L (N 末端残基 1 - 9 欠損 / C 1 1 S / G 1 2 9 R 変異) より構成される。シグナル配列は太字で表記。C 1 1 S 及び G 1 2 9 R 変異は反転表示；4 3 0 アミノ酸(シグナル配列を含まず)。

【図 8 1】図 8 1 a P R L - G 4 . 1 は 8 B 7 v 2 のアミノ酸配列であり、これは P R L R e x t アミノ酸蛋白配列に G 4 S x 6 に基づく糖修飾リンカーを介して連結した P R L である；4 3 9 アミノ酸(シグナル配列を含まず)；図 8 1 b P R L - G 4 . 2 は 8 B 8 v 2 のアミノ酸配列であり、これは P R L R e x t に G 4 S x 6 に基づく糖修飾リンカーを介して連結した P R L (G 1 2 9 R 変異) である。シグナル配列は太字で表記。G 1 2 9 R 変異は反転表示；(4 3 9 アミノ酸はシグナル配列を含まず)；図 8 1 c P R L - G 4 . 3 は 8 B 9 v 2 のアミノ酸配列であり、これは P R L R e x t に G 4 S x 6 に基づく糖修飾リンカーを介して連結した P R L (N 末端残基 1 - 9 欠損 / C 1 1 S / G 1 2 9 R 変異) より構成される。シグナル配列は太字で表記。C 1 1 S 及び G 1 2 9 R 変異は反転表示；4 3 0 アミノ酸(シグナル配列を含まず)。

【図 8 2】表 1 は全長ソマトスタチン 1 受容体中のドメイン及び全長アミノ酸配列を示す。

【図 8 3】表 2 は全長 F S H 受容体中のドメイン及び全長アミノ酸配列を示す。

【図 8 4】表 3 は全長 L H 受容体中のドメイン及び全長アミノ酸配列を示す；

【図 8 5】表 4 は全長 T S H 受容体中のドメイン及び全長アミノ酸配列を示す；そして表 5 は例及び図に引用された成長ホルモンタンデム構造の命名を示す。

【実施例】

【0 0 7 0】

材料と方法

免疫学的試験

融合蛋白又は受容体のポリクローナル及びモノクローナル抗体との結合を評価するイムノアッセイは当該技術分野において既知である。市販されている抗体は、サンプル中の融合蛋白又は受容体を検出するのに利用することが出来、また、競合阻害試験にも利用出来る。

【0 0 7 1】

10

20

30

40

50

融合蛋白の組み換え產生

融合蛋白の構成要素は、リガンド又は受容体にアニーリングし、ターゲットベクターへのクローニングに適した制限部位を導入するように設計されたプライマーを使用したPCR法により、產生される。本PCR法のテンプレートはターゲット遺伝子を含み、これはIMAGEクローン、cDNAライブラリ又は注文合成遺伝子から入手できる。適当な制限部位をフランкиング領域に伴うリガンド及び受容体遺伝子を合成した後、これらをターゲットベクター中のリンカー領域のいずれかのサイドで連結する。本コンストラクトを以下に示す様な修飾をすることにより、誤りのないリンカーを含み、フランкиング領域中の制限部位を除いたものとした；リンカー領域のいずれかのサイドにある唯一の制限部位間へのカスタム合成したDNA部分の挿入、ssDNA修飾技術によるリンカー領域の変異、適当な制限部位間へのプライマーデュプレックス/マルチプレックスの挿入又はPCRによる修飾。

別の方法としては、最初に、所望のリガンド又は受容体領域に連結すべくデザインされたフランкиング領域を伴うリンカーを、オリゴヌクレオチドデュプレックス及び二重鎖DNAを形成するべく処理されたものを作成することにより、合成した。その後、本リンカー配列を“メガプライマー”として用いてPCRを行った。メガプライマーとは、リガンド及び受容体の逆のエンドに対してデザインされたプライマーであり、該メガプライマーは、鋳型としてのリガンド及び受容体に、及び、と共に、連結される。末端プライマーは、所望の発現ベクターへの連結の為の適切な制限部位を伴うべくデザインした。

【0072】

グリコシル化融合蛋白の発現及び精製

発現は適当な系（例えば、ほ乳類CHO細胞）において行われ、これはLR融合遺伝子を產生するベクターによって使い分けた。その後、SDS-PAGE、Native PAGE、ウエスタンプロット、ELISAの1つ又は複数を含みうる様々な方法を用いて発現を分析した。

適当なレベルの発現がなされた後、LR融合蛋白をより大規模に発現させ、精製及びその後の分析に十分な量の蛋白を產生した。

精製は、イオン交換クロマトグラフィー、疎水結合クロマトグラフィー、硫安沈殿、ゲルろ過、分子篩クロマトグラフィー及び/又はアフィニティーコロマトグラフィー（ニッケル/コバルトレジン、抗体不動化レジン及び/又はリガンド/受容体不動化レジン）といったクロマトグラフィー技術の1つ又は複数の適当な組み合わせを用いて行った。

精製蛋白は、ブラッドフォード法、SDS-PAGE、Native SDS、ウエスタンプロット、ELISAの1つ又は複数を含みうる様々な方法を用いて、分析した。

【0073】

グリコシル化融合蛋白の評価

融合蛋白を分析するのに、変性PAGE、native PAGEゲル及びウエスタンプロットを用い、ウエスタンプロットは該融合蛋白の高次構造に関係なく反応する抗体を用いて行われた。溶液中で未変性状態にある蛋白の分子量に関する情報は、スーパー-ロースG200分析カラムを用いたゲルろ過クロマトグラフィー及び分析用超遠心分離といった技術により取得することが出来た。

【0074】

成長ホルモンタンデム分子の合成

本方法は、蛋白の分子量を増加するためにグリコシル化リンカー（Gly4Serの様々な繰り返しよりなる）を用いる。N結合型グリコシル化認識配列は、直列に連結したGH分子のリンカー領域（配列はAsn-X-Ser又はAsn-X-Thrのいずれかにより構成され、ここでXはプロリン以外のいずれかのアミノ酸）に挿入する。

全ての分子は合成遺伝子であり、ほ乳類の発現ベクターpSecTag-linkに連結した。蛋白は分泌産物として、成長ホルモン分泌シグナルの制御の下、発現した。

【0075】

ほ乳類での安定発現

10

20

30

40

50

ほ乳類での発現系は、改変したインビトロゲンのベクター pSectag - V5 / FRT - Hist を用いて確立されている。

【0076】

インビトロゲンの F1p - In システム

本システムは高発現可能な宿主ゲノム中の特定部位に挿入した安定なクローンを急速に产生することを可能とする。該システムは分泌型又は細胞質発現型蛋白のいずれにおいても利用しうる。F1p - In 宿主細胞株 (f1p - in CHO) は、転写活性のある遺伝子座に位置する F1p リコンビナーゼ標的 (FRT) 部位を 1 か所だけ有している。

安定細胞株はベクター (FRT 標的部位を含む) 及び pOG44 (f1p リコンビナーゼを一過的に発現するプラスミド) を F1p - In 細胞株に共導入することにより产生する。分泌にはハイグロマイシン B を用いた。DNA の挿入位置は指定されるので、クローン選択は不要である。F1p - In 細胞株の培養：作成説明書に従い、基本的な細胞培養技術を用いた。

【0077】

Fugene - 6 を用いた CHO F1p - In 細胞の安定導入

導入前日、CHO F1p - In 細胞を、10% (v/v) ウシ胎児血清、1% ペニシリン / ストレプトマイシン及び 4 mM L - グルタミンを含む Hams F12 培地 (全容量 10 ml) 中にて、100 mm ペトリ皿につき 6 x 10E5 ずつ播種した。翌日、570 μl の無血清培地 (抗生素質不含) を 1.5 ml ポリプロピレンチューブに加えた。その後、30 μl の Fugene - 6 を加え、穏やかに回転させることで混合した。2 μg の所望のプラスミドを 18 μg の pOG44 (プラスミドの宿主ゲノムへの正確な組み込みのために必要なリコンビナーゼ酵素を含むプラスミド) と組み合わせたプラスミド混合物を、それぞれの導入ごとに別々に用意した。対照群はプラスミドを含めなかつた。これを fugene - 6 と、穏やかに回転させることで混合し、室温にて 15 分間静置後、F12 培地 + 10% FCS 中の CHO F1p - In 細胞を含む各ペトリ皿表面に滴下投与した。該皿を穏やかに回転させ、確実に混合した上で、37 / 5% CO2 条件下にて 24 時間維持した。翌日、培地を、600 μg / ml ハイグロマイシン B を含む選択用培地に交換した。細胞は常に 60% 又はそれ以下の細胞密度に維持した。細胞は、対照群の細胞 (非導入細胞) が死滅するまで (即ち、ハイグロマイシン非耐性) 、600 μg / ml ハイグロマイシン B 存在下で培養維持した。

【0078】

安定 CHO 細胞株からの発現評価

所望の蛋白を発現している CHO F1p - In 紒胞株を、コンフルエントな状態で、75 cm2 フラスコ中で、無血清培地にておよそ 3 - 4 日間培養し、各サンプルを採取、25 mM DTT 存在下又は非存在下で同容量の Laemmli ローディング緩衝液と混合し、65 にて 15 分間加熱した。サンプルは SDS - PAGE により解析し、PVDF 膜に転写した。PBS - 0.05% (v/v) Tween 20 中の 5% (w/v) ミルク蛋白によりブロッキングした後、セイヨウワサビ ペルオキシダーゼ (HRP) 共役 2 次抗体と共に GH 特異的抗体を用いてサンプルの検出を行った。可視化は、HRP 検出キットを用いた写真用フィルム上への化学発光により行った。

【0079】

一過的導入からの発現評価

CHO F1p - In 紒胞は、6 穴プレートの各ウェルに、全容量 2 ml の培地 (DMEM, F12, 10% FCS + P/S + L - グルタミン + ゼオシン) 中で 0.25 x 10E6 紒胞ずつ播種した。細胞は一晩培養維持した。細胞に対して、表 1 に記載した指定の試薬比率にて、TransIT - CHO 試薬 (Mirus) 又は fugene - 6 を用いて導入を行った。手短に記載すると、TransIT 試薬を使用した場合、無血清培地 (OPTI MEM) 200 μl を導入ごとに 1.5 ml eppendorf チューブに加え、その後、2 μl DNA を添加した。該チューブを室温にて 15 分間維持した。その後、1 μl の CHO Moj o 試薬を加え、混合しさらに 15 分間維持した。

10

20

30

40

50

培地を無血清に替えてから、この導入用混合物を適切なウェルの表面にピペットにて滴下した。Fugene-6試薬を使用した場合、手短に記載すると、無血清培地(OPTI MEM)94μlを導入ごとに1.5ml eppendorffチューブに加え、その後、2μl DNAを添加した。該チューブを室温にて15分間維持した。この導入用混合物を、無血清培地を含んだ、適切なウェルの表面にピペットにて滴下した。全てのプレートは37/5%CO₂にて2-3日間培養維持した。必要な場合は、アセトン沈殿により、サンプルを濃縮した。

【 図 1 】

Figure 1

GPETLCGAELVDAL
EMYCAPLKP
AKSA

〔 図 3 〕

Figure 3
AYRSE TLGGELVDT LOFVCGDRGF YESRPASRVS RSESGTIVEEC CFSCLLALL

【 図 4 a 】

【図4-b】

[图 1-6-1]

Figure 16
APDVODCPCTLOENPFEESORGAPTILOCIGGCCFSRAYPTPLRSKKTMLVOKNNTSEST

【 四 17 】

Figure 17

CNSCELTNITIAIEKEE RFCISINTTWCAGYCYTRDLVYKDPARPKIQKTC TFKEL
VYETVRVPGCAHHADSLYTYPVATQCHCGKCDSDTDC TVRGLGPSYCSFGEMKE

【 四 18 】

FIGURE 18

MAUJILLIUS PFLSISGCGHH RICHNSWPN LCQSBKVFTEI PSDNLPRNAIE
RLYFLVTLKLVE RPPNCFSGDLE KLEIQLSNS DFLVLEADVEY PSDNLPLKHEI
RIZKANNINPL INPEAPNOLN NQYLJLSSN GIKHKLBDWVK HLDNSKVLQD
ODINNINNTHI ERNSFWGHSGL ESFLWILWLNQ GLOJHQBNAQ NGTOLDELN
SDNNNLHEDP HFLVHQAEGS LVIDLSRTRI HSLPSYLGLEN KHLGARSTY
NLKNUPLKPLT LVALMEASLTY YPSSHCAAPAI WRQOISLWLP ICNKNSLILRB
VYDQMTGRCO SLASLDAEES YFSRGDFD EFTDYLCLNE VVDTQVCSPKP
DAPNFCEDIO GYNILNLVILM FISLAIATG YIIVLILVITS
MCNLAFLADIC IYIYILLIAS UDHTKNSYQ NAIDWQTGA CDAAGPFTV
FASLVEYSLV TAITLEWHTI ITHAMQDCK VLRHQAASVM VMGWAPAPA
ALPIFGVMS YKISSVCLAPM IDSPSLPSYQ VMSLHILWNLV AFVUCCGYI
HYIITVRNPKV IVSSSDTTRI AKGRMLMPLT DFCLAPIMPS FALASLAKVP
LTIVSKAKL VILVHPLWNSC ANPCLVWYK KNFRPDRVQH SLKCCYEMQ
AQYIETRSTS TVHNTHPRNG HCCSAPRVIT GYSTLWPLS HLAQN

【 図 19 】

Figure 19

SREPLRPWCH PINAILAVEK EGCPVCITVNTTICAGYCPY MMRVLQAVLP PLPVQVCTYR
DVRFESIRLP GCPGRGVDPVVSFPVALSRC GPCRRSTSDC GGPKDHPPLTC DHPQLSGLLF
L

【 四 20 】

Figure 20

MFKRSALQL QPPLRQHQLP LPLRRAEPL PEPPCNCPVDG ARLCPGFTG
LTPLSIALYQV VKVPSQAFR GHEVNEKIEQI QSDLSRIRIE ANAPDNLNLQ
SEILLONTNQ HNLRLRKYAFI CNTGRNGTQV TPLVFSSESN
FILEDCDNLN ITTIPGNAPO NMENNSVSLTLY LYNGNPFESVO SHAFTGNTLT
TSSYSLKLPK HXMHNGAERP ATGPKLTHDS STPLQLQSY LGEQSLQRI
ATLTYPSKHDIS FAPRNLLPKQSY NFHSNHSIEN
SKCSEPTWSV VSNKNTLYSM LASLSELSQH VYEGVCPKLT PRCAPDEPD
NCPEDMGTYV LFLRMLINL ILMAGNMNTV LFLVLTSLQY LTPVFRFLCN
LSPADFCMPL YLLHIAVDS OTQYNGGNA IDWQTSQGSCS TAGFTTVFAS
ELSVTYLT/VI TLERHHTY AIIHDQKQH RHALLIMQH SFLWFLJLAM
PLVGVSNTVW NMKDIKKAH TTSVQYIYI IIILINWVAFQ ICIAIYKCY
FAVRNPEMLA VPKNSCFCNPKI MALLFDPD CMAPISFPAI SAAFKVPLT
VTNSKFLVLT VPKNSCFCNPKI MALLFDPD CMAPISFPAI SAAFKVPLT
RYKSDFTSYA SNKNGCFCNPKI MOKNSQSTL STLQCGTAL LDKTRYCTRC

【 図 2 3 】

Figure 23

【 図 2 1 】

Figure 21

FCIPTETYTMHIERRECAYCLTINTTICAGYCMTRDINGKLFPLPKYALSQDVCTYRDFI
YRTVEIPGCPLH VAPYFSYPVALSCKCGKNTDYSDCIHEAIKTNYCTKPQK SYLV
GFSV

【 図 2 2 】

Figure 22

MRPADLULQV LNLHDLRDL GMGCSSQV CQHEDDFVFT CQDGRIPSL
PSTQKULIY LELTHURTFI TIPSH AFNLNPMSR IVVSDIVLQY CLESHSYNL
SKVTHBIRN THTNRTYDPO ALKELPLKJL LCIPFTNLKLM DFPLKVTYK
DFDFFLISD NYPMTSV1 PAVGQFCNLTE TLKLYNGFT SVGQVAFNGT
JADLWYLNK VLTWYDIDKA FGFGVSPLS QLDSVQSTVTA PLWSKGLERHJK
ELIARNTWYL KKLPLSLSFL HTRALDSPY SHCCAKPQK KIRGLESLHK
CNMESSQWLS QWVQKAWNS PLQHQEYEN GDSVQYKEK QSPQFTDHNN
HYTVFPEECQ DEIILGPQGEI NQFQETQLOL FDHSYDHTYQ GSDEMDWCTP
KSDNEPDKF UMGKPLRIV WVFSLWNLQ GNFVWLHLLT QSYLKNVLP
FLCMCLAPF FCMCMMVLL ASVADLYTHS YNHNADWLTQ GPCTNCATGPF
TVFASSELSV TUYTITLWR YAITTAPMD RKLRLRHAAC GMWVGGWCF
LALLPUCVQ SSVAKYSCIS PMTDEPTPLA IVAFVULVNL IVAFVIVCC
VVKVYITVRN PVMQNPDKOTD KIAKMGAVL FTDIFCIMAPI SFQSAALIN
PTBLVTSNSK LLVPOYLNWY SCANDPFLAY TPKAFDROWD ILKSGFQICK
RQOQAYRGQW PVPKNSTDIO QVKTTHMRQ GLHHNMEDVYE LIBNSHLTPK
QKQISSEWYM QVIL

【 図 2 4 】

Figure 24

【 図 25 】

Figure 25

【 図 2 6 】

Figure 26

FPT1LPSRLFDNAMLAHRJHLQHLPFTQYDPEFFBAYIYKPEVQYKSFNQNPQTSICFSE31P
TPSNREETQQKSNLRLSLLIQLSWEPLVQFRLSVPFVANSLVYAGSDNSYVLDLKKOLE
EIQJLTMGRLEDGSPTFQG1QFPKYTSKEDPTNSHDDALLKNQYLCFRDKMDKWEVTL
V1RQCSRQVQFQGEGGG
HLRQLQHLPFTQYDPEFFBAYIYKPEVQYKSFNQNPQTSICFSE31PNSLRETLFDNAMRA
R1SLL1Q1SWEPLVQFRLSVPFVANSLVYAGSDNSYVLDLKKOLEEIQJLTMGRLEDGSPT
Q1QFPKYTSKEDPTNSHDDALLKNQYLCFRDKMDKWEVTLV1RQCSRQVQFQGEGGGGG
Q1QFPKYTSKEDPTNSHDDALLKNQYLCFRDKMDKWEVTLV1RQCSRQVQFQGEGGGGG

【 図 27 】

Figure 27

【 図 2 8 】

Figure 28

【図 5 3 d】

Figure 53d

1B9-G4-v3

MATGSRSTSLLAFLGLLCLPWLQEGSAFPPTIPLSLRFDNAMLRADRLNQLAFDTYQEFEE
AYIPKEQKYSFLQNPQTSCLCSFSEIPTPSNREETQOKSNLELLRISLLIQSWEPLVQFLR
SVFANSLYVGASDSNVYDLLKDEERIOTLMLGRLEDGSPRTGQIFKOTYSKFDTNSHND
DALLKNYGLYCFRKDMKDVETFLRIVCERSVGECSGFFSGSEATAILSRAFPWSLQSV
NPGKLNSSKEPFTKCRSPERETFSCWHTDEVHHTGNLGPQLFYTRNRTQEWWTQ
EWKECPDYYSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDKEKCFSDVIEVQDPDPPIAL
WTLLNVLSTGIHADIQVRWEAPRNADIQGVMMVLEYQKEVNETKWKMMDPILTS
PVYSLKVDKYEVEVRVRSQRNSGNYGEFSEVLYVTLQPMQS*

【図 5 3 g】

Figure 53g

1B9-G4-v2

MATGSRSTSLLAFLGLLCLPWLQEGSAFPPTIPLSLRFDNAMLRADRLNQLAFDTYQEFEE
AYIPKEQKYSFLQNPQTSCLCSFSEIPTPSNREETQOKSNLELLRISLLIQSWEPLVQFLR
SVFANSLYVGASDSNVYDLLKDEERIOTLMLGRLEDGSPRTGQIFKOTYSKFDTNSHND
DALLKNYGLYCFRNADMRSVSTFLRTVQCRSVEGSCGFGRRGGGGGGGGGG
SnaGGGGSEFFSGSEATAILSRAFPWSLQSVNPLKTNSSKEPFTKCRSPERETFSC
HWTDEVHHTGNLGPQLFYTRNRTQEWKECPDYYSAGENSCYFNSSFTSIW
PYCIKLTNGGTVDKEKCFSDVIEVQDPDPPIALNWTLLNVLSTGIHADIQVRWEAPRNADI
QKGWMMVLEYQKEVNETKWKMMDPILTSVPVYSLKVDKYEVEVRVRSQRNSGNY
GEFSEVLYVTLQPMQS*

【図 5 3 e】

Figure 53e

1B9-G4-v0

MATGSRSTSLLAFLGLLCLPWLQEGSAFPPTIPLSLRFDNAMLRADRLNQLAFDTYQEFEE
AYIPKEQKYSFLQNPQTSCLCSFSEIPTPSNREETQOKSNLELLRISLLIQSWEPLVQFLR
SVFANSLYVGASDSNVYDLLKDEERIOTLMLGRLEDGSPRTGQIFKOTYSKFDTNSHND
DALLKNYGLYCFRNADMRSVSTFLRTVQCRSVEGSCGFGRRGGGGGGGGGG
SnaGGGGSEFFSGSEATAILSRAFPWSLQSVNPLKTNSSKEPFTKCRSPERETFSC
HWTDEVHHTGNLGPQLFYTRNRTQEWKECPDYYSAGENSCYFNSSFTSIW
PYCIKLTNGGTVDKEKCFSDVIEVQDPDPPIALNWTLLNVLSTGIHADIQVRWEAPRNADI
QKGWMMVLEYQKEVNETKWKMMDPILTSVPVYSLKVDKYEVEVRVRSQRNSGNY
GEFSEVLYVTLQPMQS*

【図 5 3 h】

Figure 53h

1B9-G4-v3

MATGSRSTSLLAFLGLLCLPWLQEGSAFPPTIPLSLRFDNAMLRADRLNQLAFDTYQEFEE
AYIPKEQKYSFLQNPQTSCLCSFSEIPTPSNREETQOKSNLELLRISLLIQSWEPLVQFLR
SVFANSLYVGASDSNVYDLLKDEERIOTLMLGRLEDGSPRTGQIFKOTYSKFDTNSHND
DALLKNYGLYCFRNADMRSVSTFLRTVQCRSVEGSCGFGRRGGGGGGGGGG
SnaGGGGSEFFSGSEATAILSRAFPWSLQSVNPLKTNSSKEPFTKCRSPERETFSC
HWTDEVHHTGNLGPQLFYTRNRTQEWKECPDYYSAGENSCYFNSSFTSIW
PYCIKLTNGGTVDKEKCFSDVIEVQDPDPPIALNWTLLNVLSTGIHADIQVRWEAPRNADI
QKGWMMVLEYQKEVNETKWKMMDPILTSVPVYSLKVDKYEVEVRVRSQRNSGNY
GEFSEVLYVTLQPMQS*

【図 5 3 f】

Figure 53f

1B9-G4-v1

MATGSRSTSLLAFLGLLCLPWLQEGSAFPPTIPLSLRFDNAMLRADRLNQLAFDTYQEFEE
AYIPKEQKYSFLQNPQTSCLCSFSEIPTPSNREETQOKSNLELLRISLLIQSWEPLVQFLR
SVFANSLYVGASDSNVYDLLKDEERIOTLMLGRLEDGSPRTGQIFKOTYSKFDTNSHND
DALLKNYGLYCFRNADMRSVSTFLRTVQCRSVEGSCGFGRRGGGGGGGGGG
SnaGGGGSEFFSGSEATAILSRAFPWSLQSVNPLKTNSSKEPFTKCRSPERETFSC
HWTDEVHHTGNLGPQLFYTRNRTQEWKECPDYYSAGENSCYFNSSFTSIW
PYCIKLTNGGTVDKEKCFSDVIEVQDPDPPIALNWTLLNVLSTGIHADIQVRWEAPRNADI
QKGWMMVLEYQKEVNETKWKMMDPILTSVPVYSLKVDKYEVEVRVRSQRNSGNY
GEFSEVLYVTLQPMQS*

【図 5 4 a】

Figure 54a

EPO-G1. 1

MGVHECPAWLWLLSLLSPLGLPVLGAPPRICDSRVLERYLLEAKEAENITTCGAEH
CSLNENITVPDTKVNFWAKRMEVGQAAVEWQGLLALSEAVLRGQALLVNSQOPWE
PLQLHDKAVSGLRSLLTLLRGAQKEAISPPDAASAPLRTTADTRFLKLRVYNSFLR
GKLKLYTGEACRTGDRGGGGGGGGGGnIGGGGSAAPPNLPDKFESKAALLAA
RGEPEELCFTERLEDVCFWEAAASAGVGPQNYFSYQLEDEPWLCKRLHQAPARTARG
AVRFLWCSLPTADTSFVPLERVTAASGAPRYHRVHINEVLLDAPVGLVARLADESG
HVLRMLPPLPTMTSHIREVYDVSAGNGAGSVQRVIELEGTECVLSNLRGRTRYTF
AVRMAEFSFGFWSAWSEPVSLT

【図 5 4 b】

Figure 54b

EPO-G1. 2

MGVHECPAWLWLLSLLSPLGLPVLGAPPRICDSRVLERYLLEAKEAENITTCGAEH
APPRLCDSRVLERLYLEAKEAENITTCGAEHCSLNENITVPDTKVNFWAKRMEVGQ
AVEWVWQGLLALSEAVLRGQALLVNSQOPWEPLQLHDKAVSGLRSLLTLLRGAQKE
AISPPDAASAPLRTTADTRFLKLRVYNSFLRGLKLYTGEACRTGDRGGGGGGGG
GGRnGAPPNLPDKFESKAALLAAEPEELCFTERLEDVCFWEAAASAGVGPQNY
FSYQLEDEPWLCKRLHQAPARTARGVFWCSLPTADTSFVPLERVTAASGAPRYHR
VHINEVLLDAPVGLVARLADESGHVLRMLPPLPTMTSHIREVYDVSAGNGAGSVQ
VIELEGTECVLSNLRGRTRYTFAVRMAEFSFGFWSAWSEPVSLT

【図 5 6 a】

Figure 56a

EPO-G1. 1

MGVHECPAWLWLLSLLSPLGLPVLGAPPRICDSRVLERYLLEAKEAENITTCGAEH
CSLNENITVPDTKVNFWAKRMEVGQAAVEWQGLLALSEAVLRGQALLVNSQOPWE
PLQLHDKAVSGLRSLLTLLRGAQKEAISPPDAASAPLRTTADTRFLKLRVYNSFLR
GKLKLYTGEACRTGDRGGGGGGGGGGnIGGGGSAAPPNLPDKFESKAALLAA
RGEPEELCFTERLEDVCFWEAAASAGVGPQNYFSYQLEDEPWLCKRLHQAPARTARG
AVRFLWCSLPTADTSFVPLERVTAASGAPRYHRVHINEVLLDAPVGLVARLADESG
HVLRMLPPLPTMTSHIREVYDVSAGNGAGSVQRVIELEGTECVLSNLRGRTRYTF
AVRMAEFSFGFWSAWSEPVSLT

【図 5 5 a】

Figure 55a

EPO-G2. 1

MGVHECPAWLWLLSLLSPLGLPVLGAPPRICDSRVLERYLLEAKEAENITTCGAEH
APPRLCDSRVLERLYLEAKEAENITTCGAEHCSLNENITVPDTKVNFWAKRMEVGQ
AVEWVWQGLLALSEAVLRGQALLVNSQOPWEPLQLHDKAVSGLRSLLTLLRGAQKE
AISPPDAASAPLRTTADTRFLKLRVYNSFLRGLKLYTGEACRTGDRGGGGGGGG
GGRnGAPPNLPDKFESKAALLAAEPEELCFTERLEDVCFWEAAASAGVGPQNY
FSYQLEDEPWLCKRLHQAPARTARGVFWCSLPTADTSFVPLERVTAASGAPRYHR
VHINEVLLDAPVGLVARLADESGHVLRMLPPLPTMTSHIREVYDVSAGNGAGSVQ
VIELEGTECVLSNLRGRTRYTFAVRMAEFSFGFWSAWSEPVSLT

【図 5 6 b】

Figure 56b

EPO-G3. 2

MGVHECPAWLWLLSLLSPLGLPVLGAPPRICDSRVLERYLLEAKEAENITTCGAEH
APPRLCDSRVLERLYLEAKEAENITTCGAEHCSLNENITVPDTKVNFWAKRMEVGQ
AVEWVWQGLLALSEAVLRGQALLVNSQOPWEPLQLHDKAVSGLRSLLTLLRGAQKE
AISPPDAASAPLRTTADTRFLKLRVYNSFLRGLKLYTGEACRTGDRGGGGGGGG
GGRnGAPPNLPDKFESKAALLAAEPEELCFTERLEDVCFWEAAASAGVGPQNY
FSYQLEDEPWLCKRLHQAPARTARGVFWCSLPTADTSFVPLERVTAASGAPRYHR
VHINEVLLDAPVGLVARLADESGHVLRMLPPLPTMTSHIREVYDVSAGNGAGSVQ
VIELEGTECVLSNLRGRTRYTFAVRMAEFSFGFWSAWSEPVSLT

【図 5 5 b】

Figure 55b

EPO-G2. 2

MGVHECPAWLWLLSLLSPLGLPVLGAPPRICDSRVLERYLLEAKEAENITTCGAEH
APPRLCDSRVLERLYLEAKEAENITTCGAEHCSLNENITVPDTKVNFWAKRMEVGQ
AVEWVWQGLLALSEAVLRGQALLVNSQOPWEPLQLHDKAVSGLRSLLTLLRGAQKE
AISPPDAASAPLRTTADTRFLKLRVYNSFLRGLKLYTGEACRTGDRGGGGGGGG
GGRnGAPPNLPDKFESKAALLAAEPEELCFTERLEDVCFWEAAASAGVGPQNY
FSYQLEDEPWLCKRLHQAPARTARGVFWCSLPTADTSFVPLERVTAASGAPRYHR
VHINEVLLDAPVGLVARLADESGHVLRMLPPLPTMTSHIREVYDVSAGNGAGSVQ
VIELEGTECVLSNLRGRTRYTFAVRMAEFSFGFWSAWSEPVSLT

【図 5 7 a】

Figure 57a

EPO-G4. 1

MGVHECPAWLWLLSLLSPLGLPVLGAPPRICDSRVLERYLLEAKEAENITTCGAEH
CSLNENITVPDTKVNFWAKRMEVGQAAVEWQGLLALSEAVLRGQALLVNSQOPWE
PLQLHDKAVSGLRSLLTLLRGAQKEAISPPDAASAPLRTTADTRFLKLRVYNSFLR
GKLKLYTGEACRTGDRGGGGGGGGGGnIGGGGSAAPPNLPDKFESKAALLAA
AARGPEELCFTERLEDVCFWEAAASAGVGPQNYFSYQLEDEPWLCKRLHQAPARTARG
RGAERVFWCSLPTADTSFVPLERVTAASGAPRYHRVHINEVLLDAPVGLVARLADE
SGHVLRMLPPLPTMTSHIREVYDVSAGNGAGSVQRVIELEGTECVLSNLRGRTRYTF
TFAVARMARAEFSFGFWSAWSEPVSLT

【図 6 0 a】

Figure 60a

【図 6 0 b】

Figure 60b

〔 60c 〕

Figure 60c

〔 図 6 0 d 〕

Figure 60d

【図60e】

Figure 62

【 図 6 0 f 】

Figure 691

GCFS-G.3
MARLINGSCTTWAUHJLLPGGEGYPPAIIHNLNSMLNTTSSUCOWEPGPETHPLTSPFTLKSFRNGCQTOQD
SLIDCPDGQSHCICPRHULLYQNMVVAEALNGLTGSMSPLQDPMVWVKEPLPMLTMDPSPPEAAPPQA
GLQJCL
WPSLPLRTTEGGWPGGGLSNSGGGGGWSGGGGGGGGGGTPTGAPLOSSLQHJLQIRCVRWPLGW-WSD
KLCATYKCHPEELVHLLGSHQGPWALPLSCPSQALQGLGQSLHSGFLYQGLQFEGPLGPTLDTQDVA
FATTWQCMCMEGLMAPALOPTOGPAMAFASAFORRAGWQSHLSLHOSLEYSLVRHQAOP

〔図 6.1.d〕

Figure 61

【図 6.1 e】

Figure C1

【图 6.1.f】

61

[图 6.2.3-1]

Figure 62

【図5】

Figure 5

ヒト成長ホルモン

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSESIPT
 PSNREETQQKSNLELLRISLILLIQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASDSNVYDLLKDLEEG
 IQTLMGRLEDGSRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCFRKDMDKVETFLRI
 VQCRSVEGSCGF

【図6】

Figure 6

ヒト成長ホルモン受容体細胞外ドメイン

FSGSEATAAILSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGT
 KNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWTQECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTSGGT
 VDEKCFSVDEIVQPDPPIALNWTLNVSLTGIGHADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLEYEL
 QYKEVNETWKMMMDPILTTSVPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTLP
 QMSQ*

【図7】

Figure 7

ヒト レプチン

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAVYQ
 QILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPWASGLETLDSLGGVLEASGYSTE
 WALSLRLQGSLQDMLWQLDLSPGC

【図8】

Figure 8

ヒト レプチン受容体細胞外ドメイン

FNLSYPITPWRFKLSCMPPNSTYDYFLLPAGLSKNTNSNSNGHYETAVEPKFNSSGTHFS
 NLSKTTFHCCFRSEQDRNCSLCADNIEGKTFVSTVNSLVFQQIDANWNIQCWLKGDLK
 LFICYVESLFKNLFRNYNYKVHLLYVLPEVLEDSPLVPQKGFSFQMVCNCNSVHECCECL
 VPVPTAKLNDTLLMCLKITSGGVIFQSPLMSVQPINMVKPDPLGLHMEITDDGNLKISW
 SSPPLVPFPLQYQVKYSENSTTVIREADKIVSATSLLVDSILPGSSYEVQVRGKRLDGP
 IWSDWSTPRVFTTQDVIYFPPKILTSVGSNVSFHCIYKKENKIVPSKEIVWWWMNLAEKIP
 QSQYDVVSDHVSKVTFNLNETKPRGKFTYDAVYCCNEHECHHRYAELYVIDVNINISC
 ETDGYLTKMTCRWSTSTIQSLAESTLQLRYHRSSLYCSDIPSIEPKDCYLQSDGFY
 ECIFQPIFLSGYTMWIRINHSLGSLDSPTCVLPDSVKPLPPSSVKAETINIGLLKISW
 EKPVFPENNLFQFQIRYGLSGKEVQWKMVEVYDAKSKSVPVPDLCAVYAVQVRCKRL
 DGLGYWSNWSNPAYTVMDIKVPMRGPEFWRIINGDTMKKEKNVTLLWKPLMKNDSL
 CSVQRYVINHHTSCNGTWSEDVGNHTKFTFLWTEQAHTVTVLAINSIGASVANFNLTFS
 WPMSKVNVQSLSAYPLNSSCVIVSWILSPSDYKLMYFIIEWKNLNEDGEIKWLRISSSV
 KKYYIHDHFIPIEKYQFSLYPIFMEGVGKPKIINSFTQDDIEKHQSD

【図9】

Figure 9 ヒトEP0

APPRLICDSRVLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITV рDTKVNFYAWKRMЕVGQQ
 AVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNSSQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKE
 AISPPDAASAAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKLKLYTGEACRTGDR

【図10】

Figure 10 ヒトEP0受容体細胞外ドメイン

APPNLPDPKFESKAALLAARGPEELLCFTERLEDLVCWEEAASAGVPGNYSFSYQ
 LEDEPWKLСRLHQAPTARGAVRFWCSLPTADTSSFVPLERVTAASGAPRYHRVIHINE
 VVLLDAPVGLVARLADES GHVLRWLPPPETPMTSHIRYEVDVSAGNGAGSVQRVEIL
 EGRTECVLSNLRGRTRYTFAVRARMAEPSFGGFWSAWSEPVSLLT*

【図11】

Figure 11 ヒト プロラクチン

LPICPGGAARCQVTLRDLFDRAVVL SHYIHNLSEMSEFDKRYTHGRGFITKAINSCHT
 SSLATPEDKEQAQQMNQKDFLSLIVSILRSWNEPLYHLVTEVRGMQEAPEAILSKAVEIE
 EQTKRLLEGME利VSQVHPETKENEIYPVWSGLPSLQMADEESRLSAYYNLLHCLRRDS
 HKIDNYLKLLKCRIIHNNNC

【図12】

Figure 12 ヒト プロラクチン細胞外ドメイン

QLPPGKPEIFKCRSPNKEFTCWWRPGTDGGIPTNYSLTYHREGETLMHECPDYITGG
 PNSCHFGKQYTSMWRTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVTYIVQPDPLELAVEVKQ
 PEDRKPYLWIKWSPPTLIDLKTGWFTLLYEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTEFKILSLHPG
 QKYLVQVRCKPDHGYWSAWSPATFIQIPSDFTMND

【図13】

Figure 13 ヒト GCSF

TPLGPASSLPQSFLLKCLEQVRKIQGDGAALQEKLСATYKLCHPEELVLLGHSLGIPWA
 PLSSCPSQALQLAGCLSQLHSGLFLYQQLLQALEGISPELGPТDTLQLDVADFATTIW
 QQMEELGMAPALQPTQGAMPAAFASAFQRRAGGVLVASHLQSFLLEVSYRVLHLAQP*

【図 14】

Figure 14 ヒト GCSF 受容体細胞外ドメイン

ECGHISVSAPIVHLGDPITASCIKQNCNSHLDPEPQILWRLGAELQPGRQQQLSDGTQE
 SIITLPHLNHTQAFLSCCLNWGNQLQILDQVELRAGYPPAIPHNLSCLMNLTTSSLICQW
 EPGPETHLPTSTLKSFKSRGNQCTQGDSILDCVPKDGQSHCCIPRKHLLLYQNMGIW
 VQAENALGTSMSPLQLDPMDVVKLEPPMLRTMDPSPEAAPPQAGCLQLCWEPWQP
 GLHINQKCELRHKPQRGEASWALGPLPLEALQYELCGLPATAYTLQIRCIRWPLPGH
 WSDWSPSLELRTTE*

【図 15】

Figure 15 ヒト ソマトスタチン受容体 1

MFPNGTASSP SSSPSPSPGS CGEGGGSRGP GAGAADGMEE PGRNASQNGT
 LSEGQGSAIL ISFIYSVCL VGLCGNSMVI YVILRYAKMK TATNIYILNL AIADELLMLS
 VPFLVTSTLLRHWPFGALLCRLVLSVDVNMFSTIYCLTVLSVDRYVAVVHPIKAARYRR
 PTVAKVNLGVWVLSLLVILPIVFSRTAANS DGTVACNMLMPEPAQRWLGVFVLYTFL
 MGFLLPVGAI CLCYVIIAKMRMVALKAGWQQRKRSERKITLMVMMVV MVFVICWMPPF
 YVQQLVNVAE QDDATVSQSLVILGYANSCANPILYGFSDNFKRSFQRILCLSWMDNA
 AEEP VDYYATALKS RAYSVEDFQP ENLESGGVFR NGTCTSRITT L

【図 45】

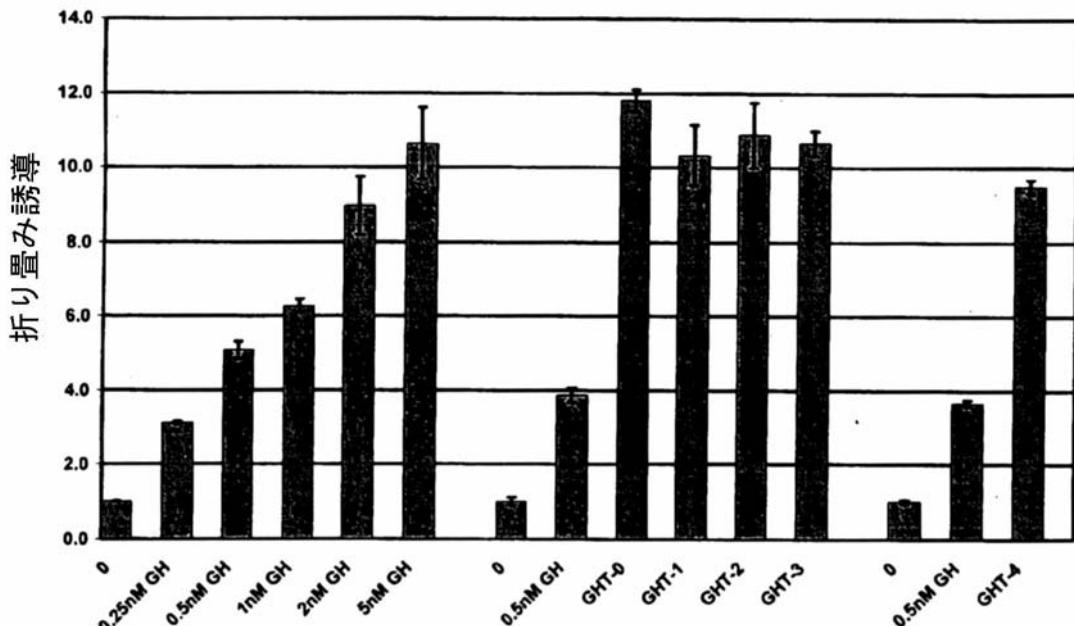


Figure 45

【図46a】

Figure 46a**1B7-G1-V0 未処理**

MATGSRTSLLAFLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAYIPK
 EQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTSNREETQQKSNELLRISLLIQSWEPEVQFLRSVFANSLVY
 GASDSNVYDLLKDLLEGIQTLMGRLEDGSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCF
 RKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCFGGRGGGGSGGGSGGnGSGGGGSEFFSGSEATAAIL
 SRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFYTRRNT
 QEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDCKFSVDEIVQPDPPIAL
 NWTLNVSLTGIHADIQRWEAPRNADIQKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMDPILTTSPVY
 SLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTLQMSQKLFE*

【図46b】

Figure 46b**1B7-G1-V0 処理済み**

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTSNRE
 ETQQKSNELLRISLLIQSWEPEVQFLRSVFANSLVYGSADSNVYDLLKDLLEGIQTLMGRLED
 GSPPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCFRKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCFGGG
 RGGGGSGGGSGGnGSGGGGSEFFSGSEATAAILSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCR
 SPERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFT
 SFTSIWIPYCIKLTNGGTVDCKFSVDEIVQPDPPIALNWTLNVSLTGIHADIQRWEAPRNADI
 QKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSE
 VLYVTLQMSQKLFE*

【図46c】

Figure 46c**1B7-G1-V1 未処理**

MATGSRTSLLAFLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAYIPK
 EQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTSNREETQQKSNELLRISLLIQSWEPEVQFLRSVFANSLVY
 GASDSNVYDLLKDLLEGIQTLMGRLEDGSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCF
 RKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCFGGRGGGGSGGGSGGnGSGGGGSEFFSGSEATAAIL
 SRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFYTRRNT
 QEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDCKFSVDEIVQPDPPIAL
 NWTLNVSLTGIHADIQRWEAPRNADIQKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMDPILTTSPVY
 SLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTLQMSQKLFE*

【図 4 6 d】

Figure 46d**1B7-G1-V1** 処理済み

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAYIPKEQKYSFLQNPQTSCLFSEIPTPSNRE
 ETQQKSNEELLRISLLLQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASDSNVYDLLKDLEEGIQTLMGRLED
 GSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCFRKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCGFGG
 RGGGGSGGGGSGGnGSGGGGSEFFSGSEATAAILSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKC
 RSPERETFSCHWTDEVHHGTTNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWKECPDYVSAGENSCYFNSS
 FTSIWIPYCIKLTNGGTVDEKCSVDEIVQPDPIALNWTLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADI
 QKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSE
 VLYVTPQMSQ*

【図 4 6 e】

Figure 46e**1B7-G1-V2** 未処理

MATGSRTSLLAFLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAYIPK
 EQKYSFLQNPQTSCLFSEIPTPSNREETQQKSNEELLRISLLLQSWLEPVQFLRSVFANSLVY
 GASDSNVYDLLKDLEEGIQTLMGRLEDGSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCF
 RKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCGFGGGGSGGGGSGGnGSGGGGSGGGSFSGSEATAAIL
 SRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGTTNLGPIQLFYTRRNT
 QEWTQEWKECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDEKCSVDEIVQPDPIAL
 NWTLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMMDPILTTSPVY
 SLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTPQMSQ*

【図 4 6 f】

Figure 46f**1B7-G1-V2** 処理済み

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAYIPKEQKYSFLQNPQTSCLFSEIPTPSNRE
 ETQQKSNEELLRISLLLQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASDSNVYDLLKDLEEGIQTLMGRLED
 GSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCFRKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCGFGG
 GGGGGGGSGGnGSGGGGSGGGSFSGSEATAAILSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKC
 RSPERETFSCHWTDEVHHGTTNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWKECPDYVSAGENSCYFNSS
 FTSIWIPYCIKLTNGGTVDEKCSVDEIVQPDPIALNWTLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADI
 QKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSE
 VLYVTPQMSQ*

【図 4 7 a】

Figure 47a**1B7-G2-V0 未処理**

MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFD
 TYQEFEAEYIPKEQKYSFLQNPQTSCLFSESIPTSNREETQQKSNLELLRISL
 LLIQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASDSNVYDLLKDEEGIQTLMGRLEDGS
 PRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCFRKDMDKVETFLRIVQCRS
 VEGSCGFGGRGGGGSGGGSGGGnGtGGGGSEFFSGSEATAAILSRAPWSL
 QSVNPGLKTNSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFY
 RRNTQEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVD
 KCFSVDEIVQPDPIALNWTLLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLE
 YELQYKEVNETKWKMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGE
 FSEVLYVTLQMSQKLFE*

【図 4 7 b】

Figure 47b**1B7-G2-V0 処理済み**

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAEYIPKEQKYSFLQNPQTSCL
 FSESIPTSNREETQQKSNLELLRISL LLIQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASD
 SNVYDLLKDEEGIQTLMGRLEDGS PRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKN
 YGLLYCFRKDMDKVETFLRIVQCRS VEGSCGFGGRGGGGSGGGSGGGnGt
 GGGGSEFFSGSEATAAILSRAPWSL QSVNPGLKTNSKEPKFTKCRSPERE
 TFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFY TFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFY
 RRNTQEWTQEWECPDYVSAGENSC YFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVD
 KCFSVDEIVQPDPIALNWTLLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLE
 YELQYKEVNETKWKMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGE
 FSEVLYVTLQMSQKLFE*

【図 4 7 c】

Figure 47c**1B7-G2-V1 未処理**

MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFD
 TYQEFEAEYIPKEQKYSFLQNPQTSCLFSESIPTSNREETQQKSNLELLRISL
 LLIQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASDSNVYDLLKDEEGIQTLMGRLEDGS
 PRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCFRKDMDKVETFLRIVQCRS
 VEGSCGFGGRGGGGSGGGSGGGnGtGGGGSEFFSGSEATAAILSRAPWSL
 QSVNPGLKTNSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFY
 RRNTQEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVD
 KCFSVDEIVQPDPIALNWTLLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLE
 YELQYKEVNETKWKMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGE
 FSEVLYVTLQMSQ*

【図47d】

Figure 47d**1B7-G2-V1 処理済み**

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAYIPKEQKYSFLQNPQTSCLC
 FSESIPTPSNREETQQKSNEELLRISLLLQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASD
 SNVYDLLKDLLEGIQTLMGRLEDGSPTRGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKN
 YGLLYCFRKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCFGGRGGGGSGGGSGGnGt
 GGGGSEFFSGSEATAAIALSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCRSPERE
 TFSCHWTDEVHHGTTNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWECPDYVSAGENSC
 YFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDCKFSVDEIVQPDPIALNWTLLNVSLTGI
 HADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLEYLQYKEVNETWKMMMDPILTTSPVY
 SLKVDKEYEVRRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTLPPMSQ*

【図47e】

Figure 47e**1B7-G2-V2 未処理**

MATGSRSTSLLAFLCLPWLQEGSAFPPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAYIPKEQKYSFLQNPQTSCLC
 FSESIPTPSNREETQQKSNEELLRISLLLQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASD
 SNVYDLLKDLLEGIQTLMGRLEDGSPTRGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKN
 YGLLYCFRKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCFGGGGGSGGGSGGnGtGGGGGGGGSGSGSEATAAIALSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCRSPERE
 TFSCHWTDEVHHGTTNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDCKFSVDEIVQPDPIALNWTLLNVSLTGI
 HADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLEYLQYKEVNETWKMMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVRRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTLPPMSQ*

【図47f】

Figure 47f**1B7-G2-V2 処理済み**

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAYIPKEQKYSFLQNPQTSCLC
 FSESIPTPSNREETQQKSNEELLRISLLLQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASD
 SNVYDLLKDLLEGIQTLMGRLEDGSPTRGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKN
 YGLLYCFRKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCFGGGGGSGGGSGGnGtGGGGGGGG
 FSGSEATAAIALSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCRSPERE
 TFSCHWTDEVHHGTTNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDCKFSVDEIVQPDPIALNWTLLNVSLTGI
 HADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLEYLQYKEVNETWKMMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVRRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTLPPMSQ*

【図48a】

Figure 48a**1B7-G3-V0 未処理**

MATGSRTSLLAFLCLPWLQEASFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAEYIPK
 EQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTPSNREETQQKSNELLRISLILIQSWEPEVQFLRSVFANSVY
 GASDSNVYDLLKDLLEGIQTLGRLEDGSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCF
 RKDMDKVETFLRIVQCRSVEGSCFGGGGGGGGGSGwnGSGGGGSEFFSGSEATAAIL
 SRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFYTRRNT
 QEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDCKFSVDEIVQPDPPIAL
 NWTLLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMDPILTTSPVY
 SLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTLQMSQKLFE*

【図48b】

Figure 48b**1B7-G3-V0 処理済み**

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAEYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTPSNRE
 ETQQKSNELLRISLILIQSWEPEVQFLRSVFANSVYGSASDSNVYDLLKDLLEGIQTLGRLED
 GSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCFRKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCFGGG
 RGGGGSGGGGSwnGSGGGGSEFFSGSEATAAILSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKC
 RS PERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSS
 FTSIWIPYCIKLTNGGTVDCKFSVDEIVQPDPPIALNWTLLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADI
 QKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSE
 VLYVTLQMSQKLFE*

【図48c】

Figure 48c**1B7-G3-V1 未処理**

MATGSRTSLLAFLCLPWLQEASFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAEYIPK
 EQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTPSNREETQQKSNELLRISLILIQSWEPEVQFLRSVFANSVY
 GASDSNVYDLLKDLLEGIQTLGRLEDGSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCF
 RKDMDKVETFLRIVQCRSVEGSCFGGGGGGGGGSGwnGSGGGGSEFFSGSEATAAIL
 SRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFYTRRNT
 QEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDCKFSVDEIVQPDPPIAL
 NWTLLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMDPILTTSPVY
 SLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTLQMSQ*

【図48d】

Figure 48d**1B7-G3-V1 処理済み**

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAEYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTPSNRE
 ETQQKSNELLRISLILIQSWEPEVQFLRSVFANSVYGSASDSNVYDLLKDLLEGIQTLGRLED
 GSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCFRKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCFGGG
 RGGGGSGGGGSwnGSGGGGSEFFSGSEATAAILSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKC
 RS PERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSS
 FTSIWIPYCIKLTNGGTVDCKFSVDEIVQPDPPIALNWTLLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADI
 QKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSE
 VLYVTLQMSQ*

【図48e】

Figure 48e**1B7-G3-V2 未処理**

MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFTDYQEFEAEYIPK
 EQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTPSNREETQQKSNELLRISLLIQSWEPEVQFLRSVFANSLVY
 GASDSNVYDLLKDLEEGIQTLMGRLEDGSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCF
 RKDMDKVETFLRIVQCRSVEGSCFGGGGGGGGGSGwnGSGGGGSGGGSGSGSEATAAIL
 SRAPWSLQSVNPGKTNSSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGKKNLGPIQLFYTRRNT
 QEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDEKCFVDEIVQPDPPIAL
 NWTLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMDPILTTSPVY
 SLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTPQMSQ*

【図48f】

Figure 48f**1B7-G3-V2 処理済み**

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFTDYQEFEAEYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTPSNRE
 ETQQKSNELLRISLLIQSWEPEVQFLRSVFANSLVYASDSNVYDLLKDLEEGIQTLMGRLED
 GSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCFRKDMDKVETFLRIVQCRSVEGSCFG
 GGGGGGGSGwnGSGGGGGGGGSGSGSEATAAILSRAPWSLQSVNPGKTNSSKEPKFT
 KCRSPERETFSCHWTDEVHHGKKNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWECPDYVSAGENSCYFN
 SSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDEKCFVDEIVQPDPPIALNWTLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNA
 DIQKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEF
 SEVLYVTPQMSQ*

【図49a】

Figure 49a**1B7-G4-V0 未処理**

MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFTDYQEFEAEYIPK
 EQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTPSNREETQQKSNELLRISLLIQSWEPEVQFLRSVFANSLVY
 GASDSNVYDLLKDLEEGIQTLMGRLEDGSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDALLKNYGLLYCF
 RKDMDKVETFLRIVQCRSVEGSCFGGGGGGGGGGGGGGGGnatGGGGSEFFSGSEATA
 AILSRAPWSLQSVNPGKTNSSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGKKNLGPIQLFYTRR
 NTQEWTQEWECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDEKCFVDEIVQPDPPIAL
 NWTLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMDPILTTSPVY
 VYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTPQMSQKLFE*

【 四 4 9 b 】

Figure 49b

1B7-G4-V0 处理済み

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFTQYQEFEEAYIPKEQKYSFLQNPQTSCLFSEIPTPSNRE
ETQQKSNLELLRISLLIQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASDSNVYDLLKDLEEGIQLMGRLED
GSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDDALLKNYGLLYCFRKDMDKVETFLRIVQCRSVEGSCFGGG
RGGGGSGGGSGGGGnatGGGGSEFFSGSEATAAILSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFT
KCRSPERETFSCHWTDEVHHGKNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWEKCPDYVSAGENSCYFN
SSFTSMWIPYCIKLTNGGTVDLKCFSVDEIVQPDPPIALNWTLNVSLTGIHADIQVRWEAPRNA
DIQKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMMDPILTTSVPVYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEF
SEVLYVTLPQMSQKLFE*

〔 49c 〕

Figure 49c

1B7-G4-V1 未处理

MATGSRSTLLLAFGLLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFTDYQEFEAYIPK
EQKYSFLQNPQTSLCFSEIPTPSNREETQQKSNLELLRISLLIQSWLEPVQFLRSVFANSLVY
GASDSNVYDLLKDLEEGIQLTLMGRLEDGSPTGQIFKQTYSKFDTNSHNDDALLKNYGLLYCF
RKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCFGGRGGGSGGGGGSnatGGGGSEFFSGSEATA
A1LSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEPKFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPQLFYTRR
NTQEWTQEWTKECPDYVSAGENSCYFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVD EKCFSVDEIVQPDPPI
ALNWTLNVSLTGIGHADIQVRWEAPRNADIQKGWMVLEYELQYKEVNETKWKMMDPILTTSPV
VYSLKVDKEYEVVRVRSKQRNSGNYGEFSEVLYVTLPQMSQ*

【 図 4 9 d 】

Figure 49d

1B7-G4-V1 处理済み

【図49e】

Figure 49e

1B7-G4-V2 未处理

【図 4 9 f】

Figure 49f**1B7-G4-V2 処理済み**

FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEAAIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSESIPTSNRE
ETQQKSNLLELRISLLIQSWLEPVQFLRSVFANSLVYGASDSNVYDLLKDLLEGIQTLMGRLED
GSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDDALLKNYGLLYCFRKDMKDVKETFLRIVQCRSVEGSCGF
GGGGSGGGSGGGGnatGGGGSGGGGSFSGSEATAILSRAPWSLQSVNPGLKTNSSKEP
KFTKCRSPERETFSCHWTDEVHHGTKNLGPIQLFYTRRNTQEWTQEWTKECPDYVSAGENSC
YFNSSFTSIWIPYCIKLTNGGTVDÉKCFSVDEIVQPDPIALNWTLNVSLTGIHADIQVRWEAP
RNADIQKGWMVLEYELQYKEVNETWKMMMDPILTTSPVYSLKVDKEYEVVRSKQRNSGNY
GEFSEVLYVTLQMSQ*

【図 8 2】

表 1
ソマトスタチン受容体 1

タイプ	始点	終点	長さ	記述	特徴	ID
CHAIN	1	391	391	ソマトスタチン受容体タイプ1	PRO_0000070116	
TOPO_DOM	1	56	56	細胞外(Potential).		
TRANSMEM	57	84	28	1(Potential).		
TOPO_DOM	85	94	10	細胞質(Potential).		
TRANSMEM	95	120	26	2(Potential).		
TOPO_DOM	121	131	11	細胞外(Potential).		
TRANSMEM	132	153	22	3(Potential).		
TOPO_DOM	154	175	22	細胞質(Potential).		
TRANSMEM	176	196	21	4(Potential).		
TOPO_DOM	197	219	23	細胞外(Potential).		
TRANSMEM	220	244	25	5(Potential).		
TOPO_DOM	245	270	26	細胞質(Potential).		
TRANSMEM	271	296	26	6(Potential).		
TOPO_DOM	297	303	7	細胞外(Potential).		
TRANSMEM	304	327	24	7(Potential).		
TOPO_DOM	328	391	64	細胞質(Potential).		
LIPID	339	339		S-パルミトイ尔斯テイン(Potential).		
CARBOHYD	4	4		N-結合(GlcNAc...) (Potential).		
CARBOHYD	44	44		N-結合(GlcNAc...) (Potential).		

MFPNGTASSP SSSPSPSPGS CGEGGGSRGP GAGAADGMEE PGRNASQNGT 50
 LSEGQGSAIL ISFIYSVCL VGLCGNSMVI YVILRYAKMK TATNIYILNL 100
 AIADELLMLS VPFLVTSTLL RHWPFGALLC RLVLSVDAVN MFTSIYCLTV 150
 LSVDRYVAVV HPIKAARYRR PTVAKVNLLG VVVLSSLLVIL PIVVFSRTAA 200
 NSDGTVCACNM LMPEPAQRWL VGFVLYTFLM GFLLPVGAIC LCYVLIIAKM 250
 RMVALKAGWQ QRKRSERKIT LMVMMVVVMVF VICWMPFYVV QLVNVFAEQD 300
 DATVSQLSVI LGYANSCANP ILYGFLSDNF KRSFQRILCL SWMDNAEEEP 350
 VDYYATALKS RAYSVEDFQP ENLESGGVFR NGTCTSRITT L 391

【図 8 3】

表2 卵胞刺激ホルモン受容体前駆物質

タイプ	始点	終点	長さ	記述	特徴 ID	
SIGNAL	1	17	17	Potential.		
CHAIN	18	695	678	卵胞刺激ホルモン受容体	PRO_0000012771	
TOPO_DOM	18	366	349	細胞外(Potential).		
TRANSMEM	367	387	21	1 (Potential).		
TOPO_DOM	388	398	11	細胞質(Potential).		
TRANSMEM	399	421	23	2 (Potential).		
TOPO_DOM	422	443	22	細胞外(Potential).		
TRANSMEM	444	465	22	3 (Potential).		
TOPO_DOM	466	485	20	細胞質(Potential).		
TRANSMEM	486	508	23	4 (Potential).		
TOPO_DOM	509	528	20	細胞外(Potential).		
TRANSMEM	529	550	22	5 (Potential).		
TOPO_DOM	551	573	23	細胞質(Potential).		
TRANSMEM	574	597	24	6 (Potential).		
TOPO_DOM	598	608	11	細胞外(Potential).		
TRANSMEM	609	630	22	7 (Potential).		
TOPO_DOM	631	695	65	細胞質(Potential).		

MALLLVSSLAA FLSLGSGCHH RICHCSNRVF LCQESKVTEI PSDLPRNAIE 50
 LRFVLTKLRLV IQKGAFSGFG DLEKIEISQN DVLEVIEADV FSNLPKLHEI 100
 RIEKANNLLY INPEAFQNLNP NLQYLLISNT GIKHLPDVHK IHSNLQKVLLD 150
 IQDNINIHTI ERNSAFVGLSF ESVILWLNKN G1QEIHNCAF NGTQLDELNL 200
 SDNNNNLEELP NDVFHAGASGP VILDISRTRI HSLPSYGLEN LKKLRARSTY 250
 NLKLLPTLEK LVALMEASLT YPSHCCAFAN WRRQISELHP ICNKSILRQE 300
 VDYMKTQTRGQ RSSLAEDNES SYSRGFDMDTY TEFDYDLCNE VVDVTCSPKP 350
 DAFNPCEDEM GYNILRVLWI FISILAITGN IIVLVLTTT QYKLTVPRL 400
 MCNLAFADLC IGIYLLLIAS VDIHTKSQYH NYAIDWQTGA GCDAAGFFT 450
 FASELSVYTL TAITLERWHT ITHAMQLDCK VQLRHAASVM VMGWIFAFAA 500
 ALFFPIFGISS YMKVSIICLPM DIDSPLSQLY VMSLLVLNVL AFVVICGCYI 550
 HIYLTVRNPN IVSSSSDTRI AKRMAMLIIT DFLCMAPISF FAISASLKV 600
 LITVSKAKIL LVLFHPINSC ANPFLYAIIFT KNFRRDFFIL LSKCGCYEMQ 650
 AQIYRTETSS TVHNTHPRNG HCSSAPRVTN GSTYILVPLS HLAQN 695

【図 84】

表3 ルトロピニー-絨毛膜性腺刺激ホルモン受容体前駆物質
(LHR)

タイプ	始点	終点	長さ	記述
SIGNAL	1	26	26	Potential.
CHAIN	27	699	673	ルトロピニー-絨毛膜性腺刺激ホルモン受容体
TOPO_DOM	27	363	337	細胞外(Potential).
TRANSMEM	364	385	22	1 (Potential).
TOPO_DOM	386	395	10	細胞質(Potential).
TRANSMEM	396	416	21	2 (Potential).
TOPO_DOM	417	439	22	細胞外(Potential).
TRANSMEM	440	462	23	3 (Potential).
TOPO_DOM	463	482	20	細胞質(Potential).
TRANSMEM	483	505	22	4 (Potential).
TOPO_DOM	506	525	20	細胞外(Potential).
TRANSMEM	526	549	24	5 (Potential).
TOPO_DOM	550	570	21	細胞質(Potential).
TRANSMEM	571	594	24	6 (Potential).
TOPO_DOM	595	605	11	細胞外(Potential).
TRANSMEM	606	627	22	7 (Potential).
TOPO_DOM	628	699	72	細胞質(Potential).

MKQRFSALQL LKLLLLLQPP LPRALREALC PEPNCVPDG ALRCPGPTAG 50
 LTRLSLAYLP VKVIPSQAFR GLNEVIKIEI SQIDSLERIE ANAFDNLLNL 100
 SEILIQNQTKN LRYIEPGAFI NLPRLKYSI CNTGIRKFPD VTKVFSSESN 150
 FILEICDNLH ITTIPGNQAFQ GMNNESVTLK LYGNQFEEVQ SHAFNGTTLT 200
 SLELKENVHL EKMHNGAFRG ATGPKTLDIS STKLQALPSY GLESIQRLLIA 250
 TSSYSLKKLP SRETIVNLLE ATLTYPSHCC AFRNLPTKEQ NFSHSISENF 300
 SKQCESTVRK VSNKTLYSSM LAESELSGWD YEYGFCLPKT PRCAPEPDAF 350
 NPCEDIMGYD FLRVLIWLN ILAIMGNMTV LFVLLTSRYK LTVPRFLMCN 400
 LSFADFCMGL YLLLIASVDS QTKGQYYNHA IDWQTGSGCS TAGFFTVFAS 450
 ELSVYTLTVI TLERWHTITY AIHLDQKLRL RHAILIMLGG WLFSSLIAML 500
 PLVGVSNYMK VSICFPMDVE TTLSQVYILT ILILNVVAFF IICACYIKIY 550
 FAVRNPELMA TNKDTKIAKK MAILIFTDFT CMAPISFFAI SAAFKVPLIT 600
 VTNSKVLLVL FYPINSCANP FLYAIFTKTF QRDFFLLSK FGCKRRAEL 650
 YRRKDFSAYT SNCKNGFTGS NKPSQSTLKL STLHCQGTAL LDKTRYTEC 699

【図 85】

表4 TSHR_ヒト

タイプ	始点	終点	長さ	記述
SIGNAL	1	20	20	
	21	764	744	甲状腺刺激ホルモン受容体
TOPO_DOM	21	413	393	細胞外 (Potential).
TRANSMEM	414	441	28	1 (Potential).
TOPO_DOM	442	450	9	細胞質 (Potential).
TRANSMEM	451	473	22	2 (Potential).
TOPO_DOM	474	494	21	細胞外 (Potential).
TRANSMEM	495	517	23	3 (Potential).
TOPO_DOM	518	537	20	細胞質 (Potential).
TRANSMEM	538	560	22	4 (Potential).
TOPO_DOM	561	580	20	細胞外 (Potential).
TRANSMEM	581	602	22	5 (Potential).
TOPO_DOM	603	625	23	細胞質 (Potential).
TRANSMEM	626	649	24	6 (Potential).
TOPO_DOM	650	660	11	細胞外 (Potential).
TRANSMEM	661	682	22	7 (Potential).
TOPO_DOM	683	764	82	細胞質 (Potential).

MRPADLLQLV LLLDLPRDLG GMGCSSPPCE CHQEEDFRVT CKDIQRIPSL 50
 PPSTQTLKLI ETHLRTIPSH AFSNLPNISR IYVSIDVTLQ QLESHSFYNL 100
 SKVTHIEIRN TRNLTYIDPD ALKELPLLKF LGIFNTGLKM FPDLTKVYST 150
 DIFFILEITD NPYMTSIPVN AFQGLCNETL TLKLYNNNGFT SVQGYAFNGT 200
 KLDAVYLNKN KYLTVIDKDA FGGVYSGPSL LDVSQTSVTA LPSKGLEHLK 250
 ELIARNTWTL KKLPLSLSFL HLTRADLSYP SHCCAFKNQK KIRGILESLM 300
 CNESSMQSLR QRKSVNALNS PLHQEYEENL GDSIVGYKEK SKFQDTHNNA 350
 HYVVFFEEQE DEIIIGFCQEL KNPQEETLQA FDSHYDYTIC GDSEDMVCTP 400
 KSDEFNPCEID IMGYKFLRIV VWFVSLALL GNVFVLLILL TSHYKLNVPR 450
 FLMCNLAFAD FCMGMYLLLI ASVDLYTHSE YYNHAIDWQT GPGCNTAGFF 500
 TVFASELSVY TLTVITLERW YAITFAMRLD RKIRLRHACA IMVGGWVCCF 550
 LLALLPLVGI SSYAKVSICL PMDETPLAL AYIVFVLTLN IVAFVIVCCC 600
 YVKIYITVRN PQYNPGDKDT KIAKRMALI FTDFICMAPI SFYALSAILN 650
 KPLITVSN SK ILLVLFYPLN SCANPFLYAI FTKAFQRDVF ILLSKFGICK 700
 RQAQAYRGQR VPPKNSTDIQ VQKVTHDMRQ GLHNMEDVYE LIENSHLTPK 750
 KQQQISEEYM QTVL 764

【配列表】

2011512134000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2009/000437A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K47/48 C12N15/62 C07K14/52 C07K14/475

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 C12N C07K

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, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GUSTAVSSON MALIN ET AL: "Stable linker peptides for a cellulose-binding domain-lipase fusion protein expressed in <i>Pichia pastoris</i> " PROTEIN ENGINEERING, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 14, no. 9, 1 September 2001 (2001-09-01), pages 711-715, XP009118009 ISSN: 0269-2139 paragraph bridging pages 714 and 715 abstract; table 1	1,20-22, 27-29
Y	----- ----- ----- -----	2-19, 23-26, 30-69 -/-

 Further documents are listed in the continuation of Box C. 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

15 July 2009

Date of mailing of the International search report

30/07/2009

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2260 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Moonen, Peter

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2009/000437

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>WILKINSON IAN R ET AL: "A ligand-receptor fusion of growth hormone forms a dimer and is a potent long-acting agonist" NATURE MEDICINE, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 13, no. 9, 1 September 2007 (2007-09-01), pages 1108-1113, XP009089546 ISSN: 1078-8956 the whole document</p> <p>-----</p>	2-19, 23-26, 30-69
A	<p>STORK ROLAND ET AL: "N-glycosylation as novel strategy to improve pharmacokinetic properties of bispecific single-chain diabodies" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 283, no. 12, March 2008 (2008-03), pages 7804-7812, XP002537135 ISSN: 0021-9258 [retrieved on 2008-01-22] abstract; figure 1</p> <p>-----</p>	1-69
A	<p>WO 00/68269 A (SALK INST FOR BIOLOGICAL STUDI [US]; VALE WYLIE W [US]; NIELSEN SOREN) 16 November 2000 (2000-11-16) the whole document</p> <p>-----</p>	1-69
A	<p>WO 01/96565 A (ASTERION LTD [GB]; ROSS RICHARD [GB]; ARTYMIUK PETER [GB]; SAYERS JON) 20 December 2001 (2001-12-20) the whole document</p> <p>-----</p>	
P,A	<p>BIRZNIECE VITA ET AL: "Growth hormone receptor modulators." REVIEWS IN ENDOCRINE & METABOLIC DISORDERS JUN 2009, vol. 10, no. 2, June 2009 (2009-06), pages 145-156, XP002537136 ISSN: 1389-9155 the whole document</p> <p>-----</p>	1-69

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/GB2009/000437

Patent document cited in search report	Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 0068269	A 16-11-2000	AU CA EP	5000800 A 2372807 A1 1177215 A1	21-11-2000 16-11-2000 06-02-2002
WO 0196565	A 20-12-2001	AU CA EP JP US US	7423401 A 2447632 A1 1290170 A2 2004503243 T 2009054336 A1 2004071655 A1	24-12-2001 20-12-2001 12-03-2003 05-02-2004 26-02-2009 15-04-2004

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 07K 14/555 (2006.01)	C 07K 14/555	
C 07K 14/61 (2006.01)	C 07K 14/61	
A 61K 38/00 (2006.01)	A 61K 37/02	
A 61K 38/22 (2006.01)	A 61K 37/24	
A 61K 38/27 (2006.01)	A 61K 37/36	
A 61K 38/21 (2006.01)	A 61K 37/66	F
A 61P 9/00 (2006.01)	A 61K 37/66	H
A 61P 5/10 (2006.01)	A 61P 9/00	
A 61P 31/12 (2006.01)	A 61P 5/10	
	A 61P 31/12	

(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,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,S,K,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,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,K,E,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,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,ST,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ロス , リチャード

イギリス国 , シエフィールド エス 1 0 2ティーエヌ , ファース コート , ウェスタンバンク ,
アステリオン・リミテッド

(72)発明者 セイヤーズ , ジョン

イギリス国 , シエフィールド エス 1 0 2ティーエヌ , ファース コート , ウェスタンバンク ,
アステリオン・リミテッド

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA03 BA21 BA22 BA24 BA38 BA63 BA80 CA07 DA01
 DA02 DA05 DA11 EA04 GA11 HA03
 4C084 AA02 AA03 AA07 BA01 BA08 BA20 BA22 BA41 BA44 CA18
 DA01 DA21 DA23 DB11 DB22 MA02 MA16 MA22 MA35 MA37
 MA52 MA55 MA66 NA05 NA13 NA14 ZA361 ZA362 ZB331 ZB332
 ZC041 ZC042
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 BA41 BA53 CA40 DA01 DA15 DA17
 DA31 DA50 EA20 FA74 GA21