(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2010-500868
(P2010-500868A)
(43)公表日　平成22年1月14日(2010.1.14)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B024
A61K 45/00	(2006.01)	A61K	45/00		4B063
A61K 31/7088	(2006.01)	A61K	31/7088		4B065
A61K 38/00	(2006.01)	A61K	37/02		4C084
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	D	4C085

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 106 頁）　最終頁に続く

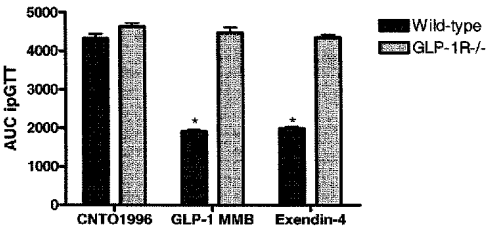
(21)出願番号　特願2009-520970 (P2009-520970)
(86)(22)出願日　平成19年7月18日 (2007.7.18)
(85)翻訳文提出日　平成21年3月11日 (2009.3.11)
(86)国際出願番号　PCT/US2007/073752
(87)国際公開番号　WO2008/011446
(87)国際公開日　平成20年1月24日 (2008.1.24)
(31)優先権主張番号　60/831,704
(32)優先日　平成18年7月18日 (2006.7.18)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　503054122
セントカー・インコーポレーテツド
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１９３５５マルバーン・グレートバレイパークウエイ２００
(74)代理人　110000741
特許業務法人小田島特許事務所
(72)発明者　オニール，カリン・テイ
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１９０６３メデイア・ビーテイロード６０１
(72)発明者　ピチヤ，クリステン
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１９３５５マルバーン・イエロースプリングスロード２０６５

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ヒトＧＬＰ－１ミメティボディ、組成物、方法および用途

(57)【要約】
本発明は、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントをコードする単離された核酸、ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント、ベクター、宿主細胞、トランスジェニック動物若しくは植物を包含する最低１種の改良されたヒトＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント、ならびに治療的組成物、方法および装置を包含するそれらの作成および使用方法に関する。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号２若しくは４のアミノ酸配列をコードする最低１種のポリヌクレオチド、またはそれらに相補的なポリヌクレオチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ核酸であって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記核酸。
【請求項２】
配列番号２、４、６若しくは７～１４から選択される最低１種を含んでなるアミノ酸配列をコードする最低１種のポリヌクレオチド、またはそれらに相補的なポリヌクレオチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ核酸であって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記核酸。
【請求項３】
配列番号２若しくは４のアミノ酸配列をコードする最低１種のポリヌクレオチド、またはそれらに相補的なポリヌクレオチドを含んでなる、請求項２に記載の最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ核酸であって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記核酸。
【請求項４】
式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは配列番号１若しくは６から選択される最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドを含んでなり、ＬはＳｅｒおよびＧｌｙを含んでなる最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドをコードする最低１種のポリヌクレオチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ核酸であって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記核酸。
【請求項５】
配列番号２若しくは４の連続するアミノ酸の全部を含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。
【請求項６】
配列番号７～１４の最低１種の連続するアミノ酸の全部を含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。
【請求項７】
式（Ｉ）：

（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、
ここでＰは配列番号１および６から選択される最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）から選択され；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；ＨはＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号２６）であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４３）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号４４）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項８】
式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、
ここでＰは配列番号６の最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）から選択され；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；ＨはＥＳＫＹＧＰＰＣＰＳＣＰＡＰＥＦＬＧＧＰ（配列番号２７）であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＱＥＤＰＥＶＱＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＦＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＧＬＰＳＳＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４５）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＱＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＲＬＴＶＤＫＳＲＷＱＥＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＬＧＫ（配列番号４６）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項９】
式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、
ここでＰは配列番号６の最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列

番号２０）から選択され；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；ＨはＥＳＫＹＧＰＰＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＧＰ（配列番号２８）であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＱＥＤＰＥＶＱＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＦＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＧＬＰＳＳＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４５）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＱＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＲＬＴＶＤＫＳＲＷＱＥＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＬＧＫ（配列番号４６）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、

のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項１０】

式（Ｉ）：

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

、

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

のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項１１】

式（Ｉ）：

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

、

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

、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項１２】

式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは配列番号６の最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項１３】

式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）から選択され；Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項１４】

式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり；Ｌは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり；ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり；ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり；ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、

のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項１５】

式（Ｉ）：

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

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

のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項１６】

式（Ｉ）：

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

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

のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項１７】

式（Ｉ）：

（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、
ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
の最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【請求項１８】
請求項１～１７のいずれかに記載のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ核酸若しくはＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチド（前記ポリペプチドは最低１種のＰポリペプチドの最低１種の活性を有する）。

【請求項１９】
請求項４～１７のいずれかに記載の最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドを特異的に結合する、抗イディオタイプモノクローナル若しくはポリクローナル抗体、融合タンパク質またはそれらのフラグメント。

【請求項２０】
請求項１～３のいずれかに記載の、または請求項４～１７のいずれかに記載の最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチド若しくはＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ抗体をコードする、ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ核酸、あるいはそれらに相補的なポリヌクレオチド。

【請求項２１】
請求項２０に記載の最低１種の単離された核酸を含んでなるＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディベクター。

【請求項２２】
請求項２０に記載の単離された核酸を含んでなるＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ宿主細胞。

【請求項２３】
前記宿主細胞が、ＣＯＳ－１、ＣＯＳ－７、ＨＥＫ２９３、ＢＨＫ２１、ＣＨＯ、ＢＳＣ－１、Ｈｅｐ　Ｇ２、６５３、ＳＰ２／０、２９３、ＮＳＯ、ＤＧ４４　ＣＨＯ、ＣＨＯ　Ｋ１、ＨｅＬａ、骨髄腫若しくはリンパ腫細胞、またはそれらのいずれかの誘導体、不死化若しくは形質転換細胞から選択される最低１種である、請求項２１に記載のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ宿主細胞。

【請求項２４】
ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ若しくは抗体が検出可能な若しくは回収可能な量で発現されるようなｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｉｎ　ｖｉｖｏ若しくはｉｎ　ｓｉｔｕ条件下で請求項２０に記載の核酸を翻訳することを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチド若しくはＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ抗体の製造方法。

【請求項２５】
請求項１～２０のいずれかに記載の最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ核酸、ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチド若しくはＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ抗体を含んでなる組成物。

【請求項２６】

前記組成物が最低１種の製薬学的に許容できる担体若しくは希釈剤をさらに含んでなる、請求項２５に記載の組成物。

【請求項２７】

糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する薬物、検出可能な標識若しくはレポーター、ＴＮＦアンタゴニスト、抗感染薬、心血管（ＣＶ）系薬、中枢神経系（ＣＮＳ）薬、自律神経系（ＡＮＳ）薬、気道薬、胃腸（ＧＩ）管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬、サイトカインまたはサイトカインアンタゴニストの最低１種から選択される最低１種の化合物、組成物若しくはポリペプチドの治療上有効な量を含んでなる最低１種の組成物をさらに含んでなる、請求項２５に記載の組成物。

【請求項２８】

液体、気体、若しくは乾燥物（ｄｒｙ）、溶液、混合物、懸濁液、乳液若しくはコロイド、凍結乾燥調製物または粉末から選択される最低１種の形態の請求項２５に記載の組成物。

【請求項２９】

（ａ）請求項１～１９のいずれかに記載の最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディの核酸、ポリペプチド若しくは抗体の有効量を含んでなる組成物を、細胞、組織、器官若しくは動物と接触させるか若しくはそれらに投与すること

を含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物におけるＧＬＰ－１関連の状態の診断若しくは処置方法。

【請求項３０】

ＧＬＰ－１関連の状態が糖尿病若しくはうっ血性心不全である、請求項２９に記載の方法。

【請求項３１】

前記有効量が、前記細胞、組織、器官若しくは動物１キログラムあたり、０．０００１～５０ｍｇのＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ抗体；０．１～５００ｍｇの前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ；若しくは０．０００１～１００μｇの前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディ核酸である、請求項２９に記載の方法。

【請求項３２】

前記接触させること若しくは前記投与することが、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内（ｉｎｔｒａａｂｄｏｍｉｎａｌ）、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内（ｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌ）、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液包内、胸腔内、子宮内、膀胱内、病変内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低１様式による、請求項２９に記載の方法。

【請求項３３】

前記（ａ）の接触若しくは投与することの前、同時に若しくは後に、糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する薬物、検出可能な標識若しくはレポーター、ＴＮＦアンタゴニスト、抗感染薬、心血管（ＣＶ）系薬、中枢神経系（ＣＮＳ）薬、自律神経系（ＡＮＳ）薬、気道薬、胃腸（ＧＩ）管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬、サイトカインまたはサイトカインアンタゴニストの最低１種から選択される最低１種の化合物若しくはポリペプチドの有効量を含んでなる最低１種の組成物を投与することをさらに含んでなる、請求項２９に記載の方法。

【請求項３４】

請求項１～２０のいずれかに記載の最低１種の単離されたＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディのポリペプチド、抗体若しくは核酸を含んでなる装置であって、前記装置が、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内（ｉｎｔｒａａｂｄｏｍｉｎａｌ）、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内（ｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌ）、胸膜腔内、

前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液包内、胸腔内、子宮内、膀胱内、病変内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低１様式により前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディのポリペプチド、抗体若しくは核酸の前記最低１種を接触若しくは投与するのに適する、上記装置。

【請求項３５】

包装資材、および請求項１～２０のいずれかに記載の最低１種の単離されたＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディのポリペプチド、抗体若しくは核酸を含んでなる容器を含んでなる、ヒトの製薬学的若しくは診断的使用のための製品。

【請求項３６】

前記容器が、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内（ｉｎｔｒａａｂｄｏｍｉｎａｌ）、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内（ｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌ）、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液包内、胸腔内、子宮内、膀胱内、病変内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮の送達装置若しくは系の一成分である、請求項３５に記載の製品。

【請求項３７】

前記ポリペプチド、抗体若しくは核酸を検出可能な若しくは回収可能な量で発現することが可能な最低１種の宿主細胞、トランスジェニック動物、トランスジェニック植物、植物細胞を提供することを含んでなる、請求項１～２０のいずれかに記載の最低１種の単離されたＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディのポリペプチド、抗体若しくは核酸の製造方法。

【請求項３８】

請求項３７に記載の方法により製造される最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディのポリペプチド、抗体若しくは核酸。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の交差引用

本出願は、２００６年７月１８日に出願された米国仮出願第６０／８３１，７０４号の出願の利益の優先権を主張する。前述の関連米国特許出願の完全な開示はここに全部の目的上引用することにより本明細書に組み込まれる。

【０００２】

本発明は、生物学的に活性のタンパク質、フラグメント若しくはリガンドに特異的な改良された哺乳動物ＧＬＰ－１ミメティボディ（ｍｉｍｅｔｉｂｏｄｙ）、特定の部分およびバリアント、ＧＬＰ－１ミメティボディをコードするおよび相補的な核酸、宿主細胞、ならびに、治療的製剤、投与および装置を包含するそれらの作成および使用方法に関する。

【背景技術】

【０００３】

組換えタンパク質は治療薬の一新分類である。こうした組換え治療薬はタンパク質製剤および化学修飾の進歩を引き起こした。（例えばタンパク質分解酵素へのそれらの曝露を阻害することにより）半減期を延長するか、生物学的活性を高めるか、若しくは好ましくない副作用を低減させることによるようなこうした修飾は、治療的タンパク質の治療的有用性を潜在的に高め得る。１種のこうした修飾は、エンテラセプト（ｅｎｔｅｒａｃｅｐｔ）のような、受容体タンパク質に融合させた免疫グロブリンフラグメントの使用である。治療的タンパク質は、より長い半減期を提供すること、若しくはＦｃ受容体結合、プロテインＡ結合および補体固定のような機能を組み込むことを試みるために、Ｆｃドメインを使用してもまた構築されている。

【０００４】

糖尿病は、効果的な薬物療法を待つ間に２０２５年までに３億超の人々を冒すと推定さ

れる増大しつつある疫病である。２型糖尿病が全症例の９０～９５％を占める。持続的な上昇した血漿グルコースレベルから生じる合併症は心血管系疾患、腎症、ニューロパシーおよび網膜症を包含する。加えて、２型糖尿病の後期の間に膵のβ細胞が死滅しそして従ってインスリンを分泌することを停止する。糖尿病の現在の処置は、低血糖および体重増加を包含する多様な有害な副作用を伴う。加えて、２型糖尿病の現在の処置は該疾患を治癒しないが、しかし患者がインスリン治療を必要とするまでの時間を単に延長する。

【０００５】

グルカゴン様ペプチド－１（ＧＬＰ－１）は、経口グルコース投与後に腸のＬ細胞から分泌される３７アミノ酸のペプチドである。第６と第７の位置の間のその後の内因性切断が生物学的に活性のＧＬＰ－１（７－３７）ペプチドを生じる。ＧＬＰ－１（７－３７）ペプチド配列は２個の構造ドメインに分割し得る。該ペプチドのアミノ末端ドメインはシグナル伝達に関与する一方、該ペプチドの残部はらせん状コンホメーションのＧＬＰ－１受容体の細胞外ループに結合するようである。グルコースに応答して、活性のＧＬＰ－１は膵のＧＬＰ－１受容体に結合しそしてインスリン分泌の増大を引き起こす（インスリン分泌作用）。加えて、ＧＬＰ－１が、循環中に放出されるグルコースの塊（ｂｏｌｕｓ）を減少させかつ食物摂取を低下させうる胃排出を低下させることが示されている。これらの作用はともに血糖値を低下させる。ＧＬＰ－１はまた、膵のβ細胞のアポトーシスを阻害しかつ増殖を増大させることも示されている。従って、ＧＬＰ－１は、糖尿病患者の血糖を低下させかつ膵のβ細胞を保存するための魅力的な治療薬である。加えてＧＬＰ－１活性は血糖値により制御される。血糖値がある閾値レベルに下落する場合、ＧＬＰ－１は活性でない。従ってＧＬＰ－１を伴う処置に関連する低血糖の危険性は存在しない。

【０００６】

ＧＬＰ－１療法の実現可能性は診察室で立証されている。６週のＧＬＰ－１注入は２型糖尿病患者で空腹時および８時間平均血糖値を効果的に低下させた。ＧＬＰ－１療法はまたβ細胞機能の改善ももたらした。エキセナチドは現在臨床試験中のＧＬＰ－１アナログである。エキセナチドはアメリカドクトカゲの唾液中で最初に同定され、そしてＧＬＰ－１に５３％同一である。エキセナチドはＧＬＰ－１受容体を結合しかつＧＬＰ－１（７－３７）に帰されている多数の活性の原因のシグナル伝達カスケードを開始し得る。今日までに、それは、２型糖尿病を伴う患者のＨｂＡ１ｃレベルおよび血清フルクトサミンレベルを低下させることが示された。加えて、それは健康志願者で胃排出を遅らせかつ食物摂取を阻害した。

【０００７】

しかしながら、ＧＬＰ－１は、プロテアーゼ、ジペプチジルペプチダーゼＩＶ（ＤＰＰ－ＩＶ）によりｉｎ　ｖｉｖｏで急速に不活性化される。従って、ＧＬＰ－１ペプチドを伴う治療の有用性はそれらの迅速な消失および短い半減期により制限されている。例えば、ＧＬＰ－１（７－３７）はわずか３ないし５分の血清半減期を有する。ＧＬＰ－１（７－３６）アミドは、皮下に投与される場合に約５０分の時間作用を有する。内因性プロテアーゼ切断に抵抗性であるアナログおよび誘導体でさえ、２４時間にわたって反復投与を回避するのに十分に長い半減期を有しない。例えば、エキセナチドはＤＰＰ－ＩＶに抵抗性であるが、それでもそれは、短い半減期およびｉｎ　ｖｉｖｏ薬物動態の大きな変動性のために１日２回の食前投与をなお必要とする。現在臨床試験中の別の化合物ＮＮ２２１１は脂質付加したＧＬＰ－１アナログである。それは１日１回投与されることが期待される。

【０００８】

治療薬の迅速な消失は、該剤の高血中濃度を長時間にわたり維持することが望ましい場合に不便である。その場合は反復投与が必要であろうからである。さらに、過去の処置投与計画が経口医薬品のみを服用することを必要とした糖尿病患者にとって長時間作用型の化合物がとりわけ重要である。これらの患者は、医薬品の複数回注入を必要とする投与計画に移行する極めて困難な時間をしばしば有する。増大された半減期を有するＧＬＰ－１療法は、開発中の他のＧＬＰ－１ペプチドおよび化合物を上回る大きな利点を有するとみ

られる。

【０００９】

従って、これらおよび当該技術分野で既知の他の問題のもう１つを克服する、改良および／若しくは改変されたバージョンのＧＬＰ－１治療的タンパク質を提供する必要性が存在する。ミメティボディ技術はペプチド治療薬の新規送達基盤を提供する。ＧＬＰ－１ミメティボディは、持続性の様式でＧＬＰ－１ペプチドを送達する手段を提供することができ、現在開発中のＧＬＰ－１ペプチドを上回る改良を提供する。さらに、その二量体構造およびその組織分布の特徴に基づけば、ＧＬＰ－１ミメティボディは、インスリン分泌、β細胞保存および食物摂取に関して識別可能な特徴を有し得る。

【発明の概要】

【００１０】

［発明の要約］

本発明は、当該技術分野で既知であるものと組合せの、本明細書に記述かつ／若しくは可能にされるところの、改変免疫グロブリン、切断生成物ならびにそれらの他の指定された部分およびバリアントを包含する改良されたヒトＧＬＰ－１ミメティボディ、ならびにＧＬＰ－１ミメティボディの組成物、コードする若しくは相補的な核酸、ベクター、宿主細胞、組成物、製剤、装置、トランスジェニック動物、トランスジェニック植物、ならびにそれらの作成および使用方法を提供する。

【００１１】

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

【００１２】

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

【００１３】

好ましい一態様において、一対のＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジ－部分的Ｖ領域配列－リンカー－治療的ペプチド配列（該対は、場合によっては、会合、あるいは限定されるものでないが最低１個のＣｙｓ－Ｃｙｓジスルフィド結合または最低１種のＣＨ４若しくは他の免疫グロブリン配列を挙げることができる共有結合により連結される）。一態様において、ＧＬＰ－１ミメティボディは、限定されるものでないがＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、若しくはそれらのいずれかの

サブクラスなどを挙げることができる多様なタイプの免疫グロブリン分子またはそれらのいずれかの組合せを模倣する、式（Ｉ）：
（Ｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、
［ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る］
を含んでなる。

【００１４】

抗体配列の可変領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号１～９を伴い２００４年６月２４日に出願されかつ２００５年１月２０日に公開されたＰＣＴ公開第ＷＯ０５／０５６０４号（第ＰＣＴ　ＵＳ０４／１９８９８号）明細書の図１～９にさらに記述されるところの最低１個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号４７～５５の最低１種または表１若しくは配列番号４７～６４に記述されるところのそれらのフラグメントの少なくとも一部分を挙げることができる。ＣＨ２、ＣＨ３およびヒンジ領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号３２～４０を伴い２００４年６月２４日に出願されかつ２００５年１月２０日に公開されたＰＣＴ公開第ＷＯ０５／０５６０４号（第ＰＣＴ　ＵＳ０４／１９８９８号）明細書の図３２～４０にさらに記述されるところの最低１個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号５６～６４の最低１種若しくは表１に記述されるところのそれらのフラグメントの少なくとも一部分を挙げることができる。

【００１５】

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

【００１６】

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

【００１７】

一局面において、本発明は、配列番号１の、または本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知のところの１個若しくはそれ以上の置換、欠失若しくは挿入を場合によっては伴う最低１種のポリペプチド配列を含んでなる最低１種の単離されたヒトＧＬＰ－１ミメティボディを提供する。別の局面において、本発明の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントは、最低１～３を含んでなる最低１個のエピトープ、最低１種のリガンド（例えば限定されるものでないがＧＬＰ－１受容体）のアミノ酸配列全体、またはそれらのフラグメントへの、最低１種のＧＬＰ－１ペプチド若しくは式（Ｉ）中のミメティボディのＰ部分に対応するポリペプチドの結合を模倣し、該リガンドは、配列番号１の、または本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知のところの１個若しくはそれ以上の置換、欠失若しくは挿入を場合によっては伴う少なくとも一部分に結合する。該最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディは、場合によっては最

低１０$^{-7}$Ｍ、最低１０$^{-8}$Ｍ、最低１０$^{-9}$Ｍ、最低１０$^{-10}$Ｍ、最低１０$^{-11}$Ｍ若しくは最低１０$^{-12}$Ｍの親和性でＧＬＰ－１受容体を結合し得る。ＧＬＰ－１ミメティボディは従って、限定されるものでないが受容体若しくはそのフラグメントに対する結合活性を挙げることができる対応する活性について既知の方法に従ってスクリーニングし得る。

【００１８】

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

【００１９】

本発明は、一局面において、最低１種の指定された配列、それらのドメイン、部分若しくはバリアントを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディ若しくはＧＬＰ－１ミメティボディ抗イディオタイプ抗体またはそれらの指定された部分若しくはバリアントをコードするポリヌクレオチドを含んでなる、それらに相補的、それらに対する有意の同一性を有する若しくはそれらにハイブリダイズする単離された核酸分子を提供する。本発明はさらに、前記単離されたＧＬＰ－１ミメティボディ若しくはＧＬＰ－１ミメティボディ抗イディオタイプ抗体をコードする核酸分子の最低１種を含んでなる組換えベクター、こうした核酸および／若しくは組換えベクターを含有する宿主細胞、ならびに、こうしたＧＬＰ－１ミメティボディ若しくはＧＬＰ－１ミメティボディ抗イディオタイプ抗体の核酸、ベクターおよび／若しくは宿主細胞の作成および／若しくは使用方法を提供する。

【００２０】

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

【００２１】

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

【００２２】

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

【００２３】

上の方法により製造された最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディが本発明でさらに提供される。

【００２４】

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

【００２５】

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

【００２６】

本発明はまた、治療上若しくは予防上有効な量の本発明の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの最低１種の組成物、装置および／若しくは送達方法も提供する。

【００２７】

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

【００２８】

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

【００２９】

本発明はさらに、当該技術分野で既知のところの、限定されるものでないが関連疾患若しくは処置状態の前、後若しくは間を挙げることができる多くの多様な状態で必要とされるところの、糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する障害、骨および関節の障害、心血管障害、歯若しくは口腔障害、皮膚科障害、耳、鼻若しくは喉の障害、内分泌若しくは代

謝障害、胃腸障害、婦人科障害、肝若しくは胆嚢の障害、産科障害、血液学的障害、免疫学的若しくはアレルギー性障害、感染性疾患、筋骨格障害、腫瘍学的障害、神経学的障害、栄養障害、眼科障害、小児科障害、中毒障害、精神障害、腎障害、肺障害、またはいずれかの他の既知の障害（例えばＴｈｅ　Ｍｅｒｃｋ　Ｍａｎｕａｌ、第１７版、Ｍｅｒｃｋ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｍｅｒｃｋ　ａｎｄ　Ｃｏ．、ニュージャージー州ホワイトハウスステーション（１９９９）（引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）を参照されたい）の最低１種の症状を処置若しくは低減させるための調節のために治療上有効な量で投与される場合の方法若しくは組成物における最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディ、指定された部分若しくはバリアントを提供する。

【００３０】

本発明はまた、本発明の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディのＧＰＬ－１に関連した状態を診断するための最低１種の組成物、装置および／若しくは送達方法も提供する。

【００３１】

本発明はさらに、当該技術分野で既知かつ／若しくは本明細書に記述されるところの、細胞、組織、器官、動物若しくは患者におけるかつ／または関連した状態の前、後若しくは間の最低１種のＧＬＰ－１に関連した状態を診断するための最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディの方法若しくは組成物を提供する。

【００３２】

（ａ）本発明の最低１種の単離されたヒトＧＬＰ－１ミメティボディの有効量を含んでなる組成物を細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、細胞、組織、器官若しくは動物における疾患状態の診断若しくは処置方法もまた提供される。該方法は、場合によっては、０～２４時間、１～７日、１～５２週、１～２４か月、１～３０年またはその中のいずれかの範囲若しくは値あたり、細胞、組織、器官若しくは動物１キログラムあたり０．００１～５０ｍｇの有効量を使用することをさらに含み得る。該方法は、場合によっては、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内（ｉｎｔｒａａｂｄｏｍｉｎａｌ）、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内（ｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌ）、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液包内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低１様式により接触若しくは投与することを使用することをさらに含み得る。該方法は、検出可能な標識若しくはレポーター、抗感染薬、糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する薬物、心血管（ＣＶ）系薬、中枢神経系（ＣＮＳ）薬、自律神経系（ＡＮＳ）薬、気道薬、胃腸（ＧＩ）管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬、ＴＮＦアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋遮断薬、抗菌薬、抗乾癬薬、コルチコステロイド、蛋白同化ステロイド、エリスロポエチン、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬、成長ホルモン、ホルモン補充薬、放射性医薬品、抗うつ薬、抗精神病薬、興奮剤、喘息薬、βアゴニスト、吸入ステロイド、エピネフリン若しくはアナログ、サイトカインまたはサイトカインアンタゴニストの最低１種から選択される最低１種の化合物若しくはタンパク質の有効量を含んでなる最低１種の組成物を、（ａ）の接触若しくは投与することの前、同時に若しくは後に投与することを場合によってはさらに含み得る。

【００３３】

本発明の最低１種の単離されたヒトＧＬＰ－１ミメティボディを含んでなる医療機器もまた提供され、該装置は、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内（ｉｎｔｒａａｂｄｏｍｉｎａｌ）、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内（ｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌ）、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液包内、

胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低１様式により最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディを接触若しくは投与するのに適する。

【００３４】

包装資材、および溶液若しくは凍結乾燥された形態の本発明の最低１種の単離されたヒトＧＬＰ－１ミメティボディを含んでなる容器を含んでなる、ヒトの製薬学的若しくは診断的使用のための製品もまた提供される。該製品は、場合によっては、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内（ｉｎｔｒａａｂｄｏｍｉｎａｌ）、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内（ｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌ）、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液包内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮の送達装置若しくは系の一成分として該容器を有することを含み得る。

【００３５】

本発明はさらに、本明細書に記述されるいかなる発明も提供する。

【００３６】

［発明の詳細な記述］

本発明は、単離された、組換えのかつ／若しくは合成のミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント、ならびに最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディをコードする最低１種のポリヌクレオチドを含んでなる組成物およびコードする核酸分子を提供する。本発明のこうしたミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントは、特定のＧＬＰ－１ミメティボディ配列、それらのドメイン、フラグメントおよび指定されたバリアント、ならびに、治療的組成物、方法および装置を包含する前記核酸およびミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの作成および使用方法を含んでなる。

【００３７】

好ましくは、こうしたＧＬＰ－１ミメティボディは、Ｏ－結合グリコシル化部位（限定されるものでないがＶａｌ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができる）をＮ－結合グリコシル化部位（限定されるものでないがＡｓｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができる）に変えることにより、発現、精製および／若しくは安定性について改良される。本発明はＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディにこうした改良を提供する。

【００３８】

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

【００３９】

好ましい一態様において、ＧＬＰ－１ミメティボディは、限定されるものでないがＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ若しくはそれらのいずれかのサブクラスなどを挙げることができる多様なタイプの免疫グロブリン分子またはそれらのいずれかの組合せを模倣する、式（Ｉ）：

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

を含んでなり、ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ポリペプチドであり、Ｌは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２は免疫グロブリンＣＨ２定常領域の少なくとも一部分

であり、ＣＨ３は免疫グロブリンＣＨ３定常領域の少なくとも一部分であり、ｍ、ｎ、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０と１０の間かつそれらを包含する整数であり得る。

【００４０】

好ましくは、こうしたＧＬＰ－１ミメティボディは、Ｏ－結合グリコシル化部位（限定されるものでないがＶａｌ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができる）をＮ－結合グリコシル化部位（限定されるものでないがＡｓｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒを挙げることができる）に変えることにより、発現、精製および／若しくは安定性について改良される。本発明はＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディにこうした改良を提供する。

【００４１】

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

【００４２】

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

配列番号５６および６３中の位置１０３および／若しくは１８５；または配列番号６０および６１中の位置３９；配列番号６４中の位置７９、あるいは本明細書に開示されるか若しくは当該技術分野で既知のところのいずれかの他の適する位置のＮ－グリコシル化部位Ａｓｎ－Ｘａａ－ＳｅｒへのＶａｌ－Ｘａａ－Ｓｅｒ（Ｏ－グリコシル化部位）の変化）Ａｓｎ－Ｘａａ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｎ－Ｘａａ－ＳｅｒのようなＮ－グリコシル化部位で置換し得る；５．Ｃ１ｑ結合部位のような補体との相互作用に関与する部位を除去する。補体の動員は本発明の分子に有利でないことがあり、そして従ってこうしたバリアントで回避しうる；６．サルベージ受容体以外のＦｃ受容体への結合に影響を及ぼす部位を除去する。ＣＨ３－ＣＨ２－ヒンジ領域は、本発明の融合分子に必要とされないある種の白血球との相互作用のための部位を有することがあり、そして従って除去しうる；７．ＡＤＣＣ部位を除去する。ＡＤＣＣ部位は当該技術分野で既知であり；例えばＩｇＧ１中のＡＤＣＣ部位に関してはＭｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２９（５）：６３３－９（１９９２）を参照されたい。これらの部位は同様に本発明の融合分子に必要とされずそして従って除去しうる。

【００４３】

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

【００４４】

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

【００４５】

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

【００４６】

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

る。ＧＬＰ－１（７－３７）は、配列番号１５：
Ｈｉｓ－Ａｌａ－Ｇｌｕ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ｐｈｅ－Ｔｈｒ－Ｓｅｒ－Ａｓｐ－Ｖａｌ－Ｓｅｒ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｇｌｙ－Ｇｌｎ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｌｙｓ－Ｇｌｕ－Ｐｈｅ－Ｉｌｅ－Ａｌａ－Ｔｒｐ－Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｌｙｓ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ
のアミノ酸配列を有する。

【００４７】

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

【００４８】

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

【００４９】

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

【００５０】

本発明の方法および組成物で有用なＧＬＰ－１ミメティボディは、タンパク質リガンド、例えばＧＬＰ－１受容体に結合する適する親和性、および場合によってはかつ好ましくは低毒性を有することを特徴とする。とりわけ、可変領域、定常領域（ＣＨ１部分を含まない）および枠組みの部分、またはそのいずれかの部分（例えば可変Ｈ若しくはＬ鎖のＪ、Ｄ若しくはＶ領域の一部分；最低１種のヒンジ領域、定常Ｈ鎖若しくはＬ鎖の少なくとも一部分など）のような個々の成分が個別にかつ／若しくは集合的に場合によってはかつ好ましくは低免疫原性を有するＧＬＰ－１ミメティボディが本発明で有用である。本発明で使用し得るミメティボディは、症状の良好ないし優れた軽減および低毒性を伴い長期間患者を処置するそれらの能力を場合によっては特徴とする。低免疫原性および／若しくは

高親和性ならびに他の定義されない特性が達成される治療成績に貢献しうる。「低免疫原性」は、処置される患者の約７５％未満、または好ましくは約５０、４５、４０、３５、３０、３５、２０、１５、１０、９、８、７、６、５、４、３、２および／若しくは１％未満で有意のＨＡＭＡ、ＨＡＣＡ若しくはＨＡＨＡ応答を生じさせること、ならびに／あるいは処置される患者で低力価（二重抗原エンザイムイムノアッセイで測定される約３００未満、好ましくは約１００未満）を生じさせることと本明細書で定義する（例えばＥｌｌｉｏｔｔら、Ｌａｎｃｅｔ ３４４：１１２５－１１２７（１９９４）を参照されたい）。

【００５１】

利用性。本発明の単離された核酸は、限定されるものでないが糖尿病関連障害、インスリン代謝関連障害、免疫障害若しくは疾患、心血管障害若しくは疾患、感染性、悪性および／若しくは神経学的障害若しくは疾患、ならびに他の既知の若しくは指定されたタンパク質に関連した状態の最低１種から選択される最低１種のタンパク質に関連した状態を調節、処置、軽減する、その発生を予防するのを助ける、若しくはその症状を低下させることを細胞、組織、器官若しくは動物（哺乳動物およびヒトを包含する）で遂げるために使用し得る、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディ、そのフラグメント若しくは指定されたバリアントの製造に使用し得る。

【００５２】

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

【００５３】

引用。本明細書で引用される全部の刊行物若しくは特許は、それらが本発明の時点での従来技術を示すためにかつ／若しくは本発明の記述および使用可能性を提供するために、引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる。刊行物は、いかなる学術的若しくは特許刊行物、または全部の録音・録画、電子若しくは印刷形式を包含するいずれかの媒体形式で利用可能ないかなる他の情報も指す。以下の参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる：Ａｕｓｕｂｅｌら編、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．、ニューヨーク州ニューヨーク（１９８７－２００３）；Ｓａｍｂｒｏｏｋら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第２版、ニューヨーク州コールドスプリングハーバー（１９８９）；ＨａｒｌｏｗとＬａｎｅ、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、ニューヨーク州コールドスプリングハーバー（１９８９）；Ｃｏｌｌｉｇａｎら編、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．、ニューヨーク（１９９４－２００３）；Ｃｏｌｌｉｇａｎら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、ニューヨーク州ニューヨーク（１９９７－２００３）。

【００５４】

本発明のミメティボディ。ＧＬＰ－１ミメティボディは、場合によっては、最低１種のＧＬＰ－１治療的ペプチド（Ｐ）に直接結合されている任意のリンカー配列（Ｌ）と直接結合されている最低１種の部分的可変領域（Ｖ）と直接結合されている最低１種のコアヒンジ領域を含んでなるような最低１種のヒンジ領域フラグメントの少なくとも一部分（Ｈ）と直接結合されている最低１種のＣＨ２領域と直接結合されている最低１種のＣＨ３領

域を含み得る。好ましい一態様において、一対のＣＨ３－ＣＨ２－Ｈ－Ｖ－Ｌ－Ｐは、会合、若しくは限定されるものでないがＣｙｓ－Ｃｙｓジスルフィド結合を挙げることができる共有結合により連結され得る。従って、本発明のＧＬＰ－１ミメティボディは、治療的ペプチドおよびその固有の若しくは獲得されたｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｉｎ　ｖｉｖｏ若しくはｉｎ　ｓｉｔｕの特性若しくは活性を提供しつつその固有の特性および機能を伴う抗体構造を模倣する。抗体の多様な部分および本発明の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディの治療的ペプチド部分は、当該技術分野で既知であるものとともに本明細書に記述されるとおり変動し得る。

【００５５】

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

【００５６】

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

【００５７】

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

【００５８】

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

【００５９】

好ましい一態様において、本発明の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントは、最低１種の細胞株、混合細胞株、不死化細胞、または不死化かつ／若しくは培養細胞のクローン集団により産生される。不死化タンパク質産生細胞は適する方法を使用して製造し得る。好ましくは、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントは、機能的に再配列されているか若しくは機能的再配列を受け得かつ限定されるものでないが式（Ｉ）［ここで当該技術分野で既知のとおりＣ末端可変領域の部分をＶに、ヒンジ領域をＨに、ＣＨ２をＣＨ２におよびＣＨ３

をＣＨ３に使用し得る］を挙げることができる本明細書に記述されるところのミメティボディ構造をさらに含んでなる最低１種のヒト免疫グロブリン遺伝子座由来の若しくはそれに実質的に類似の配列を有するＤＮＡを含んでなる核酸若しくはベクターを提供することにより生成される。

【００６０】

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

【００６１】

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

【００６２】

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

ｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１３：５２２－７（１９９５）；Ｍａら、Ｐｌａｎｔ Ｐｈｙｓｉｏｌ．１０９：３４１－６（１９９５）；Ｗｈｉｔｅｌａｍら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓ．２２：９４０－９４４（１９９４）；およびそれらの中で引用される参考文献もまた参照されたい。上の参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる。

【００６３】

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

【００６４】

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

【００６５】

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

【００６６】

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

【００６７】

本発明の単離された核酸分子は、場合によっては１個若しくはそれ以上のイントロンを含むオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を含んでなる核酸分子、ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントのコーディング配列を含んでなる核酸

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

【００６８】

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

【００６９】

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

【００７０】

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

【００７１】

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

【００７２】

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

【００７３】

核酸は、便宜的に本発明のポリヌクレオチドに加えて配列を含み得る。例えば、１個若

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

【００７４】

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

【００７５】

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

【００７６】

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

【００７７】

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

【００７８】

いくつかの態様において、プロモーター、エンハンサー若しくは他の要素としてはたらく単離された核酸を、本発明のポリヌクレオチドの発現を上方若しくは下方制御するように非異種の形態の本発明のポリヌクレオチドの適切な位置（上流、下流若しくはイントロン中）に導入し得る。例えば、内因性プロモーターは当該技術分野で既知のところの突然変異、欠失および／若しくは置換によりｉｎ　ｖｉｖｏ若しくはｉｎ　ｖｉｔｒｏで変えることができる。本発明のポリヌクレオチドは所望のとおりセンス若しくはアンチセンスいずれの向きでも発現させ得る。センス若しくはアンチセンスいずれかの向きでの遺伝子発現の制御が、観察可能な特徴に対する直接の影響を有し得ることが認識されるであろう。別の抑制方法はセンス抑制である。センスの向きに構成された核酸の導入は、標的遺伝

子の転写を阻害するための有効な手段であることが示されている。

【００７９】

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

【００８０】

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

【００８１】

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

【００８２】

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

【００８３】

本発明の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントは、融合タンパク質のような改変された形態で発現させ得、そして分泌シグナルのみならずしかしまた付加的な異種機能領域も包含し得る。例えば、付加的なアミノ酸、とりわけ荷電したアミノ酸の一領域を、宿主細胞中、精製の間、若しくはその後の取扱および貯蔵の間の安定性および難分解性を向上させるためにＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントのＮ末端に付加し得る。また、精製を容易にするために、本発明のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントにペプチド部分を付加し得る。こうした領域はＧＬＰ－１ミメティボディ若しくはその最低１種のフ

ラグメントの最終調製前に除去し得る。こうした方法は、Ｓａｍｂｒｏｏｋ、上記、第１７．２９～１７．４２章および第１８．１～１８．７４章；Ａｕｓｕｂｅｌ、上記、第１６、１７および１８章のような多くの標準的実験室手引書に記述されている。

【００８４】

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

【００８５】

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

【００８６】

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

【００８７】

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

【００８８】

ＧＬＰ－１ミメティボディまたはその指定された部分若しくはバリアントの精製。ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントは、限定されるものでないがプロテインＡ精製、硫酸アンモニウム若しくはエタノール沈殿、酸抽出、陰イオン若しくは陽イオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを挙げることができる公知の

方法により組換え細胞培養物から回収かつ精製し得る。高速液体クロマトグラフィー（「ＨＰＬＣ」）もまた精製に使用し得る。例えばＣｏｌｌｉｇａｎ、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、若しくはＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、ニューヨーク州ニューヨーク（１９９７－２００３）、例えば第１、４、６、８、９、１０章（それぞれ引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【００８９】

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

【００９０】

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

【００９１】

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

【００９２】

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

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

【００９３】

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

【００９４】

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

【００９５】

最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を部分的に若しくは好ましくは実質的に提供するＧＬＰ－１ミメティボディまたはその指定された部分若しくはバリアントは、ＧＬＰ－１リガンドを結合し得、そしてそれによりＧＬＰ－１受容体のような最低１種のリガンドへのＧＬＰ－１の結合または他のタンパク質依存性若しくは媒介性の機構により別の方法で媒介される最低１種の活性を提供し得る。本明細書で使用されるところの「ＧＬＰ－１ミ

メティボディ活性」という用語は、最低１種のＧＬＰ－１依存性の活性をアッセイに依存して約２０～１０，０００％、好ましくは最低約６０、７０、８０、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００、５５０、６００、７００、８００、９００、１０００、２０００、３０００、４０００、５０００、６０００、７０００、８０００、９０００％若しくはそれ以上調節し得る若しくは引き起こし得るＧＬＰ－１ミメティボディを指す。

【００９６】

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

【００９７】

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

【００９８】

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

【００９９】

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

【０１００】

本発明はまた、本明細書に記述されるアミノ酸配列と実質的に同一である配列中のアミノ酸を含んでなるミメティボディ、リガンド結合フラグメントおよび免疫グロブリン鎖にも関する。好ましくは、こうしたミメティボディ若しくはそのリガンド結合フラグメントは、高親和性（例えば約10^{-7}Ｍ未満若しくはそれに等しいK_D）で受容体のようなヒトＧＬＰ－１リガンドを結合し得る。本明細書に記述される配列と実質的に同一であるアミノ酸配列は、保存的アミノ酸置換ならびにアミノ酸の欠失および／若しくは挿入を含んでなる配列を包含する。保存的アミノ酸置換は、第一のアミノ酸の特性に類似である化学および／若しくは物理特性（例えば電荷、構造、極性、疎水性／親水性）を有する第二のアミノ酸による第一のアミノ酸の置換を指す。保存的置換は以下の群すなわちリシン（Ｋ

）、アルギニン（Ｒ）およびヒスチジン（Ｈ）；アスパラギン酸（Ｄ）およびグルタミン酸（Ｅ）；アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、チロシン（Ｙ）、Ｋ、Ｒ、Ｈ、ＤおよびＥ；アラニン（Ａ）、バリン（Ｖ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、プロリン（Ｐ）、フェニルアラニン（Ｆ）、トリプトファン（Ｗ）、メチオニン（Ｍ）、システイン（Ｃ）およびグリシン（Ｇ）；Ｆ、ＷおよびＹ；Ｃ、ＳおよびＴ内の別のものによる１アミノ酸の置換を包含する。

【０１０１】

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

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

【０１０２】

本発明のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントは、本明細書に明記されるところの天然の突然変異若しくは人的操作のいずれかからの１個若しくはそれ以上のアミノ酸置換、欠失若しくは付加を包含し得る。本発明で使用し得るこうした若しくは他の配列は、限定されるものでないが、抗体配列の部分的可変領域が限定されるものでないが対応する配列番号１～９を伴い２００４年６月２４日に出願されかつ２００５年１月２０日に公開されたＰＣＴ公開第ＷＯ　０５／０５６０４号（第ＰＣＴ　ＵＳ０４／１９８９８号）明細書の図１～９にさらに記述されるところの最低１個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号４７～５５の最低１種若しくは表１に記述されるところのそれらのフラグメントの少なくとも一部分を挙げることができる、配列番号４７～６４の指定された部分に対応して示されるところの表１に提示される配列を挙げることができる。ＣＨ２、ＣＨ３およびヒンジ領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号３２～４０を伴い２００４年６月２４日に出願されかつ２００

５年１月２０日に公開されたＰＣＴ公開第ＷＯ　０５／０５６０４号（第ＰＣＴ　ＵＳ０４／１９８９８号）明細書の図３２～４０にさらに記述されるところの最低１個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号５６～６４の最低１種若しくは表１に記述されるところのそれらのフラグメントの少なくとも一部分を挙げることができる。もちろん、当業者が作成するとみられるアミノ酸置換の数は上述されたものを包含する多くの因子に依存する。一般的に言って、ＧＬＰ－１ミメティボディの最低１種のアミノ酸置換、挿入若しくは欠失の数は、本明細書に明記されるところの１～３０またはその中のいずれかの範囲若しくは値のような、４０、３０、２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、１アミノ酸を超えないことができる。

【０１０３】

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

【０１０４】

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

【０１０５】

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

【０１０６】

機能に不可欠である本発明のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント中のアミノ酸は、部位特異的突然変異誘発若しくはアラニンスキャニング突然変異誘発（例えばＡｕｓｕｂｅｌ、上記、第８、１５章；ＣｕｎｎｉｎｇｈａｍとＷｅｌｌｓ、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４４：１０８１－１０８５（１９８９））のような当該技術分野で既知の方法により同定し得る。後者の処置は分子中のすべての残基で単一アラニン突然変異を導入する。生じる変異体分子をその後、本明細書に明記されるか若しくは当該技

術分野で既知のところの限定されるものでないが最低１種のタンパク質関連の活性を挙げることができる生物学的活性について試験する。ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの結合に決定的に重要である部位は、結晶化、核磁気共鳴若しくは光親和性標識（Ｓｍｉｔｈら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２４：８９９－９０４（１９９２）およびｄｅ　Ｖｏｓら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２５５：３０６－３１２（１９９２））のような構造解析によってもまた同定し得る。

【０１０７】

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

【０１０８】

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

【０１０９】

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

【０１１０】

当業者が認識するであろうとおり、本発明は、本発明の最低１種の生物学的に活性のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを包含する。生物学的に活性のミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントは、天然の（非合成の）、内因性の若しくは関連したおよび既知の挿入若しくは融合されたタンパク質または指定された部分若しくはバリアントの比活性の最低２０％、３０％若しくは４０％、および好ましくは最低５０％、６０％若しくは７０％、ならびに最も好ましくは最低８０％、９０％若しくは９５％～１０００％の比活性を有する。酵素活性および基質特異性の尺度のアッセイおよび定量方法は当業者に公知である。

【０１１１】

別の局面において、本発明は、有機部分の共有結合により修飾されている本明細書に記述されるところのヒトミメティボディおよびリガンド結合フラグメントに関する。こうし

た修飾は、改良された薬物動態特性（例えば増大されたｉｎ　ｖｉｖｏ血清半減期）をもつＧＬＰ－１ミメティボディ若しくはリガンド結合フラグメントを生じ得る。該有機部分は、直鎖状若しくは分枝状の親水ポリマー基、脂肪酸基若しくは脂肪酸エステル基であり得る。特定の態様において、親水ポリマー基は約８００ないし約１２０，０００ダルトンの分子量を有し得、そしてポリアルカングリコール（例えばポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリプロピレングリコール（ＰＰＧ））、炭水化物ポリマー、アミノ酸ポリマー若しくはポリビニルピロリドンであり得、また、脂肪酸若しくは脂肪酸エステル基は約８から約４０個までの炭素原子を含み得る。

【０１１２】

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

【０１１３】

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

【０１１４】

本発明のミメティボディを修飾するのに適する脂肪酸および脂肪酸エステルは、飽和であり得るかまたは１個若しくはそれ以上の不飽和単位を含有し得る。本発明のミメティボディを修飾するのに適する脂肪酸は、例えばｎ－ドデカノエート（C_{12}、ラウレート）、ｎ－テトラデカノエート（C_{14}、ミリステート）、ｎ－オクタデカノエート（C_{18}、ステアレート）、ｎ－エイコサノエート（C_{20}、アラキデート）、ｎ－ドコサノエート（C_{22}、ベヘネート）、ｎ－トリアコンタノエート（C_{30}）、ｎ－テトラコンタノエート（C_{40}）、ｃｉｓ－Δ９－オクタデカノエート（C_{18}、オレエート）、全ｃｉｓ－Δ５，８，１１，１４－エイコサテトラエノエート（C_{20}、アラキドネート）、オクタン二酸、テトラデカン二酸、オクタデカン二酸、ドコサン二酸などを包含する。適する脂肪酸エステルは直鎖状若しくは分枝状低級アルキル基を含んでなるジカルボン酸のモノエステルを包含する。該低級アルキル基は１から約１２まで、好ましくは１ないし約６個の炭素原子を含み得る。

【０１１５】

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

【０１１６】

本発明の修飾ミメティボディは、ヒトＧＬＰ－１ミメティボディ若しくはリガンド結合フラグメントを修飾剤と反応させることにより製造し得る。例えば、アミン反応性の修飾剤、例えばＰＥＧのＮＨＳエステルを使用することにより有機部分を部位非特異的様式でＧＬＰ－１ミメティボディに結合し得る。修飾ヒトミメティボディ若しくはリガンド結合フラグメントは、ＧＬＰ－１ミメティボディ若しくはリガンド結合フラグメントのジスルフィド結合（例えば鎖内ジスルフィド結合）を還元することによってもまた製造し得る。還元されたＧＬＰ－１ミメティボディ若しくはリガンド結合フラグメントをその後チオール反応性の修飾剤と反応させて本発明の修飾ＧＬＰ－１ミメティボディを製造し得る。本発明のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの特定の部位に結合されている有機部分を含んでなる修飾ヒトミメティボディおよびリガンド結合フラグメントは、逆タンパク質分解（Ｆｉｓｃｈら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．、３：１４７－１５３（１９９２）；Ｗｅｒｌｅｎら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．、５：４１１－４１７（１９９４）；Ｋｕｍａｒａｎら、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉ．６（１０）：２２３３－２２４１（１９９７）；Ｉｔｏｈら、Ｂｉｏｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．、２４（１）：５９－６８（１９９６）；Ｃａｐｅｌｌａｓら、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．、５６（４）：４５６－４６３（１９９７））、およびＨｅｒｍａｎｓｏｎ，Ｇ．Ｔ．、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ：カリフォルニア州サンディエゴ（１９９６）に記述される方法のような適する方法を使用して製造し得る。

【０１１７】
ＧＬＰ－１ミメティボディ組成物。本発明はまた、天然に存在しない組成物、混合物若しくは形態で提供される、本明細書に記述されかつ／若しくは当該技術分野で既知のところの最低１、最低２、最低３、最低４、最低５、最低６種若しくはそれ以上のミメティボディまたはそれらの指定された部分若しくはバリアントを含んでなる最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの組成物も提供する。こうした組成物のパーセンテージは、当該技術分野で既知若しくは本明細書に記述されるところの液体若しくは乾燥溶液（ｄｒｙ　ｓｏｌｕｔｉｏｎ）、混合物、懸濁液、乳液またはコロイドとしての重量、容量、濃度、モル濃度若しくは重量モル濃度でである。
【０１１８】
こうした組成物は、限定されるものでないが０．００００１、０．００００３、０．００００５、０．００００９、０．０００１、０．０００３、０．０００５、０．０００９、０．００１、０．００３、０．００５、０．００９、０．０１、０．０２、０．０３、０．０５、０．０９、０．１、０．２、０．３、０．４．、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．３、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、９９．１、９９．２、９９．３、９９．４、９９．５、９９．６、９９．７、９９．８、９９．９％を挙げることができる、その中のいずれかの範囲若しくは値での当該技術分野で既知若しくは本明細書に記述されるところの液体、気体若しくは乾燥溶液、混合物、懸濁液、乳液またはコロイドとして０．００００１～９９．９９９９重量、容量、濃度、モル濃度若しくは重量モル濃度パーセントを含み得る。本発明のこうした組成物は、従って限定されるものでないが０．００００１～１００ｍｇ／ｍｌおよび／若しくは０．００００１～１００ｍｇ／ｇを包含する。
【０１１９】
該組成物は、場合によっては、糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する薬物、抗感染薬、心血管（ＣＶ）系薬、中枢神経系（ＣＮＳ）薬、自律神経系（ＡＮＳ）薬、気道薬、胃腸（ＧＩ）管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬などの最低１種から選択される最低１種の化合物若しくはタンパク質の有効量をさらに含み得る。本明細書に提示されるそれぞれの製剤、適応症、投薬および投与を包含するこうした薬物は当該技術分野で公知である（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ　２００１　Ｈａｎｄｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｄｒｕｇｓ、第２１版、Ｓｐｒｉｎｇｈｏｕｓｅ　Ｃｏｒｐ．、ペンシルバニア州スプリングハウス、２００１；Ｈｅａｌｔｈ　Ｐｒｏｆｅｓｓｉｏｎａｌ’ｓ　Ｄｒｕｇ　Ｇｕｉｄｅ　２００１、Ｓｈａｎｎｏｎ、Ｗｉｌｓｏｎ、Ｓｔａｎｇ編、Ｐｒｅｎｔｉｃｅ－Ｈａｌｌ，Ｉｎｃ．、ニュージャージー州アッパーサドルリバー；Ｐｈａｒｍｃｏｔｈｅｒａｐｙ　Ｈａｎｄｂｏｏｋ、Ｗｅｌｌｓら編、Ａｐｐｌｅｔｏｎ　＆　Ｌａｎｇｅ、コネチカット州スタンフォード（それぞれそっくりそのまま引用することにより本明細書に組み込まれる）を参照されたい）。
【０１２０】
糖尿病関連薬は、グリタゾン、インスリンおよび誘導体、スルホニル尿素、メグリチニド、ビグアニド、α－グルコシダーゼ阻害剤、タンパク質チロシンホスファターゼ－１Ｂ、グリコーゲン合成酵素キナーゼ３、糖新生阻害剤、ピルビン酸脱水素酵素キナーゼ（ＰＤＨ）阻害剤、脂肪分解阻害剤、脂肪酸化阻害剤、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼＩおよび／若しくはＩＩ阻害剤、β－３アドレナリン受容体アゴニスト、ナトリウムおよびグルコース共輸送体（ＳＧＬＴ）阻害剤、または：自己免疫抑制、免疫調節、Ｔ

細胞の活性化、増殖、移動および／若しくはサプレッサー細胞機能、Ｔ細胞受容体／ペプチド／ＭＨＣ－ＩＩ相互作用の阻害、Ｔ細胞アネルギーの誘導、自己反応性Ｔ細胞の除去、血液脳関門を横断する輸送の低下、炎症前（Ｔｈ１）および免疫調節（Ｔｈ２）サイトカインのバランスの変化、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤の阻害、神経保護、神経膠症の低下、再ミエリン形成の促進の最低１種の１種若しくはそれ以上に作用する化合物の最低１種であり得る。

【０１２１】

抗感染薬は、殺アメーバ薬若しくは抗原虫薬、駆虫薬、抗真菌薬、抗マラリア薬、抗結核薬若しくは抗らい薬、アミノグリコシド、ペニシリン、セファロスポリン、テトラサイクリン、スルホンアミド、フルオロキノロン、抗ウイルス薬、マクロライド抗感染薬および雑多な抗感染薬から選択される最低１種であり得る。ＣＶ薬は、変力薬、抗不整脈薬、抗狭心症薬、降圧薬、抗高脂血症薬および雑多な心血管薬から選択される最低１種であり得る。ＣＮＳ薬は、非麻薬性鎮痛薬から選択される最低１種、または解熱薬、非ステロイド性抗炎症薬、麻薬性若しくはオピオイド鎮痛薬、鎮痛睡眠薬、抗痙攣薬、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、中枢神経系刺激薬、抗パーキンソン病薬および雑多な中枢神経系薬から選択される最低１種であり得る。ＡＮＳ薬は、コリン作動薬（副交感神経刺激薬）、抗コリン薬、アドレナリン作動薬（交感神経刺激薬）、アドレナリン遮断薬（交感神経遮断薬）、骨格筋弛緩薬および神経筋遮断薬から選択される最低１種であり得る。気道薬は、抗ヒスタミン薬、気管支拡張薬、去痰薬若しくは鎮咳薬および雑多な呼吸器官用薬から選択される最低１種であり得る。ＧＩ管薬は、制酸剤、吸着剤、抗鼓腸薬、消化酵素、胆石溶解剤、止瀉薬、緩下剤、制吐剤および抗潰瘍薬から選択される最低１種であり得る。ホルモン薬は、コルチコステロイド、アンドロゲン、蛋白同化ステロイド、エストロゲン、プロゲスチン、ゴナドトロピン、抗糖尿病薬、最低１種のグルカゴン、甲状腺ホルモン、甲状腺ホルモンアンタゴニスト、下垂体ホルモンおよび副甲状腺様薬物から選択される最低１種であり得る。液体および電解質バランスのための薬物は、利尿薬、電解質、補充液（ｒｅｐｌａｃｅｍｅｎｔ　ｓｏｌｕｔｉｏｎ）、酸性化薬およびアルカリ性化薬から選択される最低１種であり得る。血液製剤は造血剤、抗凝固薬、血液誘導体および血栓溶解酵素から選択される最低１種であり得る。抗腫瘍薬は、アルキル化剤、代謝拮抗薬、抗生物質性抗腫瘍薬、ホルモンバランスを変える抗腫瘍薬および雑多な抗腫瘍薬から選択される最低１種であり得る。免疫調節薬は、免疫抑制薬、ワクチン、類毒素、抗毒素、抗蛇毒、免疫血清および生物学的応答調節剤から選択される最低１種であり得る。眼、耳および鼻の薬物は、眼の抗感染薬、眼の抗炎症薬、縮瞳薬、散瞳薬、眼血管収縮薬および雑多な眼科用薬、耳用薬、鼻用薬から選択される最低１種であり得る。局所薬は、局所抗感染薬、抗疥癬薬、殺シラミ薬および局所コルチコステロイドから選択される最低１種であり得る。栄養薬はビタミン、ミネラルおよび熱素から選択される最低１種であり得る。例えばＮｕｒｓｉｎｇ　２００１　Ｄｒｕｇ　Ｈａｎｄｂｏｏｋ、上記の内容を参照されたい。

【０１２２】

最低１種の殺アメーバ薬若しくは抗原虫薬は、アトバクオン、塩酸クロロキン、リン酸クロロキン、メトロニダゾール、塩酸メトロニダゾールおよびイセチオン酸ペンタミジンから選択される最低１種であり得る。最低１種の駆虫薬はメベンダゾール、パモ酸ピランテルおよびチアベンダゾールから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗真菌薬は、アムホテリシンＢ、アムホテリシンＢ硫酸コレステリル複合体、アムホテリシンＢ脂質複合体、アムホテリシンＢリポソーム製剤、フルコナゾール、フルシトシン、グリセオフルビン微粒子（ｍｉｃｒｏｓｉｚｅ）、グリセオフルビン超微粒子（ｕｌｔｒａｍｉｃｒｏｓｉｚｅ）、イトラコナゾール、ケトコナゾール、ナイスタチンおよび塩酸テルビナフィンから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗マラリア薬は、塩酸クロロキン、リン酸クロロキン、ドキシサイクリン、硫酸ヒドロキシクロロキン、塩酸メフロキン、リン酸プリマキン、ピリメタミン、およびスルファドキシンを伴うピリメタミンから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗結核薬若しくは抗らい薬は、クロファジミン、シ

クロセリン、ダプソン、塩酸エタンブトール、イソニアジド、ピラジナミド、リファブチン、リファンピン、リファペンチンおよび硫酸ストレプトマイシンから選択される最低１種であり得る。最低１種のアミノグリコシドは、硫酸アミカシン、硫酸ゲンタマイシン、硫酸ネオマイシン、硫酸ストレプトマイシンおよび硫酸トブラマイシンから選択される最低１種であり得る。最低１種のペニシリンは、アモキシシリン／クラブラン酸カリウム、アモキシシリン三水和物、アンピシリン、アンピシリンナトリウム、アンピシリン三水和物、アンピシリンナトリウム／スルバクタムナトリウム、クロキサシリンナトリウム、ジクロキサシリンナトリウム、メズロシリンナトリウム、ナフシリンナトリウム、オキサシリンナトリウム、ペニシリンＧベンザチン、ペニシリンＧカリウム、ペニシリンＧプロカイン、ペニシリンＧナトリウム、ペニシリンＶカリウム、ピペラシリンナトリウム、ピペラシリンナトリウム／タゾバクタムナトリウム、チカルシリン二ナトリウムおよびチカルシリン二ナトリウム／クラブラン酸カリウムから選択される最低１種であり得る。最低１種のセファロスポリンは、セファクロル、セファドロキシル、セファゾリンナトリウム、セフジニル、塩酸セフェピム、セフィキシム、セフメタゾールナトリウム、セフォニシドナトリウム、セフォペラゾンナトリウム、セフォタキシムナトリウム、セフォテタン二ナトリウム、セフォキシチンナトリウム、セフポドキシムプロキセチル、セフプロジル、セフタジジム、セフチブテン、セフチゾキシムナトリウム、セフトリアキソンナトリウム、セフロキシムアキセチル、セフロキシムナトリウム、塩酸セファレキシン、セファレキシン一水和物、セフラジン、ロラカルベフの最低１種から選択される最低１種であり得る。最低１種のテトラサイクリンは、塩酸デメクロサイクリン、ドキシサイクリンカルシウム、ドキシサイクリンヒクラート（ｈｙｃｌａｔｅ）、塩酸ドキシサイクリン、ドキシサイクリン一水和物、塩酸ミノサイクリン、塩酸テトラサイクリンから選択される最低１種であり得る。最低１種のスルホンアミドは、コトリモキサゾール（ｃｏ－ｔｒｉｍｏｘａｚｏｌｅ）、スルファジアジン、スルファメトキサゾール、スルフイソキサゾール、アセチルスルフイソキサゾールから選択される最低１種であり得る。最低１種のフルオロキノロンは、メシル酸アラトロフロキサシン、シプロフロキサシン、エノキサシン、レボフロキサシン、塩酸ロメフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシン、メシル酸トロバフロキサシンから選択される最低１種であり得る。最低１種のフルオロキノロンは、メシル酸アラトロフロキサシン、シプロフロキサシン、エノキサシン、レボフロキサシン、塩酸ロメフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシン、メシル酸トロバフロキサシンから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗ウイルス薬は、硫酸アバカビル、アシクロビルナトリウム、塩酸アマンタジン、アンプレナビル、シドフォビル、メシル酸デラビルジン、ジダノシン、エファビレンズ、ファムシクロビル、フォミビルセンナトリウム、ホスカルネットナトリウム、ガンシクロビル、硫酸インジナビル、ラミブジン、ラミブジン／ジドブジン、メシル酸ネルフィナビル、ネビラピン、リン酸オセルタミビル、リバビリン、塩酸リマンタジン、リトナビル、サキナビル、メシル酸サキナビル、スタブジン、塩酸バラシクロビル、ザルシタビン、ザナミビル、ジドブジンから選択される最低１種であり得る。最低１種のマクロライン抗感染薬は、アジトロマイシン、クラリスロマイシン、ジリトロマイシン、エリスロマイシン塩基、エリスロマイシンエストレート、エチルコハク酸エリスロマイシン、ラクトビオン酸エリスロマイシン、ステアリン酸エリスロマイシンから選択される最低１種であり得る。最低１種の雑多な抗感染薬は、アズトレオナム、バシトラシン、コハク酸クロラムフェニコールナトリウム、塩酸クリンダマイシン、塩酸パルミチン酸クリンダマイシン、リン酸クリンダマイシン、イミペネムおよびシラスタチンナトリウム、メロペネム、ニトロフラントイン大結晶（ｍａｃｒｏｃｒｙｓｔａｌ）、ニトロフラントイン微結晶、キヌプリスチン／ダルホプリスチン、塩酸スペクチノマイシン、トリメトプリム、塩酸バンコマイシンから選択される最低１種であり得る。（例えばＮｕｒｓｉｎｇ　２００１　Ｄｒｕｇ　Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．２４～２１４を参照されたい。）

【０１２３】

最低１種の変力薬は、乳酸アムリノン、ジゴキシン、乳酸ミルリノンから選択される最

低１種であり得る。最低１種の抗不整脈薬は、アデノシン、塩酸アミオダロン、硫酸アトロピン、トシル酸ブレチリウム、塩酸ジルチアゼム、ジソピラミド、リン酸ジソピラミド、塩酸エスモロール、酢酸フレカイニド、フマル酸イブチリド、塩酸リドカイン、塩酸メキシレチン、塩酸モリシジン、フェニトイン、フェニトインナトリウム、塩酸プロカインアミド、塩酸プロパフェノン、塩酸プロプラノロール、硫酸水素キニジン、グルコン酸キニジン、ポリガラクツロン酸キニジン、硫酸キニジン、ソタロール、塩酸トカイニド、塩酸ベラパミルから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗狭心症薬は、ベシル酸アムロジピン、亜硝酸アミル、塩酸ベプリジル、塩酸ジルチアゼム、硝酸イソソルビド、一硝酸イソソルビド、ナドロール、塩酸ニカルジピン、ニフェジピン、ニトログリセリン、塩酸プロプラノロール、ベラパミル、塩酸ベラパミルから選択される最低１種であり得る。最低１種の降圧薬は、塩酸アセブトロール、ベシル酸アムロジピン、アテノロール、塩酸ベナゼプリル、塩酸ベタキソロール、フマル酸ビソプロロール、カンデサルタンシレキセチル、カプトプリル、塩酸カルテオロール、カルベジロール、クロニジン、塩酸クロニジン、ジアゾキシド、塩酸ジルチアゼム、メシル酸ドキサゾシン、エナラプリラート、マレイン酸エナラプリル、メシル酸エプロサルタン、フェロジピン、メシル酸フェノルドパム、ホシノプリルナトリウム、酢酸グアナベンズ、硫酸グアナドレル、塩酸グアンファシン、塩酸ヒドララジン、イルベサルタン、イスラジピン、塩酸ラベタロール、リシノプリル、ロサルタンカリウム、メチルドパ、メチルドペート（ｍｅｔｈｙｌｄｏｐａｔｅ）塩酸塩、コハク酸メトプロロール、酒石酸メトプロロール、ミノキシジル、塩酸モエキシプリル、ナドロール、塩酸ニカルジピン、ニフェジピン、ニソルジピン、ニトロプルシドナトリウム、硫酸ペンブトロール、ペリンドプリルエルブミン、メシル酸フェントラミン、ピンドロール、塩酸プラゾシン、塩酸プロプラノロール、塩酸キナプリル、ラミプリル、テルミサルタン、塩酸テラゾシン、マレイン酸チモロール、トランドラプリル、バルサルタン、塩酸ベラパミルから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗高脂血症薬は、アトルバスタチンカルシウム、セリバスタチンナトリウム、コレスチラミン、塩酸コレスチポール、フェノフィブラート（微粒子化）、フルバスタチンナトリウム、ゲムフィブロジル、ロバスタチン、ナイアシン、プラバスタチンナトリウム、シンバスタチンから選択される最低１種であり得る。最低１種の雑多なＣＶ薬は、アブシキシマブ、アルプロスタジル、塩酸アルブタミン、シロスタゾール、重硫酸クロピドグレル、ジピリダモール、エプチフィバチド、塩酸ミドドリン、ペントキシフィリン、塩酸チクロピジン、塩酸チロフィバンから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ　２００１　Ｄｒｕｇ　Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．２１５～３３６を参照されたい。）

【０１２４】

最低１種の非麻薬性鎮痛薬若しくは解熱薬は、アセトアミノフェン、アスピリン、コリンマグネシウムトリサリチル酸、ジフルニサル、サリチル酸マグネシウムから選択される最低１種であり得る。最低１種の非ステロイド性抗炎症薬は、セレコキシブ、ジクロフェナクカリウム、ジクロフェナクナトリウム、エトドラク、フェノプロフェンカルシウム、フルルビプロフェン、イブプロフェン、インドメタシン、インドメタシンナトリウム三水和物、ケトプロフェン、ケトロラクトロメタミン、ナブメトン、ナプロキセン、ナプロキセンナトリウム、オキサプロジン、ピロキシカム、ロフェコキシブ、スリンダクから選択される最低１種であり得る。最低１種の麻薬性若しくはオピオイド鎮痛薬は、塩酸アルフェンタニル、塩酸ブプレノルフィン、酒石酸ブトルファノール、リン酸コデイン、硫酸コデイン、クエン酸フェンタニル、フェンタニル経皮系、フェンタニル経粘膜、塩酸ヒドロモルホン、塩酸メペリジン、塩酸メサドン、塩酸モルヒネ、硫酸モルヒネ、酒石酸モルヒネ、塩酸ナルブフィン、塩酸オキシコドン、ペクチン酸オキシコドン、塩酸オキシモルホン、塩酸ペンタゾシン、塩酸ペンタゾシンおよび塩酸ナロキソン、乳酸ペンタゾシン、塩酸プロポキシフェン、ナプシル酸プロポキシフェン、塩酸レミフェンタニル、クエン酸スフェンタニル、塩酸トラマドールから選択される最低１種であり得る。最低１種の鎮静睡眠薬は、抱水クロラール、エスタゾラム、塩酸フルラゼパム、ペントバルビタール、ペントバルビタールナトリウム、フェノバルビタールナトリウム、セコバルビタールナトリウ

ム、テマゼパム、トリアゾラム、ザレプロン、酒石酸ゾルピデムから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗痙攣薬は、アセタゾラミドナトリウム、カルバマゼピン、クロナゼパム、クロラゼプ酸二カリウム、ジアゼパム、ジバルプロエクスナトリウム、エトスクシムド、ホスフェニトインナトリウム、ギャバペンチン、ラモトリジン、硫酸マグネシウム、フェノバルビタール、フェノバルビタールナトリウム、フェニトイン、フェニトインナトリウム、フェニトインナトリウム（徐放性（ｅｘｔｅｎｄｅｄ））、プリミドン、塩酸タイアガビン、トピラメート、バルプロ酸ナトリウム、バルプロ酸から選択される最低１種であり得る。最低１種の抗うつ薬は、塩酸アミトリプチリン、パモ酸アミトリプチリン、アモキサピン、塩酸ブプロピオン、臭化水素酸シタロプラム、塩酸クロミプラミン、塩酸デシプラミン、塩酸ドキセピン、塩酸フルオキセチン、塩酸イミプラミン、パモ酸イミプラミン、ミルタザピン、塩酸ネファゾドン、塩酸ノルトリプチリン、塩酸パロキセチン、硫酸フェネルジン、塩酸セルトラリン、硫酸トラニルシプロミン、マレイン酸トリミプラミン、塩酸ベンラファキシンから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗不安薬は、アルプラゾラム、塩酸ブスピロン、クロルジアズＧＬＰ－１キシド（ｃｈｌｏｒｄｉａｚＧＬＰ－１ｘｉｄｅ）、塩酸クロルジアズＧＬＰ－１キシド（ｃｈｌｏｒｄｉａｚＧＬＰ－１ｘｉｄｅ）、クロラゼプ酸二カリウム、ジアゼパム、塩酸ドキセピン、エンボン酸ヒドロキシジン、塩酸ヒドロキシジン、パモ酸ヒドロキシジン、ロラゼパム、メフロバメート、塩酸ミダゾラム、オキサゼパムから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗精神病薬は、塩酸クロルプロマジン、クロザピン、デカン酸フルフェナジン、エナント酸フルエフェナジン、塩酸フルフェナジン、ハロペリドール、デカン酸ハロペリドール、乳酸ハロペリドール、塩酸ロキサピン、コハク酸ロキサピン、ベシル酸メソリダジン、塩酸モリンドン、オランザピン、ペルフェナジン、ピモジド、プロクロルペラジン、フマル酸ケチアピン、リスペリドン、塩酸チオリダジン、チオチキセン、塩酸チオチキセン、塩酸トリフルオペラジンから選択される最低１種であり得る。最低１種の中枢神経系刺激薬は、硫酸アンフェタミン、カフェイン、硫酸デキストロアンフェタミン、塩酸ドキサプラム、塩酸メタンフェタミン、塩酸メチルフェニデート、モダフィニル、ペモリン、塩酸フェンテルミンから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗パーキンソン病薬は、塩酸アマンタジン、メシル酸ベンズトロピン、塩酸ビペリデン、乳酸ビペリデン、メシル酸ブロモクリプチン、カルビドパ－レボドパ、エンタカポン、レボドパ、メシル酸ペルゴリド、塩酸プラミペキソール、塩酸ロピニロール、塩酸セレギリン、トルカポン、塩酸トリヘキシフェニジルから選択される最低１種であり得る。最低１種の雑多な中枢神経系薬は、塩酸ブプロピオン、塩酸ドネペジル、ドロペリドール、マレイン酸フルボキサミン、炭酸リチウム、クエン酸リチウム、塩酸ナラトリプタン、ニコチンポラクリレックス、ニコチン経皮系、プロポフォール、安息香酸リザトリプタン、塩酸シブトラミン一水和物、コハク酸スマトリプタン、塩酸タクリン、ゾルミトリプタンから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｄｒｕｇ Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．３３７～５３０を参照されたい。）

【０１２５】

最低１種のコリン作動薬（例えば副交感神経刺激薬）は、塩化ベタネコール、塩化エドロホニウム、臭化ネオスチグミン、メチル硫酸ネオスチグミン、サリチル酸フィゾスチグミン、臭化ピリドスチグミンから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗コリン作動薬は、硫酸アトロピン、塩酸ジシクロミン、グリコピロール酸、ヒヨスチアミン、硫酸ヒヨスチアミン、臭化プロパンテリン、スコポラミン、ブチル臭化スコポラミン、臭化水素酸スコポラミンから選択される最低１種であり得る。最低１種のアドレナリン作動薬（交感神経刺激薬）は、塩酸ドブタミン、塩酸ドーパミン、酒石酸水素メタラミノール、酒石酸水素ノルエピネフリン、塩酸フェニレフリン、塩酸プソイドエフェドリン、硫酸プソイドエフェドリンから選択される最低１種であり得る。最低１種のアドレナリン遮断薬（交感神経遮断薬）は、メシル酸ジヒドロエルゴタミン、酒石酸エルゴタミン、マレイン酸メチセルギド、塩酸プロプラノロールから選択される最低１種であり得る。最低１種の骨格筋弛緩薬は、バクロフェン、カリソプロドール、クロルゾキサゾン、塩酸シクロベンザ

プリン、ダントロレンナトリウム、メトカルバモール、塩酸チザニジンから選択される最低１種であり得る。最低１種の神経筋遮断薬は、ベシル酸アトラクリウム、ベシル酸シサトラクリウム、塩化ドキサクリウム、塩化ミバクリウム、臭化パンクロニウム、臭化ピペクロニウム、臭化ラパクロニウム、臭化ロクロニウム、塩化スクシニルコリン、塩化ツボクラリン、臭化ベクロニウムから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ　２００１　Ｄｒｕｇ　Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．５３１～８４を参照されたい。）

【０１２６】

最低１種の抗ヒスタミン薬は、マレイン酸ブロムフェニラミン、塩酸セチリジン、マレイン酸クロルフェニラミン、フマル酸クレマスチン、塩酸シプロヘプタジン、塩酸ジフェンヒドラミン、塩酸フェキソフェナジン、ロラタジン、塩酸プロメタジン、テオクル酸プロメタジン、塩酸トリプロリジンから選択される最低１種であり得る。最低１種の気管支拡張薬は、アルブテロール、硫酸アルブテロール、アミノフィリン、硫酸アトロピン、硫酸エフェドリン、エピネフリン、酒石酸水素エピネフリン、塩酸エピネフリン、臭化イプラトロピウム、イソプロテレノール、塩酸イソプロテレノール、硫酸イソプロテレノール、塩酸レバルブテロール、硫酸メタプロテレノール、オキシトリフィリン、酢酸ピルブテロール、キシナホ酸サルメテロール、硫酸テルブタリン、テオフィリンから選択される最低１種であり得る。最低１種の去痰薬若しくは鎮咳薬は、ベンゾナテート、リン酸コデイン、硫酸コデイン、臭化水素酸デキストラメトルファン、塩酸ジフェンヒドラミン、グアイフェネシン、塩酸ヒドロモルホンから選択される最低１種であり得る。最低１種の雑多な呼吸器官用薬は、アセチルシステイン、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、ベラクタント、ブデソニド、カルファクタント、クロモリンナトリウム、ドルナーゼα、ＧＬＰ－１プロステノールナトリウム（ＧＬＰ－１ｐｒｏｓｔｅｎｏｌ　ｓｏｄｉｕｍ）、フルニソリド、プロピオン酸フルチカゾン、モンテルカストナトリウム、ネドクロミルナトリウム、パリビズマブ、トリアムシノロンアセトニド、ザフィルルカスト、ジロートンから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ　２００１　Ｄｒｕｇ　Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．５８５～６４２を参照されたい。）

【０１２７】

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

くはリン酸ベタメタゾンナトリウム、リン酸ベタメタゾンナトリウム、酢酸コルチゾン、デキサメサゾン、酢酸デキサメサゾン、リン酸デキサメサゾンナトリウム、酢酸フルドロコルチゾン、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、シピオン酸ヒドロコルチゾン、リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム、コハク酸ヒドロコルチゾンナトリウム、メチルプレドニゾロン、酢酸メチルプレドニゾロン、コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム、プレドニゾロン、酢酸プレドニゾロン、リン酸プレドニゾロンナトリウム、テブト酸プレドニゾロン、プレドニゾン、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、酢酸トリアムシノロンから選択される最低１種であり得る。最低１種のアンドロゲン若しくは蛋白同化ステロイドは、ダナゾール、フルオキシメステロン、メチルテストステロン、デカン酸ナンドロロン、フェンプロピオン酸ナンドロロン、テストステロン、シピオン酸テストステロン、エナント酸テストステロン、プロピオン酸テストステロン、テストステロン経皮系から選択される最低１種であり得る。最低１種のエストロゲン若しくはプロゲスチンは、エステル化エストロゲン、エストラジオール、シピオン酸エストラジオール、エストラジオール／酢酸ノルエチンドロン経皮系、吉草酸エストラジオール、エストロゲン（抱合）、エストロピペート、エチニルエストラジオール、エチニルエストラジオールおよびデソゲストレル、エチニルエストラジオールおよび酢酸エチノジオール、エチニルエストラジオールおよびデソゲストレル、エチニルエストラジオールおよび酢酸エチノジオール、エチニルエストラジオールおよびレボノルゲストレル、エチニルエストラジオールおよびノルエチンドロン、エチニルエストラジオールおよび酢酸ノルエチンドロン、エチニルエストラジオールおよびノルゲスチメート、エチニルエストラジオールおよびノルゲストレル、エチニルエストラジオールおよびノルエチンドロンならびに酢酸およびフマル酸鉄、レボノルゲストレル、酢酸メドロキシプロゲステロン、メストラノールおよびノルエチンドロン、ノルエチンドロン、酢酸ノルエチンドロン、ノルゲストレル、プロゲステロンから選択される最低１種であり得る。最低１種のゴナドロプトロピンは、酢酸ガニレリックス、酢酸ゴナドレリン、酢酸ヒストレリン、メノトロピンから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗糖尿病薬若しくはグルカオンは、アカルボース、クロルプロパミド、グリメピリド、グリピジド、グルカゴン、グリブリド、インスリン、塩酸メトフォルミン、ミグリトール、塩酸ピオグリタゾン、レパグリニド、マレイン酸ロシグリタゾン、トログリタゾンから選択される最低１種であり得る。最低１種の甲状腺ホルモンは、レボチロキシンナトリウム、リオチロニンナトリウム、リオトリックス、甲状腺製剤（ｔｈｙｒｏｉｄ）から選択される最低１種であり得る。最低１種の甲状腺ホルモンアンタゴニストは、メチマゾール、ヨウ化カリウム、ヨウ化カリウム（飽和溶液）、プロピルチオウラシル、放射活性ヨウ素（ヨウ化ナトリウム^{131}Ｉ）、濃ヨウ素溶液（ｓｔｒｏｎｇ　ｉｏｄｉｎｅ　ｓｏｌｕｔｉｏｎ）から選択される最低１種であり得る。最低１種の下垂体ホルモンは、コルチコトロピン、コシントロピン、酢酸デスモプレシン、酢酸リュープロリド、ｒＧＬＰ－１シトリー（ｒＧＬＰ－１ｓｉｔｏｒｙ）コルチコトロピン、ソマトレム、ソマトロピン、バソプレシンから選択される最低１種であり得る。最低１種の副甲状腺様薬物は、カルシフェジオール、カルシトニン（ヒト）、カルシトニン（サケ）、カルシトリオール、ジヒドロタキステロール、エチドロン酸ナトリウムから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ　２００１　Ｄｒｕｇ　Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．６９６～７９６を参照されたい。）

【０１２８】

最低１種の利尿薬は、アセタゾラミド、アセタゾラミドナトリウム、塩酸アミロリド、ブメタニド、クロルタリドン、エタクリン酸ナトリウム、エタクリン酸、フロセミド、ヒドロクロロチアジド、インダパミド、マンニトール、メトラゾン、スピロノラクトン、トルセミド、トリアムテレン、尿素から選択される最低１種であり得る。最低１種の電解質若しくは補充液は、酢酸カルシウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム、クエン酸カルシウム、グルビオナートカルシウム、グルセプト酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、乳酸カルシウム、リン酸カルシウム（第二）、リン酸カルシウム（第三）、デキストラン（高分子量）、デキストラン（低分子量）、ヘタスターチ、塩化マグネシウム、硫酸マグネ

シウム、酢酸カリウム、炭酸水素カリウム、塩化カリウム、グルコン酸カリウム、リンゲル液、リンゲル液（乳酸加）、塩化ナトリウムから選択される最低１種であり得る。最低１種の酸性化剤若しくはアルカリ性化剤は、炭酸水素ナトリウム、乳酸ナトリウム、トロメタミンから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｄｒｕｇ Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．７９７～８３３を参照されたい。）

【０１２９】

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

【０１３０】

最低１種のアルキル化剤は、ブスルファン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シスプラチン、シクロホスファミド、イホスファミド、ロムスチン、塩酸メクロレタミン、メルファラン、塩酸メルファラン、ストレプトゾシン、テモゾロミド、チオテパから選択される最低１種であり得る。最低１種の代謝拮抗薬は、カペシタビン、クラドリビン、シタラビン、フロクスウリジン、リン酸フルダラビン、フルオロウラシル、ヒドロキシ尿素、メルカプトプリン、メトトレキサート、メトトレキサートナトリウム、チオグアニンから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗生物質性抗腫瘍薬は、硫酸ブレオマイシン、ダクチノマイシン、クエン酸ダウノルビシンリポソーム製剤、塩酸ダウノルビシン、塩酸ドキソルビシン、塩酸ドキソルビシンリポソーム製剤、塩酸エピルビシン、塩酸イダルビシン、マイトマイシン、ペントスタチン、プリカマイシン、バルルビシンから選択される最低１種であり得る。ホルモンバランスを変える最低１種の抗腫瘍薬は、アナストロゾール、ビカルタミド、リン酸エストラムスチンナトリウム、エキセメスタン、フルタミド、酢酸ゴセレリン、レトロゾール、酢酸リュープロリド、酢酸メゲストロール、ニルタミド、クエン酸タモキシフェン、テストラクトン、クエン酸トレミフェンから選択される最低１種であり得る。最低１種の雑多な抗腫瘍薬は、アスパラギナーゼ、カルメット－ゲラン桿菌（ＢＣＧ）（生菌、膀胱内）、ダカルバジン、ドセタキセル、エトポシド、リン酸エトポシド、塩酸ゲムシタビン、塩酸イリノテカン、ミトタン、塩酸ミトキサントロン、パクリタキセル、ペグアスパラガーゼ、ポルフィマーナトリウム、塩酸プロカルバジン、リツキシマブ、テニポシド、塩酸トポテカン、トラスツズマブ、トレチノイン、硫酸ビンブラスチン、硫酸ビンクリスチン、酒石酸ビノレルビンから選択される最低１種であり得る。（例えばＮｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｄｒｕｇ Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．８６７～９６３を参照されたい。）

【０１３１】

最低１種の免疫抑制薬は、アザチオプリン、バシリキシマブ、シクロスポリン、ダクリズマブ、リンパ球免疫グロブリン、ムロモマブ－ＣＤ３、ミコフェノール酸モフェチル、塩酸ミコフェノール酸モフェチル、シロリムス、タクロリムスから選択される最低１種であり得る。最低１種のワクチン若しくは類毒素は、ＢＣＧワクチン、コレラワクチン、ジフテリアおよび破傷風類毒素（吸着）、ジフテリアおよび破傷風類毒素ならびに無細胞百日咳ワクチン吸着、ジフテリアおよび破傷風類毒素ならびに全細胞百日咳ワクチン、血友病ｂ複合ワクチン、Ａ型肝炎ワクチン（不活化）、Ｂ型肝炎ワクチン（組換え）、インフルエンザウイルスワクチン１９９９～２０００年三価ＡおよびＢ型（精製表面抗原）、イ

ンフルエンザウイルスワクチン１９９９～２０００年三価ＡおよびＢ型（サブビリオン若しくは精製サブビリオン）、インフルエンザウイルスワクチン１９９９～２０００年三価ＡおよびＢ型（全ビリオン）、日本脳炎ウイルスワクチン（不活化）、ライム病ワクチン（組換えＯｓｐＡ）、麻疹および流行性耳下腺炎および風疹ウイルスワクチン（生）、麻疹および流行性耳下腺炎および風疹ウイルスワクチン（生、弱毒化）、麻疹ウイルスワクチン（生、弱毒化）、髄膜炎菌多糖ワクチン、流行性耳下腺炎ウイルスワクチン（生）、ペストワクチン、肺炎球菌ワクチン（多価）、ポリオウイルスワクチン（不活化）、ポリオウイルスワクチン（生、経口、三価）、狂犬病ワクチン（吸着）、狂犬病ワクチン（ヒト二倍体細胞）、風疹および流行性耳下腺炎ウイルスワクチン（生）、風疹ウイルスワクチン（生、弱毒化）、破傷風類毒素（吸着）、破傷風類毒素（液体）、腸チフスワクチン（経口）、腸チフスワクチン（非経口）、腸チフスＶｉ多糖ワクチン、水痘ウイルスワクチン、黄熱病ワクチンから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗毒素若しくは抗蛇毒は、クロゴケグモ抗蛇毒、マムシ科（Ｃｒｏｔａｌｉｄａｅ）抗蛇毒（多価）、ジフテリア抗毒素（ウマ）、アメリカサンゴヘビ（Ｍｉｃｒｕｒｕｓ　ｆｕｌｖｉｕｓ）抗蛇毒から選択される最低１種であり得る）。最低１種の免疫血清は、サイトメガロウイルス免疫グロブリン（静脈内）、Ｂ型肝炎免疫グロブリン（ヒト）、免疫グロブリン筋肉内、免疫グロブリン静脈内、狂犬病免疫グロブリン（ヒト）、ＲＳウイルス免疫グロブリン静脈内（ヒト）、Rh_0（Ｄ）免疫グロブリン（ヒト）、Rh_0（Ｄ）免疫グロブリン静脈内（ヒト）、破傷風免疫グロブリン（ヒト）、水痘・帯状ヘルペス免疫グロブリンから選択される最低１種であり得る。最低１種の生物学的応答調節物質は、アルデスロイキン、ＧＬＰ－１エチンα（ＧＬＰ－１ｅｔｉｎ　ａｌｆａ）、フィルグラスチム、注射用酢酸グラチラマー、インターフェロンアルファコン－１、インターフェロンα－２ａ（組換え）、インターフェロンα－２ｂ（組換え）、インターフェロンβ－１ａ、インターフェロンβ－１ｂ（組換え）、インターフェロンγ－１ｂ、塩酸レバミソール、オプレルベキン、サルグラモスチムから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ　２００１　Ｄｒｕｇ　Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．９６４～１０４０を参照されたい。）

【０１３２】

最低１種の眼の抗感染薬は、バシトラシン、クロラムフェニコール、塩酸シプロフロキサシン、エリスロマイシン、硫酸ゲンタマイシン、オフロキサシン０．３％、硫酸ポリミキシンＢ、スルファセタミドナトリウム１０％、スルファセタミドナトリウム１５％、スルファセタミドナトリウム３０％、トブラマイシン、ビダラビンから選択され得る。最低１種の眼の抗炎症薬は、デキサメサゾン、リン酸デキサメサゾンナトリウム、ジクロフェナクナトリウム０．１％、フルオロメトロン、フルルビプロフェンナトリウム、ケトロラクトロメタミン、酢酸プレドニゾロン（懸濁液）リン酸プレドニゾロンナトリウム（溶液）から選択される最低１種であり得る。最低１種の縮瞳薬は、塩化アセチルコリン、カルバコール（眼内）、カルバコール（局所）、ヨウ化エコチオファート、ピロカルピン、塩酸ピロカルピン、硝酸ピロカルピンから選択される最低１種であり得る。最低１種の散瞳薬は、硫酸アトロピン、塩酸シクロペントラート、塩酸エピネフリン、ホウ酸エピネフリル、臭化水素酸ホマトロピン、塩酸フェニレフリン、臭化水素酸スコポラミン、トロピカミドから選択される最低１種であり得る。最低１種の眼血管収縮薬は、塩酸ナファゾリン、塩酸オキシメタゾリン、塩酸テトラヒドロゾリンから選択される最低１種であり得る。最低１種の雑多な眼科用薬は、塩酸アプラクロニジン、塩酸ベタキソロール、酒石酸ブリモニジン、塩酸カルテオロール、塩酸ジピベフリン、塩酸ドルゾラミド、フマル酸エメダスチン、フルオレセインナトリウム、フマル酸ケトチフェン、ラタノプロスト、塩酸レボブノロール、塩酸メチプラノロール、塩化ナトリウム（高張）、マレイン酸チモロールから選択される最低１種であり得る。最低１種の耳用薬は、ホウ酸、過酸化カルバミド、クロラムフェニコール、オレイン酸トリエタノールアミンポリペプチド縮合物（ｔｒｉｅｔｈａｎｏｌａｍｉｎｅ　ｐｏｌｙｐｅｐｔｉｄｅ　ｏｌｅａｔｅ－ｃｏｎｄｅｎｓａｔｅ）から選択される最低１種であり得る。最低１種の鼻用薬は、プロピオン酸ベクロメタゾン、ブデソニド、硫酸エフェドリン、塩酸エピネフリン、フルニソリド、プロピオン酸フ

ルチカゾン、塩酸ナファゾリン、塩酸オキシメタゾリン、塩酸フェニレフリン、塩酸テトラヒドロゾリン、トリアムシノロンアセトニド、塩酸キシロメタゾリンから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｄｒｕｇ Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．１０４１－９７を参照されたい。）

【０１３３】

最低１種の局所抗感染薬は、アシクロビル、アムホテリシンＢ、アゼライン酸クリーム、バシトラシン、硝酸ブトコナゾール、リン酸クリンダマイシン、クロトリマゾール、硝酸エコナゾール、エリスロマイシン、硫酸ゲンタマイシン、ケトコナゾール、酢酸マフェニド、メトロニダゾール（局所）、硝酸ミコナゾール、ムピロシン、塩酸ナフチフィン、硫酸ネオマイシン、ニトロフラゾン、ナイスタチン、スルファジアジン銀、塩酸テルビナフィン、テルコナゾール、塩酸テトラサイクリン、チオコナゾール、トルナフテートから選択される最低１種であり得る。最低１種の抗疥癬薬若しくは殺シラミ薬は、クロタミトン、リンダン、ペルメトリンおよびピレトリンから選択される最低１種であり得る。最低１種の局所コルチコステロイドは、ジプロピオン酸ベタメタゾン、吉草酸ベタメタゾン、プロピオン酸クロベタゾール、デソニド、デスオキシメタゾン、デキサメサゾン、リン酸デキサメサゾンナトリウム、酢酸ジフロラゾン、フルオシノロンアセトニド、フルオシノニド、フルランドレノリド、プロピオン酸フルチカゾン、ハルシオニド、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、酪酸ヒドロコルチゾン、吉草酸ヒドロコルチゾン、フロ酸モメタゾン、トリアムシノロンアセトニドから選択される最低１種であり得る。（例えば、Ｎｕｒｓｉｎｇ ２００１ Ｄｒｕｇ Ｈａｎｄｂｏｏｋのｐｐ．１０９８～１１３６を参照されたい。）

【０１３４】

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

【０１３５】

本発明はまた、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを含んでなる組成物若しくは製薬学的組成物のいずれかの適するかつ／若しくは有効な量の最低１種も提供し、場合によっては、最低１種のＴＮＦアンタゴニスト（限定されるものでないがＴＮＦの化学物質若しくはタンパク質アンタゴニスト、ＴＮＦのモノクローナル若しくはポリクローナル抗体若しくはフラグメント、可溶性ＴＮＦ受容体（例えばｐ５５、ｐ７０若しくはｐ８５）またはフラグメント、それらの融合ポリペプチド、あるいは小分子ＴＮＦアンタゴニスト、例えばＴＮＦ結合タンパク質Ｉ若しくはＩＩ（ＴＢＰ－１若しくはＴＢＰ－ＩＩ）、ネレリモンマブ、インフリキシマブ、エンテラセプト（ｅｎｔｅｒａｃｅｐｔ）、ＣＤＰ－５７１、ＣＤＰ－８７０、アフェリモマブ、レネルセプトなどを挙げることができる）、抗リウマチ薬（例えばメトトレキサート、オーラノフィン、金チオグルコース、アザチオプリン、エタネルセプト、金チオリンゴ酸ナトリウム、硫酸ヒドロキシクロロキン、レフルノミド、スルファサルジン）、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋遮断薬、抗菌薬（例えばアミノグリコシド、抗真菌薬、抗寄生虫薬、抗ウイルス薬、カルバペネム、セファロスポリン、フルロルキノロン（ｆｌｕｒｏｒｑｕｉｎｏｌｏｎｅ）、

マクロライド、ペニシリン、スルホンアミド、テトラサイクリン、別の抗菌薬）、抗乾癬薬、コルチコステロイド、蛋白同化ステロイド、糖尿病関連薬、ミネラル、栄養薬、甲状腺薬、ビタミン、カルシウム関連ホルモン、止瀉薬、鎮咳薬、制吐剤、抗潰瘍薬、緩下剤、抗凝固薬、エリスロピエチン（ｅｒｙｔｈｒｏｐｉｅｉｔｉｎ）（例えばエポエチンα）、フィルグラスチム（例えばＧ－ＣＳＦ、Ｎｅｕｐｏｇｅｎ）、サルグラモスチム（ＧＭ－ＣＳＦ、Ｌｅｕｋｉｎｅ）、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬（例えばバシリキシマブ、シクロスポリン、ダクリズマブ）、成長ホルモン、ホルモン補充薬、エストロゲン受容体調節物質、散瞳薬、毛様筋調節薬、アルキル化剤、代謝拮抗薬、有糸分裂阻害剤、放射性医薬品、抗うつ薬、抗躁薬、抗精神病薬、抗不安薬、睡眠薬、交感神経刺激薬、興奮剤、ドネペジル、タクリン、喘息医薬品、βアゴニスト、吸入ステロイド、ロイコトリエン阻害剤、メチルキサンチン、クロモリン、エピネフリン若しくはアナログ、ドルナーゼα（Ｐｕｌｍｏｚｙｍｅ）、サイトカインあるいはサイトカインアンタゴニストから選択される最低１種のさらなる化合物、タンパク質若しくは組成物の有効量をさらに含んでなる。こうしたサイトカインの制限しない例は、限定されるものでないがＩＬ－１ないしＩＬ－２３のいずれかを挙げることができる。適する投薬量は当該技術分野で公知である。例えば、Ｗｅｌｌｓら編、Ｐｈａｒｍａｃｏｔｈｅｒａｐｙ Ｈａｎｄｂｏｏｋ、第２版、Ａｐｐｌｅｔｏｎ ａｎｄ Ｌａｎｇｅ、コネチカット州スタンフォード（２０００）；ＰＤＲ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｏｅｉａ，Ｔａｒａｓｃｏｎ Ｐｏｃｋｅｔ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｏｅｉａ ２０００、豪華版、Ｔａｒａｓｃｏｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、カリフォルニア州ロマリンダ（２０００）（それらの参考文献のそれぞれは引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【０１３６】

こうした組成物はまた、本発明の最低１種の抗体若しくはポリペプチドと会合、結合、共処方若しくは共投与される毒素分子も包含し得る。毒素は場合によっては病的な細胞若しくは組織を選択的に殺すように作用し得る。該病的な細胞は癌若しくは他の細胞であり得る。こうした毒素は、限定されるものでないが、例えばリシン、ジフテリア毒素、蛇毒若しくは細菌毒素の最低１種から選択される、精製された若しくは組換えの毒素または毒素の最低１種の機能的細胞傷害性ドメインを含んでなる毒素フラグメントを挙げることができる。毒素という用語はまた、死をもたらし得る毒性ショックを包含するヒトおよび他の哺乳動物におけるいずれかの病理学的状態を引き起こしうるいずれかの天然に存在する、変異体若しくは組換えの細菌若しくはウイルスにより産生される内毒素および外毒素双方も包含する。こうした毒素は、限定されるものでないが、腸管毒素原性大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）の熱不安定性エンテロトキシン（ＬＴ）、熱安定性エンテロトキシン（ＳＴ）、シゲラ属（Ｓｈｉｇｅｌｌａ）細胞毒、アエロモナス属（Ａｅｒｏｍｏｎａｓ）エンテロトキシン、毒性ショック症候群トキシン－１（ＴＳＳＴ－１）、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃａｌ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）、Ｂ（ＳＥＢ）若しくはＣ（ＳＥＣ）、連鎖球菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃａｌ）エンテロトキシンなどを挙げることができる。こうした細菌は、限定されるものでないが、腸管毒素原性大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）（ＥＴＥＣ）、腸出血性大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）（例えば血清型０１５７：Ｈ７の株）のスピーシーズ、ブドウ球菌属（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）スピーシーズ（例えば黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）、スタフィロコッカス ポジェンス（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｐｙｏｇｅｎｅｓ））、シゲラ属（Ｓｈｉｇｅｌｌａ）スピーシーズ（例えば志賀赤痢菌（Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｄｙｓｅｎｔｅｒｉａｅ）、フレクスナー赤痢菌（Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｆｌｅｘｎｅｒｉ）、ボイド赤痢菌（Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｂｏｙｄｉｉ）およびソンネ赤痢菌（Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｓｏｎｎｅｉ））、サルモネラ属（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ）スピーシーズ（例えばチフス菌（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｔｙｐｈｉ）、豚コレラ菌（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｃｈｏｌｅｒａ－ｓｕｉｓ）、腸炎菌（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｅｎｔｅｒｉｔｉｄｉｓ））、クロストリジウム属（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ）スピーシーズ（例えばウェルシュ菌（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｐｅｒｆｒｉｎｇｅｎｓ）、クロストリジウム ディフィシレ（Ｃｌｏｓｔｒ

idium dificile）、ボツリヌス菌（Clostridium botulinum））、カンフロバクター属（Campholobacter）スピーシーズ（例えばカンフロバクター ジェジュニ（Campholobacter jejuni）、カンフロバクター フェツス（Campholobacter fetus））、ヘリオバクター属（Heliobacter）スピーシーズ（例えばヘリオバクター ピロリ（Heliobacter pylori））、アエロモナス属（Aeromonas）スピーシーズ（例えばアエロモナス ソブリア（Aeromonas sobria）、アエロモナス ヒドロフィラ（Aeromonas hydrophila）、アエロモナス カビエ（Aeromonas caviae））、プレイソモナス シゲロイデス（Pleisomonas shigelloides）、エルジナ エンテロコリティカ（Yersina enterocolitica）、ビブリオ属（Vibrios）スピーシーズ（例えばコレラ菌（Vibrios cholerae）、ビブリオス パラヘモリティクス（Vibrios parahemolyticus））、クレブシエラ属（Klebsiella）スピーシーズ、緑膿菌（Pseudomonas aeruginosa）および連鎖球菌（Streptococci）の株を挙げることができる。例えば、Stein編、INTERNAL MEDICINE、第3版、pp 1－13、Little, Brown and Co.、ボストン、（1990）；Evansら編、Bacterial Infections of Humans：Epidemiology and Control、第2版、pp 239－254、Plenum Medical Book Co.、ニューヨーク（1991）；Mandellら、Principles and Practice of Infectious Diseases、第3版、Churchill Livingstone、ニューヨーク（1990）；Berkowら編、The Merck Manual、第16版、Merck and Co.、ニュージャージー州ローウェー、1992；Woodら、FEMS Microbiology Immunology、76：121－134（1991）；Marrackら、Science、248：705－711（1990）（それらの参考文献の内容は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【0137】

本発明のGLP－1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの組成物は、限定されるものでないが希釈剤、結合剤、安定剤、緩衝剤、塩、親油性溶媒、保存剤、アジュバントなどを挙げることができるいずれかの適する補助物質の最低1種をさらに含み得る。製薬学的に許容できる補助物質が好ましい。こうした滅菌溶液の制限しない例および製造方法は、限定されるものでないが、Gennaro編、Remington's Pharmaceutical Sciences、第18版、Mack Publishing Co.（ペンシルバニア州イーストン）1990を挙げることができる当該技術分野で公知である。当該技術分野で公知若しくは本明細書に記述されるところのGLP－1ミメティボディ組成物の投与様式、溶解性および／若しくは安定性に適する製薬学的に許容できる担体を慣例に選択し得る。

【0138】

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

メチオニン、フェニルアラニン、アスパルテームなどを包含する。１種の好ましいアミノ酸はグリシンである。

【０１３９】

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

【０１４０】

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

【０１４１】

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

【０１４２】

本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ組成物での使用に適するこれらならびに付加的な既知の製薬学的賦形剤および／若しくは添加物は、例えば「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　＆　Ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｙ」、第１９版、Ｗｉｌｌｉａｍｓ　＆　Ｗｉｌｌｉａｍｓ、（１９９５）および「Ｐｈｙｓｉｃｉａｎ’ｓ　Ｄｅｓｋ　Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ」、第５２版、Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｅｃｏｎｏｍｉｃｓ、ニュージャージー州モントベール（１９９８）（それらの開示は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）に列挙されるとおり当該技術分野で既知である。好ましい担体若しくは賦形剤物質は炭水化物（例えば単糖類およびアルジトール）ならびに緩衝剤（例えばクエン酸塩）若しくはポリマー剤である。

【０１４３】

製剤。上に示されたとおり、本発明は、製薬学的に許容できる製剤中に最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを含んでなる、製薬学的若しくは家畜の使用に適する生理的食塩水若しくは選ばれた塩を含む適する緩衝剤を好ましくは包含し得る安定な製剤、ならびに、保存剤を含有する任意の保存される溶液および製剤ならびに多回使用の保存される製剤を提供する。保存される製剤は、水性希釈剤中に、最低１種の既知の若しくは最低１種のフェノール、ｍ－クレゾール、ｐ－クレゾール、ｏ－クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、硝酸フェニル水銀、フェノキシエタノール、ホルムアルデヒド、クロロブタノール、塩化マグネシウム（例えば六水和物）、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウムおよびチメロサールよりなる群から任意に選択される保存剤、またはそれらの混合物を含有する。限定されるものでないが０．００１、０．００３、０．００５、０．００９、０．０１、０．０２、０．０３、０．０５、０．０９、０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、

１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．３、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９またはその中のいずれかの範囲若しくは値を挙げることができる０．００１～５％またはその中のいずれかの範囲若しくは値のような当該技術分野で既知のところのいかなる適する濃度若しくは混合物も使用し得る。制限しない例は、保存剤なし、０．１～２％ｍ－クレゾール（例えば０．２、０．３．０．４、０．５、０．９、１．０％）、０．１～３％ベンジルアルコール（例えば０．５、０．９、１．１、１．５、１．９、２．０、２．５％）、０．００１～０．５％チメロサール（例えば０．００５、０．０１）、０．００１～２．０％フェノール（例えば０．０５、０．２５、０．２８、０．５、０．９、１．０％）、０．０００５～１．０％アルキルパラベン（１種若しくは複数）（例えば０．０００７５、０．０００９、０．００１、０．００２、０．００５、０．００７５、０．００９、０．０１、０．０２、０．０５、０．０７５、０．０９、０．１、０．２、０．３、０．５、０．７５、０．９、１．０％）などを包含する。

【０１４４】

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

【０１４５】

本発明で使用される最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントは、本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知であるとおり、哺乳動物細胞若しくはトランスジェニックの調製物からを包含する組換え手段により製造し得るか、または他の生物学的供給源から精製し得る。

【０１４６】

本発明の生成物中の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの量の範囲は、再構成に際して生じる量、すなわち湿潤／乾燥系での場合は約１．０μｇ／ｍｌから約１０００ｍｇ／ｍｌまでの濃度を包含するとは言え、より低いおよびより高い濃度が操作可能であり、そして意図される送達ベヒクルに依存し、例えば、溶液製剤は、経皮貼付剤、肺、経粘膜、または浸透圧若しくはマイクロポンプ法と異なることができる。

【０１４７】

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

【０１４８】

他の賦形剤、例えば等張剤、緩衝剤、抗酸化剤、保存増強剤を場合によってはかつ好ましくは希釈剤に添加し得る。グリセリンのような等張剤は一般に既知濃度で使用する。生

理学的に耐えられる緩衝剤を、好ましくは、改良されたｐＨ制御を提供するために添加する。製剤は、約ｐＨ４から約ｐＨ１０までのような広範囲のｐＨ、および約ｐＨ５から約ｐＨ９までの好ましい範囲、および約６．０ないし約８．０の最も好ましい範囲を包括し得る。好ましくは本発明の製剤は約６．８と約７．８の間のｐＨを有する。好ましい緩衝剤はリン酸緩衝液、最も好ましくはリン酸ナトリウム、とりわけリン酸緩衝生理的食塩水（ＰＢＳ）を包含する。

【０１４９】

Ｔｗｅｅｎ　２０（ポリオキシエチレン（２０）ソルビタンモノラウレート）、Ｔｗｅｅｎ　４０（ポリオキシエチレン（２０）ソルビタンモノパルミテート）、Ｔｗｅｅｎ８０（ポリオキシエチレン（２０）ソルビタンモノオレエート）、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ　Ｆ６８（ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックコポリマー）およびＰＥＧ（ポリエチレングリコール）のような製薬学的に許容できる可溶化剤、あるいはポリソルベート２０若しくは８０またはポロキサマー１８４若しくは１８８、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ(R)多価アルコール、他のブロックコポリマーのような非イオン性界面活性剤、ならびにＥＤＴＡおよびＥＧＴＡのようなキレート剤のような他の添加物を、凝集を低下させるために該製剤若しくは組成物に場合によっては添加し得る。これらの添加物は、ポンプ若しくはプラスチック容器を使用して製剤を投与する場合にとりわけ有用である。製薬学的に許容できる界面活性剤の存在はタンパク質が凝集する傾向を緩和する。

【０１５０】

本発明の製剤は、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント、ならびにフェノール、ｍ－クレゾール、ｐ－クレゾール、ｏ－クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウムおよびチメロサールよりなる群から選択される保存剤若しくはそれらの混合物を水性希釈剤中で混合することを含んでなる方法により製造し得る。最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントおよび保存剤を水性希釈剤中で混合することは、慣習的溶解および混合手順を使用して実施する。適する製剤を製造するため、例えば、緩衝溶液中の測定された量の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを、所望の濃度のタンパク質および保存剤を提供するのに十分な量の緩衝溶液中で所望の保存剤と組み合わせる。この方法の変形が当業者により認識されるであろう。例えば、成分を添加する順序、付加的な添加物を使用するかどうか、製剤を製造する温度およびｐＨは全部、使用される濃度および投与手段について最適化しうる因子である。

【０１５１】

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

【０１５２】

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

【０１５３】

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

【０１５４】

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

【０１５５】

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

【０１５６】

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

【０１５７】

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

【０１５８】

本発明の製剤は、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントおよび選択された緩衝液、好ましくは生理的食塩水若しくは選ばれた塩を含有するリン酸緩衝液を混合することを含んでなる方法により製造し得る。最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントおよび緩衝剤を水性希釈剤中で混合することは、慣習的な溶解および混合手順を使用して実施する。適する製剤を製造するため、例えば、水若しくは緩衝液中の測定された量の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを、所望の濃度のタンパク質および緩

衝剤を提供するのに十分な量の水中の所望の緩衝剤と組み合わせる。この方法の変形が当業者により認識されるであろう。例えば、成分を添加する順序、付加的な添加物を使用するかどうか、製剤を製造する温度およびｐＨは全部、使用される濃度および投与手段について最適化し得る因子である。

【０１５９】

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

【０１６０】

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

【０１６１】

治療的応用。ミメティボディについての本発明はまた、細胞、組織、器官、動物若しくは患者における、限定されるものでないがインスリン抵抗性、高血糖、低血糖、膵炎、スシング（Ｓｕｓｈｉｎｇ）症候群、黒色表皮症、脂肪萎縮性（ｌｉｐｏａｔｒｒｏｐｈｉｃ）糖尿病、網膜症、腎症、多発ニューロパシー、単神経障害、自律神経ニューロパシー、潰瘍、足潰瘍、関節の問題、感染症（例えば真菌若しくは細菌）などを挙げることができる関連する徴候および症状を包含する、糖尿病、すなわち成人発症若しくは若年発症型、インスリン依存型、インスリン非依存型などを包含するＩ型若しくはＩＩ型糖尿病の調節若しくは処置方法も提供する。

【０１６２】

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

【０１６３】

こうした方法は、場合によっては、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを含んでなる最低１種の組成物若しくは製薬学的組成物の有効量をこうした調節、処置若しくは治療の必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に投与することを含み得る。

【０１６４】

本発明はまた、限定されるものでないが、心原性失神症候群、心筋梗塞、うっ血性心不全、卒中、虚血性卒中、出血、動脈硬化症、アテローム硬化症、糖尿病性動脈硬化性疾患、高血圧症、動脈高血圧症、腎血管性高血圧症、失神、ショック、心血管系の梅毒、心不

全、肺性心、原発性肺高血圧症、心不整脈、心房異所性収縮、心房粗動、心房細動（持続性若しくは発作性）、無秩序若しくは多病巣性心房性頻脈、規則的狭（ｒｅｇｕｌａｒ ｎａｒｒｏｗ）ＱＲＳ頻脈、特異性不整脈、心室細動、Ｈｉｓ束不整脈、房室ブロック、脚ブロック、心筋虚血障害、冠動脈疾患、狭心症、心筋梗塞、心筋症、拡張型うっ血性心筋症、拘束型心筋症、弁膜心疾患、心内膜炎、心膜疾患、心腫瘍、大動脈および末梢動脈瘤、大動脈解離、大動脈の炎症、腹部大動脈およびその側枝の閉塞、末梢血管障害、閉塞性動脈障害、末梢アテローム硬化性（ａｔｈｅｒｏｓｃｌｅｒｏｔｉｃ）疾患、閉塞性血栓性血管炎、機能的末梢動脈障害、レイノー現象およびレイノー病、肢端チアノーゼ、肢端紅痛症、静脈疾患、静脈血栓症、静脈瘤、動静脈瘻、リンパ水腫、脂肪性浮腫、不安定型狭心症、再灌流傷害、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ ｐｕｍｐ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、虚血－再灌流傷害などの最低１種を挙げることができる、細胞、組織、器官、動物若しくは患者における最低１種の心血管疾患の調節若しくは処置方法も提供する。こうした方法は、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを含んでなる組成物若しくは製薬学的組成物の有効量をこうした調節、処置若しくは治療の必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に投与することを場合によっては含み得る。

【０１６５】

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

【０１６６】

ミメティボディは自己骨髄培養物中のようなｅｘ ｖｉｖｏでもまた使用し得る。簡潔には、骨髄を化学療法前に患者から取り出し、そして、場合によっては、場合によっては

１種若しくはそれ以上の付加的なサイトカインと組合せのミメティボディと組合せのＴＰＯおよび／若しくはＧＬＰ－１で処理する。処理した骨髄をその後化学療法後に患者に戻して骨髄の回復を加速する。加えて、単独ならびにＧＬＰ－１ミメティボディおよび／若しくはＧＬＰ－１と組合せのＴＰＯを、骨髄若しくは末梢血前駆体（ＰＢＰＣ）細胞のｅｘ　ｖｉｖｏ増殖にもまた使用し得る。化学療法処置の前に、骨髄を幹細胞因子（ＳＣＦ）若しくはＧ－ＣＳＦで刺激して初期前駆体細胞を末梢循環中に放出させ得る。これらの前駆細胞を場合によっては末梢血から収集しかつ濃縮し、そしてその後、場合によっては、限定されるものでないがＳＣＦ、Ｇ－ＣＳＦ、ＩＬ－３、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－６若しくはＩＬ－１１を挙げることができる１種若しくはそれ以上の他のサイトカインと組合せのＴＰＯおよびミメティボディで培養物中で処理して高密度巨核球培養物に分化かつ増殖させ、それを場合によってはその後高用量化学療法後の患者に戻す。骨髄のｅｘ　ｖｉｖｏ処理のためのＴＰＯの用量は、１００ｐｇ／ｍｌないし１０ｎｇ／ｍｌ、好ましくは５００ｐｇ／ｍｌないし３ｎｇ／ｍｌの範囲にあることができる。ミメティボディの用量はＧＬＰ－１に対する活性が同等であることができ、０．１単位／ｍｌから２０単位／ｍｌまで、好ましくは０．５単位／ｍｌから２単位／ｍｌまで、またはその中のいずれかの範囲若しくは値を使用し得る。

【０１６７】

本発明の組成物、併用療法、共投与、装置および／若しくは方法に適するＴＮＦアンタゴニスト（本発明の最低１種の抗体、その指定された部分およびバリアントをさらに含んでなる）は、限定されるものでないが、抗ＴＮＦ抗体、それらのリガンド結合フラグメント、およびＴＮＦに特異的に結合する受容体分子；サリドマイド、テニダップ、ホスホジエステラーゼ阻害剤（例えばペントキシフィリンおよびロリプラム）、Ａ２ｂアデノシン受容体アゴニストならびにＡ２ｂアデノシン受容体増強物質のようなＴＮＦ合成、ＴＮＦの放出若しくは標的細胞に対するその作用を予防かつ／若しくは阻害する化合物；マイトジェン活性化タンパク質（ＭＡＰ）キナーゼ阻害剤のようなＴＮＦ受容体のシグナル伝達を予防かつ／若しくは阻害する化合物；メタロプロテイナーゼ阻害剤のような膜ＴＮＦ切断を遮断かつ／若しくは阻害する化合物；アンジオテンシン変換酵素（ＡＣＥ）阻害剤（例えばカプトプリル）のようなＴＮＦ活性を遮断かつ／若しくは阻害する化合物；ならびにＭＡＰキナーゼ阻害剤のようなＴＮＦの産生および／若しくは合成を遮断かつ／若しくは阻害する化合物を挙げることができる。

【０１６８】

本明細書で使用されるところの「腫瘍壊死因子抗体」、「ＴＮＦ抗体」、「ＴＮＦα抗体」若しくはフラグメントなどは、ＴＮＦα活性をｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｉｎ　ｓｉｔｕおよび／若しくは好ましくはｉｎ　ｖｉｖｏで低下、遮断、阻害、廃止若しくは妨害する。例えば、本発明の適するＴＮＦヒト抗体はＴＮＦαを結合し得、そして、抗ＴＮＦ抗体、それらの抗原結合フラグメント、およびＴＮＦαに特異的に結合するそれらの指定された変異体若しくはドメインを包含する。適するＴＮＦ抗体若しくはフラグメントは、ＴＮＦのＲＮＡ、ＤＮＡ若しくはタンパク質の合成、ＴＮＦ放出、ＴＮＦ受容体のシグナル伝達、膜ＴＮＦ切断、ＴＮＦ活性、ＴＮＦ産生および／若しくは合成もまた低下遮断、廃止、妨害、予防かつ／若しくは阻害し得る。

【０１６９】

キメラ抗体ｃＡ２は、Ａ２と呼称される高親和性中和マウス抗ヒトＴＮＦα　ＩｇＧ１抗体の抗原結合可変領域、およびヒトＩｇＧ１の定常領域すなわちκ免疫グロブリンよりなる。ヒトＩｇＧ１　Ｆｃ領域は、同種抗体のエフェクター機能を向上させ、循環血清半減期を延長し、そして抗体の免疫原性を低下させる。キメラ抗体ｃＡ２のアビディティーおよびエピトープ特異性はマウス抗体Ａ２の可変領域に由来する。特定の一態様において、マウス抗体Ａ２の可変領域をコードする核酸の好ましい一供給源はＡ２ハイブリドーマ細胞株である。

【０１７０】

キメラＡ２（ｃＡ２）は、天然および組換え双方のヒトＴＮＦαの細胞傷害効果を用量

依存性の様式で中和する。キメラ抗体ｃＡ２および組換えヒトＴＮＦαの結合アッセイから、キメラ抗体ｃＡ２の親和性定数は１．０４×ｌ０^{１０}Ｍ$^{－１}$であると計算された。競合的阻害によるモノクローナル抗体の特異性および親和性の好ましい測定方法は、Ｈａｒｌｏｗら、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、ニューヨーク州コールドスプリングハーバー、１９８８；Ｃｏｌｌｉｇａｎら編、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃ．ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ、ニューヨーク、（１９９２－２００３）；Ｋｏｚｂｏｒら、Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｔｏｄａｙ、４：７２－７９（１９８３）；Ａｕｓｕｂｅｌら編 Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ、ニューヨーク（１９８７－２００３）；およびＭｕｌｌｅｒ、Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．、９２：５８９－６０１（１９８３）（それらの参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）に見出し得る。

【０１７１】

本発明で使用し得るモノクローナル抗ＴＮＦ抗体の付加的な例は当該技術分野で記述されている（例えば、米国特許第５，２３１，０２４号明細書；Ｍｏｅｌｌｅｒ，Ａ．ら、Ｃｙｔｏｋｉｎｅ ２（３）：１６２－１６９（１９９０）；米国特許出願第０７／９４３，８５２号明細書（１９９２年９月１１日出願）；Ｒａｔｈｊｅｎら、国際特許公開第ＷＯ ９１／０２０７８号明細書（１９９１年２月２１日公開）；Ｒｕｂｉｎら、ＧＬＰ－１特許公開第０ ２１８ ８６８号明細書（１９８７年４月２２日公開）；Ｙｏｎｅら、ＧＬＰ－１特許公開第０ ２８８ ０８８号明細書（１９８８年１０月２６日）；Ｌｉａｎｇら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍ．１３７：８４７－８５４（１９８６）；Ｍｅａｇｅｒら、Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ ６：３０５－３１１（１９８７）；Ｆｅｎｄｌｙら、Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ ６：３５９－３６９（１９８７）；Ｂｒｉｎｇｍａｎら、Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ ６：４８９－５０７（１９８７）；およびＨｉｒａｉら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．９６：５７－６２（１９８７）（それらの参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）を参照されたい）。

【０１７２】

ＴＮＦ受容体分子。本発明で有用な好ましいＴＮＦ受容体分子は、高親和性でＴＮＦαを結合し（例えば、Ｆｅｌｄｍａｎｎら、国際特許公開第ＷＯ ９２／０７０７６号明細書（１９９２年４月３０日公開）；Ｓｃｈａｌｌら、Ｃｅｌｌ ６１：３６１－３７０（１９９０）；およびＬｏｅｔｓｃｈｅｒら、Ｃｅｌｌ ６１：３５１－３５９（１９９０）（それらの参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）を参照されたい）かつ場合によっては低免疫原性を有するものである。とりわけ、５５ｋＤａ（ｐ５５ ＴＮＦ－Ｒ）および７５ｋＤａ（ｐ７５ ＴＮＦ－Ｒ）のＴＮＦ細胞表面受容体が本発明で有用である。該受容体の細胞外ドメイン（ＥＣＤ）若しくはそれらの機能的部分を含んでなるこれらの受容体の切断型（例えばＣｏｒｃｏｒａｎら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２２３：８３１－８４０（１９９４）を参照されたい）もまた本発明で有用である。ＥＣＤを含んでなる切断型のＴＮＦ受容体は、尿および血清中で３０ｋＤａおよび４０ｋＤａのＴＮＦα阻害性結合タンパク質として検出された（Ｅｎｇｅｌｍａｎｎ，Ｈ．ら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６５：１５３１－１５３６（１９９０））。ＴＮＦ受容体の多量体分子およびＴＮＦ免疫受容体融合分子、ならびにそれらの誘導体およびフラグメント若しくは部分は、本発明の方法および組成物で有用であるＴＮＦ受容体分子の付加的な例である。本発明で使用し得るＴＮＦ受容体分子は、症状の良好ないし優れた軽減および低毒性を伴い長期間患者を処置するそれらの能力を特徴とする。低免疫原性および／若しくは高親和性ならびに他の定義されていない特性が、達成される治療成績に寄与しうる。

【０１７３】

本発明で有用なＴＮＦ受容体の多量体分子は、１種若しくはそれ以上のポリペプチドリ

ンカー若しくはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）のような他の非ペプチドリンカーを介して結合された２種若しくはそれ以上のＴＮＦ受容体のＥＣＤの全部若しくは機能的一部分を含んでなる。該多量体分子は該多量体分子の発現を指図する分泌型タンパク質のシグナルペプチドをさらに含み得る。これらの多量体分子およびそれらの製造方法は、米国特許出願第０８／４３７，５３３号明細書（１９９５年５月９日出願）（その内容は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）に記述されている。

【０１７４】

本発明の方法および組成物で有用なＴＮＦ免疫受容体融合分子は、１種若しくはそれ以上の免疫グロブリン分子の少なくとも一部分および１種若しくはそれ以上のＴＮＦ受容体の全部若しくは機能的一部分を含んでなる。これらの免疫受容体融合分子は、単量体またはヘテロ若しくはホモ多量体として集成され得る。免疫受容体融合分子はまた一価若しくは多価でもあり得る。こうしたＴＮＦ免疫受容体融合分子の一例はＴＮＦ受容体／ＩｇＧ融合タンパク質である。ＴＮＦ免疫受容体融合分子およびそれらの製造方法は、当該技術分野（Ｌｅｓｓｌａｕｅｒら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２１：２８８３－２８８６（１９９１）；Ａｓｈｋｅｎａｚｉら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８８：１０５３５－１０５３９（１９９１）；Ｐｅｐｐｅｌら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１７４：１４８３－１４８９（１９９１）；Ｋｏｌｌｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９１：２１５－２１９（１９９４）；Ｂｕｔｌｅｒら、Ｃｙｔｏｋｉｎｅ ６（６）：６１６－６２３（１９９４）；Ｂａｋｅｒら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：２０４０－２０４８（１９９４）；Ｂｅｕｔｌｅｒら、米国特許第５，４４７，８５１号明細書；および米国特許出願第０８／４４２，１３３号明細書（１９９５年５月１６日出願）（それらの参考文献のそれぞれは引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる））で記述されている。免疫受容体融合分子の製造方法は、Ｃａｐｏｎら、米国特許第５，１１６，９６４号明細書；Ｃａｐｏｎら、米国特許第５，２２５，５３８号明細書；およびＣａｐｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ ３３７：５２５－５３１（１９８９）（それらの参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）にもまた見出し得る。

【０１７５】

ＴＮＦ受容体分子の機能的同等物、誘導体、フラグメント若しくは領域は、本発明で使用し得るＴＮＦ受容体分子に機能上似ている（例えば高親和性でＴＮＦαを結合しかつ低免疫原性を有する）のに十分な大きさおよび配列のものである、ＴＮＦ受容体分子の部分若しくはＴＮＦ受容体分子をコードするＴＮＦ受容体分子配列の部分を指す。ＴＮＦ受容体分子の機能的同等物は、本発明で使用し得るＴＮＦ受容体分子に機能的に似ている（例えば高親和性でＴＮＦαを結合しかつ低免疫原性を有する）改変されたＴＮＦ受容体分子もまた包含する。例えば、ＴＮＦ受容体分子の機能的同等物は、「サイレント」コドン、または１個若しくはそれ以上のアミノ酸置換、欠失若しくは付加（例えば、１個の酸性アミノ酸の代わりの別のアミノ酸の使用；またはある疎水性アミノ酸をコードする１コドンの代わりの同一若しくは異なる疎水性アミノ酸をコードする別のコドンの使用）を含有し得る。Ａｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃ．ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ－Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ、ニューヨーク（１９８７－２００３）を参照されたい。

【０１７６】

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

【０１７７】

本発明のいずれの方法も、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分

若しくはバリアントを含んでなる組成物若しくは製薬学的組成物の有効量をこうした調節、処置若しくは治療の必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に投与することを含んでなる、タンパク質媒介性の障害の処置方法を含み得る。こうした方法は、前記最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディ、その指定された部分若しくはバリアントの投与が、ＩＬ－３、－６および－１１；幹細胞因子；Ｇ－ＣＳＦおよびＧＭ－ＣＳＦのような最低１種の他のサイトカインから選択される最低１種を前同時かつ／若しくは後に投与することをさらに含んでなる、こうした免疫疾患を処置するための共投与若しくは併用療法を場合によってはさらに含み得る。

【０１７８】

典型的には、病理学的状態の処置は、組成物に含有されるの比活性に依存して、合計で平均して用量あたり患者１キログラムあたり最低約０．０００１から５００ミリグラムまでの最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント、および好ましくは単回若しくは複数回投与あたり患者１キログラムあたり最低約０．００１から１００ミリグラムまでのＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの範囲になる最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディ組成物の有効量若しくは投薬量を投与することにより遂げられる。あるいは、有効血清濃度は単回若しくは複数回投与あたり０．００１～５０００μｇ／ｍｌの血清濃度を含み得る。適する投薬量は医学実務者に既知であり、そしてもちろん特定の疾患状態、投与されている組成物の比活性および処置を受ける特定の患者に依存することができる。いくつかの例において、所望の治療量を達成するために、反復投与、すなわち所望の毎日の用量若しくは効果が達成されるまで個々の投与を反復する特定のモニター若しくは計測された用量の反復個別投与を提供することが必要であり得る。

【０１７９】

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

【０１８０】
あるいは、投与される投薬量は、特定の剤の薬動力学的特徴ならびにその投与様式および経路；受領者の齢、健康状態および重量；症状の性質および程度、付随する処置の種類、処置の頻度、ならびに所望の効果のような既知の因子に依存して変動し得る。通常、有効成分の投薬量は体重１キログラムあたり約０．０００１ないし１００ミリグラムであり得る。投与あたり若しくは除放性の形態で１キログラムあたり通常０．００１ないし１０、および好ましくは０．００１ないし１ミリグラムが所望の結果を得るのに有効である。
【０１８１】
制限しない一例として、ヒト若しくは動物の処置は、単一、注入、若しくは反復用量を使用して、第１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９若しくは４０日の最低１つ、または、あるいは第１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９若しくは２０週の最低１つあるいはそれらのいずれかの組合せに、本発明の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの一時若しくは定期的投薬量として１日あたり０．０００２、０．０００３、０．０００４、０．０００５．０．０００６、０．０００７、０．０００８、００００９、０．００１、０．００２、０．００３、０．００４、０．００５、０．００６、０．００７、０．００８、０．００９、０．０１、０．０２、０．０３、０．０４、０．０５．０．０６、０．０７、０．０８、０．０９、０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．９、１．０、１．１、１．５、２、３、４、５、６、７、８、９若しくは１０ｍｇ／ｋｇのような０．０００１ないし１００ｍｇ／ｋｇを提供し得る。
【０１８２】
内的投与に適する投薬形態物（組成物）は、一般に、単位若しくは容器あたり約０．０００１ミリグラムから約５００ミリグラムまでの有効成分を含有する。これらの製薬学的組成物中で、有効成分は通常組成物の総重量に基づき約０．５～９９．９９９重量％の量で存在することができる。
【０１８３】
非経口投与のためには、ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを、製薬学的に許容できる非経口ベヒクルとともに溶液、懸濁剤、乳剤若しくは凍結乾燥粉末として処方し得るか、または別個に提供し得る。こうしたベヒクルの例は水、生理的食塩水、リンゲル液、ブドウ糖溶液および５％ヒト血清アルブミンである。リポソーム、および不揮発性油のような非水性ベヒクルもまた使用しうる。ベヒクル若しくは凍結乾燥粉末は、等張性（例えば塩化ナトリウム、マンニトール）ならびに化学的安定性（例えば緩衝剤および保存剤）を維持する添加物を含有しうる。該製剤は既知の若しくは適する技術により滅菌する。
【０１８４】
適する製薬学的担体は、この分野の標準的参照教科書、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ａ．Ｏｓｏｌの最新版に記述されている。
【０１８５】
治療的投与。製薬学的に有効な量の本発明の最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを投与するのに多くの既知のおよびの開発されたの様式を使用し得る。本発明のＧＬＰ－１ミメティボディは、吸入またはこの中に（ｈｅｒｅ　ｗｉｔｈｉｎ）記述されるか若しくは当該技術分野で既知の他の様式による投与に適する多様な装置および方法のいずれかを使用して、担体中で溶液、乳剤、コロイド若しくは懸濁剤としてまたは粉末として送達し得る。
【０１８６】
非経口製剤および投与。非経口投与のための製剤は、共通の賦形剤として滅菌水若しくは生理的食塩水、ポリエチレングリコールのようなポリアルキレングリコール、植物起源

の油、水素化ナフタレンなどを含有し得る。注入のための水性若しくは油性懸濁剤は、既知の方法に従って適切な乳化剤若しくは湿潤剤および懸濁化剤を使用することにより製造し得る。注入のための剤は、水性溶液または溶媒中の無菌の注入可能な溶液若しくは懸濁液のような非毒性の経口で投与可能でない希釈剤であり得る。使用可能なベヒクル若しくは溶媒として、水、リンゲル液、等張生理的食塩水などが許容され；通常の溶媒若しくは懸濁化溶媒として無菌の不揮発性油を使用し得る。これらの目的上、天然のまたは合成若しくは半合成の脂肪油若しくは脂肪酸；天然のまたは合成若しくは半合成のモノ若しくはジ若しくはトリグリセリドを包含するいかなる種類の不揮発性油および脂肪酸も使用し得る。非経口投与は当該技術分野で既知であり、そして、限定されるものでないが慣習的注入手段、米国特許第５，８５１，１９８号明細書に記述されるところのガス加圧式無針注入装置、および米国特許第５，８３９，４４６号明細書（引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）に記述されるところのレーザー穿孔器装置を挙げることができる。

【０１８７】

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

【０１８８】

肺／鼻投与。肺投与のため、好ましくは最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの組成物は、肺の下部気道若しくは洞（ｓｉｎｕｓｅｓ）に達するために有効な粒子径で送達される。本発明により、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントは、吸入による治療薬の投与のための当該技術分野で既知の多様な吸入若しくは鼻装置のいずれかにより送達し得る。患者の副鼻腔洞（ｓｉｎｕｓ　ｃａｖｉｔｙ）若しくは肺胞中でのエアゾル化製剤のｄＧＬＰ－１ｓｉｔｉｎｇが可能なこれらの装置は、定量噴霧式吸入器、ネブライザー、乾燥粉末発生装置、噴霧器などを包含する。ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの肺若しくは鼻投与を指図するのに適する他の装置もまた当該技術分野で既知である。全部のこうした装置は、エアゾル中のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの分注のための投与に適する製剤の使用し得る。こうしたエアゾルは溶液（水性および非水性双方）若しくは固体粒子のいずれかから構成され得る。Ｖｅｎｔｏｌｉｎ(R)定量噴霧式吸入器のような定量噴霧式吸入器は典型的に噴射剤ガスを使用し、そして吸気の間の起動を必要とする（例えば第ＷＯ　９４／１６９７０号、同第ＷＯ　９８／３５８８８号明細書を参照されたい）。Ｉｎｈａｌｅ　Ｔｈｅｒａｐｅｕ

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

【０１８９】

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

【０１９０】

噴霧器を用いる使用に適する最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質の製剤は、典型的に、溶液１ｍｌあたり約１ｍｇないし約２０ｍｇの最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質の濃度で水性溶液中にＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質を包含する。該製剤は、賦形剤、緩衝剤、等張剤、保存剤、界面活性剤および好ましくは亜鉛のような剤を包含し得る。該製剤はまた、緩衝剤、還元剤、バルクタンパク質若しくは炭水化物のような、ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質の安定化のための賦形剤若しくは剤も包含し得る。ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質の処方において有用なバルクタンパク質はアルブミン、プロタミンなどを包含する。ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質の処方において有用な典型的な炭水化物は、ショ糖、マンニトール、乳糖、トレハロース、ブドウ糖などを包含する。ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質製剤はまた、エアゾルの形成における溶液の霧化により引き起こされるＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質の表面誘発性凝集を低下若しくは予防し得る界面活性剤も包

含し得る。ポリオキシエチレン脂肪酸エステルおよびアルコールならびにポリオキシエチレンソルビトール脂肪酸エステルのような多様な慣習的界面活性剤を使用し得る。量は一般に製剤の０．００１と１４重量％の間の範囲にわたることができる。本発明の目的上とりわけ好ましい界面活性剤は、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリソルベート８０、ポリソルベート２０などである。ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントのようなタンパク質の製剤について当該技術分野で既知の付加的な剤もまた、製剤中に包含し得る。

【０１９１】

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

【０１９２】

ジェット若しくは超音波いずれかのネブライザーを用いる使用に適する最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの製剤は、典型的には溶液１ｍｌあたり約１ｍｇないし約２０ｍｇの最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントタンパク質の濃度で水性溶液中にＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質を包含する。該製剤は賦形剤、緩衝剤、等張剤、保存剤、界面活性剤、および好ましくは亜鉛のような剤を包含し得る。該製剤はまた、緩衝剤、還元剤、バルクタンパク質若しくは炭水化物のような、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質の安定化のための賦形剤若しくは剤も包含し得る。最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質の処方において有用なバルクタンパク質はアルブミン、プロタミンなどを包含する。最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの処方において有用な典型的な炭水化物は、ショ糖、マンニトール、乳糖、トレハロース、ブドウ糖などを包含する。最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント製剤は、エアゾルの形成において溶液の霧化により引き起こされる最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの表面誘発性凝集を低下若しくは予防し得る界面活性剤もまた包含し得る。ポリオキシエチレン脂肪酸エステルおよびアルコールならびにポリオキシエチレンソルビタル脂肪酸エステルのような多様な慣習的界面活性剤を使用し得る。量は一般に製剤の０．００１と４重量％の間の範囲にわたることができる。本発明の目的上とりわけ好ましい界面活性剤は、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリソルベート８０、ポリソルベート２０などである。最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントタンパク質のようなタンパク質の製剤について当該技術分野で既知の付加的な剤もまた製剤中に包含し得る。

【０１９３】
定量噴霧式吸入器によるＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの組成物の投与。定量噴霧式吸入器（ＭＤＩ）中では、噴射剤、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントおよびいずれかの賦形剤若しくは他の添加物が、液化圧縮ガスを包含する混合物としてキャニスター中に含有される。計量バルブの起動が、好ましくは約１０μｍ未満、好ましくは約１μｍないし約５μｍ、および最も好ましくは約２μｍないし約３μｍの大きさ範囲の粒子を含有するエアゾルとして該混合物を放出する。所望のエアゾル粒子径は、ジェットミル粉砕、噴霧乾燥、臨界点凝縮などを包含する当業者に既知の多様な方法により製造されるＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアント組成物タンパク質の製剤を使用することにより得ることができる。好ましい定量噴霧式吸入器は、３Ｍ若しくはＧｌａｘｏにより製造されかつハイドロフルオロカーボン噴射剤を使用するものを包含する。

【０１９４】
定量噴霧式吸入器装置を用いる使用のための最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの製剤は、一般に、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを例えば界面活性剤の助けを借りて噴射剤中に懸濁した非水性媒体中の懸濁液として含有する微粉を包含することができる。噴射剤は、トリクロロフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタノールおよび１，１，１，２－テトラフルオロエタン、ＨＦＡ－１３４ａ（ヒドロフルオロアルカン－１３４ａ）、ＨＦＡ－２２７（ヒドロフルオロアルカン－２２７）などを包含するクロロフルオロカーボン、ヒドロクロロフルオロカーボン、ヒドロフルオロカーボン若しくは炭化水素のような本目的上使用されるいずれの慣習的物質でもあり得る。好ましくは噴射剤はヒドロフルオロカーボンである。界面活性剤は、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを噴射剤中の懸濁液として安定化させる、有効成分を化学的分解に対し保護する、などのために選ぶことができる。適する界面活性剤はソルビタントリオレエート、ダイズレシチン、オレイン酸などを包含する。いくつかの場合には、エタノールのような溶媒を使用する溶液エアゾルが好ましい。タンパク質のようなタンパク質の製剤について当該技術分野で既知の付加的な剤もまた該製剤に包含し得る。

【０１９５】
当業者は、本発明の方法を、本明細書に記述されない装置を介する最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの組成物の肺投与により達成し得ることを認識するであろう。

【０１９６】
粘膜製剤および投与。粘膜表面を通る吸収のため、最低１種のＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントを投与する組成物および方法は、乳剤粒子の粘膜付着を達成することにより粘膜表面を通る吸収を促進する複数のサブミクロン粒子、粘膜付着性巨大分子、生物活性ペプチドおよび水性連続層を含んでなる乳剤を包含する（米国特許第５，５１４，６７０号明細書）。本発明の乳剤の適用に適する粘膜表面は、角膜、結膜、頬側、舌下、鼻、膣、肺、胃、腸および直腸の投与経路を包含し得る。膣若しくは直腸投与のための製剤例えば坐剤は、賦形剤として例えばポリアルキレングリコール、ワセリン、カカオバターなどを含有し得る。鼻内投与のための製剤は固体であり得、そして賦形剤として例えば乳糖を含有し得るか、または点鼻薬の水性若しくは油性溶液であり得る。頬側投与のためには、賦形剤は糖、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、湖化済デンプンなどを包含する（米国特許第５，８４９，６９５号明細書）。

【０１９７】
経口製剤および投与。経口のための製剤は、腸壁の浸透性を人工的に増大させるための補助物質（例えばレゾルシノール、ならびにポリオキシエチレンオレイルエーテルおよびｎ－ヘキサデシルポリエチレンエーテルのような非イオン性界面活性剤）の共投与、ならびに酵素的分解を阻害するための酵素阻害剤（例えば膵トリプシンインヒビター、ジイソ

プロピルフルオロリン酸（ＤＦＦ）およびトラシロール）の共投与に頼る。経口投与のための固体型投薬形態物の有効構成成分は、ショ糖、乳糖、セルロース、マンニトール、トレハロース、ラフィノース、マルチトール、デキストラン、デンプン、寒天、アルギン酸塩、キチン、キトサン、ペクチン、トラガカントガム、アラビアゴム、ゼラチン、コラーゲン、カゼイン、アルブミン、合成若しくは半合成のポリマーおよびグリセリドを包含する最低１種の添加物と混合し得る。これらの投薬形態物は他の型（１種若しくは複数）の添加物、例えば不活性希釈剤、ステアリン酸マグネシウムのような滑沢剤、パラベン、ソルビン酸、アスコルビン酸、α－トコフェロールのような保存剤、システインのような抗酸化剤、崩壊剤、結合剤、増粘剤、緩衝剤、甘味料、着香料、香料などもまた含有し得る。

【０１９８】

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

【０１９９】

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

【０２００】

長時間投与および製剤。本発明の化合物を単一投与から長時間にわたり、例えば１週ないし１年間被験体に送達することがときに望ましいことがあり得る。多様な持続放出ｄＧＬＰ－１ｔ若しくは植込投薬形態物を利用し得る。例えば、投薬形態物は、体液中で低い程度の溶解性を有する化合物の製薬学的に許容できる非毒性の塩、例えば（ａ）リン酸、硫酸、クエン酸、酒石酸、タンニン酸、パモ酸、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンモノ若しくはジスルホン酸、ポリガラクツロン酸などのような多塩基性酸との酸付加塩；（ｂ）亜鉛、カルシウム、ビスマス、バリウム、マグネシウム、アルミニウム、銅、コバルト、ニッケル、カドミウムなどのような多価金属陽イオン、または例えばＮ，Ｎ’－ジベンジル－エチレンジアミン若しくはエチレンジアミンから形成される有機陽イオンとの塩；あるいは（ａ）および（ｂ）の組合せ、例えば亜鉛タンニン酸塩を含有し得る。加えて、本発明の化合物、若しくは好ましくはたった今記述されたもののような比較的不溶性の塩を、注入に適する例えばゴマ油とともにゲル例えばモノステアリン酸アルミニウムゲル中で処方し得る。とりわけ好ましい塩は、亜鉛塩、亜鉛タンニン酸塩、パモ酸塩などである。注入のための別の型の持続放出ｄＧＬＰ－１ｔ製剤は、例えば米国特許第３，７７３，９１９号明細書に記述されるところのポリ乳酸／ポリグリコール酸ポリマーのようなゆっくりと分解する非毒性の非抗原性ポリマー中に被包化されるために分散された化合物若しくは塩を含有することができる。該化合物、若しくは好ましくは上述されたもののような比較的不溶性の塩は、とりわけ動物での使用のためコレステロールマトリックスのシラスティックペレット中でもまた処方し得る。付加的な持続放出ｄＧＬＰ－１ｔ若し

くは植込製剤、例えば気体若しくは液体リポソームが文献で既知である（米国特許第５，７７０，２２２号明細書、および“Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ”、Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ編、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．、ニューヨーク、１９７８）。

【０２０１】

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

【図面の簡単な説明】

【０２０２】

【図１】配列番号４の重要な機能的ドメインを示すＩｇＧ１足場構造中のＧＬＰ－１ ＭＭＢのヌクレオチドおよびペプチド配列を具体的に説明する。

【図２Ａ－２Ｃ】ＧＬＰ－１ ＭＭＢのＦＡＣＳ結合アッセイを具体的に説明する。図２ＡはＧＬＰ－１ ＭＭＢがＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞に結合することを示す。灰色領域：ＧＬＰ－１ ＭＭＢしかし二次なし；灰色線：二次のみ；点線、陰性対照ＭＭＢおよび二次；黒色線：ＧＬＰ－１ ＭＭＢおよび二次。図２ＢはＧＬＰ－１ ＭＭＢが対照のＨＥＫ２９３Ｅ細胞に結合しないことを示す。灰色領域：ＧＬＰ－１ ＭＭＢしかし二次なし；黒色線：二次のみ；灰色線：ＧＬＰ－１ ＭＭＢおよび二次。図２Ｃは、ＧＬＰ－１ペプチドアナログ（Ａ２Ｓ）がＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３Ｅ細胞への結合についてＧＬＰ－１ ＭＭＢと競合することが可能であることを示す。灰色領域：ＧＬＰ－１ ＭＭＢしかし二次なし；黒色線：ＧＬＰ－１ ＭＭＢおよび二次；破線：ＧＬＰ－１ ＭＭＢ、０．２ｎＭ競合体、二次；点線：ＧＬＰ－１ ＭＭＢ、２０ｎＭ競合体、二次；灰色線：ＧＬＰ－１ ＭＭＢ、１００ｎＭ競合体、二次）。

【図３Ａ－３Ｅ】ＧＬＰ－１ ＭＭＢのｃＡＭＰアッセイを具体的に説明する。図３Ａ：ＩｇＧ１足場構造中のｗｔ ＧＬＰ－１ ＭＭＢ；図３Ｂ：ＧＬＰ－１ペプチド；図３Ｃ：ＩｇＧ４（Ａｌａ／Ａｌａ、Ｓｅｒ－＞Ｐｒｏ）足場構造中のＧＬＰ－１（Ａ２Ｇ）ＭＭＢ；図３Ｄ：ＩｇＧ４（Ａｌａ／Ａｌａ、Ｓｅｒ－＞Ｐｒｏ）足場構造中のＧＬＰ－１（Ａ２Ｓ）ＭＭＢ；図３Ｅ：ＩｇＧ４（Ａｌａ／Ａｌａ、Ｓｅｒ－＞Ｐｒｏ）足場構造中のｗｔ ＧＬＰ－１ ＭＭＢ。

【図４】ＤＰＰ－ＩＶ切断に対するＧＬＰ－１ ＭＭＢの抵抗性を具体的に説明する。

【図５】血清中でのＧＬＰ－１ ＭＭＢの安定性を示す。

【図６】ＧＬＰ－１ ＭＭＢがＲＩＮｍ細胞中でインスリン分泌を引き起こすことを示す。図６ＡはＧＬＰ－１（７－３６）ペプチドおよびエキセンジン－４ペプチドがＲＩＮｍ細胞中でインスリン放出を刺激することを示す。図６Ｂは、ＩｇＧ１若しくはＩｇＧ４（Ａｌａ／Ａｌａ、Ｓｅｒ－＞Ｐｒｏ）いずれかの足場構造中のＧＬＰ－１（Ａ２Ｓ）ＭＭＢまたはＩｇＧ４（Ａｌａ／Ａｌａ、Ｓｅｒ－＞Ｐｒｏ）足場構造中のＧＬＰ－１（Ａ２Ｇ）ＭＭＢが、ＲＩＮｍ細胞中のインスリン分泌の刺激において活性であることを示す。

【図７】ＧＬＰ－１ ＭＭＢがグルコースを（図７Ａ）用量依存性の様式で（図７Ｂ）低下させることを示す。

【図８】カニクイザルにおける４種のＧＬＰ－１ ＭＭＢ（Ａ２Ｇ、Ａ２Ｓ、Ｅｘ－４および野性型）の薬物動態プロファイルを示す。

【図９】糖尿病マウスにおける経口耐糖能試験の間のＧＬＰ－１ ＭＭＢの効果を示す。

【図１０】糖尿病マウスへの慢性投与の間の空腹時血糖に対するＧＬＰ－１ ＭＭＢの効果を示す。

【図１１】糖尿病マウスへの慢性投与後の経口耐糖能試験に対するＧＬＰ－１ ＭＭＢの効果を示す。

【図１２】糖尿病マウスへの慢性投与後のＨｂＡｌｃの低下に対するＧＬＰ－１ ＭＭＢの効果を示す。

【図１３】正常カニクイザルにおける経口耐糖能試験での血糖値（図１３Ａ）およびインスリンレベル（図１３Ｂ）に対するＧＬＰ－１ ＭＭＢの効果を示す。

【図１４】単回投与後の糖尿病マウスの膵島のインスリン染色に対するＧＬＰ－１ ＭＭ

Ｂの効果を示す。
【図１５】ＧＬＰ－１　ＭＭＢが正常イヌで胃排出を遅延させることを示す。
【図１６】ＧＬＰ－１　ＭＭＢが、食餌誘発性肥満マウスで経口耐糖能試験後の血糖を低下させることを示す。
【図１７】ＧＬＰ－１　ＭＭＢが、糖尿病マウスでの腹腔内耐糖能試験で血糖を低下させ（図１７Ａ）かつインスリンレベルを低下させる（図１７Ｂ）ことを示す。
【図１８Ａ】増大する濃度のＧＬＰ－１ＭＭＢに対するラットＩＮＳ－１Ｅ細胞でのｃＡＭＰ応答を示す。該データを双曲線に当てはめて８．７ｎＭのＥＣ$_{50}$および４８．３ｎＭの分泌されるｃＡＭＰの最大量を提供した。
【図１８Ｂ】増大する濃度のＧＬＰ－１ペプチドに対するラットＩＮＳ－１Ｅ細胞でのｃＡＭＰ応答を示す。該データを双曲線に当てはめて０．１１ｎＭのＥＣ$_{50}$および４６．７ｎＭの分泌されるｃＡＭＰの最大量を提供した。
【図１９】増大する濃度のＧＬＰ－１ＭＭＢでのラットＩＮＳ－１Ｅ細胞でのインスリン分泌を示す。
【図２０Ａ】単回ｉｖおよびｓｃ投与（３ｍｇ／ｋｇ）後のラット血漿中のＧＬＰ－１ＭＭＢ濃度を示す。
【図２０Ｂ】単回ｉｖ投与（１ｍｇ／ｋｇ）後のサル血漿中のＧＬＰ－１ＭＭＢ濃度を示す。
【図２１Ａ】ＧＬＰ－１ＭＭＢを投与したＤＩＯマウスでのｉｐＧＴＴを示す。
【図２１Ｂ】図１に提示されるｉｐＧＴＴについての計算された曲線下面積（ＡＵＣ）を示す。
【図２１Ｃ】図２からのデータを双曲線に当てはめ１５μｇ／ｋｇのＥＤ$_{50}$を提供したことを示す。
【図２２Ａ－２２Ｂ】ＣＮＴＯ１９９６（１ｍｇ／ｋｇ）、エキセンジン－４（０．０７ｍｇ／ｋｇ）およびＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）の単回ｉｖ投与で処置した野生型（Ａ）およびＧＬＰ－１Ｒ－／－（Ｂ）マウスでの２４時間累積食餌摂取を示す。値は平均±ＳＥを表し；ＣＮＴＯ１９９６処置群に対し*ｐ＜０．０５。
【図２３Ａ－２３Ｃ】ＣＮＴＯ１９９６（１ｍｇ／ｋｇ）、エキセンジン－４（０．０７ｍｇ／ｋｇ）およびＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）の単回ｉｖ投与後の野生型（Ａ）およびＧＬＰ－１Ｒ－／－（Ｂ）マウスでの耐糖能試験を示す。（Ｃ）野生型（黒色棒）およびＧＬＰ－１Ｒ－／－（灰色棒）マウスでのｉｐＧＴＴ試験の曲線下面積。値は平均±ＳＥを表し；ＣＮＴＯ１９９６処置群に対し*ｐ＜０．０５。
【図２４】ＣＮＴＯ１９９６（１ｍｇ／ｋｇ）、エキセンジン－４（０．０７ｍｇ／ｋｇ）およびＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）で処置した野生型（黒色棒）およびＧＬＰ－１Ｒ－／－（灰色棒）マウスでの胃内容量を示す。値は平均±ＳＥを表し；ＣＮＴＯ１９９６処置群に対し*ｐ＜０．０５。
【図２５】ＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）の単回ｉｖ投与後の多様な時点で実施したＤＩＯマウスでの耐糖能試験を示す。
【図２６】ＤＩＯマウスでのｉｐＧＴＴ（図２５）の間に得られたデータの曲線下面積を示す。
【図２７】単回ｉｖ投与（１ｍｇ／ｋｇ）後のＤＩＯマウス血漿中のＧＬＰ－１　ＭＭＢ濃度を示す。
【図２８】耐糖能試験直後のＧＬＰ－１　ＭＭＢ血漿濃度の関数としてプロットしたＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）の単回ｉｖ投与後の耐糖能試験の曲線下面積を示す。
【実施例１】
【０２０３】
哺乳動物細胞中でのＧＬＰ－１ミメティボディのクローニングおよび発現。
　典型的な哺乳動物発現ベクターは、ｍＲＮＡの転写の開始を媒介する最低１個のプロモーター領域、ＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントのコーディング配列、ならびに転写の終止および転写物のポリアデニル化に必要とされるシグナ

ルを含有する。付加的なエレメントは、エンハンサー、コザック配列ならびにＲＮＡスプライシングのドナーおよびアクセプター部位により隣接される介在配列を包含する。高度に効率的な転写は、ＳＶ４０からの初期および後期プロモーター、レトロウイルス例えばＲＳＶ、ＨＴＬＶＩ、ＨＩＶＩからの末端反復配列（ＬＴＲＳ）、ならびにサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）の初期プロモーターで達成し得る。しかしながら細胞エレメントもまた使用し得る（例えばヒトアクチンプロモーター）。本発明の実施における使用に適する発現ベクターは、例えばｐＩＲＥＳ１ｎｅｏ、ｐＲｅｔｒｏ－Ｏｆｆ、ｐＲｅｔｒｏ－Ｏｎ、ＰＬＸＳＮ若しくはｐＬＮＣＸ（Ｃｌｏｎｅｔｅｃｈ　Ｌａｂｓ、カリフォルニア州パロアルト）、ｐｃＤＮＡ３．１（＋／－）、ｐｃＤＮＡ／Ｚｅｏ（＋／－）若しくはｐｃＤＮＡ３．１／Ｈｙｇｒｏ（＋／－）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、ＰＳＶＬおよびＰＭＳＧ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ、スウェーデン・ウプサラ）、ｐＲＳＶｃａｔ（ＡＴＣＣ　３７１５２）、ｐＳＶ２ｄｈｆｒ（ＡＴＣＣ　３７１４６）ならびにｐＢＣ１２ＭＩ（ＡＴＣＣ　６７１０９）のようなベクターを包含する。使用し得る哺乳動物宿主細胞は、ヒトＨｅｌａ　２９３、Ｈ９およびＪｕｒｋａｔ細胞、マウスＮＩＨ３Ｔ３およびＣ１２７細胞、Ｃｏｓ　１、Ｃｏｓ　７およびＣＶ　１、ウズラＱＣ１－３細胞、マウスＬ細胞ならびにチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞を包含する。

【０２０４】

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

【０２０５】

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

【０２０６】

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

【０２０７】

ＣＨＯ細胞でのクローニングおよび発現。ベクターｐＣ４をＧＬＰ－１ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリアントの発現に使用する。プラスミドｐＣ４はプラスミドｐＳＶ２－ｄｈｆｒ（ＡＴＣＣ受託番号３７１４６）の誘導体である。該プラスミドはＳＶ４０初期プロモーターの制御下にマウスＤＨＦＲ遺伝子を含有する。これらのプラスミドでトランスフェクトされるジヒドロ葉酸活性を欠くチャイニーズハムスター卵巣若しくは他の細胞は、化学療法剤メトトレキサートを補充した選択培地（例えばα－ＭＥＭ、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、メリーランド州ゲイターズバーク）中で細胞を増殖させることにより選択し得る。メトトレキサート（ＭＴＸ）に耐性の細胞中でのＤＨ

ＦＲ遺伝子の増幅は十分に報告されている（例えば、Ｆ．Ｗ．Ａｌｔら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２５３：１３５７－１３７０（１９７８）；Ｊ．Ｌ．ＨａｍｌｉｎとＣ．Ｍａ、Ｂｉｏｃｈｅｍ．ｅｔ Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ １０９７：１０７－１４３（１９９０）；およびＭ．Ｊ．ＰａｇｅとＭ．Ａ．Ｓｙｄｅｎｈａｍ、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：６４－６８（１９９１）を参照されたい）。増大する濃度のＭＴＸ中で増殖させた細胞は、ＤＨＦＲ遺伝子の増幅の結果として標的酵素ＤＨＦＲを過剰産生することにより該薬物に対する耐性を発生する。第二の遺伝子がＤＨＦＲ遺伝子に連結される場合、それは通常共増幅かつ過剰発現される。１，０００コピー以上の増幅された遺伝子（１種若しくは複数）を保有する細胞株を開発するのにこのアプローチを使用し得ることが当該技術分野で既知である。その後、メトトレキサートを取り去る場合に、宿主細胞の１個若しくはそれ以上の染色体に組込まれた増幅された遺伝子を含有する細胞株が得られる。

【０２０８】

プラスミドｐＣ４は、目的の遺伝子を発現させるためにラウス肉腫ウイルスの末端反復配列（ＬＴＲ）の強力なプロモーター（Ｃｕｌｌｅｎら、Ｍｏｌｅｃ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．５：４３８－４４７（１９８５））およびヒトサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）の前初期遺伝子のエンハンサーから単離された１フラグメント（Ｂｏｓｈａｒｔら、Ｃｅｌｌ ４１：５２１－５３０（１９８５））を含有する。プロモーターの下流に、遺伝子の組込みを可能にするＢａｍＨＩ、ＸｂａＩおよびＡｓｐ７１８制限酵素切断部位がある。これらのクローニング部位の後に該プラスミドは３’イントロンおよびラットプレプロインスリン遺伝子のポリアデニル化部位を含有する。他の高効率プロモーター、例えばヒトｂ－アクチンプロモーター、ＳＶ４０初期若しくは後期プロモーターまたは他のレトロウイルス例えばＨＩＶおよびＨＴＬＶＩからの末端反復配列もまた発現に使用し得る。ＣｌｏｎｔｅｃｈのＴｅｔ－ＯｆｆおよびＴｅｔ－Ｏｎ遺伝子発現系ならびに類似の系を、ＧＬＰ－１を哺乳動物細胞中で調節された方法で発現させるのに使用し得る（Ｍ．ＧｏｓｓｅｎとＨ．Ｂｕｊａｒｄ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８９：５５４７－５５５１（１９９２））。ｍＲＮＡのポリアデニル化のため、例えばヒト成長ホルモン若しくはグロビン遺伝子からの他のシグナルを同様に使用し得る。染色体中に組込まれた目的の遺伝子を保有する安定細胞株は、ｇｐｔ、Ｇ４１８若しくはハイグロマイシンのような選択可能なマーカーとのコトランスフェクションに際してもまた選択し得る。初めに１種以上の選択可能なマーカー、例えばＧ４１８およびメトトレキサートを使用することが有利である。

【０２０９】

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

【０２１０】

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

【０２１１】

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

【０２１２】

活性のＤＨＦＲ遺伝子を欠くチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞をトランスフェクションに使用する。５μｇの発現プラスミドｐＣ４をリポフェクションを使用して０．５μｇのプラスミドｐＳＶ２－ｎｅｏとコトランスフェクトする。プラスミドｐＳＶ２ｎｅｏは、支配的選択可能マーカー、すなわちＧ４１８を包含する抗生物質の一群に対す

る耐性を賦与する酵素をコードするＴｎ５からのｎｅｏ遺伝子を含有する。細胞を１μｇ／ｍｌのＧ４１８を補充したα－ＭＥＭに播種する。２日後に細胞をトリプシン処理し、そして１０、２５若しくは５０ｎｇ／ｍｌのメトトレキサートおよび１μｇ／ｍｌのＧ４１８を補充したα－ＭＥＭ中でハイブリドーマクローニングプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ、ドイツ）に播種する。約１０～１４日後に単一クローンをトリプシン処理し、そしてその後多様な濃度のメトトレキサート（５０ｎＭ、１００ｎＭ、２００ｎＭ、４００ｎＭ、８００ｎＭ）を使用して６ウェルペトリ皿若しくは１０ｍｌフラスコに播種する。最高濃度のメトトレキサートで増殖するクローンをその後なおより高濃度のメトトレキサート（１ｍＭ、２ｍＭ、５ｍＭ、１０ｍＭ、２０ｍＭ）を含有する新たな６ウェルプレートに移す。１００～２００ｍＭの濃度で増殖するクローンが得られるまで同一の手順を反復する。所望の遺伝子産物の発現を例えばＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびウエスタンブロット若しくは逆相ＨＰＬＣ分析により分析する。

【実施例２】

【０２１３】

本発明のＧＬＰ－１ミメティボディの制限しない例。

ＧＬＰ－１は経口グルコース投与後に腸のＬ細胞から分泌される３７アミノ酸のペプチドである。生物学的に活性のＧＬＰ－１（７－３７）ペプチド、バリアント若しくは誘導体を組み込むミメティボディ構築物は、該ペプチドのｉｎ　ｖｉｖｏ寿命を延長しかつ２型糖尿病患者で血糖を低下させるための新規療法を提供すると期待される。天然のＧＬＰ－１（７－３７）ペプチド若しくはＤＰＰ－ＩＶ抵抗性アナログをコードするペプチドをミメティボディの足場構造に組み込み得る。これらの分子の数種を作成し、そして、生じるミメティボディは機能的なｉｎ　ｖｉｔｒｏの細胞に基づくアッセイで活性を示した。多様なｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイおよびｉｎ　ｖｉｖｏモデルをこれらの研究で使用し得、そして効力は相互に若しくは本明細書に提示される結果と比較可能でないかもしれないことに注意すべきである。

【０２１４】

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

【０２１５】

野性型ＧＬＰ－１配列（配列番号４ａのＧＬＰ－１ＭＭＢ）ならびに配列番号４ｃのＧＬＰ－１ＭＭＢ（Ａ２Ｓ）若しくは配列番号４ｂのＧＬＰ－１ＭＭＢ（Ａ２Ｇ）のようなＤＤＰ－ＩＶ抵抗性ＧＬＰ－１バリアントをミメティボディの足場構造に組込み得る。ＧＬＰ－１ミメティボディの特性を改良するために該ペプチドの突然変異を行い得る。例えば、アミノ末端残基での突然変異はシグナル伝達を改良しうる一方、らせん状ドメイン中の突然変異は該ヘリックスを安定化することができかつそれによりミメティボディの受容体への結合および／若しくは安定性を向上させうる。

【０２１６】

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

【０２１７】

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

（（Ｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、［ここでＰは１コピーの生物活性ＧＬＰ－１ペプチド（７－３６）であり、ＬはＧｌｙ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒいずれかのフレキシブルリンカーのタンデム反復であり、ＶはＶ$_{H}$配列のＣ末端すなわち天然に存在するＩｇＧのＪ領域であり、Ｈは完全なＩｇＧ４ヒンジ領域であり、そしてＣＨ２およびＣＨ３はＩｇＧ４アイソタイプサブクラスのものである］
のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物（配列番号２）である。この構築物の半減期はＧＬＰ－１ペプチド単独またはそのバリアント若しくは誘導体のものの多数倍でありかつＩｇＧのものに類似であろうことが期待される。

【０２１８】

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

【０２１９】

組換えＤＮＡ法を使用して、ＧＬＰ－１ペプチドを免疫グロブリンシグナルペプチドとヒトＪ配列の間で中間体ベクターに挿入した。これは、該ベクター中に存在する制限部位と適合性の端をもつ相補合成オリゴヌクレオチドを使用して行った。これらのオリゴヌクレオチドは、ＧＬＰ－１ペプチドのコーディング配列および２個のＧＧＧＳ反復配列から構成されるフレキシブルリンカーを含んだ。前述の機能エレメントを含有する制限フラグメントをその後発現ベクター中に移した。このベクターは、抗ＣＤ４免疫グロブリンのプロモーターおよびエンハンサーならびにヒトＩｇＧ４ヒンジ配列、ＨＣ定常領域２（ＣＨ２）および定常領域３（ＣＨ３）のコーディング配列、ならびに細菌中でのプラスミドの複製および選択ならびに哺乳動物細胞中での安定な発現体の選択のための必要なエレメントを含有した。

【０２２０】

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

【０２２１】

ＧＬＰ－１ミメティボディのアミノ酸配列を図１に示す。機能的ドメインをペプチドコーディング配列の上に注記する。Ｊ配列は、ＧＬＰ－１セグメントに適正なコンホメーションをとらせ、また、該ペプチドを免疫グロブリンの球状構造から突出させてＧＬＰ－１受容体への結合のための適切な方位を可能にするためのなおより大きな柔軟性を提供するであろうと考えられる。ＣＨ２およびＣＨ３領域がタンパク質の大部分を構成する。免疫グロブリンが長い血清半減期を有すると考えられる理由の１つは、飲作用された免疫グロブリンを細胞外間隙に戻すことにより血清半減期を延長する、ＦｃＲｎを結合するそれらの能力である。ＦｃＲｎの結合部位はＣＨ２およびＣＨ３領域の接合部と重なる（Ｓｈｅｉｌｄｓら、２００１、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、ｖｏｌ．２７６（９）、６５９１－６６０４）。

【０２２２】

２本のＩｇＧ　Ｈ鎖は、ヒンジ領域中に位置するシステイン間のジスルフィド結合を介して細胞のプロセシングの間に集成されてホモ二量体を形成することが公知である。改変されたペプチド間でもまたこれが発生して集成されたＧＬＰ－１ミメティボディ構築物を形成するであろうことが期待される。ＧＬＰ－１ミメティボディの期待される構造は２個のＧＬＰ－１ペプチドを含有する。

【０２２３】
類似の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。

【実施例３】
【０２２４】
ＦＡＣＳ結合アッセイ。
ＧＬＰ－１ミメティボディの活性をｉｎ　ｖｉｔｒｏ　ＦＡＣＳ結合アッセイで試験した。ＧＬＰ－１　ＭＭＢがＧＬＰ－１Ｒを結合するかどうかを決定するため、ＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞（1×10^{6}細胞）を配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（２０ｎＭ）と４℃で２時間インキュベートした。細胞を洗浄し、そして蛍光標識した二次検出抗体（１μｇ／ｍＬヤギ抗ヒトＩｇＧ、Ｆｃ　γ特異的）を４℃で３０分間添加した。フローサイトメトリーを介して細胞の蛍光強度をモニターした。図２Ａは、配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢがＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞に結合することを示す（灰色、配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢしかし二次なし；黒色、二次のみ；赤色、陰性対照ＭＭＢおよび二次；青色、ＧＬＰ－１　ＭＭＢおよび二次）。図２Ｂは、配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢが対照ＨＥＫ２９３細胞に結合しないことを示す（灰色、配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢしかし二次なし；黒色、二次のみ；青色、配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢおよび二次）。図２Ｃは、ＧＬＰ－１ペプチドアナログ（Ａ２Ｓ）がＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞への結合について配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢと競合することが可能であることを示す（灰色、配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢしかし二次なし；黒色、配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢおよび二次；橙色、配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢ、０．２ｎＭ競合体、二次；青色、配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢ、２０ｎＭ競合体、二次；赤色、配列番号４ａのＧＬＰ－１　ＭＭＢ、１００ｎＭ競合体、二次）。
【０２２５】
類似の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。

【実施例４】
【０２２６】
ｃＡＭＰアッセイ。
ＧＬＰ－１は、その受容体すなわちＧタンパク質共役型受容体に結合してシグナル伝達分子３’，５’－環状ＡＭＰ（ｃＡＭＰ）の用量依存性の増加をもたらす。ｃＡＭＰはＧＬＰ－１Ｒを発現する細胞中でのｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）で測定し得る。簡潔には、Ｒｉｎｍ細胞（１００，０００細胞）を、増大する濃度のＧＬＰ－１ペプチド（０～３０ｎＭ）若しくはＧＬＰ－１　ＭＭＢ（０～１００ｎＭ）とともにインキュベートした。細胞を溶解し、そしてアルカリホスファターゼ標識ｃＡＭＰ複合物および化学発光基質（Ｔｒｏｐｉｘ(R)　ＣＤＰＤ(R)）を使用する競合アッセイを使用してｃＡＭＰの量を測定した。配列番号４ａのｗｔ　ＧＬＰ－１　ＭＭＢの濃度依存性のｃＡＭＰ活性（図３Ａ）はＧＬＰ－１ペプチド（図３Ｂ）に匹敵する（それぞれEC_{50}＝１１ｎＭ対０．４ｎＭ）。類似の実験で、ＩｇＧ４の足場構造中の配列番号４ｂのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（Ａ２Ｇ）（図３Ｃ）およびＩｇＧ４の足場構造中の配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（Ａ２Ｓ）（図３Ｄ）は、双方ともＲｉｎｍ細胞中のｃＡＭＰレベルをＩｇＧ４の足場構造中の配列番号４ａのｗｔ　ＧＬＰ－１　ＭＭＢよりも有意により高レベルに増大させた。
【０２２７】
類似の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。

【実施例５】
【０２２８】
ｃＡＭＰにより測定されるところのＧＬＰ－１ＭＭＢのｉｎ　ｖｉｔｒｏ活性

ＬＡＮＣＥ^{TM} ｃＡＭＰアッセイを使用して、ラットＧＬＰ－１受容体を発現するラットインスリノーマ細胞株ＩＮＳ－１Ｅ細胞でのＧＬＰ－１ＭＭＢの機能的活性を測定した。

【０２２９】

材料／方法：ＩＮＳ－１Ｅ細胞を、ＲＰＭＩ １６４０／１０％ＦＢＳ／１％Ｌ－グルタミン／１％ピルビン酸ナトリウム／１％非必須アミノ酸／５０μＭ β－メルカプトエタノール中で培養しかつ５％CO_2を含む加湿インキュベーター中３７℃で維持した。ＬＡＮＣＥ ｃＡＭＰキットはＰｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ（マサチューセッツ州ボストン）から購入した。ＧＬＰ－１ペプチドはＳｉｇｍａ（ミズーリ州セントルイス）から購入した。データはＧｒａｐｈＰａｄ ＰＲＩＳＭ、バージョン４．０３で解析した。

【０２３０】

ｃＡＭＰアッセイ：ＩＮＳ－１Ｅ細胞を９６ウェルプレート（Ｃｏｓｔｅｒ ３６１０）に１００，０００細胞／ウェルでプレーティングし、そして通常の増殖培地中で４日回復させた。培地をウェルから吸引し、そして２４μｌのＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ６４７抗ｃＡＭＰ抗体（ＬＡＮＣＥ ｃＡＭＰキット、Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ、マサチューセッツ州ボストン）、次いで２４μｌの配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢ（ＰＢＳ／０．５％ＢＳＡ／０．５ｍＭ ＩＢＭＸ中）を添加した。細胞を室温で７分間刺激しそして製造元のプロトコルに従って溶解した。プレートを室温で１時間インキュベートしそして蛍光強度を６６５ｎｍで測定した。ｃＡＭＰ濃度は標準曲線を使用して決定した。

【０２３１】

結果：ｃＡＭＰの濃度を配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢの濃度（ｎＭ）に対しプロットし、そして点を双曲線に当てはめ、８．７ｎＭのEC_{50}を提供した（図１８Ａ）。ＧＬＰ－１ペプチドで得られたデータを同一の様式でプロットして０．１１ｎＭのEC_{50}を提供した（図１８Ｂ）。

【実施例６】

【０２３２】

ＤＰＰ－ＩＶ切断アッセイ。

ＧＬＰ－１はＤＰＰ－ＩＶにより急速に不活性化されるため、無傷の（すなわち切断されない）配列番号４ａのＧＬＰ－１ ＭＭＢを定量するためのｉｎ ｖｉｔｒｏアッセイを確立した。簡潔には、配列番号４ａのＧＬＰ－１ ＭＭＢ若しくはペプチド（１．２ｎＭ）をＤＰＰ－ＩＶ（１μｇ／ｍＬ、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ）と室温でインキュベートした。多様な時間（０、５、１０、１５、２０、３０、４０分）後にＤＰＰ－ＩＶ阻害剤（１００μＭ、Ｌｉｎｃｏ）を添加して反応をクエンチした。無傷の配列番号４ａのＧＬＰ－１ ＭＭＢ若しくはペプチドの量を、ＧＬＰ－１ Ａｃｔｉｖｅ ＥＬＩＳＡ（Ｌｉｎｃｏ）、およびそれぞれの標準曲線のため配列番号４ａのＧＬＰ－１ ＭＭＢ若しくはペプチドを使用して測定した。図４は、配列番号４ａのＧＬＰ－１ ＭＭＢがＧＬＰ－１ペプチドに関してＤＰＰ－ＩＶによる切断に対し有意により抵抗性であったことを示す。

【０２３３】

同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。

【実施例７】

【０２３４】

ヒト血清安定性アッセイ。

他の血清プロテアーゼがＧＬＰ－１ ＭＭＢを切断かつ不活性化することが可能でなかったことを確認するために血清中でのＧＬＰ－１ ＭＭＢの安定性もまた測定した。簡潔には、ＧＬＰ１ペプチド若しくは配列番号４ｃのＧＬＰ１ ＭＭＢ（３０ｎＭ）をヒト血清中３７℃でインキュベートした。多様な時間後に反応をＤＰＰ－ＩＶ阻害剤（１００μＭ、Ｌｉｎｃｏ）でクエンチし、そしてＬｉｎｃｏからのＧＬＰ－１ Ａｃｔｉｖｅ ＥＬＩＳＡを使用してサンプルを分析した。図５は、配列番号４ｃのＧＬＰ－１ ＭＭＢがヒト血清中で２４時間安定である一方、ペプチドは迅速に崩壊されることを示す。

【０２３５】

同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。
【実施例８】
【０２３６】
ＧＬＰ－１　ＭＭＢはＲＩＮｍ細胞中でインスリン分泌を引き起こす。
インスリン分泌におけるＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果を試験するため、ＲＩＮｍ細胞を増大する濃度のＧＬＰ－１（７－３６）ペプチド（０～５ｎＭ）、エキセンジン－４ペプチド（０～５ｎＭ）または多様なＧＬＰ－１ミメティボディ（５若しくは５０ｎＭ）で処理し、そして分泌されるインスリンの量をＥＬＩＳＡを介して測定した。試験した全部のＧＬＰ－１　ＭＭＢがＲＩＮｍ細胞中のインスリン分泌の刺激において活性を有した（図６）。５０ｎＭで、ＭＭＢは野性型ＧＬＰ－１（７－３６）ペプチドのものに匹敵する活性を有した。
【実施例９】
【０２３７】
インスリン分泌により測定されるところのＧＬＰ－ＭＭＢのｉｎ　ｖｉｔｒｏ活性。
配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢの機能的ｉｎ　ｖｉｔｒｏ活性を測定するためさらなるインスリン分泌アッセイを開発した。
【０２３８】
細胞培養：ＩＮＳ－１Ｅ細胞はＲＰＭＩ　１６４０／１０％ＦＢＳ／１％Ｌ－グルタミン／１％ピルビン酸ナトリウム／１％非必須アミノ酸／５０μＭβ－メルカプトエタノール中で培養しかつ５％CO_2を含む加湿インキュベーター中３７℃で維持した。データはＧｒａｐｈＰａｄ　ＰＲＩＳＭ、バージョン４．０３で解析した。
【０２３９】
インスリン分泌アッセイ：ＩＮＳ－１Ｅ細胞を１００，０００細胞／ウェルで９６ウェルプレート（Ｃｏｓｔｅｒ　３６１０）にプレーティングし、そして通常の増殖培地中で４日回復させた。細胞を２回洗浄し、そして０．１ｍｌのＫＲＢＨ緩衝液／３ｍＭグルコースを添加した。細胞をこの緩衝液中で２時間平衡化させた。培地を除去し、そして６．５ｍＭグルコースを含むＫＲＢＨ中の配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢの０．１２ｍｌをウェルあたりに添加した。Ｔ＝０の時間点についてウェルあたり２０マイクロリットルの上清を取り出した。細胞を５％CO_2で３７℃で２時間インキュベートし、そしてウェルあたり２０マイクロリットルの上清を取り出した。上清はインスリンＥＬＩＳＡを実施するまで－２０℃で凍結した。インスリン濃度は超高感度ラットインスリン（Ｕｌｔｒａ　Ｓｅｎｓｉｔｉｖｅ　Ｒａｔ　Ｉｎｓｕｌｉｎ）ＥＬＩＳＡキット（Ｃｒｙｓｔａｌ　Ｃｈｅｍ）を使用して測定した。
【０２４０】
結果：データを配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢの各濃度で分泌されたインスリンの量としてプロットした（図１９）。配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢ（２５ｎＭ）は上清中に分泌されるインスリンの量を有意に増大した。
【実施例１０】
【０２４１】
ＧＬＰ－１　ＭＭＢはｄｂ／ｄｂマウスにおいてグルコースレベルを低下させる。
６週齢のｄｂ／ｄｂマウスを２時間絶食させ、そしてその後ベヒクル、ＧＬＰ－１ペプチド若しくは配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（Ａ２Ｓ）を静脈内投与した。投与後０．５、１、２、３および４時間に血糖をモニターした。ＧＬＰ－１ペプチドは３０分で血糖を低下させたが、しかし、ありそうにはＧＬＰ－１ペプチドの短い半減期により６０分までに血糖が再度増大し始めた。相対的に、ＧＬＰ－１ペプチドの用量より１００倍より低い用量の配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（Ａ２Ｓ）は、４時間全体を通じて血糖の低下を誘発した（図７Ａ）。加えて血糖の低下は用量依存的であった（図７Ｂ）。
【０２４２】
同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。
【実施例１１】

【０２４３】
マウスおよびカニクイザルにおけるＧＬＰ－１　ＭＭＢの薬物動態。
４種のＧＬＰ－１ミメティボディ（Ａ２Ｇ、Ａ２Ｓ、エキセジン（ｅｘｅｄｉｎ）－ｃａｐおよびｗｔ）（それぞれ配列番号４ｂ、配列番号４ｃ、配列番号４ｄおよび配列番号４a）の薬物動態を測定するため、Ｃ５７／Ｂｌ６マウスに１ｍｇ／ｋｇのＭＭＢを静脈内投与した。多様な時点でマウスを殺した後に心穿刺を介して血漿を得た。多様なＥＬＩＳＡを使用してＦｃ、全ＭＭＢ、活性ＭＭＢおよびそれらが動物中で代謝されたところの活性ペプチドを測定した。活性ＭＭＢはミメティボディのＦｃ領域になお結合されている該ペプチドの無傷のＮ末端を反映する。該ペプチド中の第二のアミノ酸（アラニン）のセリン若しくはグリシンいずれかでの置換は循環中の活性のＭＭＢの寿命を延長した。
【０２４４】
カニクイザルに１．０ｍｇ／ｋｇの４種の異なるＧＬＰ－１　ＭＭＢ構築物を静脈内注入し、そして投与後１０分から５日までの多様な時点で血清サンプルを採取した。血清サンプルをＥＬＩＳＡにより評価して無傷のＭＭＢを定量した。図８に具体的に説明されるとおり、全４種のＭＭＢが急速な分布期次いでより遅い消失期を表す。構築物のそれぞれについて薬物動態定数を計算し、Ｔ＝０からＴ＝１２０時間までのＡＵＣにより決定される類似の曝露を伴うおよそ３日の$T_{1/2}$を示した。
【０２４５】
同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。
【実施例１２】
【０２４６】
ラットおよびサルにおけるＧＬＰ－１ＭＭＢの薬物動態の特徴付け。
ＧＬＰ－１ＭＭＢを、その薬物動態（ＰＫ）プロファイルを延長しつつＧＬＰ－１の生物活性を維持するよう工作した。
【０２４７】
ラットでの薬物動態：Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙ由来ラットを配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢ（３．０ｍｇ／ｋｇ、ロット番号８８３３１７３）の単回皮下若しくは静脈内投与で処置した（１）。およそ３００μｌの血液を、プロテアーゼ阻害剤（Ｒｏｃｈｅ　Ｃｏｍｐｌｅｔｅ　ＥＤＴＡ　ｆｒｅｅ、Ｒｏｃｈｅ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｓｃｉｅｎｃｅ、インジアナ州インジアナポリス）およびＤＰＰ４阻害剤（Ｌｉｎｃｏ、ミズーリ州セントチャールズ）を含有するクエン酸ナトリウム（３．８％）中に、投与後多様な時点で収集した。血漿を単離し、そしてサンプルを分析し得るまで－８０℃で保存した。無傷の配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢの濃度はメソスケール発見（ｍｅｓｏｓｃａｌｅ　ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）（ＭＳＤ）技術を使用して測定した［３－７］。簡潔には、血漿サンプルを合計４希釈、すなわち未希釈、８倍、６４倍および５１２倍のためＢｉｏＭｅｋ　Ｆｘにより連続希釈した。未希釈血漿中の同一の標準曲線を各プレートに包含した。配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢを、配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢの無傷のＮ末端を検出するよう設計されたビオチニル化モノクローナル抗体（ＣＮＴＯ１６２６）により、ＭＳＤプレート上で捕捉した。配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢ上のリンカー領域を認識するルテニウム標識モノクローナル抗体（ＣＮＴＯ７１２）を検出のため添加し、そしてＭＳＤ　ｓｅｃｔｏｒ画像化装置６０００読み取り装置を使用して発光応答を測定した。配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢ濃度はＳ字状の用量応答曲線を使用して計算した（ＧｒａｐｈＰａｄ　ＰＲＩＳＭ）。
【０２４８】
サルでの薬物動態：カニクイザルに、マイアミ大学糖尿病研究所（Ｄｉａｂｅｔｅｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｏｆ　Ｍｉａｍｉ）で配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢ（１．０ｍｇ／ｋｇ、ロット番号８８３３０１３）を静脈内投与した（２）。サルは投与および血液収集前にケタミンＨＣｌ（１００ｍｇ／ｍＬ、１０ｍｇ／ｋｇ）で化学的に拘束した。配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢを１ｍＬ／分の速度で２．２ｍＬ／ｋｇの投与容量で投与した。およそ２ｍＬの血液を、プロテアーゼ阻害

剤（Ｒｏｃｈｅ　Ｃｏｍｐｌｅｔｅ　ＥＤＴＡ　ｆｒｅｅ、Ｒｏｃｈｅ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｓｃｉｅｎｃｅ、インジアナ州インジアナポリス）およびＤＰＰ４阻害剤（Ｌｉｎｃｏ、ミズーリ州セントチャールズ）を含有するクエン酸ナトリウム（３．８％）中に、投与後多様な時点で収集した。血漿を単離し、そしてサンプルを分析し得るまで－８０℃で保存した。血漿中の配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢ濃度は上述されたとおり測定した。

【０２４９】

データ解析：非コンパートメント解析（ＮＣＡ）を使用して配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢの薬物動態パラメータを計算した（ＷｉｎＮｏｎｌｉｎ、バージョン５．１、Ｐｈａｒｓｉｇｈｔ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ、カリフォルニア州マウンテンビュー）。最大血清濃度ＣｍａｘおよびＣｍａｘに達するまでの時間（Ｔｍａｘ）は血清濃度対時間プロファイルの検査から得た。時間０から定量化可能な濃度の配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢを伴う最後の時間点までの濃度曲線下面積（ＡＵＣ）（ラットについてＡＵＣ（０－７ｄ）、サルについてＡＵＣ（０－２１ｄ））ならびに時間０から無限大までのＡＵＣを計算した。ＡＵＣ値は線形台形積分（ｌｉｎｅａｒ　ｔｒａｐｅｚｏｉｄａｌ　ｉｎｔｅｇｒａｔｉｏｎ）により得た。消失速度定数（λｚ）は消失期の対数線形部分の最小二乗回帰分析により決定した。消失半減期ｔ１／２は０．６９３という比およびλｚから計算した。

【０２５０】

結果：ラットでの薬物動態：単回ｓｃおよびｉｖ投与後のラットでの配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢの血漿薬物動態プロファイルを示す（図２０Ａ）。ラットのデータからの完全な薬物動態分析を表１に要約する。配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢの消失半減期は、ｉｖ投与後１．５日およびｓｃ投与後１．７日であるとモデル化された。ｓｃ投与後の配列番号４のＧＬＰ－１ＭＭＢのバイオアベイラビリティはおよそ２２％であった。

【０２５１】

【表１】

表2. 単回scおよびiv投与(3mg／kg)後のSDラットにおける配列番号4のGLP－1MMBの薬物動態の特徴

物質(経路)		Cmax ug/mL	Tmax 日	AUC(0-7d) 日*ug/mL	AUCinf 日*ug/mL	Cl mL/日/kg	Vss mL/kg	t1/2 日	F %
配列番号4の	平均	53.91	na	23.61	23.86	125.90	110.07	1.48	na
GLP－1	sd	5.03	na	1.11	1.06	5.59	7.32	0.49	na
MMB(iv)	%CV	9.3	na	4.7	4.4	4.4	6.7	33.0	na
配列番号4の	平均	2.29	0.83	5.04	5.20	na	na	1.73	21.85
GLP－1	sd	0.10	0.29	0.20	0.30	na	na	1.10	1.85
MMB(sc)	%CV	4.5	34.6	4.0	5.7	na	na	63.7	8.5

物質(経路)		Cmax ug/mL	Tmax 日	AUC(0-7d) 日*ug/mL	AUCinf 日*ug/mL	Cl mL/日/kg	Vss mL/kg	t1/2 日	F %
配列番号4の	平均	53.91	na	23.61	23.86	125.90	110.07	1.48	na
GLP－1	sd	5.03	na	1.11	1.06	5.59	7.32	0.49	na
MMB(iv)	%CV	9.3	na	4.7	4.4	4.4	6.7	33.0	na
配列番号4の	平均	2.29	0.83	5.04	5.20	na	na	1.73	21.85
GLP－1	sd	0.10	0.29	0.20	0.30	na	na	1.10	1.85
MMB(sc)	%CV	4.5	34.6	4.0	5.7	na	na	63.7	8.5

【０２５２】

サルでの薬物動態：単回ｉｖ投与後のサルでのＧＬＰ－１ＭＭＢの血漿薬物動態プロファイルを示す（図２０Ｂ）。完全な薬物動態分析を表２に要約する。サルでのＧＬＰ－１ＭＭＢの消失半減期は２．９日であるとモデル化された。

【０２５３】

【表２】

表3. 単回iv投与後のカニクイザルにおける配列番号4のGLP－1MMBの薬物動態の特徴

PK パラメータ		平均濃度 (ug/mL)	sd	%CV
Cmax	ug/mL	40.09	9.28	23.1
AUC(0-21)	日*ug/mL	41.92	10.25	24.4
AUCinf	日*ug/mL	42.05	10.29	24.5
Cl	mL/日/kg	24.81	6.38	25.7
Vss	mL/kg	50.18	19.07	38.0
Vz	mL/kg	105.40	34.92	33.1
t1/2	日	2.93	0.37	12.7

【実施例１３】

【０２５４】

糖尿病マウスにおける経口耐糖能試験の間のＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。

８週齢の糖尿病ｄｂ／ｄｂマウスを、配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（０．０２ないし２ｍｇ／ｋｇ）の皮下注入前に６時間絶食させた。投与後にマウスを追加の６時間絶食させそして基礎の空腹時血糖を測定した。ｔ＝０にマウスに１．０ｍｇ／ｇグルコースの経口胃管栄養を与え、そして多様な時点で血糖を測定した。図９に示される結果は、配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢが試験した全用量で経口耐糖能試験の間に血糖変動幅（ｅｘｃｕｒｓｉｏｎ）の低下において有効であったことを示す。

【０２５５】

同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。

【実施例１４】

【０２５６】

糖尿病マウスへの慢性投与の間の空腹時血糖に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。

１０週齢の糖尿病ｄｂ／ｄｂマウスにベヒクル若しくは配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）を連日６週間皮下投与した。試験の経過の間に空腹時血糖を週あたり２回測定した。空腹時血糖は、処置した動物で試験を通じて対照に関して低下し（図１０）、そして６週までに該差違は２００ｍｇ／ｄＬ以上となった（４６６対２２１ｍｇ／ｄＬ、それぞれ対照および処置動物）。

【０２５７】

同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。

【実施例１５】

【０２５８】

糖尿病マウスへの慢性投与後の経口耐糖能試験に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。

実施例１１でのとおり、１０週齢の糖尿病ｄｂ／ｄｂマウスにベヒクル若しくは配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）を連日６週間投与した。４０日投与後にマウスに経口耐糖能試験を行った。簡潔には、ｔ＝０にマウスに１．０ｍｇ／ｇグルコースの経口胃管栄養を与え、そして多様な時点で血糖を測定した。図１１に示される結果は、配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢが経口耐糖能試験の間の血糖変動幅の低下において有効であったことを示し、配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢで慢性に処置したマウスが対照動物に関してより効率的にグルコース負荷を消失させることが可能であることを示唆する。

【０２５９】

同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。

【実施例１６】
【０２６０】
糖尿病マウスへの慢性投与後のＨｂＡ１ｃの低下に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。
　実施例１１および１２でのとおり、１０週齢の糖尿病ｄｂ／ｄｂマウスにベヒクル若しくは配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）を連日６週間投与した。６週の投与の前および後に全血サンプルを採取しそしてＨｂＡ１ｃパーセントについて分析した。図１２に示されるとおり、ＧＬＰ－１処置動物のＨｂＡ１Ｃは６週間に１０９パーセント増大した一方、対照処置動物は１４２パーセント増大した。このデータは、処置動物が慢性期にわたりそれらの血糖を調節することが対照に関してより良好に可能であることを示唆する。
【０２６１】
　同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。
【実施例１７】
【０２６２】
正常カニクイザルにおける経口耐糖能試験に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。
　経口耐糖能試験（ＯＧＴＴ）を、配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）の単回用量前および６日後に正常カニクイザルで行った。簡潔には、ｔ＝０にサルに２．０ｍｇ／ｇグルコースの経口胃管栄養を与え、そして多様な時点で血糖を測定した。血糖値は投与６日後に行ったＯＧＴＴで有意に低下され（図１３Ａ）、また、インスリンレベルは有意に増大された（図１３Ｂ）。これは、配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢが、上昇されたグルコース濃度にて膵からのインスリン分泌を引き起こしていることを示唆する。
【０２６３】
　同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。
【実施例１８】
【０２６４】
単回用量後の糖尿病マウス（ｄｂ／ｄｂ）の膵島中のインスリン染色に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。
　１２週齢の糖尿病マウス（ｄｂ／ｄｂ）を配列番号４ｃのＧＬＰ－１ＭＭＢ（１．５ｍｇ／ｋｇ）の単回皮下用量で処置しそして膵を４週後に収集した。膵を切開しかつインスリンの存在について染色した。図１４に示されるとおり、処置動物で対照動物に関して有意により多いインスリン染色が存在した。
【０２６５】
　同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。
【実施例１９】
【０２６６】
ＧＬＰ－１　ＭＭＢは正常イヌで胃排出を遅延させる。
　胃カニューレを全身麻酔下に雌性ビーグル犬（１０～１５ｋｇ）に外科的に移植しそして最低２週間回復させた。イヌを２４時間絶食させ、その後水は自由に入手可能であった。胃カニューレを開放しそして胃液および食物の残りを４０～５０ｍｌの微温湯で除去した。６匹のイヌの群に食餌の６０分前にα２アゴニスト、リダミジン（０．６３ｍｇ／ｋｇ）を皮下投与した（胃排出の遅延の陽性対照）。ベヒクル対照若しくは配列番号４ｂのＧＬＰ－１　ＭＭＢ（０．１ｍｇ／ｋｇ）を投与したイヌに、食餌の１５分前に橈側皮静脈に静脈内投与した。食餌の５分前に胃カニューレを開放して基礎値の胃中に存在する液体の量を測定し、そして液体を迅速に再導入した。その後、２５０ｍｌのグルコース溶液（５ｇ／ｌ）よりなる試験食をカニューレを介して投与しそして胃中に３０分間留まらせた。３０分後に胃内容物を胃から排出させて総容量を測定した。１ｍｌの胃内容物を分析

のため保持し、そして残りの容量はカニューレを介して胃に再導入した。胃内容物の容量の評価およびサンプルの回収を６０、９０および１２０分に反復した。収集したサンプルについてグルコース濃度を評価し、そして各時点で胃中に残存するグルコースの絶対量を決定するのに使用した。胃中に保持されるグルコースのパーセンテージを出発値および各時点のグルコースの濃度から決定し、そして時間の関数としてプロットした。胃内容物の５０％が保持された時間を単指数関数への曲線の当てはめにより決定した。図１５に示されるとおり、胃内容物の５０％はベヒクルを投与したイヌで後１２．３５±３．６９分で排出された一方、リダミジン陽性対照および配列番号４ｂのＧＬＰ－１　ＭＭＢを投与したイヌは胃排出の有意の遅延（それぞれ３０．６０±６．４７および５９．２３±１４．４６）を示した。

【０２６７】

同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。

【実施例２０】

【０２６８】

ＧＬＰ－１　ＭＭＢは食餌誘発性肥満マウスで経口耐糖能試験（ＯＧＴＴ）後の血糖を低下させる。

食餌誘発性肥満のマウスモデルを開発するため、マウスを高脂肪食で最低２７週間維持した。マウスは肥満となり、そして空腹時血糖値が１２０ｍｇ／ｄｌを超えた場合に糖尿病であると決定した。食後血糖値に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢ療法の効果を評価するため、食餌誘発性肥満マウスを一夜絶食させ、そして０．０２、０．２若しくは２ｍｇ／ｋｇの配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢまたはベヒクル対照を皮下投与した。投与６時間後にマウスに１．５ｍｇ／ｇのグルコースの胃管栄養を与えた。血糖値をＭＭＢ投与の前、ｔ＝０、１５、３０、６０、９０、１２０、１５０および１８０分に尾静脈血を使用して測定した。図１６に示されるとおり、空腹時血糖値の配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢ用量依存性の低下がｔ＝０および全部のその後の時点で観察された。曲線下面積をｔ＝０とｔ＝１８０の間で計算し、全用量でグルコース配置（ｇｌｕｃｏｓｅ　ｄｉｓｐｏｓａｌ）の有意の低下を示した。

【０２６９】

同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。

【実施例２１】

【０２７０】

ＧＬＰ－１　ＭＭＢはｄｂ／ｄｂマウスにおいて腹腔内耐糖能試験（ＩＰＧＴＴ）で血糖を低下させる。

およそ１３～１５週齢の雄性ｄｂ／ｄｂマウスを空腹時血糖値に基づき６匹のマウスの処置群に無作為化した。マウスに、０．０２ｍｇ／ｋｇ若しくは０．１ｍｇ／ｋｇの配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢまたは０．１ｍｇ／ｋｇの陰性対照ＭＭＢのいずれかを耐糖能試験の６時間前に投与した。耐糖能試験の５分前にグルコース測定値を尾静脈血から携帯式血糖計で測定した。マウスにその後１ｍｇ／ｇのＤ－グルコースを腹腔内投与し、そして血糖値を１０分、２０分、３０分、６０分、９０分、１２０分、１５０分および１８０分にモニターした。図１７Ａに具体的に説明されるとおり、血糖値は、配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢで処置した双方の群で時間経過全体にわたり有意により低かった。同一の様式で処置した付加的な動物群をインスリン濃度の測定のためｔ＝１０分に殺した。配列番号４ｃのＧＬＰ－１　ＭＭＢ投与１０分後に放出されるインスリンの量の用量依存性の増大が存在する。

【０２７１】

同様の実験を配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢについて反復しそして類似の結果を得た。

【実施例２２】

【０２７２】
ＧＬＰ－１ＭＭＢを用いる急性薬動力学研究。
配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢの生物学的活性を示すため、腹腔内耐糖能試験（ｉｐＧＴＴ）を食餌誘発性肥満（ＤＩＯ）マウスで実施した。
【０２７３】
材料／方法：Ｄ－グルコースはＳｉｇｍａから購入した。下述される試験は、４週齢で６０．９％脂肪を含有する食餌で開始した食餌誘発性肥満（ＤＩＯ）Ｃ５７Ｂｌ／６Ｊマウスを使用した。全動物が該試験へのそれらの包括前に３週連続で糖尿病の空腹時血糖値（＞１２０ｍｇ／ｄＬ）を達成した。ｉｐＧＴＴ：３５マウスを一夜（１６ｈｒ）絶食させ、そしてそれらの空腹時血糖値に基づき７群（ｎ＝５）に無作為化した。耐糖能試験１０分前にマウスにＰＢＳ若しくは配列番号４のＧＬＰ１　ＭＭＢ（０．００３、０．０１、０．０３、０．１、０．３および１．０ｍｇ／ｋｇ）をｉ．ｖ．投与した。耐糖能試験５分前に空腹時血糖測定を尾静脈血から行った。Ｔ＝０分にマウスにＤ－グルコース（１．０ｍｇ／ｇ）をｉ．ｐ．投与した。血糖値は尾静脈血を使用して１５、３０、６０、９０、１２０、１５０および１８０分に測定した。
【０２７４】
結果：耐糖能試験の間に測定した血糖値を時間の関数としてプロットした（図２１Ａ）。曲線下面積を計算し、そしてＰＢＳ処置群に関して配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（０．０１、０．０３、０．１、０．３、１ｍｇ／ｋｇ）で処置した群の５匹で用量依存性の様式で有意に低下された（図２１Ｂ）。配列番号のＧＬＰ－１　ＭＭＢ濃度に対するＡＵＣを双曲線に当てはめて１４μｇ／ｋｇのＥＤ$_{50}$を提供した（図２１Ｃ）。データをＧｒａｐｈＰａｄ　ＰＲＩＳＭ、バージョン４．０３でプロットしかつ解析した。
【実施例２３】
【０２７５】
ＧＬＰ－１Ｒ－／－および野生型マウスでの食餌摂取、血糖コントロールおよび胃排出に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの影響。
この研究の目的は、ＧＬＰ－１　ＭＭＢが血糖コントロール、食餌摂取および胃排出にＧＬＰ－１受容体依存性の様式で影響を及ぼすかどうかを評価することであった。配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢの単回静脈内（ｉｖ）投与は野生型で耐糖能を改善し、食餌摂取を低下させかつ胃排出を阻害したが、しかしＧＬＰ－１受容体ノックアウトマウスではしなかった。該結果は、グルコースおよびエネルギー代謝に対する配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢの影響がＧＬＰ－１受容体を介して媒介されることを示す。
【０２７６】
材料／方法：動物：雄性のＧＬＰ－１Ｒ－／－かつ年齢をマッチさせた野生型マウスを、体重および空腹時血糖に基づき３処置群（ｎ＝５）に無作為化した。
【０２７７】
食餌摂取：マウスを一夜絶食させ、そして単回静脈内（ｉｖ）用量の配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）、ＣＮＴＯ　１９９６（１ｍｇ／ｋｇ）（ＣＮＴＯ１９９６はそれがＧＬＰ－１ペプチドを欠くために陰性対照として本研究で使用した）および等モル用量のエキセンジン－４（０．０７ｍｇ／ｋｇ、Ｓｉｇｍａから購入した）を注入した。食餌および水摂取を投与４、６、２４および４８時間後に測定した。
【０２７８】
耐糖能試験（ｉｐＧＴＴ）：マウスを一夜絶食させそして上で論考したとおり静脈内投与した。空腹時血糖を携帯型血糖計（ＬｉｆｅＳｃａｎ）を使用して尾の切れ目を介し測定した。ｔ＝０分にマウスにＤ－グルコース（１．０ｍｇ／ｇ、Ｓｉｇｍａ）をｉ．ｐ．投与し、そして１５、３０、６０、９０および１２０分後に尾静脈血を使用して血糖を測定した。
【０２７９】
胃排出：マウスを一夜絶食させた。翌朝マウスに１時間再給餌し、食餌摂取を記録し、そしてマウスを試験の残りの間食餌を与えなかった。マウスに上で論考されたとおり静脈

内投与した。投与２時間後にマウスを安楽死させた。開腹術により胃を露出させ、幽門および噴門双方で結紮しかつ取り出した。胃内容物の湿重量を測定した。等式１を使用して胃中に残存する食餌のパーセントを計算した。

（胃内容物湿重量（ｇ）／食餌摂取（ｇ））×１００　　等式（１）

【０２８０】

結果および考察

食餌摂取：薬物投与後２４時間にわたる野生型およびＧＬＰ－１Ｒ－／－双方のマウスの累積食餌摂取をプロットした（図２２）。配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）および等モル用量のエキセンジン－４（０．０７ｍｇ／ｋｇ）双方が、対照群ＣＮＴＯ１９９６に比較して野生型動物で食餌摂取の統計学的に有意の低下をもたらした（図２２Ａ）。配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢおよびエキセンジン－４はＧＬＰ－１Ｒ－／－マウスで食餌摂取に対する影響を有しなかった（図２２Ｂ）。

【０２８１】

耐糖能試験：野生型およびＧＬＰ－１Ｒ－／－マウスでのｉｐＧＴＴの間に得られたデータを時間に対する血糖の濃度としてプロットした（図２３Ａおよび２３Ｂ）。曲線下面積（ＡＵＣ）を各個々のｉｐＧＴＴ曲線について計算した（図２３Ｃ）。配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢおよびエキセンジン－４の単回投与は、野生型でＡＵＣの統計学的に有意の低下をもたらしたが、しかしＧＬＰ－１Ｒ－／－動物ではしなかった。

【０２８２】

胃排出：野生型およびＧＬＰ－１Ｒ－／－マウスでの投与２時間後の胃中に残存する食餌のパーセントをプロットした（図２４）。配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）および等モル用量のエキセンジン－４（０．０７ｍｇ／ｋｇ）は、対照ＣＮＴＯ１９９６に比較して野生型マウスで胃内容物の統計学的に有意の増加をもたらした。該データは、配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢおよびエキセンジン－４が野生型動物で胃排出を阻害することを示す。配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢおよびエキセンジン－４はＧＬＰ－１Ｒ－／－マウスで胃排出に対する影響を有しなかった。

【実施例２４】

【０２８３】

ＤＩＯマウスにおけるＧＬＰ－１　ＭＭＢの薬動力学的活性のその薬物動態プロファイルとの相関。

本研究の目的は、食餌誘発性肥満（ＤＩＯ）マウスで耐糖能の調節におけるＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果をその薬物動態プロファイルと相関させることであった。動物に配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）を投与（ｉｖ）し、そして投与後多様な時点に耐糖能試験を実施した。同時に血液サンプルを収集して配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢ濃度を評価した。配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢはおよそ３７０ｎｇ／ｍｌのED_{50}を伴いＤＩＯマウスで耐糖能を改善した。

【０２８４】

材料／方法：動物／処置：Ｃ５７Ｂｌ／６Ｊマウスは６０．９％脂肪を含有する食餌（Ｐｕｒｉｎａ試験食５８１２６）を４週齢に開始した。試験開始時点で動物の全部が３週連続して糖尿病の空腹時血糖値（＞１２０ｍｇ／ｄＬ）を達成していた。ＤＩＯマウスを空腹時血糖に基づき処置群に無作為化し、そして配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ、ロット番号８８３３１７３）若しくはＰＢＳを投与（ｉｖ）した。投与後多様な時点で耐糖能試験を実施しかつ血液サンプルを収集して下述されるとおり配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢ血漿濃度を測定した。

【０２８５】

耐糖能試験（ｉｐＧＴＴ）：マウスを試験前一夜（１６ｈｒ）絶食させた。朝に携帯型血糖計（ＬｉｆｅＳｃａｎ）を使用して尾の切れ目を介し空腹時血糖を測定した。Ｔ＝０分にマウスにＤ－グルコース（１．０ｍｇ／ｇ、Ｓｉｇｍａ）をｉ．ｐ．投与した。血糖は尾静脈血を使用して１５、３０、６０、９０および１２０分後に測定した。

【０２８６】

ＧＬＰ－１　ＭＭＢ血漿濃度：血液サンプルはｉｐＧＴＴ後に心穿刺を介し収集した。およそ３００μｌの血液を、プロテアーゼ阻害剤（Ｒｏｃｈｅ　Ｃｏｍｐｌｅｔｅ　ＥＤＴＡ　ｆｒｅｅ、Ｒｏｃｈｅ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｓｃｉｅｎｃｅ、インジアナ州インジアナポリス）およびＤＰＰ４阻害剤（Ｌｉｎｃｏ、ミズーリ州セントチャールズ）を含有するクエン酸ナトリウム（３．８％）中に収集した。無傷の配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢの濃度をメソスケール発見（ＭＳＤ）技術を使用して測定した［２－５］。簡潔には、血漿サンプルを合計４希釈すなわち未希釈、８倍、６４倍および５１２倍のためＢｉｏＭｅｋ　Ｆｘにより連続希釈した。血漿と同一様式で希釈した標準曲線を各プレートに包含した。ＧＬＰ－１　ＭＭＢを、ミメティボディの無傷のＮ末端を検出するよう設計したビオチニル化モノクローナル抗体（ＣＮＴＯ１６２６）によりＭＳＤプレート上で捕捉した。ミメティボディのリンカー領域を認識するルテニウム標識モノクローナル抗体（ＣＮＴＯ７１２）を検出のため添加し、そしてＭＳＤ　ｓｅｃｔｏｒ画像化装置６０００読み取り装置を使用して発光応答を測定した。配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢ濃度はＳ字状用量応答曲線を使用して計算した（ＧｒａｐｈＰａｄ　ＰＲＩＳＭ）。

【０２８７】

結果および考察。ＧＬＰ－１　ＭＭＢの薬動力学：各時間点からのｉｐＧＴＴデータを時間に対する血糖の濃度としてプロットした（図２５）。曲線下面積（ＡＵＣ）を各個々のｉｐＧＴＴ曲線について計算した（図２６）。配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢの単回投与は、陰性対照に関して注入６日後までＡＵＣの統計学的に有意の減少をもたらした。

【０２８８】

ＧＬＰ－１　ＭＭＢの薬物動態：各耐糖能試験後のＤＩＯマウスでの配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢの血漿濃度をプロットした（図２７）。

【０２８９】

ＧＬＰ－１　ＭＭＢの薬動力学的活性のその血漿濃度との相関：ｉｐＧＴＴデータの全部のＡＵＣを各耐糖能試験後の配列番号４のＧＬＰ－１　ＭＭＢ血漿濃度に対しプロットした（図２８）。該データを双曲線に当てはめてED_{50}（３７０ｎｇ／ｍｌ）を得た。

【０２９０】

ＧＬＰ－１ミメティボディの利点：２型糖尿病を処置するための治療薬としてのこの新規分子の使用は他のＧＬＰ－１アナログを上回るいくつかの利点を提供する。例えばそれはＧＬＰ－１ペプチドの半減期を延長することがありそうである。また、該ミメティボディの足場構造中の野生型ＧＬＰ－１ペプチドは、プロテアーゼ分解、とりわけＤＰＰ－ＩＶに対し抵抗性である。これは変異体ペプチドよりむしろ野生型ＧＬＰ－１ペプチドでの処置を見込むことができる。ＧＬＰ－１は天然のペプチドであるため、ＧＬＰ－１ミメティボディで処置した患者において、変異させたＧＬＰ－１アナログで処置した患者でよりも少ない免疫応答が存在するとみられる。加えてミメティボディの大きい大きさはそれが血液脳関門を横断することから排除しうる。吐き気および不安が脳中でＧＬＰ－１Ｒに結合するＧＬＰ－１と関連付けられているためこれはしばしば一利点でありうる。さらに、該ミメティボディの基盤は各ミメティボディ分子上の２ペプチドの発現をもたらす。これはＧＬＰ－１ペプチドが相互と相互作用することを可能にすることができ、細胞表面のＧＬＰ－１受容体に対する親和性を増大し得る二量体リガンドを形成する。

【０２９１】

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

【０２９２】

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

【０２９３】

【表３】

表1

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

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

【図１Ａ】

FIG. 1A

シグナル配列
Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln
ATG GCT TGG GTG TGG ACC TTG CTA TTC CTG ATG GCG GCC GCC CAA

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

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

リンカー VH
Val Lys Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu
GTG AAA GGC CGA GGA GGT GGA TCC GGT GGA GGC TCC GGT ACC TTA

ヒンジ
Val Thr Asn Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
GTC ACC AAC TCC TCA GAG CCC AAA TCT TGT GAC AAA ACT CAC ACG

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

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

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

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg GLu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr tyr
AAT GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC

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

【図１Ｂ】

FIG. 1B

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

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

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

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

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

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

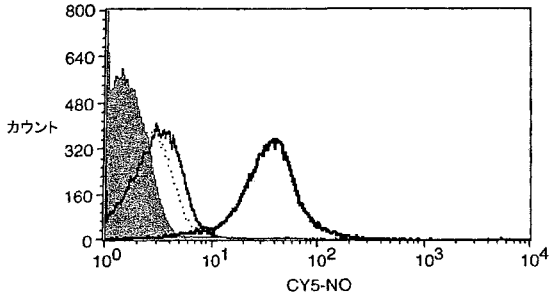
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
CTC TAC AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG

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

終止
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA

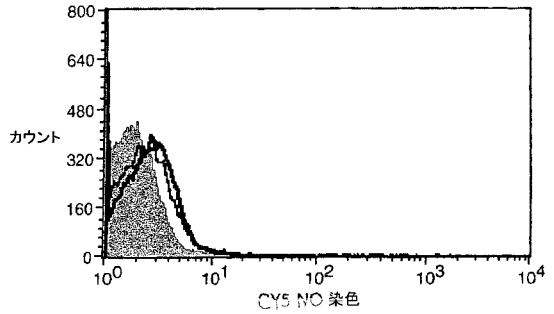
【図２Ａ】

FIG. 2A



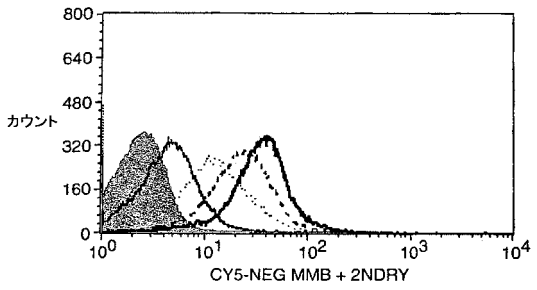
【図２Ｂ】

FIG. 2B



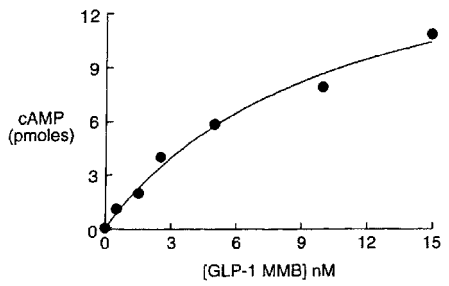
【図２Ｃ】

FIG. 2C



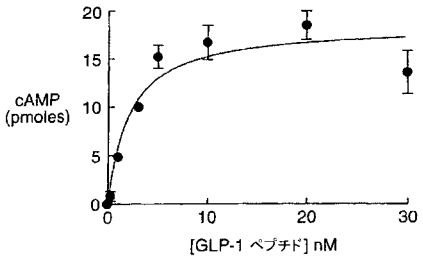
【図３Ａ】

FIG. 3A



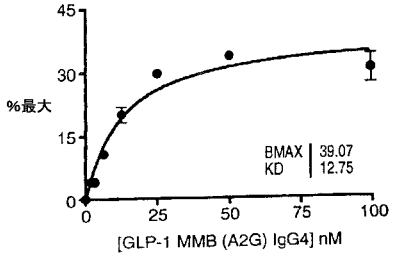
【図３Ｂ】

FIG. 3B



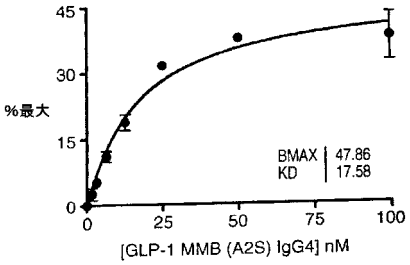
【図３Ｃ】

FIG. 3C



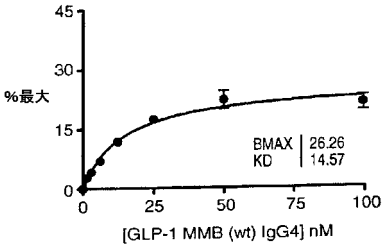
【図３Ｄ】

FIG. 3D



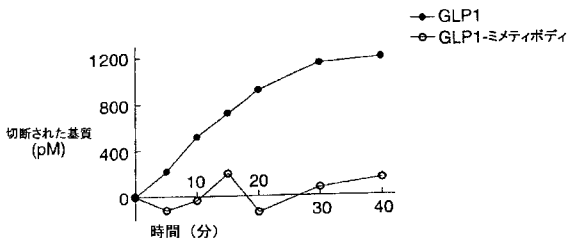
【図３Ｅ】

FIG. 3E



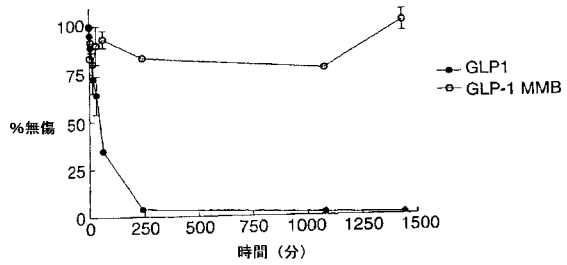
【図４】

FIG. 4



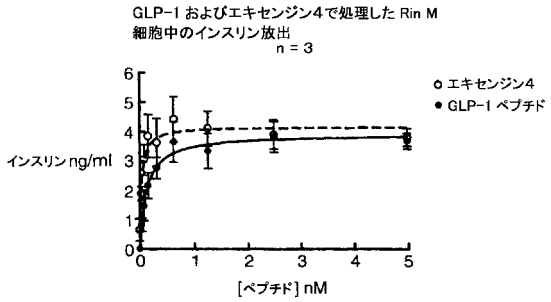
【図５】

FIG. 5



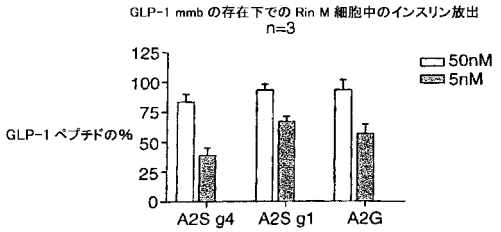
【図６Ａ】

FIG. 6A



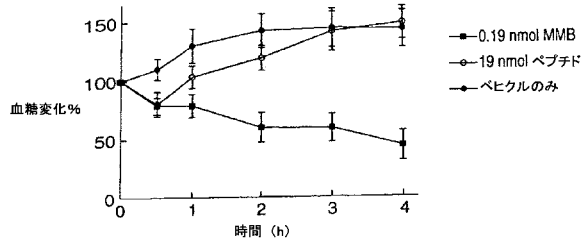
【図６Ｂ】

FIG. 6B



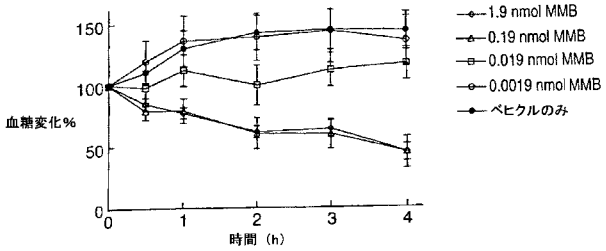
【図７Ａ】

FIG. 7A



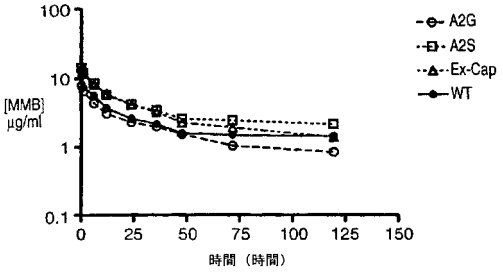
【図７Ｂ】

FIG. 7B



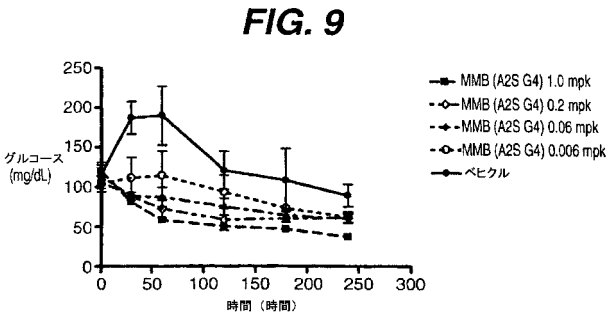
【図８】

FIG. 8



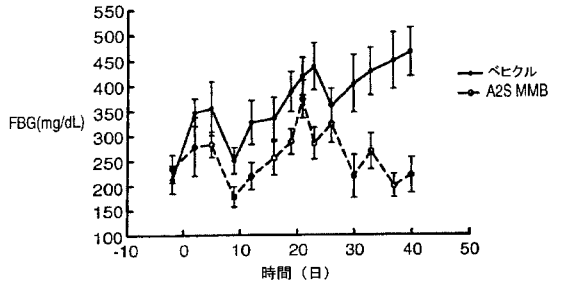
【図９】

FIG. 9



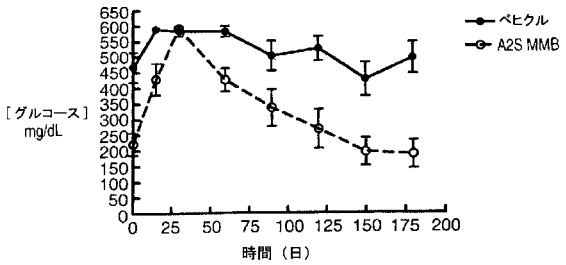
【図１０】

FIG. 10



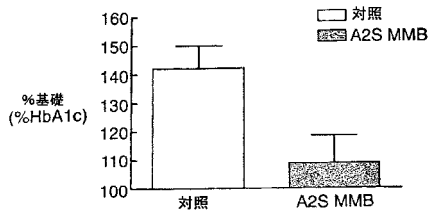
【図１１】

FIG. 11



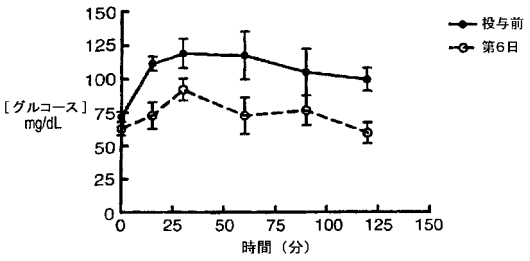
【図１２】

FIG. 12



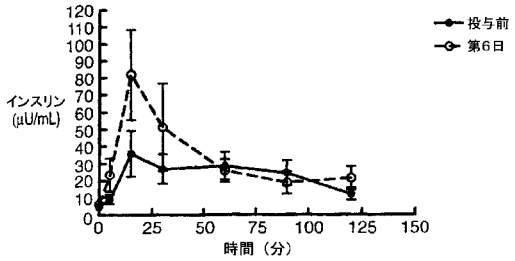
【図１３Ａ】

FIG. 13A



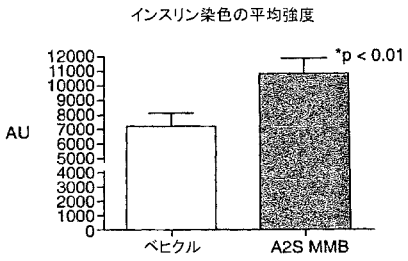
【図１３Ｂ】

FIG. 13B



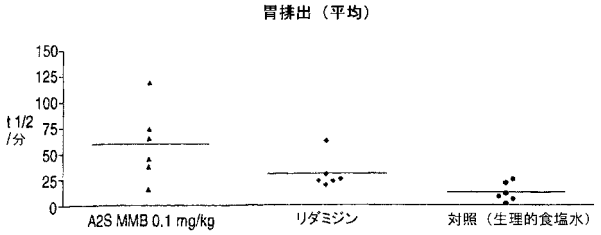
【図１４】

FIG. 14



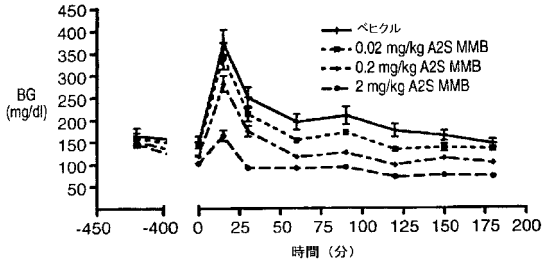
【図１５】

FIG. 15



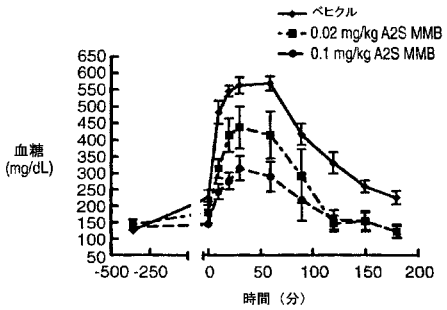
【図１６】

FIG. 16



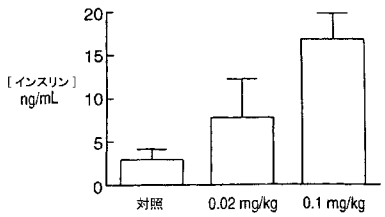
【図１７Ａ】

FIG. 17A



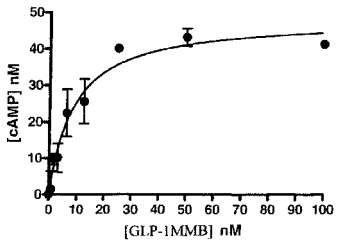
【図１７Ｂ】

FIG. 17B



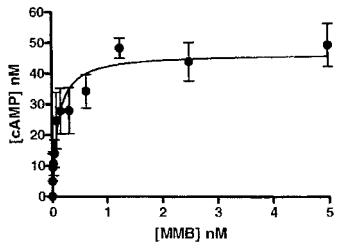
【図１８Ａ】

FIG. 18A



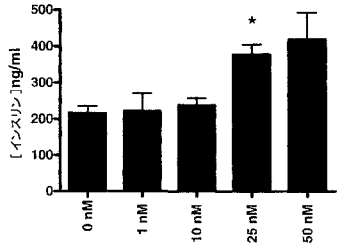
【図１８Ｂ】

FIG. 18B



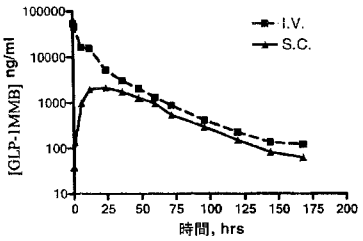
【図１９】

FIG. 19



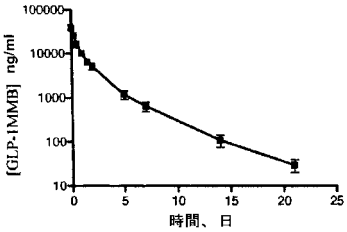
【図２０Ａ】

FIG. 20A



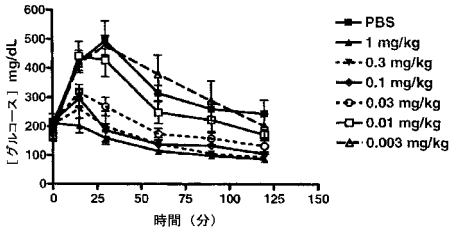
【図２０Ｂ】

FIG. 20B



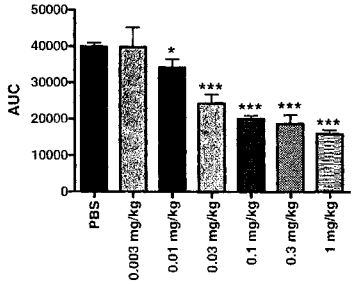
【図２１Ａ】

FIG. 21A



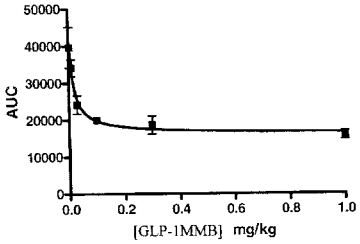
【図２１Ｂ】

FIG. 21B



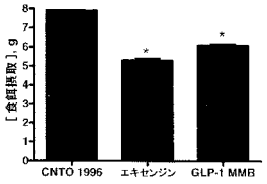
【図２１Ｃ】

FIG. 21C



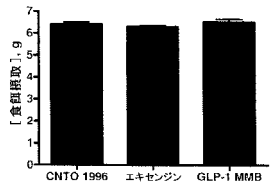
【図２２Ａ】

FIG. 22A



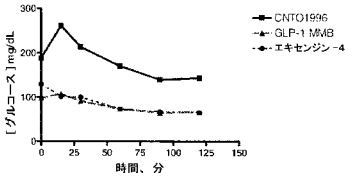
【図２２Ｂ】

FIG. 22B



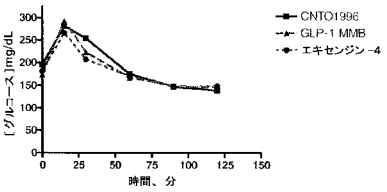
【図２３Ａ】

FIG. 23A



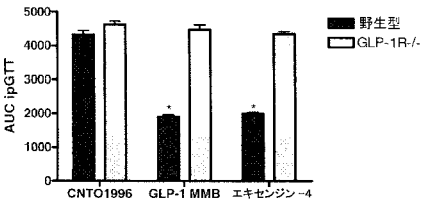
【図２３Ｂ】

FIG. 23B



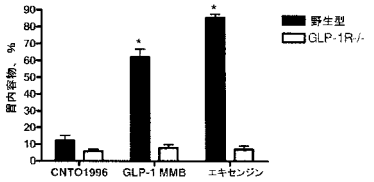
【図２３Ｃ】

FIG. 23C



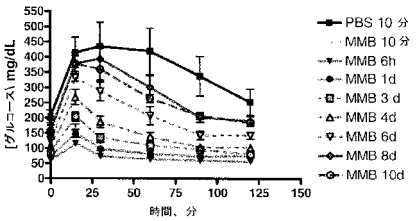
【図２４】

FIG. 24



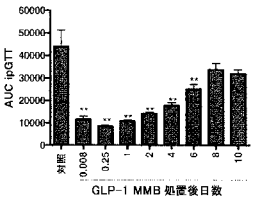
【図２５】

FIG. 25



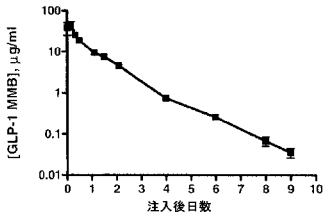
【図２６】

FIG. 26



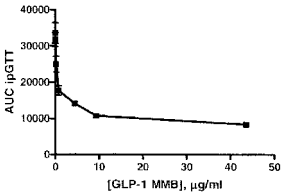
【図２７】

FIG. 27



【図２８】

FIG. 28



【配列表】
2010500868000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成21年3月17日(2009.3.17)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】請求項７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項７】
式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは配列番号１および６から選択される最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）から選択され；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；ＨはＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ（配列番号２６）であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＮＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４３）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＮＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号４４）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。
【手続補正２】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】請求項８
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項８】
式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは配列番号６の最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）から選択され；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；ＨはＥＳＫＹＧＰＰＣＰＳＣＰＡＰＥＦＬＧＧＰ（配列番号２７）であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＱＥＤＰＥＶＱＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＦＮＳＴＹＲＮＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＧＬＰＳＳＩＥＫＴＩＳＫＡＫ

（配列番号４５）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＱＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＲＬＴＶＤＫＳＲＷＱＥＧＮＮＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＬＧＫ（配列番号４６）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。
【手続補正３】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】請求項９
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項９】
式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは配列番号６の最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチドであり、Ｌは、ＧＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１６）、ＧＳＧＧＧＳ（配列番号１７）、ＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１８）、ＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号１９）およびＧＧＧＳＧＧＧＳＧＧ（配列番号２０）から選択され；Ｖは、ＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２１）、ＧＴＬＶＡＶＳＳ（配列番号２２）、ＧＴＡＶＴＶＳＳ（配列番号２３）、ＴＶＳＳ（配列番号２４）およびＡＶＳＳ（配列番号２５）から選択され；ＨはＥＳＫＹＧＰＰＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＧＰ（配列番号２８）であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＱＥＤＰＥＶＱＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＦＮＳＴＹＲＮＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＧＬＰＳＳＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４５）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＱＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＲＬＴＶＤＫＳＲＷＱＥＧＮＮＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＬＧＫ（配列番号４６）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。
【手続補正４】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】請求項１０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項１０】
式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）
、
ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰ

ＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＮＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４３）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＮＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号４４）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【手続補正５】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】請求項１１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項１１】
式（Ｉ）：
（Ｐｅｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、
ここでＰは最低１種の生物活性ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体であり、Ｌは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低１種のリンカー配列であり、Ｖは免疫グロブリン可変領域のＣ末端の少なくとも一部分であり、Ｈは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、ＣＨ２はＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＱＥＤＰＥＶＱＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＦＮＳＴＹＲＮＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＧＬＰＳＳＩＥＫＴＩＳＫＡＫ（配列番号４５）であり、ＣＨ３はＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＱＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＲＬＴＶＤＫＳＲＷＱＥＧＮＮＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＬＧＫ（配列番号４６）であり、ｎは１から１０までの整数であり、ならびに、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、ｓおよびｔは独立に０から１０までの整数であり得る、
のポリペプチドを含んでなる、最低１種のＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディポリペプチドであって、前記ＧＬＰ－１　ＣＨ１欠失ミメティボディは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくはｉｎ　ｖｉｖｏで最低１種のＧＬＰ－１の生物学的活性を有し、および最低１個のＮ－結合グリコシル化部位をさらに含んでなる、上記ポリペプチド。

【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００４３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００４３】
リンカーポリペプチドは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供する。存在する場合、その化学構造は決定的に重要ではない。リンカーは、好ましくは、ペプチド結合により一緒に連結されたアミノ酸から構成される。従って、好ましい態様において、リンカーはペプチド結合により連結された１から２０個までのアミノ酸から構成され、該アミノ酸は２０種の天然に存在するアミノ酸から選択される。これらのアミノ酸の数種は、当業者により十分に理解されるとおりグリコシル化されうる。より好ましい一態様において、該１ないし２０個のアミノ酸はグリシン、アラニン、セリン、プロリン、アスパラギン、グルタミンおよびリシンから

選択される。なおより好ましくは、リンカーはグリシンおよびアラニンのような立体障害のない大多数のアミノ酸から構成される。従って、好ましいリンカーは、ポリ（Ｇｌｙ－Ｓｅｒ）、ポリグリシン（とりわけ（Ｇｌｙ）$_4$（配列番号７３）、（Ｇｌｙ）$_5$（配列番号７４））、ポリ（Ｇｌｙ－Ａｌａ）およびポリアラニンである。リンカーの他の特定の例は：（Ｇｌｙ）$_3$Ｌｙｓ（Ｇｌｙ）$_4$（配列番号６５）、（Ｇｌｙ）$_3$ＡｓｎＧｌｙＳｅｒ（Ｇｌｙ）$_2$（配列番号６６）、（Ｇｌｙ）$_3$Ｃｙｓ（Ｇｌｙ）$_4$（配列番号６７）およびＧｌｙＰｒｏＡｓｎＧｌｙＧｌｙ（配列番号６８）である。

【手続補正７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００４４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００４４】
上の命名法を説明するため、例えば（Ｇｌｙ）$_3$Ｌｙｓ（Ｇｌｙ）$_4$（配列番号６５）はＧｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｌｙｓ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ（配列番号６５）を意味している。ＧｌｙおよびＡｌａの組合せもまた好ましい。ここで示されるリンカーは例示的であり；本発明の範囲内のリンカーははるかにより長くてもよく、また、他の残基を包含しうる。

【手続補正８】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００４６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００４６】
本明細書で使用されるところの「ＧＬＰ－１ペプチド」または「ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体」は、最低１種のＧＬＰ－１ペプチド、ＧＬＰ－１フラグメント、ＧＬＰ－１ホモログ、ＧＬＰ－１アナログ若しくはＧＬＰ－１誘導体であり得る。ＧＬＰ－１ペプチドは、それらが膵のβ細胞のＧＬＰ－１受容体に結合することによりインスリン分泌活性を表すような天然のＧＬＰ－１（７－３７）に対する十分な相同性を有する約２５から約４５個までの天然に存在するか若しくは天然に存在しないアミノ酸を有する。ＧＬＰ－１（７－３７）は、配列番号１５：
Ｈｉｓ－Ａｌａ－Ｇｌｕ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ｐｈｅ－Ｔｈｒ－Ｓｅｒ－Ａｓｐ－Ｖａｌ－Ｓｅｒ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｇｌｙ－Ｇｌｎ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｌｙｓ－Ｇｌｕ－Ｐｈｅ－Ｉｌｅ－Ｇｌｕ－Ｔｒｐ－Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｌｙｓ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ
のアミノ酸配列を有する。

【手続補正９】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００９２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００９２】
本発明に適するＧＬＰ－１ペプチド、バリアントおよび誘導体の制限しない例は、配列番号１：Ｈｉｓ－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｘａａ９－Ｘａａ１０－Ｓｅｒ－Ｘａａ１２－Ｔｙｒ－Ｘａａ１４－Ｇｌｕ－Ｘａａ１６－Ｘａａ１７－Ｘａａ１８－Ｘａａ１９－Ｌｙｓ－Ｘａａ２１－Ｐｈｅ－Ｘａａ２３－Ａｌａ－Ｔｒｐ－Ｌｅｕ－Ｘａａ２７－Ｘａａ２８－Ｇｌｙ－Ｘａａ３０－Ｘａａ３１として現れ、ここで：Ｘａａ２はＡｌａ、Ｇｌｙ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ３はＧｌｕ、Ａｓｐ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ６はＰｈｅ、Ｈｉｓ、Ｔｒｐ若しくはＴｙｒであり；Ｘａａ７はＴｈｒ若し

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

【手続補正１０】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００９３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００９３】
ＧＬＰ－１ペプチド、バリアント若しくは誘導体の別の好ましい群は、配列番号６：Ｈｉｓ－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｇｌｙ－Ｘａａ５－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｘａａ９－Ｘａａ１０－Ｓｅｒ－Ｘａａ１２－Ｘａａ１３－Ｘａａ１４－Ｇｌｕ－Ｘａａ１６－Ｘａａ１７－Ｘａａ１８－Ｘａａ１９－Ｌｙｓ－Ｘａａ２１－Ｐｈｅ－Ｘａａ２３－Ｘａａ２４－Ｔｒｐ－Ｌｅｕ－Ｘａａ２７－Ｘａａ２８－Ｇｌｙ－Ｘａａ３０に例示され、ここで：Ｘａａ２はＡｌａ、Ｇｌｙ若しくはＳｅｒであり；Ｘａａ３はＧｌｕ若しくはＡｓｐであり；Ｘａａ５は多様なアミノ酸であり；Ｘａａ６はＨｉｓ、Ｔｒｐ、Ｐｈｅ若しくはＴｙｒであり；Ｘａａ７はＴｈｒ若しくはＡｓｎであり；Ｘａａ８はＳｅｒ、Ｔｈｒ若しくはＡｌａであり；Ｘａａ９はＡｓｐ若しくはＧｌｕであり；Ｘａａ１０はＶａｌ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１２はＳｅｒ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１３はＴｙｒ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１４はＬｅｕ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１６はＧｌｙ、Ａｌａ、Ｇｌｕ若しくはＡｓｐであり；Ｘａａ１７はＧｌｎ若しくはＧｌｕであり；Ｘａａ１８はＡｌａ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ１９はＡｌａ、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ若しくはＭｅｔであり；Ｘａａ２１はＧｌｕ若しくはＬｅｕであり；Ｘａａ２３はＩｌｅ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ若しくはＧｌｕであり；Ｘａａ２４はＡｌａ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ２７はＶａｌ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｇｌｕ若しくはＬｙｓであり；Ｘａａ２８はＬｙｓ若しくはＡｓｎであり；およびＸａａ３０はＡｒｇ若しくはＧｌｕである。

【手続補正１１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２０２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２０２】
【図１】重要な機能的ドメインを示すＩｇＧ１足場構造中のＧＬＰ－１　ＭＭＢのヌクレ

オチド（配列番号７５）およびペプチド（配列番号７６）配列を具体的に説明する。
【図２Ａ－２Ｃ】ＧＬＰ－１　ＭＭＢのＦＡＣＳ結合アッセイを具体的に説明する。図２ＡはＧＬＰ－１　ＭＭＢがＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞に結合することを示す。灰色領域：ＧＬＰ－１　ＭＭＢしかし二次なし；灰色線：二次のみ；点線、陰性対照ＭＭＢおよび二次；黒色線：ＧＬＰ－１　ＭＭＢおよび二次。図２ＢはＧＬＰ－１　ＭＭＢが対照のＨＥＫ２９３Ｅ細胞に結合しないことを示す。灰色領域：ＧＬＰ－１　ＭＭＢしかし二次なし；黒色線：二次のみ；灰色線：ＧＬＰ－１　ＭＭＢおよび二次。図２Ｃは、ＧＬＰ－１ペプチドアナログ（Ａ２Ｓ）がＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３Ｅ細胞への結合についてＧＬＰ－１　ＭＭＢと競合することが可能であることを示す。灰色領域：ＧＬＰ－１　ＭＭＢしかし二次なし；黒色線：ＧＬＰ－１　ＭＭＢおよび二次；破線：ＧＬＰ－１　ＭＭＢ、０．２ｎＭ競合体、二次；点線：ＧＬＰ－１　ＭＭＢ、２０ｎＭ競合体、二次；灰色線：ＧＬＰ－１　ＭＭＢ、１００ｎＭ競合体、二次）。
【図３Ａ－３Ｅ】ＧＬＰ－１　ＭＭＢのｃＡＭＰアッセイを具体的に説明する。図３Ａ：ＩｇＧ１足場構造中のｗｔ　ＧＬＰ－１　ＭＭＢ；図３Ｂ：ＧＬＰ－１ペプチド；図３Ｃ：ＩｇＧ４（Ａｌａ／Ａｌａ、Ｓｅｒ－＞Ｐｒｏ）足場構造中のＧＬＰ－１（Ａ２Ｇ）ＭＭＢ；図３Ｄ：ＩｇＧ４（Ａｌａ／Ａｌａ、Ｓｅｒ－＞Ｐｒｏ）足場構造中のＧＬＰ－１（Ａ２Ｓ）ＭＭＢ；図３Ｅ：ＩｇＧ４（Ａｌａ／Ａｌａ、Ｓｅｒ－＞Ｐｒｏ）足場構造中のｗｔ　ＧＬＰ－１　ＭＭＢ。
【図４】ＤＰＰ－ＩＶ切断に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの抵抗性を具体的に説明する。
【図５】血清中でのＧＬＰ－１　ＭＭＢの安定性を示す。
【図６】ＧＬＰ－１　ＭＭＢがＲＩＮｍ細胞中でインスリン分泌を引き起こすことを示す。図６ＡはＧＬＰ－１（７－３６）ペプチドおよびエキセンジン－４ペプチドがＲＩＮｍ細胞中でインスリン放出を刺激することを示す。図６Ｂは、ＩｇＧ１若しくはＩｇＧ４（Ａｌａ／Ａｌａ、Ｓｅｒ－＞Ｐｒｏ）いずれかの足場構造中のＧＬＰ－１（Ａ２Ｓ）ＭＭＢまたはＩｇＧ４（Ａｌａ／Ａｌａ、Ｓｅｒ－＞Ｐｒｏ）足場構造中のＧＬＰ－１（Ａ２Ｇ）ＭＭＢが、ＲＩＮｍ細胞中のインスリン分泌の刺激において活性であることを示す。
【図７】ＧＬＰ－１　ＭＭＢがグルコースを（図７Ａ）用量依存性の様式で（図７Ｂ）低下させることを示す。
【図８】カニクイザルにおける４種のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（Ａ２Ｇ、Ａ２Ｓ、Ｅｘ－ｃａｐおよび野性型）の薬物動態プロファイルを示す。
【図９】糖尿病マウスにおける経口耐糖能試験の間のＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果を示す。
【図１０】糖尿病マウスへの慢性投与の間の空腹時血糖に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果を示す。
【図１１】糖尿病マウスへの慢性投与後の経口耐糖能試験に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果を示す。
【図１２】糖尿病マウスへの慢性投与後のＨｂＡｌｃの低下に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果を示す。
【図１３】正常カニクイザルにおける経口耐糖能試験での血糖値（図１３Ａ）およびインスリンレベル（図１３Ｂ）に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果を示す。
【図１４】単回投与後の糖尿病マウスの膵島のインスリン染色に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果を示す。
【図１５】ＧＬＰ－１　ＭＭＢが正常イヌで胃排出を遅延させることを示す。
【図１６】ＧＬＰ－１　ＭＭＢが、食餌誘発性肥満マウスで経口耐糖能試験後の血糖を低下させることを示す。
【図１７】ＧＬＰ－１　ＭＭＢが、糖尿病マウスでの腹腔内耐糖能試験で血糖を低下させ（図１７Ａ）かつインスリンレベルを低下させる（図１７Ｂ）ことを示す。
【図１８Ａ】増大する濃度のＧＬＰ－１ＭＭＢに対するラットＩＮＳ－１Ｅ細胞でのｃＡＭＰ応答を示す。該データを双曲線に当てはめて８．７ｎＭのＥＣ$_{50}$および４８．３ｎＭの分泌されるｃＡＭＰの最大量を提供した。
【図１８Ｂ】増大する濃度のＧＬＰ－１ペプチドに対するラットＩＮＳ－１Ｅ細胞でのｃ

ＡＭＰ応答を示す。該データを双曲線に当てはめて０．１１ｎＭのＥＣ$_{50}$および４６．７ｎＭの分泌されるｃＡＭＰの最大量を提供した。
【図１９】増大する濃度のＧＬＰ－１ＭＭＢでのラットＩＮＳ－１Ｅ細胞でのインスリン分泌を示す。
【図２０Ａ】単回ｉｖおよびｓｃ投与（３ｍｇ／ｋｇ）後のラット血漿中のＧＬＰ－１ＭＭＢ濃度を示す。
【図２０Ｂ】単回ｉｖ投与（１ｍｇ／ｋｇ）後のサル血漿中のＧＬＰ－１ＭＭＢ濃度を示す。
【図２１Ａ】ＧＬＰ－１ＭＭＢを投与したＤＩＯマウスでのｉｐＧＴＴを示す。
【図２１Ｂ】図１に提示されるｉｐＧＴＴについての計算された曲線下面積（ＡＵＣ）を示す。
【図２１Ｃ】図２からのデータを双曲線に当てはめ１５μｇ／ｋｇのＥＤ$_{50}$を提供したことを示す。
【図２２Ａ－２２Ｂ】ＣＮＴＯ１９９６（１ｍｇ／ｋｇ）、エキセンジン－４（０．０７ｍｇ／ｋｇ）およびＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）の単回ｉｖ投与で処置した野生型（Ａ）およびＧＬＰ－１Ｒ－／－（Ｂ）マウスでの２４時間累積食餌摂取を示す。値は平均±ＳＥを表し；ＣＮＴＯ１９９６処置群に対し*ｐ＜０．０５。
【図２３Ａ－２３Ｃ】ＣＮＴＯ１９９６（１ｍｇ／ｋｇ）、エキセンジン－４（０．０７ｍｇ／ｋｇ）およびＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）の単回ｉｖ投与後の野生型（Ａ）およびＧＬＰ－１Ｒ－／－（Ｂ）マウスでの耐糖能試験を示す。（Ｃ）野生型（黒色棒）およびＧＬＰ－１Ｒ－／－（灰色棒）マウスでのｉｐＧＴＴ試験の曲線下面積。値は平均±ＳＥを表し；ＣＮＴＯ１９９６処置群に対し*ｐ＜０．０５。
【図２４】ＣＮＴＯ１９９６（１ｍｇ／ｋｇ）、エキセンジン－４（０．０７ｍｇ／ｋｇ）およびＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）で処置した野生型（黒色棒）およびＧＬＰ－１Ｒ－／－（灰色棒）マウスでの胃内容量を示す。値は平均±ＳＥを表し；ＣＮＴＯ１９９６処置群に対し*ｐ＜０．０５。
【図２５】ＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）の単回ｉｖ投与後の多様な時点で実施したＤＩＯマウスでの耐糖能試験を示す。
【図２６】ＤＩＯマウスでのｉｐＧＴＴ（図２５）の間に得られたデータの曲線下面積を示す。
【図２７】単回ｉｖ投与（１ｍｇ／ｋｇ）後のＤＩＯマウス血漿中のＧＬＰ－１　ＭＭＢ濃度を示す。
【図２８】耐糖能試験直後のＧＬＰ－１　ＭＭＢ血漿濃度の関数としてプロットしたＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）の単回ｉｖ投与後の耐糖能試験の曲線下面積を示す。
【手続補正１２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２１５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２１５】
野性型ＧＬＰ－１配列（配列番号６９のＧＬＰ－１ＭＭＢ）ならびに配列番号７１のＧＬＰ－１ＭＭＢ（Ａ２Ｓ）若しくは配列番号７０のＧＬＰ－１ＭＭＢ（Ａ２Ｇ）のようなＤＤＰ－ＩＶ抵抗性ＧＬＰ－１バリアントをミメティボディの足場構造に組込み得る。ＧＬＰ－１ミメティボディの特性を改良するために該ペプチドの突然変異を行い得る。例えば、アミノ末端残基での突然変異はシグナル伝達を改良しうる一方、らせん状ドメイン中の突然変異は該ヘリックスを安定化することができかつそれによりミメティボディの受容体への結合および／若しくは安定性を向上させうる。
【手続補正１３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２１７

【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２１７】
本発明のＧＬＰ－１ミメティボディ。本発明の特定の制限しない一例は、式（Ｉ）：（（Ｐ（ｎ）－Ｌ（ｏ）－Ｖ（ｐ）－Ｈ（ｑ）－ＣＨ２（ｒ）－ＣＨ３（ｓ））（ｔ）、［ここでＰは１コピーの生物活性ＧＬＰ－１ペプチド（７－３６）であり、ＬはＧｌｙ－Ｓｅｒ若しくはＧｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号１６）いずれかのフレキシブルリンカーのタンデム反復であり、Ｖは$Ｖ_{Ｈ}$配列のＣ末端すなわち天然に存在するＩｇＧのＪ領域であり、Ｈは完全なＩｇＧ４ヒンジ領域であり、そしてＣＨ２およびＣＨ３はＩｇＧ４アイソタイプサブクラスのものである］のＧＬＰ－１ミメティボディ構築物（配列番号２）である。この構築物の半減期はＧＬＰ－１ペプチド単独またはそのバリアント若しくは誘導体のものの多数倍でありかつＩｇＧのものに類似であろうことが期待される。
【手続補正１４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２１９
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２１９】
組換えＤＮＡ法を使用して、ＧＬＰ－１ペプチドを免疫グロブリンシグナルペプチドとヒトＪ配列の間で中間体ベクターに挿入した。これは、該ベクター中に存在する制限部位と適合性の端をもつ相補合成オリゴヌクレオチドを使用して行った。これらのオリゴヌクレオチドは、ＧＬＰ－１ペプチドのコーディング配列および２個のＧＧＧＳ（配列番号１６）反復配列から構成されるフレキシブルリンカーを含んだ。前述の機能エレメントを含有する制限フラグメントをその後発現ベクター中に移した。このベクターは、抗ＣＤ４免疫グロブリンのプロモーターおよびエンハンサーならびにヒトＩｇＧ４ヒンジ配列、ＨＣ定常領域２（ＣＨ２）および定常領域３（ＣＨ３）のコーディング配列、ならびに細菌中でのプラスミドの複製および選択ならびに哺乳動物細胞中での安定な発現体の選択のための必要なエレメントを含有した。
【手続補正１５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２２４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２２４】
ＦＡＣＳ結合アッセイ。
ＧＬＰ－１ミメティボディの活性をｉｎ　ｖｉｔｒｏ　ＦＡＣＳ結合アッセイで試験した。ＧＬＰ－１　ＭＭＢがＧＬＰ－１Ｒを結合するかどうかを決定するため、ＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞（$１×１０^{６}$細胞）を配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（２０ｎＭ）と４℃で２時間インキュベートした。細胞を洗浄し、そして蛍光標識した二次検出抗体（１μｇ／ｍＬヤギ抗ヒトＩｇＧ、Ｆｃ　γ特異的）を４℃で３０分間添加した。フローサイトメトリーを介して細胞の蛍光強度をモニターした。図２Ａは、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢがＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞に結合することを示す（灰色、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢしかし二次なし；黒色、二次のみ；赤色、陰性対照ＭＭＢおよび二次；青色、ＧＬＰ－１　ＭＭＢおよび二次）。図２Ｂは、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢが対照ＨＥＫ２９３細胞に結合しないことを示す（灰色、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢしかし二次なし；黒色、二次のみ；青色、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢおよび二次）。図２Ｃは、ＧＬＰ－１ペプチドアナログ（Ａ２Ｓ）がＧＬＰ－１Ｒを過剰発現するＨＥＫ２９３細胞への結合について配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢと競合することが可能であることを示す（灰色、配列番号６９の

ＧＬＰ－１　ＭＭＢしかし二次なし；黒色、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢおよび二次；橙色、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢ、０．２ｎＭ競合体、二次；青色、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢ、２０ｎＭ競合体、二次；赤色、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢ、１００ｎＭ競合体、二次）。

【手続補正１６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２２６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２２６】
ｃＡＭＰアッセイ。

ＧＬＰ－１は、その受容体すなわちＧタンパク質共役型受容体に結合してシグナル伝達分子３’，５’－環状ＡＭＰ（ｃＡＭＰ）の用量依存性の増加をもたらす。ｃＡＭＰはＧＬＰ－１Ｒを発現する細胞中でのｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）で測定し得る。簡潔には、Ｒｉｎｍ細胞（１００，０００細胞）を、増大する濃度のＧＬＰ－１ペプチド（０～３０ｎＭ）若しくはＧＬＰ－１　ＭＭＢ（０～１００ｎＭ）とともにインキュベートした。細胞を溶解し、そしてアルカリホスファターゼ標識ｃＡＭＰ複合物および化学発光基質（Ｔｒｏｐｉｘ(R)　ＣＤＰＤ(R)）を使用する競合アッセイを使用してｃＡＭＰの量を測定した。配列番号６９のｗｔ　ＧＬＰ－１　ＭＭＢの濃度依存性のｃＡＭＰ活性（図３Ａ）はＧＬＰ－１ペプチド（図３Ｂ）に匹敵する（それぞれEC_{50}＝１１ｎＭ対０．４ｎＭ）。類似の実験で、ＩｇＧ４の足場構造中の配列番号７０のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（Ａ２Ｇ）（図３Ｃ）およびＩｇＧ４の足場構造中の配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（Ａ２Ｓ）（図３Ｄ）は、双方ともＲｉｎｍ細胞中のｃＡＭＰレベルをＩｇＧ４の足場構造中の配列番号６９のｗｔ　ＧＬＰ－１　ＭＭＢよりも有意により高レベルに増大させた。

【手続補正１７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２３２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２３２】
ＤＰＰ－ＩＶ切断アッセイ。

ＧＬＰ－１はＤＰＰ－ＩＶにより急速に不活性化されるため、無傷の（すなわち切断されない）配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢを定量するためのｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイを確立した。簡潔には、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢ若しくはペプチド（１．２ｎＭ）をＤＰＰ－ＩＶ（１μｇ／ｍＬ、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）と室温でインキュベートした。多様な時間（０、５、１０、１５、２０、３０、４０分）後にＤＰＰ－ＩＶ阻害剤（１００μＭ、Ｌｉｎｃｏ）を添加して反応をクエンチした。無傷の配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢ若しくはペプチドの量を、ＧＬＰ－１　Ａｃｔｉｖｅ　ＥＬＩＳＡ（Ｌｉｎｃｏ）、およびそれぞれの標準曲線のため配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢ若しくはペプチドを使用して測定した。図４は、配列番号６９のＧＬＰ－１　ＭＭＢがＧＬＰ－１ペプチドに関してＤＰＰ－ＩＶによる切断に対し有意により抵抗性であったことを示す。

【手続補正１８】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２３４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２３４】
ヒト血清安定性アッセイ。

他の血清プロテアーゼがＧＬＰ－１　ＭＭＢを切断かつ不活性化することが可能でなか

ったことを確認するために血清中でのＧＬＰ－１　ＭＭＢの安定性もまた測定した。簡潔には、ＧＬＰ１ペプチド若しくは配列番号７１のＧＬＰ１　ＭＭＢ（３０ｎＭ）をヒト血清中３７℃でインキュベートした。多様な時間後に反応をＤＰＰ－ＩＶ阻害剤（１００μＭ、Ｌｉｎｃｏ）でクエンチし、そしてＬｉｎｃｏからのＧＬＰ－１　Ａｃｔｉｖｅ　ＥＬＩＳＡを使用してサンプルを分析した。図５は、配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢがヒト血清中で２４時間安定である一方、ペプチドは迅速に崩壊されることを示す。

【手続補正１９】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２４１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２４１】
ＧＬＰ－１　ＭＭＢはｄｂ／ｄｂマウスにおいてグルコースレベルを低下させる。

６週齢のｄｂ／ｄｂマウスを２時間絶食させ、そしてその後ベヒクル、ＧＬＰ－１ペプチド若しくは配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（Ａ２Ｓ）を静脈内投与した。投与後０．５、１、２、３および４時間に血糖をモニターした。ＧＬＰ－１ペプチドは３０分で血糖を低下させたが、しかし、ありそうにはＧＬＰ－１ペプチドの短い半減期により６０分までに血糖が再度増大し始めた。相対的に、ＧＬＰ－１ペプチドの用量より１００倍より低い用量の配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（Ａ２Ｓ）は、４時間全体を通じて血糖の低下を誘発した（図７Ａ）。加えて血糖の低下は用量依存的であった（図７Ｂ）。

【手続補正２０】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２４３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２４３】
マウスおよびカニクイザルにおけるＧＬＰ－１　ＭＭＢの薬物動態。

４種のＧＬＰ－１ミメティボディ（Ａ２Ｇ、Ａ２Ｓ、エキセジン（ｅｘｅｄｉｎ）－ｃａｐおよびｗｔ）（それぞれ配列番号７０、配列番号７１、配列番号７２および配列番号６９）の薬物動態を測定するため、Ｃ５７／Ｂｌ６マウスに１ｍｇ／ｋｇのＭＭＢを静脈内投与した。多様な時点でマウスを殺した後に心穿刺を介して血漿を得た。多様なＥＬＩＳＡを使用してＦｃ、全ＭＭＢ、活性ＭＭＢおよびそれらが動物中で代謝されたところの活性ペプチドを測定した。活性ＭＭＢはミメティボディのＦｃ領域になお結合されている該ペプチドの無傷のＮ末端を反映する。該ペプチド中の第二のアミノ酸（アラニン）のセリン若しくはグリシンいずれかでの置換は循環中の活性のＭＭＢの寿命を延長した。

【手続補正２１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２５４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２５４】
糖尿病マウスにおける経口耐糖能試験の間のＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。

８週齢の糖尿病ｄｂ／ｄｂマウスを、配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（０．０２ないし２ｍｇ／ｋｇ）の皮下注入前に６時間絶食させた。投与後にマウスを追加の６時間絶食させそして基礎の空腹時血糖を測定した。ｔ＝０にマウスに１．０ｍｇ／ｇグルコースの経口胃管栄養を与え、そして多様な時点で血糖を測定した。図９に示される結果は、配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢが試験した全用量で経口耐糖能試験の間に血糖変動幅（ｅｘｃｕｒｓｉｏｎ）の低下において有効であったことを示す。

【手続補正２２】
【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】０２５６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２５６】
糖尿病マウスへの慢性投与の間の空腹時血糖に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。
　１０週齢の糖尿病ｄｂ／ｄｂマウスにベヒクル若しくは配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）を連日６週間皮下投与した。試験の経過の間に空腹時血糖を週あたり２回測定した。空腹時血糖は、処置した動物で試験を通じて対照に関して低下し（図１０）、そして６週までに該差違は２００ｍｇ／ｄＬ以上となった（４６６対２２１ｍｇ／ｄＬ、それぞれ対照および処置動物）。
【手続補正２３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２５８
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２５８】
糖尿病マウスへの慢性投与後の経口耐糖能試験に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。
　実施例１１でのとおり、１０週齢の糖尿病ｄｂ／ｄｂマウスにベヒクル若しくは配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）を連日６週間投与した。４０日投与後にマウスに経口耐糖能試験を行った。簡潔には、ｔ＝０にマウスに１．０ｍｇ／ｇグルコースの経口胃管栄養を与え、そして多様な時点で血糖を測定した。図１１に示される結果は、配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢが経口耐糖能試験の間の血糖変動幅の低下において有効であったことを示し、配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢで慢性に処置したマウスが対照動物に関してより効率的にグルコース負荷を消失させることが可能であることを示唆する。
【手続補正２４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２６０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２６０】
糖尿病マウスへの慢性投与後のＨｂＡ１ｃの低下に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。
　実施例１１および１２でのとおり、１０週齢の糖尿病ｄｂ／ｄｂマウスにベヒクル若しくは配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）を連日６週間投与した。６週の投与の前および後に全血サンプルを採取しそしてＨｂＡ１ｃパーセントについて分析した。図１２に示されるとおり、ＧＬＰ－１処置動物のＨｂＡ１Ｃは６週間に１０９パーセント増大した一方、対照処置動物は１４２パーセント増大した。このデータは、処置動物が慢性期にわたりそれらの血糖を調節することが対照に関してより良好に可能であることを示唆する。
【手続補正２５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２６２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２６２】
正常カニクイザルにおける経口耐糖能試験に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。
　経口耐糖能試験（ＯＧＴＴ）を、配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（１ｍｇ／ｋｇ）の単回用量前および６日後に正常カニクイザルで行った。簡潔には、ｔ＝０にサルに２．０ｍｇ／ｇグルコースの経口胃管栄養を与え、そして多様な時点で血糖を測定した。血糖値は投与６日後に行ったＯＧＴＴで有意に低下され（図１３Ａ）、また、インスリンレベ

ルは有意に増大された（図１３Ｂ）。これは、配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢが、上昇されたグルコース濃度にて膵からのインスリン分泌を引き起こしていることを示唆する。

【手続補正２６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２６４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２６４】
単回用量後の糖尿病マウス（ｄｂ／ｄｂ）の膵島中のインスリン染色に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢの効果。

１２週齢の糖尿病マウス（ｄｂ／ｄｂ）を配列番号７１のＧＬＰ－１ＭＭＢ（１．５ｍｇ／ｋｇ）の単回皮下用量で処置しそして膵を４週後に収集した。膵を切開しかつインスリンの存在について染色した。図１４に示されるとおり、処置動物で対照動物に関して有意により多いインスリン染色が存在した。

【手続補正２７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２６６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２６６】
ＧＬＰ－１　ＭＭＢは正常イヌで胃排出を遅延させる。

胃カニューレを全身麻酔下に雌性ビーグル犬（１０～１５ｋｇ）に外科的に移植しそして最低２週間回復させた。イヌを２４時間絶食させ、その後水は自由に入手可能であった。胃カニューレを開放しそして胃液および食物の残りを４０～５０ｍｌの微温湯で除去した。６匹のイヌの群に食餌の６０分前にα２アゴニスト、リダミジン（０．６３ｍｇ／ｋｇ）を皮下投与した（胃排出の遅延の陽性対照）。ベヒクル対照若しくは配列番号７０のＧＬＰ－１　ＭＭＢ（０．１ｍｇ／ｋｇ）を投与したイヌに、食餌の１５分前に橈側皮静脈に静脈内投与した。食餌の５分前に胃カニューレを開放して基礎値の胃中に存在する液体の量を測定し、そして液体を迅速に再導入した。その後、２５０ｍｌのグルコース溶液（５ｇ／ｌ）よりなる試験食をカニューレを介して投与しそして胃中に３０分間留まらせた。３０分後に胃内容物を胃から排出させて総容量を測定した。１ｍｌの胃内容物を分析のため保持し、そして残りの容量はカニューレを介して胃に再導入した。胃内容物の容量の評価およびサンプルの回収を６０、９０および１２０分に反復した。収集したサンプルについてグルコース濃度を評価し、そして各時点で胃中に残存するグルコースの絶対量を決定するのに使用した。胃中に保持されるグルコースのパーセンテージを出発値および各時点のグルコースの濃度から決定し、そして時間の関数としてプロットした。胃内容物の５０％が保持された時間を単指数関数への曲線の当てはめにより決定した。図１５に示されるとおり、胃内容物の５０％はベヒクルを投与したイヌで後１２．３５±３．６９分で排出された一方、リダミジン陽性対照および配列番号７０のＧＬＰ－１　ＭＭＢを投与したイヌは胃排出の有意の遅延（それぞれ３０．６０±６．４７および５９．２３±１４．４６）を示した。

【手続補正２８】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２６８
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２６８】
ＧＬＰ－１　ＭＭＢは食餌誘発性肥満マウスで経口耐糖能試験（ＯＧＴＴ）後の血糖を低下させる。

食餌誘発性肥満のマウスモデルを開発するため、マウスを高脂肪食で最低２７週間維持した。マウスは肥満となり、そして空腹時血糖値が１２０ｍｇ／ｄｌを超えた場合に糖尿病であると決定した。食後血糖値に対するＧＬＰ－１　ＭＭＢ療法の効果を評価するため、食餌誘発性肥満マウスを一夜絶食させ、そして０．０２、０．２若しくは２ｍｇ／ｋｇの配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢまたはベヒクル対照を皮下投与した。投与６時間後にマウスに１．５ｍｇ／ｇのグルコースの胃管栄養を与えた。血糖値をＭＭＢ投与の前、ｔ＝０、１５、３０、６０、９０、１２０、１５０および１８０分に尾静脈血を使用して測定した。図１６に示されるとおり、空腹時血糖値の配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢ用量依存性の低下がｔ＝０および全部のその後の時点で観察された。曲線下面積をｔ＝０とｔ＝１８０の間で計算し、全用量でグルコース配置（ｇｌｕｃｏｓｅ　ｄｉｓｐｏｓａｌ）の有意の低下を示した。

【手続補正２９】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２７０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２７０】
ＧＬＰ－１　ＭＭＢはｄｂ／ｄｂマウスにおいて腹腔内耐糖能試験（ＩＰＧＴＴ）で血糖を低下させる。

およそ１３～１５週齢の雄性ｄｂ／ｄｂマウスを空腹時血糖値に基づき６匹のマウスの処置群に無作為化した。マウスに、０．０２ｍｇ／ｋｇ若しくは０．１ｍｇ／ｋｇの配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢまたは０．１ｍｇ／ｋｇの陰性対照ＭＭＢのいずれかを耐糖能試験の６時間前に投与した。耐糖能試験の５分前にグルコース測定値を尾静脈血から携帯式血糖計で測定した。マウスにその後１ｍｇ／ｇのＤ－グルコースを腹腔内投与し、そして血糖値を１０分、２０分、３０分、６０分、９０分、１２０分、１５０分および１８０分にモニターした。図１７Ａに具体的に説明されるとおり、血糖値は、配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢで処置した双方の群で時間経過全体にわたり有意により低かった。同一の様式で処置した付加的な動物群をインスリン濃度の測定のためｔ＝１０分に殺した。配列番号７１のＧＬＰ－１　ＭＭＢ投与１０分後に放出されるインスリンの量の用量依存性の増大が存在する。

【手続補正３０】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】配列表
【補正方法】変更
【補正の内容】
【配列表】
2010500868000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2007/073752

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/605 C07K16/00

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)
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, CHEM ABS Data, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 559 724 A (SANWA KAGAKU KENKYUSHO CO [JP]) 3 August 2005 (2005-08-03) abstract sequence 3	1-3,5,6, 18-38
X	WO 2005/097175 A (CENTOCOR INC [US]; O'NEIL KARYN [US]; PICHA KRISTEN [US]) 20 October 2005 (2005-10-20) the whole document sequences 7-14 paragraphs [0108], [0109] sequences 43, 45, 60-64	1-3,5,6, 18-38

-/--

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

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 June 2008	04/07/2008

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Petri, Bernhard

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2007/073752

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/98331 A (LILLY CO ELI [US]; GLAESNER WOLFGANG [US]; MILLICAN ROHN LEE [US]) 27 December 2001 (2001-12-27) the whole document page 4 sequences 13-14	1-3,5,6, 18-38
X	EP 1 408 050 A (SHANGHAI HUA YI BIO TECH LAB [CN]) 14 April 2004 (2004-04-14) the whole document page 4, line 17 page 8, line 17	1-3,5,6, 18-38
A	WO 2004/002424 A (CENTOCOR INC [US]) 8 January 2004 (2004-01-08) the whole document	1-3,5,6, 18-38

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

International Application No. PCT/US2007 /073752

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Although claims 29-33 are directed to a diagnostic method practised on the human/animal body, and/or a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 4, 7-17

The present application contains 38 claims, of which at least 18 are independent directed each at GLP1 CH1 deleted mimetibody polypeptides. There is no clear distinction between the independent claims because of overlapping scope. In view of this multitude of independent claims of largely overlapping scope, further in view of the many permutations and alternatives within each of said independent claims, and in view of the fact that they are drafted in such a way that the claims as a whole are not in compliance with the provisions of clarity and conciseness of Article 6 PCT, as it is particularly burdensome for a skilled person to establish the subject-matter for which protection is sought. The non-compliance with the substantive provisions is to such an extent, that the search was performed taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search (PCT Guidelines 9.19 and 9.25).

The search was based on the subject-matter that, as far as can be understood, could reasonably be expected to be claimed later in the procedure, and the corresponding claims, namely claim 1 and 2, dependent claim 3 and redundant claims 5/6 directed at GLP-1 mimetibody nucleic acids, comprising coding regions encoding Seq.Id.Nos. 2, 4, 6, 7-14 and subject matter directly relating thereto (i.e. claims 18-38 in part).

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2007/073752

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

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

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

Although claims 29-33 are directed to a diagnostic method practised on the human/animal body, and/or a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. [X] Claims Nos.: 4, 7-17
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

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

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

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

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

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

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

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

Remark on Protest

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

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

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2007/073752

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 1559724	A	03-08-2005	AU	2003272970 A1	13-05-2004
			CA	2502118 A1	06-05-2004
			CN	1703424 A	30-11-2005
			WO	2004037859 A1	06-05-2004
			KR	20050049525 A	25-05-2005
			US	2006194720 A1	31-08-2006
WO 2005097175	A	20-10-2005	AR	049014 A1	21-06-2006
			AU	2005231359 A1	20-10-2005
			BR	PI0509528 A	07-08-2007
			CA	2563379 A1	20-10-2005
			EP	1750754 A2	14-02-2007
			KR	20070004078 A	05-01-2007
			US	2007135338 A1	14-06-2007
WO 0198331	A	27-12-2001	AR	031701 A1	01-10-2003
			AT	346093 T	15-12-2006
			AU	6479101 A	02-01-2002
			AU	2001264791 B2	23-11-2006
			BR	0111562 A	15-04-2003
			CA	2412004 A1	27-12-2001
			CN	1468258 A	14-01-2004
			CZ	20024088 A3	14-05-2003
			DE	60124710 T2	13-09-2007
			DK	1294757 T3	19-03-2007
			EP	1294757 A2	26-03-2003
			ES	2275685 T3	16-06-2007
			HK	1055121 A1	21-09-2007
			HR	20020996 A2	29-02-2004
			HU	0301212 A2	28-08-2003
			JP	2004501162 T	15-01-2004
			MX	PA02012203 A	06-06-2003
			NO	20025949 A	11-12-2002
			NZ	522330 A	26-11-2004
			PL	360406 A1	06-09-2004
			SK	17782002 A3	01-07-2003
			US	2003220243 A1	27-11-2003
EP 1408050	A	14-04-2004	AU	2002313869 B2	03-04-2008
			BR	0211435 A	13-07-2004
			CA	2454264 A1	27-02-2003
			WO	03016349 A1	27-02-2003
			CN	1363654 A	14-08-2002
			CN	1531551 A	22-09-2004
			JP	2005515167 T	26-05-2005
			US	2004146985 A1	29-07-2004
WO 2004002424	A	08-01-2004	AU	2003256336 A1	19-01-2004
			BR	0312276 A	26-04-2005
			CA	2490411 A1	08-01-2004
			EP	1575499 A2	21-09-2005
			JP	2005536992 T	08-12-2005
			KR	20050033563 A	12-04-2005
			MX	PA05000202 A	30-09-2005
			US	2005191301 A1	01-09-2005

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
A61P	*3/10*	*(2006.01)*	A61P	3/10		4C086
A61P	*9/04*	*(2006.01)*	A61P	9/04		4H045
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61P	43/00	111	
A61P	*31/00*	*(2006.01)*	A61P	31/00		
A61P	*9/00*	*(2006.01)*	A61P	9/00		
A61P	*25/00*	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61P	*11/00*	*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61P	*1/04*	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P	*5/00*	*(2006.01)*	A61P	5/00		
A61P	*3/02*	*(2006.01)*	A61P	3/02		
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P	*37/02*	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P	*27/02*	*(2006.01)*	A61P	27/02		
A61P	*27/16*	*(2006.01)*	A61P	27/16		
C07K	*14/605*	*(2006.01)*	C07K	14/605		
C07K	*16/26*	*(2006.01)*	C07K	16/26		
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/21		
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/19		
C12N	*1/15*	*(2006.01)*	C12N	1/15		
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/00	A	
C12Q	*1/02*	*(2006.01)*	C12Q	1/02		
C12Q	*1/68*	*(2006.01)*	C12Q	1/68	A	
G01N	*33/53*	*(2006.01)*	G01N	33/53	B	

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

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA01 BA44 CA04 DA02 DA03 EA04 GA11 HA01 HA17
4B063 QA19 QQ08 QQ42 QQ79 QR32 QR48 QR77 QX01
4B065 AA91X AA93X AA93Y AB01 AC14 BA02 CA44 CA46
4C084 AA01 AA02 AA19 BA08 BA23 BA44 DB35 MA02 ZA022 ZA332 ZA342 ZA361 ZA362 ZA592 ZA662 ZB072 ZB262 ZB352 ZC022 ZC032 ZC351 ZC352 ZC422
4C085 AA13 BB31 CC22 EE01 GG02 GG03 GG04 GG06
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA04 NA12 ZA36 ZC35
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA53 CA40 DA30 DA76 EA30 EA50 FA74 GA26