

(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2019-508018

(P2019-508018A)

(43) 公表日 平成31年3月28日 (2019.3.28)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12 Z N A	2 G 0 4 5
C 0 7 K 7/06 (2006.01)	C 0 7 K 7/06	4 B 0 5 0
C 1 2 N 9/99 (2006.01)	C 1 2 N 9/99	4 B 0 6 3
C 0 7 K 7/08 (2006.01)	C 0 7 K 7/08	4 B 0 6 5
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	4 C 0 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 61 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2018-531443 (P2018-531443)
 (86) (22) 出願日 平成28年12月19日 (2016.12.19)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年7月5日 (2018.7.5)
 (86) 国際出願番号 PCT/DK2016/050445
 (87) 国際公開番号 W02017/101956
 (87) 国際公開日 平成29年6月22日 (2017.6.22)
 (31) 優先権主張番号 PA201570835
 (32) 優先日 平成27年12月18日 (2015.12.18)
 (33) 優先権主張国 デンマーク (DK)

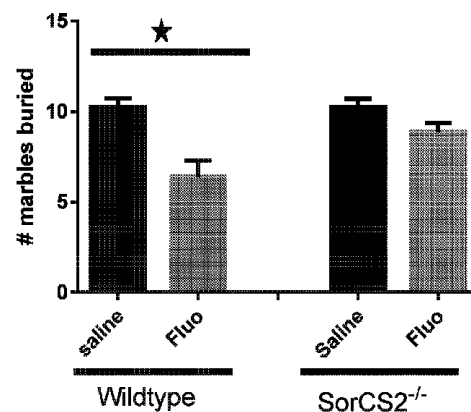
(71) 出願人 515309782
 オルフス ユニバーシテト
 デンマーク国、ディーケー - 8000 オ
 ルフス シー、ノードル リンガッデ 1
 (74) 代理人 100107456
 弁理士 池田 成人
 (74) 代理人 100162352
 弁理士 酒巻 順一郎
 (74) 代理人 100123995
 弁理士 野田 雅一
 (74) 代理人 100148596
 弁理士 山口 和弘
 (72) 発明者 ヘンセン、モールガード、シモン
 デンマーク国、8530 ヒョートスホイ
 、ヒョートスホイハンゲン 112
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 SorCSペプチド及びそれらの用途

(57) 【要約】

本発明は、Vps10ドメインを含む受容体SorCS2、SorCS1またはSorCS3のリン酸化及び／またはその発現を調節する化合物及び方法に関する。この調節により、本発明は、神経性、精神及び行動性、代謝性、摂食性、及び腫瘍性の疾患の治療及び寛解に有用である。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ペプチドまたはペプチドアナログ (P_1) であって、配列 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 9) を含むかまたはそれからなり、

(i) X_1 はスレオニン (T) またはイソロイシン (I) であり、

(i i) X_2 はホスホセリン (J)、アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)、アラニン (A)、及びセリン (S) からなる群より選択され、

(i i i) X_3 はプロリン (P) またはセリン (S) であり、

(i v) X_4 はホスホセリン (J)、アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)、アラニン (A)、及びセリン (S) からなる群より選択され、

(v) X_5 はヒスチジン (H) またはグルタミン (Q) であり、

(v i) X_6 はホスホセリン (J)、アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)、アラニン (A)、及びセリン (S) からなる群より選択される、

前記ペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 2】

P_1 は、配列 $K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 10) を含むかまたはそれからなる、請求項 1 に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 3】

P_1 は、配列 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ (配列番号 11) を含むかまたはそれからなり、

(i) X_7 はアスパラギン酸 (D)、アスパラギン (N)、セリン (S) から選択され、

(i i) X_8 はバリン (V)、アルギニン (R)、アラニン (A) から選択され、

(i i i) X_9 はプロリン (P) またはグルタミン (Q) であり、

(i v) X_{10} はグリシン (G)、リジン (K)、アスパラギン (N) から選択され、

(v) X_{11} はアラニン (A)、イソロイシン (I)、バリン (V) から選択され、

(v i) X_{12} はバリン (V)、スレオニン (T)、プロリン (P) から選択され、

(v i i) X_{13} はグルタミン (Q) またはロイシン (L) であり、

(v i i i) X_{14} はグリシン (G)、スレオニン (T)、セリン (S) から選択される、

請求項 1 に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 4】

P_1 は、配列 $K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ (配列番号 12) を含むかまたはそれからなる、請求項 1 に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 5】

P_1 は、配列 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 9) からなり、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、このような P_1 は配列番号 13 である、請求項 1 に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 6】

P_1 は、配列 $K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 10) からなり、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、このような P_1 は配列番号 16 である、請求項 2 に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 7】

P_1 は、配列 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ (配列番号 11) からなり、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、 X_7 はアスパラギン酸 (D) であり、 X_8 はバリン (V) であり、 X_9 はグルタミン (Q) であり、 X_{10} はグリシン (G) であり、 X_{11} はアラニン (A) であり、 X_{12} はバリン (V) であり、 X_{13} はグルタミン (Q) であり、 X_{14} はグリシン (G) であり、このような P_1 は配列番号 19 である、請求項

3に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項8】

P₁は、配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号12)からなり、X₁はスレオニン(T)であり、X₃はプロリン(P)であり、X₅はヒスチジン(H)であり、X₇はアスパラギン酸(D)であり、X₈はバリン(V)であり、X₉はグルタミン(Q)であり、X₁₀はグリシン(G)であり、X₁₁はアラニン(A)であり、X₁₂はバリン(V)であり、X₁₃はグルタミン(Q)であり、X₁₄はグリシン(G)であり、このようなP₁は配列番号22である、請求項4に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項9】

10

P₁は、X₂、X₄、X₆のうちの少なくとも1つを含み、
(i) X₂はアスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)、ホスホセリン(J)からなる群より選択され、
(ii) X₄はアスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)、ホスホセリン(J)からなる群より選択され、または
(iii) X₆はアスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)、ホスホセリン(J)からなる群より選択される、
請求項1～8のいずれか1項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項10】

P₁は、配列番号25～49のいずれかから選択される配列を含むかまたはそれからなる、請求項9に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

20

【請求項11】

P₁は、配列番号37を含むかまたはそれからなる、請求項9に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項12】

P₁は、X₂、X₄、X₆のうちの少なくとも1つを含み、X₂、X₄、及び／またはX₆はアラニン(A)である、請求項1～8のいずれか1項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項13】

P₁は、配列番号50～74のいずれかから選択される配列を含むかまたはそれからなる、請求項0に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

30

【請求項14】

P₁は、配列番号62を含むかまたはそれからなる、請求項0に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項15】

P₁は、キナーゼ活性を増加させることができる、請求項1～11のいずれか1項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項16】

P₁は、ホスファターゼ活性を阻害することができる、請求項1～11のいずれか1項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

40

【請求項17】

外来性BDNFの貢献がなくても、キナーゼ活性が増加し、またはホスファターゼ活性が阻害される、請求項15～16のいずれか1項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項18】

P₁は、キナーゼ活性を阻害することができる、請求項1～8及び請求項0～14のいずれか1項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項19】

P₁は、ホスファターゼ活性を増加させることができる、請求項1～8及び請求項0～14のいずれか1項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

50

【請求項 20】

P₁ は、8～76 アミノ酸残基を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 21】

P₁ は、少なくとも 9 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 10 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 11 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 12 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 13 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 14 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 15 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 16 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 17 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 18 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 19 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 20 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 21 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 22 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 23 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 24 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 25 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 26 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 27 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 28 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 29 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 30 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 31 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 32 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 33 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 34 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 35 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 36 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 40 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 45 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 50 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 55 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 60 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 65 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 70 アミノ酸残基、たとえば少なくとも 75 アミノ酸残基、たとえば 76 アミノ酸残基を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 22】

P₁ は、少なくとも 1 つの部分、たとえば 2 つの結合部分 (Y₁) 及び (Y₂) に結合されている、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 23】

前記結合部分 Y₁ 及び Y₂ は、細胞透過性ペプチド (CPP)、アルブミン結合部分 (ABM)、及び検出可能部分 (Z) からなる群より選択される、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 24】

前記結合部分は CPP である、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 25】

前記 CPP はアミド結合により P₁ に連結され、前記 CPP はアルギニン及び／またはリジンから選択される少なくとも 4 アミノ酸残基を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 26】

前記 CPP は、レトロインベルソペプチドを含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 27】

前記 CPP は、アミノ酸配列 GRKKRRQRRR を有する Tat ペプチド、またはアミノ酸配列 rrrqrrkkrg を有するレトロインベルソ-d-Tat ペプチドである、請求項 1～26 のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 28】

前記検出可能部分 (Z) は、フルオロフォアである、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 29】

前記 (Z) は TMR である、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ

【請求項 30】

アミノ酸残基のいずれか 1 つは、別のアミノ酸に変えられているが、ただしそのように変えられているアミノ酸は 4 つ以下である、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 3 1】

アミノ酸残基のいずれか 1 つは、別のアミノ酸に変えられているが、ただしそのように変えられているアミノ酸は 3 つ以下である、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 3 2】

アミノ酸残基のいずれか 1 つは、別のアミノ酸に変えられているが、ただしそのように変えられているアミノ酸は 2 つ以下である、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

10

【請求項 3 3】

前記ペプチドは、配列番号 1 ～ 8 のいずれか 1 つのアミノ酸 1 1 0 0 ～ 1 1 7 3 の配列バリエーションである、先行請求項のいずれか 1 項に記載のペプチドまたはペプチドアナログ。

【請求項 3 4】

先行請求項のいずれか 1 項で定めたペプチドをコードする、ポリヌクレオチド。

【請求項 3 5】

請求項 3 4 で定めたポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 3 6】

請求項 3 4 に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 3 5 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

20

【請求項 3 7】

前記宿主細胞はバクテリア細胞である、請求項 3 6 に記載の宿主細胞。

【請求項 3 8】

前記宿主細胞は哺乳類細胞である、請求項 3 6 に記載の宿主細胞。

【請求項 3 9】

前記宿主細胞はヒト細胞である、請求項 3 6 に記載の宿主細胞。

【請求項 4 0】

請求項 1 ～ 3 3 のいずれか 1 項で定めたペプチドもしくはペプチドアナログ、請求項 3 4 に記載のポリヌクレオチド、請求項 3 5 に記載のベクター、または請求項 3 6 ～ 3 9 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞を含む、組成物。

30

【請求項 4 1】

前記組成物は医薬組成物である、請求項 4 0 に記載の使用される組成物。

【請求項 4 2】

医薬として使用される、請求項 1 ～ 3 3 のいずれか 1 項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、請求項 3 4 に記載のポリヌクレオチド、請求項 3 5 に記載のベクター、請求項 3 6 ～ 3 9 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 4 0 ～ 4 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 4 3】

神経系疾患の治療及び／または予防に使用される、請求項 1 ～ 3 3 のいずれか 1 項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、請求項 3 4 に記載のポリヌクレオチド、請求項 3 5 に記載のベクター、請求項 3 6 ～ 3 9 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 4 0 ～ 4 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

40

【請求項 4 4】

前記神経系疾患は突発性及び発作性疾患である、請求項 4 3 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 4 5】

前記突発性及び発作性疾患は、てんかん、てんかん重積状態、及び片頭痛からなるリストから選択される、請求項 4 4 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、

50

ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 4 6】

前記神経系疾患は、主に中枢神経系を侵す全身性萎縮症である、請求項 4 3 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 4 7】

前記主に中枢神経系を侵す全身性萎縮症はハンチントン病である、請求項 4 6 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 4 8】

前記神経系疾患は中枢神経系の変性疾患である、請求項 4 3 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 4 9】

前記中枢神経系の変性疾患はアルツハイマー病である、請求項 4 8 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 5 0】

前記神経系疾患は神経系の錐体外路及び運動障害である、請求項 4 3 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 5 1】

前記神経系の錐体外路及び運動障害はパーキンソン病である、請求項 5 0 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 5 2】

前記神経系疾患は神経障害性疼痛である、請求項 4 3 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 5 3】

前記神経障害性疼痛疾患は、痛覚過敏症の一因となる、請求項 5 2 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 5 4】

精神及び行動障害の治療及び／または予防に使用される、請求項 1 ～ 3 3 のいずれか 1 項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、請求項 3 4 に記載のポリヌクレオチド、請求項 3 5 に記載のベクター、請求項 3 6 ～ 3 9 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 4 0 ～ 4 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 5 5】

前記精神または行動障害は、鬱病、不安症、強迫性障害（OCD）、双極性障害（BD）、統合失調症（SZ）、及び広汎性発達障害からなる群より選択される、請求項 5 4 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 5 6】

前記広汎性発達障害は Rett 症候群である、請求項 5 5 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 5 7】

先天性神経発達異常及び染色体異常の治療及び／または予防に使用される、請求項 1 ～ 3 3 のいずれか 1 項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、請求項 3 4 に記載のポリヌクレオチド、請求項 3 5 に記載のベクター、請求項 3 6 ～ 3 9 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 4 0 ～ 4 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 5 8】

10

20

30

40

50

前記先天性神経発達異常及び染色体異常はルビンシュタイン・テイビ症候群である、請求項 57 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 59】

脳血管疾患の脳血管症候群を含む心血管疾患の治療及び／または予防に使用される、請求項 1～33 のいずれか 1 項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、請求項 34 に記載のポリヌクレオチド、請求項 35 に記載のベクター、請求項 36～39 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 40～41 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 60】

前記脳血管疾患の脳血管症候群は卒中である、請求項 59 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

10

【請求項 61】

代謝及び摂食障害の治療及び／または予防に使用される、請求項 1～33 のいずれか 1 項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、請求項 34 に記載のポリヌクレオチド、請求項 35 に記載のベクター、請求項 36～39 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 40～41 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 62】

前記代謝及び摂食障害は、糖尿病、肥満、インスリン抵抗症、及び神経性食欲不振症からなる群より選択される、請求項 61 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

20

【請求項 63】

腫瘍性疾患の治療及び／または予防に使用される、請求項 1～33 のいずれか 1 項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、請求項 34 に記載のポリヌクレオチド、請求項 35 に記載のベクター、請求項 36～39 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 40～41 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 64】

前記腫瘍性疾患は固形腫瘍である、請求項 63 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 65】

前記固形腫瘍は尿生殖器異常または性腺芽腫である、請求項 64 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

30

【請求項 66】

前記固形腫瘍は、尿路の悪性新生物である、請求項 64 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 67】

前記尿路の悪性新生物は腎臓の新生物である、請求項 66 に記載の使用されるペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物。

【請求項 68】

先行請求項のいずれか 1 項に記載の使用されるペプチドをコードする、ポリヌクレオチド。

40

【請求項 69】

請求項 68 で定めるポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 70】

請求項 68 に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 69 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 71】

前記宿主細胞はバクテリア細胞である、請求項 70 に記載の宿主細胞。

【請求項 72】

前記宿主細胞は哺乳類細胞である、請求項 70 に記載の宿主細胞。

【請求項 73】

50

前記宿主細胞はヒト細胞である、請求項 70 に記載の宿主細胞。

【請求項 74】

請求項 1～33 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドもしくはペプチドアナログ、または請求項 34 に記載のポリヌクレオチド、または請求項 35 に記載のベクター、または請求項 36～39 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 40～42 のいずれか 1 項に記載の組成物の、医薬製造への、請求項 43～67 のいずれか 1 項に記載の疾患の治療への、及び／またはその予防への使用。

【請求項 75】

請求項 43～67 のいずれか 1 つ以上に記載の疾患の治療または予防の方法であって、請求項 1～33 のいずれか 1 項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、または請求項 34 に記載のポリヌクレオチド、または請求項 35 に記載のベクター、または請求項 36～39 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 40～42 のいずれか 1 項に記載の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 76】

SorCS2、SorCS1、及びSorCS3からなる群より選択されるVps10pドメイン受容体のC末端細胞質ドメインのリン酸化を調節することができる化合物を特定する方法であって、

(i) 1 つ以上の候補化合物、及びSorCS2、SorCS1、またはSorCS3を発現する細胞を準備するステップ、

(ii) 前記候補化合物の非存在下で、前記細胞における(i)のタンパク質のリン酸化レベルを測定するステップ、

(iii) (ii)の細胞を前記候補化合物と接触させるステップ、

(iv) (iii)のタンパク質のリン酸化レベルを測定するステップ、

(v) (ii)と(iv)のリン酸化レベルを比較するステップ、

(vi) SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のC末端ドメインのリン酸化を調節することができる(v)の化合物を選択することにより化合物を特定するステップを含む、前記方法。

【請求項 77】

SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3の発現を調節することができる化合物を特定する方法であって、

(i) 1 つ以上の候補化合物、ならびにSorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3を発現する細胞を準備するステップ、

(ii) 前記候補化合物の非存在下で、前記細胞における(i)のタンパク質の発現レベルを測定するステップ、

(iii) (ii)の細胞を前記候補化合物と接触させるステップ、

(iv) (iii)のタンパク質の発現レベルを測定するステップ、

(v) (ii)と(iv)の発現レベルを比較するステップ、

(vi) SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3の発現を調節することができる(v)の化合物を選択することにより、化合物を特定するステップを含む、前記方法。

【請求項 78】

シナプスの数を増やす方法であって、請求項 1～33 のいずれか 1 項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、または請求項 34 に記載のポリヌクレオチド、または請求項 35 に記載のベクター、または請求項 36～39 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 40～42 のいずれか 1 項に記載の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 79】

ニューロン形態の変化を促進する方法であって、請求項 1～33 のいずれか 1 項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、または請求項 34 に記載のポリヌクレオチド、または請求項 35 に記載のベクター、または請求項 36～39 のいずれか 1 項に記載の宿主

細胞、または請求項40～42のいずれか1項に記載の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項80】

ニューロン形態の変化は、樹状突起の及び／または軸索の分枝の増加である、請求項79に記載の方法。

【請求項81】

初代海馬ニューロンにおけるSorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3のC末端ドメインのリン酸化を誘発する方法であって、請求項1～33のいずれか1項に記載のペプチドもしくはペプチドアナログ、または請求項34に記載のポリヌクレオチド、または請求項35に記載のベクター、または請求項36～39のいずれか1項に記載の宿主細胞、または請求項40～42のいずれか1項に記載の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、Vps10pドメイン受容体SorCS1、SorCS2、及びSorCS3のC末端細胞質ドメインに由来するペプチド、ならびにそれらの医療用途、たとえば腫瘍性疾患及び神経系障害の治療に関する。

【背景技術】

【0002】

シナプス可塑性とは、シナプスが強度を変える能力であり、記憶形成を含むほとんどの認知プロセスの細胞の基本と考えられている。シナプスの強化または弱化はそれぞれ長期増強(LTP)と長期抑制(LTD)により生じる。シナプス可塑性の根底にある分子メカニズムは、完全にはわかっていない。BDNF/proBDNFは可塑性関連のタンパク質であり、ニューロン活性の結果としてシナプス前腔へと放出され、次いでBDNFがシナプス後チロシンキナーゼ受容体TrkBと相互作用することが、LTPの初期相(E-LTP)の誘発に必要である(23)。ニューロン活性はまた、TrkBをシナプス後肥厚部(PSD)に動員し、そうすることでBDNFのシグナリングを、そして刺激されたシナプスにおける後続の後期相LTPを可能にする(20～22)。BDNFはまた、成体ニューロンと発達中のニューロンの両方で、シナプス形成及び樹状突起の複雑性において重要な役割を果たす。したがってBDNFは、ニューロン接続性の活性依存的形成における中心的役割を果たしている。

20

30

【0003】

最近、受容体SorCS2が、proBDNFの結合に必要なp75^{NTR}共受容体と特定された(12、13)。SorCS2は、局在化・シグナリング受容体のVps10pドメイン/ソルチリンファミリーに属する。このタンパク質ファミリーには、ソルチリン、SorLA、SorCS-1、及びSorCS-3も含まれる(14、15)。これらの5種の受容体はすべて、発達中の及び成体の神経系の両方で、高い発現率を有する。共通の特徴は、酵母の液胞タンパク質局在化タンパク質であるVps10pと高い相同性をもつN末端Vps10pドメインである。現にソルチリンはゴルジーエンドソーム輸送、内部移行、及び極性順行輸送ができ、神経機能の制御における主要な役割が示唆される(16～18)。

40

【0004】

興味深いことに、BDNFは、アルツハイマー病の病理特徴とされるアミロイド斑の形成を防ぐ役割を果たす可能性があり(5)、BDNFの発現増加はオリゴマー及び／または線維性A1-42誘発細胞死に対する防御となる(6)。さらに、皮質においてBDNFが供給されなくなると、ハンチントン病患者に特徴的な線条体の変性及び舞踏病様(choreic)運動が生じる(4)。BDNFは糖尿病及び肥満とも関連があり、マウスでは出生後の脳内BDNFの欠失が肥満をもたらす(8)、BDNFはマウスの摂食行動を制御する(9)。BDNFはまた、前糖尿病マウスにおいて糖尿病の発症を予防し(1

50

0)、糖尿病マウスにおいてエネルギーバランスを調節することで糖代謝を制御することがわかっている(11)。さらに、WAGR症候群における肥満の原因は、BDNFのハプロ不全を誘発する欠失にあるとされている(7)。

【0005】

最近、Glerup et al. は、SorCS2がBDNF応答の媒介に重要な役割を果たしていることを示した。その研究では、SorCS2不足のニューロンはBDNFに応答できず、LTPを誘発できなかった。さらに、SorCS2不足のニューロンは、BDNFの刺激を受けても樹状突起の複雑性及び棘密度を増大できず、SorCS2がBDNFシグナリングの媒介に重要な役割を果たしていることが示された(2)。

【0006】

先進世界では上述の病気の発症が増加しており、そうした疾患の治療に使用できる化合物が必要とされている。根本的な遺伝的多面発現が存在するならば、共通のシグナリング経路をもつメンバーを標的とすることにより、そのような状況を利用するのが有利であろう。

【発明の概要】

【0007】

発明者らは、驚くべきことに、Vps10pドメイン受容体SorCS2、SorCS1、及びSorCS3の細胞内C末端ドメインのリン酸化が、損なわれたシナプス可塑性の回復をもたらすことを見出した。この知見に基づき、発明者らは、該細胞内ドメインの内因性リン酸化を模倣することができるペプチド及びペプチドアナログを開発し、該ペプチドは損なわれたシナプス可塑性、形態的可塑性、及び／またはニューロン可塑性を回復することができることを実証した。発明者らは、まさに同じニューロンを阻害することができるペプチドも調製し、したがって、神経障害、たとえばてんかん、ハンチントン病(HD)、及びアルツハイマー病(AD)、精神または行動障害、たとえば鬱病、不安症、強迫性障害(OCD)、双極性障害(BD)、統合失調症(SZ)、及び広汎性発達障害の療法を提供し、また、WAGR関連のウィルムス腎腫瘍、肥満、インスリン抵抗症、及び糖尿病の治療法も提供するものである。

【0008】

したがって、一態様では、本発明は、SorCS2、SorCS1、及びSorCS3からなる群より選択されるVps10pドメイン受容体のC末端細胞質ドメインを含むポリペプチドに関し、該C末端細胞質ドメインの少なくとも1つのアミノ酸が異なるアミノ酸残基に変更されている。

【0009】

したがって、一態様では、本発明は、配列 $X_1X_2X_3VX_4X_5X_6E$ (配列番号9)を含むかまたはそれからなるペプチドまたはペプチドアナログ(P_1)に関し、

(i) X_1 はスレオニン(T)またはイソロイシン(I)であり、

(ii) X_2 はホスホセリン(J)、アスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)、アラニン(A)、及びセリン(S)からなる群より選択され、

(iii) X_3 はプロリン(P)またはセリン(S)であり、

(iv) X_4 はホスホセリン(J)、アスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)、アラニン(A)、及びセリン(S)からなる群より選択され、

(v) X_5 はヒスチジン(H)またはグルタミン(Q)であり、

(vi) X_6 はホスホセリン(J)、アスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)、アラニン(A)、及びセリン(S)からなる群より選択される。

【0010】

一態様では、本発明は、医薬として使用される、本明細書で説明するペプチドまたはペプチドアナログに関する。

【0011】

一態様では、本発明は、本明細書で定義するペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。

10

20

30

40

50

【0012】

一態様では、本発明は、本明細書で説明するペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むベクターに関する。

【0013】

一態様では、本発明は、本明細書で説明するポリヌクレオチドまたはベクターを含む、宿主細胞、たとえば細菌宿主細胞、哺乳類宿主細胞、たとえばヒト宿主細胞に関する。

【0014】

別の態様では、本発明は、本明細書で説明するペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ベクター、または宿主細胞のいずれか1つ以上を含む組成物、好ましくは製薬上許容される組成物に関する。

【0015】

一態様では、本発明は、医薬の製造、腫瘍及び神経系疾患からなる群より選択される障害の予防、及び／またはその治療に使用される、本明細書で説明するペプチドもしくはペプチドアナログ、本明細書で説明する組成物、ポリヌクレオチド、ベクター、または宿主細胞に関する。

【0016】

一態様では、本発明は、腫瘍性疾患または神経系疾患を治療または予防する方法に関し、該方法は、本明細書で説明するペプチドもしくはペプチドアナログ、本明細書で説明する組成物、ポリヌクレオチド、ベクター、または宿主細胞を、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0017】

一態様では、本発明は、SorCS2、SorCS1、SorCS3からなる群より選択されるVps10pドメイン受容体のC末端細胞質ドメインのリン酸化を調節することができる化合物を特定する方法に関し、該方法は、

(i) 1つ以上の候補化合物、及びSorCS2、SorCS1、SorCS3を発現する細胞を準備するステップ、

(ii) 該候補化合物の非存在下で、該細胞における(i)のタンパク質のリン酸化レベルを測定するステップ、

(iii) (ii)の細胞を該候補化合物と接触させるステップ、

(iv) (iii)のタンパク質のリン酸化レベルを測定するステップ、

(v) (ii)と(iv)のリン酸化レベルを比較するステップ、

(vi) SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のC末端ドメインのリン酸化を調節することができる(v)の化合物を選択することにより化合物を特定するステップを含む。

【0018】

一態様では、本発明は、SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3の発現を調節することができる化合物を特定する方法に関し、該方法は、

(i) 1つ以上の候補化合物、ならびにSorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3を発現する細胞を準備するステップ、

(ii) 該候補化合物の非存在下で、該細胞における(i)のタンパク質の発現レベルを測定するステップ、

(iii) (ii)の細胞を該候補化合物と接触させるステップ、

(iv) (iii)のタンパク質の発現レベルを測定するステップ、

(v) (ii)と(iv)の発現レベルを比較するステップ、

(vi) SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3の発現を調節することができる(v)の化合物を選択することにより、化合物を特定するステップを含む。

【0019】

一態様では、本発明は、シナプスの数を増やす方法に関し、該方法は、本明細書で説明するペプチドもしくはペプチドアナログ、または本明細書で説明する組成物、またはポリ

10

20

30

40

50

ヌクレオチド、またはベクター、または宿主細胞を、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0020】

一態様では、本発明は、ニューロン形態の変化を促進する方法に関し、該方法は、本明細書で説明するペプチドもしくはペプチドアナログ、または本明細書で説明する組成物、またはポリヌクレオチド、またはベクター、または宿主細胞を、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0021】

別の態様では、本発明は、初代海馬ニューロンにおける、本明細書で説明する Vps10pドメイン受容体 SorCS2、SorCS1、及び／または SorCS3 の C 末端細胞質ドメインのリン酸化を誘発する方法に関し、該方法は、本明細書で説明するペプチドもしくはペプチドアナログ、または本明細書で説明する組成物、またはポリヌクレオチド、またはベクター、または宿主細胞を、それを必要とする対象に投与することを含む。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】 SorCS2 は、マウスにおけるフルオキセチン処置応答に必要である。野生型 (wt) マウスと SorCS2^{-/-} マウスを、ガラス玉埋め試験で検査した。この試験は、特に不安症、鬱病、強迫性障害の評価に用いられている。ここで、SorCS2^{-/-} マウスは、wt マウスと同程度にガラス玉を埋めた。しかし、フルオキセチン注射後の野生型マウスは落ち着きがあり、埋めたガラス玉の数も少なかったが、SorCS2^{-/-} マウスはそうではなかった。

【図2】 SorCS2 は、BDNF が媒介するシナプス数の増加に重要である。BDNF 刺激後、wt ニューロンの抑制性シナプス数の増加が見られる (図2A)。このことは SorCS2 不足のニューロンには当てはまらない (図2B)。同様に、BDNF 刺激後、wt ニューロンにはグルタミン酸作動性棘の数の増加が見られるが (図2C)、このことは SorCS2 不足のニューロンには当てはまらない (図2D)。

【図3】 SorCS2 は樹状突起の分枝に必要である。SorCS2 不足は樹状突起の分枝に影響を及ぼす。BDNF 刺激後、グルタミン酸作動性ニューロンは複雑性が増加しているが (図3A)、このことは SorCS2 不足のニューロンには当てはまらない (図3B)。同様に、野生型 GABA 作動性インターニューロンも BDNF 刺激後に複雑性が増加しているが、SorCS2 不足のインターニューロンは BDNF に応答していない (図3C 及び図3D)。

【図4】 SorCS2 は、BDNF シグナリングの媒介に重要である。(図4A) 放射性ホスファートとともにプレインキュベートしたニューロンからの SorCS2 の IP は、無刺激 (右側) よりも BDNF 刺激後 (左側) のほうがリン酸化率が高いことを示した。

(図4B) SorCS2^{-/-} ニューロンを全長 SorCS2 (図4B1) でトランスフェクションすると、BDNF に対する応答が救済される。しかし、細胞内ドメインのないバリエーションでのトランスフェクションでは、BDNF 刺激後に神経突起の分枝の増加は見られない (図4B2)。最後の 21 (図4B3) または 35 (図4B4) アミノ酸が欠失したバリエーションを作成すると、BDNF 刺激後に表現型はなおも救済された。ところが、56 アミノ酸の欠失後 (図4B5) は BDNF に対する応答は失われた。

【図5】 SorCS2 の C 末端ドメインの複数のセリンが、BDNF 媒介性応答に必要である。(図5. 1) 全長 SorCS2 のトランスフェクションは、SorCS2 不足のニューロンにおいて BDNF に対する応答を救済することができる。ここで、図4で示した、BDNF に対する応答に重要となる配列が強調されている。1125、1128、及び 1130 の位置のセリンが強調されている。3つの異なる位置のセリンがアラニンに変えられている全長バリエーション (S1125A、S1128A、及び S1130A) を作成することで、応答は減少し (図5. 2)、これらの3つのセリンは BDNF 刺激の媒介に重要であることが示された。3つのセリンのいずれかがアラニンに変異している構築物 S1125A (図5. 3) (図では「S25」と表記する)、S1128A (図5. 4) (図

10

20

30

40

50

では「S 2 8」と表記する)、及びS 1 1 3 0 A (図5. 5) (図では「S 3 0」と表記する)を作成した。1 1 2 8及び1 1 3 0の位置ではセリンの変異があるが、1 1 2 5の位置では変異がない場合、BDNFに対する応答は失われ、1 1 2 8及び1 1 3 0の位置のセリンの、BDNFに対する応答の媒介における重要な役割が示された。

【図6】SorCS2はBDNF受容体TrkBのリン酸化に重要である。hSY5Y細胞をSorCS2、TrkB、または両方のいずれかでトランスフェクトした(パネルA及びB)。BDNF刺激後のTrkBのリン酸化は、TrkBが単独で存在する場合よりも、SorCS2も存在する場合のほうが、2. 5倍高かった(パネルB)。さらに、下流キナーゼであるPLC γ のリン酸化も、TrkBのみのトランスフェクトよりも、SorCS2も存在するほうが大幅な増加を示した(パネルC及びD)。このことは、BDNFに対する応答の媒介におけるSorCS2の重要な役割を示している。

【図7】フルオキセチンは海馬におけるSorCS2の発現レベルに影響を及ぼす。wtマウスに、普通の水または0. 08mg/mlのフルオキセチンを含む水を、3週間与えた。3週間後、マウスを頸部脱臼により安楽死させ、海馬及び皮質を切除した。ウェスタンブロット分析で、SorCS2の発現率が海馬では上昇したが、皮質では上昇しなかったことが明らかになった。試料は、フルオキセチン処置をしなかった海馬に対し標準化した。

【図8】SorCS2の細胞外ドメインは、神経栄養性応答にとって必要ではない。細胞外ドメインがBDNFに対する応答において役割を果たしているかどうかを評価するため、細胞膜内に安定して挿入できるようにSorCS2の細胞外部分をGFPに変えた構築物を作成した(図では「wt mem」と表記する)。全長SorCS2(図では「A」と表記する)でトランスフェクトしたSorCS2 $^{-/-}$ ニューロンと比較すると、差異は見られなかった。しかし、wt memをBDNFで刺激すると、形態的応答の大幅な増加が見られ、細胞外ドメインは、BDNFに対する応答の媒介におけるSorCS2の機能に重要ではないことが示された。

【図9】細胞膜でのSorCS2の活性化は、形態的応答の増加をもたらさない。膜に結合した活性化SorCS2が神経栄養シグナリングを誘発するかどうかを評価するため、細胞膜内に安定して挿入できるようにSorCS2の細胞外ドメインをGFPに置換し、図8のものと同様の構築物を作成した。さらに、セリンのリン酸化を模倣するため、SorCS2の細胞内尾部の1 1 2 5、1 1 2 8、及び1 1 3 0の位置の3つのセリンをアスパラギン酸に変えた(図ではmut memと表記する)。mut memでは、全長SorCS2(図ではAと表記する)でトランスフェクトしたSorCS2 $^{-/-}$ ニューロンよりも大幅に少ない形態が観察された。この差異は、BDNFを付加すると救済され、Aとmut memの間に差異は観察されない。このことは、細胞膜でのSorCS2の活性化は、形態的応答の増加をもたらさないことを示している。

【図10】SorCS2尾部の活性化は、BDNFの付加と同様の応答誘発に十分である。SorCS2尾部の可溶性バリエーションがBDNFに対する応答の誘発に十分であるかどうかを評価するため、SorCS2尾部を含むが細胞外または膜貫通ドメインは含まない構築物を作成した(図10. 1) (図では「wt 可溶性尾部」と表記する)。ここで、wt 可溶性尾部でのSorCS2 $^{-/-}$ ニューロンへのトランスフェクションは、全長SorCS2(図では「A」と表記する)でトランスフェクトしたSorCS2 $^{-/-}$ ニューロンと比べて、BDNFに対する応答の大幅な増加をもたらした。この応答はさらに、wt 可溶性尾部をBDNFで刺激すると増加した。そこで発明者らは、リン酸化セリンを模倣するため1 1 2 5、1 1 2 8、及び1 1 3 0の位置のセリンをアスパラギン酸に変えた構築物を作成した(図10. 2) (図では「活性可溶性尾部」と表記する)。ここで、活性可溶性尾部でのSorCS2 $^{-/-}$ ニューロンへのトランスフェクションは、全長SorCS2(図では「A」と表記する)でトランスフェクトしたSorCS2 $^{-/-}$ ニューロンと比較すると、形態複雑性の大幅な増加をもたらした。この応答は、BDNFを加えてもさらに増加はしなかった。さらに、この応答は、wt 可溶性尾部+BDNFと同様であり、SorCS2尾部はBDNFに対する応答に重要であるだけでなく、尾部の活性化

はBDNFの付加と同様の応答誘発に十分であることが示された。

【図11】構成的活性型SorCS2尾部は、BDNFを付加してもさらに増加しない応答を誘発する。SorCS2尾部の活性可溶性バリエーションを用いたトランスフェクションは、BDNFに対する応答の誘発に十分であったため（図10）、発明者らは、構成的活性型SorCS2尾部を模倣するため、SorCS2尾部の1125、1128、及び1130の位置のセリンをアスパラギン酸に変えたペプチドを作成した（図では「pPep」と表記する）。さらに、このペプチドは、細胞への侵入を容易にするためTAT配列（HIVタンパク質形質導入ドメイン）を備えている。pPepとpPep+BDNF間の形態的応答の差異は、pPepの0.1μM（図11.1）でも、1μM（図11.2）でも、10μM（図11.3）でも観察されなかった。しかし、コントロール（BDNFは付加せず）（図11.4）と比較すると、1μMのpPepの添加で有意な応答が観察された。このことは、1μMのpPepの添加により応答が誘発され、この応答はBDNFを付加してもさらに増加することはないことを示している。

10

【図12】構成的不活性型SorCS2尾部は、BDNFの存在下でも、BDNF誘発性形態的応答を阻害することができる。pPepの付加は、BDNFの非存在下でも神経栄養性応答の誘発に十分であったため、発明者らは、不活性ペプチドの付加がBDNFの存在下でもBDNFシグナリングの阻害に十分であるかどうか、検証したいと考えた。そこで発明者らは、不活性SorCS2尾部を模倣するためSorCS2尾部の1125、1128、及び1130の位置のセリンをアラニンに変えたペプチドを作成した（図ではApPepと表記する）。さらに、このペプチドは、細胞への侵入を容易にするためTAT配列（HIVタンパク質形質導入ドメイン）を備えている。0.1μMのApPepでは、BDNFはまだ、有意な応答を誘発できた（図12.1）。しかし、1μMのApPep（図12.2）または10μMのApPep（図12.3）の添加ではそうではなかった。コントロールと比較すると、コントロール（BDNFを加えていない）と1μM ApPep+BDNF（図12.4）では差異が観察されなかった。このことは、ApPepは、1μMで、BDNFの存在下でも、BDNF誘発性形態的応答を阻害することができることを示している。

20

【図13】短ペプチドは、神経栄養性応答の活性化と阻害の両方を誘発することができる。より小さいペプチドを作成し、これらが神経栄養性応答の誘発に十分であるかどうかを調べた。1nMのBDNFの付加では（図13.2）、wtニューロンは、BDNFなし（図13.1）のWTニューロンと比べて複雑性が増加した。上述したように、25、28、及び30の位置のセリンがアラニンに変異しているペプチドは、BDNFの存在下でも、形態的応答を阻害し（図13.3）、25、28、及び30の位置のセリンがアスパラギン酸に変えられているペプチドは、BDNFの非存在下でも、神経栄養性応答を誘発できた（図13.4）。そこで発明者らは、セリンをアラニンに変えた、より小さいペプチドを作成し、該ペプチドはBDNFが誘発する神経栄養性応答をなおも阻害することができた（図13.5）。さらに、セリンがアスパラギン酸に変えられている短ペプチドは、BDNFの非存在下でも、神経栄養性応答を誘発できた（図13.6）。

30

【図14】SorCSファミリーの尾部配列アラインメントの図である。SorCS1、SorCS2、SorCS3、及びソルチリンの尾部のアラインメントは、ソルチリンを除くSorCS1とSorCS2とSorCS3間で高度に保存されている尾部を示している。さらに、SorCS1では、1125、1128、及び1130の位置のセリンが保存されている。SorCS3では、1128及び1130の位置のセリンが保存されている（これらのセリンは、SorCS2においてBDNF応答に重要であることがわかっている。図5参照）。このことは、SorCS1及びSorCS3が神経栄養性応答の制御において同様の役割を果たし得ることを示している。

40

【発明を実施するための形態】

【0023】

略記及び用語の定義

細胞透過性ペプチド（CPP）：この用語は、哺乳類細胞の細胞膜を貫通できることを

50

特徴とし、そのためペプチド、タンパク質、オリゴヌクレオチドなどのカーゴ分子に結合して該カーゴ分子の細胞内送達をもたらすことができるペプチドを指す。

【0024】

T a t ペプチド：配列 G R K K R R Q R R R P Q の T A T ペプチドは、ヒト免疫不全ウイルスの転写トランスアクチベーター（T A T）に由来する、細胞透過性ペプチドである。

【0025】

フルオロフォア：本明細書では、この用語は、「蛍光性部分」という用語と交換可能に用いられるものとし、励起されると再発光できるあらゆる物質を指す。蛍光は、基底状態にあるフルオロフォアが短波長の光エネルギーを吸収して電子の励起一重項状態になり、より長い波長の光エネルギーを発して減衰一重項状態となる際に発せられる。するとフルオロフォアは基底状態に戻る。

【0026】

調節：この用語は、正の調節、すなわち誘発、または負の調節、すなわち低下もしくは阻害を指す。本願では、V p s 1 0 ドメインを含む受容体 S o r C S 2 の C 末端ドメインのリン酸化を調節することができる化合物は、C 末端ドメインがリン酸化されている、V p s 1 0 ドメインを含む受容体 S o r C S 2 を模倣することができる化合物も指すものとする。

【0027】

ペプチドアナログ：「ペプチドアナログ」という用語は、本明細書では、ペプチドを含む化合物を指し、該ペプチドは必ずしもアミノ酸残基からなっていない部分で修飾されていてもよい。たとえば蛍光タグ化ペプチドはペプチドアナログである。

【0028】

I. シナプス可塑性

シナプス可塑性とは、本明細書では、シナプスが強度を変える能力であり、記憶形成を含むほとんどの認知プロセスの細胞の基本と考えられている。シナプスの強化または弱化はそれぞれ長期増強（L T P）と長期抑制（L T D）により生じる。ニューロン活性は、脳からの神経栄養因子 B D N F のシナプス前放出を誘発し、次いで B D N F がシナプス後チロシンキナーゼ受容体 T r k B と相互作用することが、L T P の初期相（E - L T P）の誘発に必要である（23）。さらに、B D N F の前駆体である p r o B D N F の放出と、それに続く細胞外プロテイナーゼによる p r o B D N F から成熟 B D N F への変換が、L T P の後期相及びシナプス強化に必要である（25）。一方、シナプスの弱化は異なるメカニズムにより促進され、これには p r o B D N F とシナプス後パンニューロトロフィン受容体 p 7 5（p 7 5^{N T R}）の相互作用が含まれ、その結果として L T D がもたらされる（24）。樹状突起の成長は、シナプス活性により、また近隣細胞からの分子シグナルによっても局所的に制御される。このような活性依存型の構造変化は、局所のシナプスの有効性と共作用して、神経系の特殊な接続性のパターンを形作る。

【0029】

I I. ペプチドまたはペプチドアナログ

本発明は、各請求項で定められるとおりである。

【0030】

一態様では、本発明は、S o r C S 2、S o r C S 1、S o r C S 3 からなる群より選択される V p s 1 0 p ドメイン受容体の C 末端細胞質ドメインを含むポリペプチドに関し、該 C 末端細胞質ドメインの少なくとも 1 つのアミノ酸が異なるアミノ酸残基に変更されている。

【0031】

したがって、一態様では、本発明は、配列 X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E（配列番号 9）を含むかまたはそれからなるペプチドまたはペプチドアナログ（P₁）に関し、

（i）X₁ は、スレオニン（T）、イソロイシン（I）から選択され、

（i i）X₃ は、プロリン（P）、セリン（S）から選択され、

10

20

30

40

50

(i i i) X_5 は、ヒスチジン (H)、グルタミン (Q) から選択され、
 (i v) X_2 、 X_4 、 X_6 のうちの少なくとも1つは、ホスホセリン (J)、アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)、アラニン (A) からなる群より選択される。

【0032】

好ましい実施形態では、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、このような P_1 は配列番号 13 である。

【0033】

いくつかの実施形態では、本発明は、配列 K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E (配列番号 10) を含むかまたはそれからなるペプチドまたはペプチドアナログ (P_1) に関する。

【0034】

好ましい実施形態では、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、このような P_1 は配列番号 16 である。

【0035】

他の実施形態では、本発明は、配列 X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14} (配列番号 11) を含むかまたはそれからなるペプチドまたはペプチドアナログ (P_1) に関し、

(i) X_7 は、アスパラギン酸 (D)、アスパラギン (N)、セリン (S) から選択され、

(i i) X_8 は、バリン (V)、アルギニン (R)、アラニン (A) から選択され、

(i i i) X_9 は、プロリン (P)、グルタミン (Q) から選択され、

(i v) X_{10} は、グリシン (G)、リジン (K)、アスパラギン (N) から選択され、

(v) X_{11} は、アラニン (A)、イソロイシン (I)、バリン (V) から選択され、

(v i) X_{12} は、バリン (V)、スレオニン (T)、プロリン (P) から選択され、

(v i i) X_{13} は、グルタミン (Q)、ロイシン (L) から選択され、

(v i i i) X_{14} は、グリシン (G)、スレオニン (T)、セリン (S) から選択される。

【0036】

好ましい実施形態では、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、 X_7 はアスパラギン酸 (D) であり、 X_8 はバリン (V) であり、 X_9 はグルタミン (Q) であり、 X_{10} はグリシン (G) であり、 X_{11} はアラニン (A) であり、 X_{12} はバリン (V) であり、 X_{13} はグルタミン (Q) であり、 X_{14} はグリシン (G) であり、このような P_1 は配列番号 19 である。

【0037】

他の実施形態では、本発明は、配列 K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14} (配列番号 12) を含むかまたはそれからなるペプチドまたはペプチドアナログ (P_1) に関する。

【0038】

好ましい実施形態では、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、 X_7 はアスパラギン酸 (D) であり、 X_8 はバリン (V) であり、 X_9 はグルタミン (Q) であり、 X_{10} はグリシン (G) であり、 X_{11} はアラニン (A) であり、 X_{12} はバリン (V) であり、 X_{13} はグルタミン (Q) であり、 X_{14} はグリシン (G) であり、このような P_1 は配列番号 22 である。

【0039】

本発明のすべての実施形態では、 X_2 、 X_4 、及び X_6 の位置のアミノ酸を取り囲むアミノ酸配列が、本明細書で説明するペプチドまたはペプチドアナログの特徴的要素となる。いくつかの実施形態では、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 8 アミノ酸残基の配列は、 X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E (配列番号 9) である。他の実施形態では、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 13 アミノ酸残基の配列は、K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E (配列番号 10) である。他の実施形態では、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 16 アミノ酸残基の

10

20

30

40

50

配列は、 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ (配列番号 11) である。他の実施形態では、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 21 アミノ酸残基の配列は、 $K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ (配列番号 12) である。

【0040】

好ましい実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 8 アミノ酸残基の配列であり、 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 9) であって、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、このような P_1 は配列番号 13 である。

【0041】

他の実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 8 アミノ酸残基の配列であり、 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 9) であって、 X_1 はイソロイシン (I) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、このような P_1 は配列番号 14 である。

【0042】

他の実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 8 アミノ酸残基の配列であり、 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 9) であって、 X_1 はイソロイシン (I) であり、 X_3 はセリン (S) であり、 X_5 はグルタミン (Q) であり、このような P_1 は配列番号 15 である。

【0043】

いくつかの実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 13 アミノ酸残基の配列であり、 $K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 10) であって、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、このような P_1 は配列番号 16 である。

【0044】

他の実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 13 アミノ酸残基の配列であり、 $K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 10) であって、 X_1 はイソロイシン (I) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、このような P_1 は配列番号 17 である。

【0045】

他の実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 13 アミノ酸残基の配列であり、 $K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 10) であって、 X_1 はイソロイシン (I) であり、 X_3 はセリン (S) であり、 X_5 はグルタミン (Q) であり、このような P_1 は配列番号 18 である。

【0046】

いくつかの実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 16 アミノ酸残基の配列であり、 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ (配列番号 11) であって、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、 X_7 はアスパラギン酸 (D) であり、 X_8 はバリン (V) であり、 X_9 はグルタミン (Q) であり、 X_{10} はグリシン (G) であり、 X_{11} はアラニン (A) であり、 X_{12} はバリン (V) であり、 X_{13} はグルタミン (Q) であり、 X_{14} はグリシン (G) であり、このような P_1 は配列番号 19 である。

【0047】

他の実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 16 アミノ酸残基の配列であり、 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ (配列番号 11) であって、 X_1 はイソロイシン (I) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、 X_7 はセリン (S) であり、 X_8 はアルギニン (R) であり、 X_9 はプロリン (P) であり、 X_{10} はアスパラギン (N) であり、 X_{11} はバリン (V) であり、 X_{12} はプロリン (P) であり、 X_{13} はグルタミン (Q) であり、 X_{14} はスレオニン (threonine) (T) であり、このような P_1 は配列番号 20

10

20

30

40

50

である。

【0048】

他の実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む16アミノ酸残基の配列であり、 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ （配列番号11）であって、 X_1 はイソロイシン（I）であり、 X_3 はセリン（S）であり、 X_5 はグルタミン（Q）であり、 X_7 はアスパラギン（N）であり、 X_8 はアラニン（A）であり、 X_9 はプロリン（P）であり、 X_{10} はリジン（K）であり、 X_{11} はイソロイシン（I）であり、 X_{12} はスレオニン（T）であり、 X_{13} はロイシン（L）であり、 X_{14} はセリン（S）であり、このような P_1 は配列番号21である。

【0049】

いくつかの実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む21アミノ酸残基の配列であり、 $K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ （配列番号12）であって、 X_1 はスレオニン（T）であり、 X_3 はプロリン（P）であり、 X_5 はヒスチジン（H）であり、 X_7 はアスパラギン酸（D）であり、 X_8 はバリン（V）であり、 X_9 はグルタミン（Q）であり、 X_{10} はグリシン（G）であり、 X_{11} はアラニン（A）であり、 X_{12} はバリン（V）であり、 X_{13} はグルタミン（Q）であり、 X_{14} はグリシン（G）であり、このような P_1 は配列番号22である。

【0050】

他の実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む21アミノ酸残基の配列であり、 $K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ （配列番号12）であって、 X_1 はイソロイシン（I）であり、 X_3 はプロリン（P）であり、 X_5 はヒスチジン（H）であり、 X_7 はセリン（S）であり、 X_8 はアルギニン（R）であり、 X_9 はプロリン（P）であり、 X_{10} はアスパラギン（N）であり、 X_{11} はバリン（V）であり、 X_{12} はプロリン（P）であり、 X_{13} はグルタミン（Q）であり、 X_{14} はスレオニン（threonine）（T）であり、このような P_1 は配列番号23である。

【0051】

他の実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む21アミノ酸残基の配列であり、 $K E Q E M X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ （配列番号12）であって、 X_1 はイソロイシン（I）であり、 X_3 はセリン（S）であり、 X_5 はグルタミン（Q）であり、 X_7 はアスパラギン（N）であり、 X_8 はアラニン（A）であり、 X_9 はプロリン（P）であり、 X_{10} はリジン（K）であり、 X_{11} はイソロイシン（I）であり、 X_{12} はスレオニン（T）であり、 X_{13} はロイシン（L）であり、 X_{14} はセリン（S）であり、このような P_1 は配列番号24である。

【0052】

本発明のすべての実施形態においては、 X_2 、 X_4 、及び X_6 の位置のアミノ酸が何であるかが、本明細書で説明するペプチドまたはペプチドアナログの特徴的要素となる。本発明の一態様では、ペプチドまたはペプチドアナログ P_1 は、シナプス可塑性の減少に有用である。このことは、本明細書で先に説明したペプチドまたはペプチドアナログを用いて達成することができ、ここで X_2 、 X_4 、 X_6 の位置の少なくとも1つのセリン（S）が別の残基に変えられている。したがって、いくつかの実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログ P_1 の配列は、 X_2 、 X_4 、 X_6 のうちの少なくとも1つを含むかまたはそれからなり、

(i) X_2 はアラニン（A）、グリシン（G）、ロイシン（L）、イソロイシン（I）、バリン（V）、プロリン（P）、メチオニン（M）からなる群より選択され、

(ii) X_4 はアラニン（A）、グリシン（G）、ロイシン（L）、イソロイシン（I）、バリン（V）、プロリン（P）、メチオニン（M）からなる群より選択され、または

(iii) X_6 はアラニン（A）、グリシン（G）、ロイシン（L）、イソロイシン（I）、バリン（V）、プロリン（P）、メチオニン（M）からなる群より選択される。そのような実施形態では、 X_4 及び X_6 は好ましくはアラニン（A）であり、このような P_1

10

20

30

40

50

は配列番号 50～74 からなる群より選択される。

【0053】

あるいはそのような実施形態では、 X_2 、 X_4 、及び X_6 はアラニン (A) であり、このような P_1 は配列番号 50～74 からなる群より選択される。

【0054】

一実施形態では、 P_1 は、キナーゼ活性を阻害し、かつ／またはホスファターゼ活性を増加させることができる。

【0055】

好ましい実施形態では、 P_1 は、 X_2 、 X_4 、及び X_6 を含む 8 アミノ酸残基の配列であり、 $X_1 X_2 X_3 V X_4 X_5 X_6 E$ (配列番号 9) であって、 X_1 はスレオニン (T) であり、 X_2 はアラニン (A) であり、 X_3 はプロリン (P) であり、 X_4 はアラニンであり、 X_5 はヒスチジン (H) であり、 X_6 はアラニンであり、このような P_1 は配列番号 62 である。

【0056】

そのような実施形態では、このペプチドまたはペプチドアナログ P_1 は本明細書では「阻害」ペプチドと呼ばれ、シナプス可塑性を阻害する、リン酸化を阻害する、かつ／または神経細胞形態の変化を阻害する、たとえば本明細書のセクション I 「シナプス可塑性」で先に説明した樹状突起及び／または軸索の分枝を低減させるようなペプチドであればどれでもよい。

【0057】

一実施形態では、神経形態の変化は、樹状突起及び／または軸索の分枝の増加にある。一実施形態では、神経形態の変化は、樹状突起及び／または軸索の分枝の減少または増加防止にある。

【0058】

本発明の別の態様では、本明細書で定義するペプチドまたはペプチドアナログ P_1 は、シナプス可塑性の増加に有用である。このことは、本明細書で以下に説明するペプチドまたはペプチドアナログを用いて達成することができ、ここで X_2 、 X_4 、 X_6 の位置の少なくとも 1 つのセリン (S) が別の残基に変えられている。したがって、いくつかの実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログ P_1 は、 X_2 、 X_4 、 X_6 のうちの少なくとも 1 つを含むかまたはそれからなり、

(i) X_2 はアスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)、ホスホセリン (J) からなる群より選択され、

(i i) X_4 はアスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)、ホスホセリン (J) からなる群より選択され、または

(i i i) X_6 はアスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)、ホスホセリン (J) からなる群より選択される。

【0059】

そのような実施形態では、 X_4 及び X_6 は好ましくはアスパラギン酸 (D) であり、このような P_1 は配列番号 25～49 からなる群より選択される。

【0060】

あるいはそのような実施形態では、 X_2 、 X_4 、及び X_6 はアスパラギン酸 (D) であり、このような P_1 は配列番号 25～49 からなる群より選択される。

【0061】

他のそのような実施形態では、 X_4 及び X_6 はホスホセリン (J) であり、このような P_1 は配列番号 25～49 からなる群より選択される。

【0062】

他のそのような実施形態では、 X_2 、 X_4 、及び X_6 はホスホセリン (J) であり、このような P_1 は配列番号 25～49 からなる群より選択される。

【0063】

さらなる他のそのような実施形態では、 X_2 、 X_4 、及び X_6 は、セリン (S)、アス

10

20

30

40

50

【 0 0 6 4 】

【 0 0 6 5 】

【 0 0 6 6 】

10

【 0 0 6 7 】

20

【 0 0 6 8 】

【 0 0 6 9 】

30

【 0 0 7 0 】

40

50

50

列番号11)または21アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈
X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号12)を含む27アミノ酸残基からなる。
他の実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログは、8アミノ酸配列X₁X₂X₃
VX₄X₅X₆E(配列番号9)または13アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄
X₅X₆E(配列番号10)または16アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇
X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号11)または21アミノ酸配列KE
QEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配
列番号12)を含む28アミノ酸残基からなる。他の実施形態では、ペプチドまたはペプ
チドアナログは、8アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄
X₅X₆E(配列番号9)または13アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X
6E(配列番号10)または16アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X
9X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号11)または21アミノ酸配列KEQEM
X₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号
12)を含む29アミノ酸残基からなる。他の実施形態では、ペプチドまたはペプチドア
ナログは、8アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆E(配列番号9)または13アミ
ノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆E(配列番号10)または16アミノ酸
配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列
番号11)または21アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X
9X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号12)を含む30アミノ酸残基からなる。
他の実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログは、8アミノ酸配列X₁X₂X₃V
X₄X₅X₆E(配列番号9)または13アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X
5X₆E(配列番号10)または16アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X
8X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号11)または21アミノ酸配列KEQ
EMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列
番号12)を含む31アミノ酸残基からなる。他の実施形態では、ペプチドまたはペプチ
ドアナログは、8アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆E(配列番号9)または13
アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆E(配列番号10)または16アミ
ノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(
配列番号11)または21アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X
8X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号12)を含む32アミノ酸残基からな
る。他の実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログは、8アミノ酸配列X₁X₂X
3VX₄X₅X₆E(配列番号9)または13アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX
4X₅X₆E(配列番号10)または16アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX
7X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号11)または21アミノ酸配列K
EQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(
配列番号12)を含む33アミノ酸残基からなる。他の実施形態では、ペプチドまたはペ
プチドアナログは、8アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆E(配列番号9)または
13アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆E(配列番号10)または16
アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁
4(配列番号11)または21アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX
7X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号12)を含む34アミノ酸残基か
らなる。他の実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログは、8アミノ酸配列X₁X
2X₃VX₄X₅X₆E(配列番号9)または13アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃
VX₄X₅X₆E(配列番号10)または16アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆
EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(配列番号11)または21アミノ酸配
列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁
4(配列番号12)を含む35アミノ酸残基からなる。他の実施形態では、ペプチドまた
はペプチドアナログは、8アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆E(配列番号9)ま
たは13アミノ酸配列KEQEMX₁X₂X₃VX₄X₅X₆E(配列番号10)または
16アミノ酸配列X₁X₂X₃VX₄X₅X₆EX₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃

X₁₄（配列番号11）または21アミノ酸配列K E Q E M X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E X₇ X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄（配列番号12）を含む36アミノ酸残基からなる。他の実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログは、8アミノ酸配列X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E（配列番号9）または13アミノ酸配列K E Q E M X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E（配列番号10）または16アミノ酸配列X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E X₇ X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄（配列番号11）または21アミノ酸配列K E Q E M X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E X₇ X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄（配列番号12）を含む76以下のアミノ酸残基からなる。

【0071】

特定の実施形態では、本発明のペプチドが細胞の細胞膜を通過する能力を増強することは有利である。このことは、機能性部分を該ペプチドに結合することによって達成できる。

10

【0072】

したがって、本発明のいくつかの実施形態では、本明細書で説明するペプチドまたはペプチドアナログはさらに修飾されていてもよく、たとえばさらなる特徴を付加する1つ以上の部分に結合されていてもよい。該結合部分により、ペプチドまたはペプチドアナログは膜を容易に透過することができる。また、該結合部分により、ペプチドまたはペプチドアナログを容易に検出することもできる。本明細書で説明するペプチドまたはペプチドアナログに結合させることができる部分の例は、後にセクション「結合部分」で提供する。結合部分の非限定的な例のリストには、細胞透過性ペプチド（CPP）、アルブミン結合ドメイン（ABM）、及び検出可能部分が含まれる。

20

【0073】

したがって、いくつかの実施形態ではペプチドまたはペプチドアナログP₁は、少なくとも1つの追加の部分、たとえば2つの結合部分（Y₁）及び（Y₂）に結合されていてもよく、これらは細胞透過性ペプチド（CPP）、アルブミン結合部分（ABM）、及び検出可能部分（Z）からなる群より選択される。

【0074】

いくつかの実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログP₁は、CPPを含む追加の部分を含み、該CPPはアルギニン（R）及びリジン（Y）から選択される少なくとも4残基の配列を含む。他の実施形態では、CPPは、アミノ酸配列G R K K R R Q R R Rを有するレトロインベルソペプチドもしくはT a t ペプチド、またはアミノ酸配列r r r q r r k k r gを有するレトロインベルソ-d-T a t ペプチドを含む。

30

【0075】

一実施形態では、CPPは5アルギニン残基を含む。別の実施形態では、該5アルギニン残基は、ペプチドまたはペプチドアナログのC末端に結合されている。該CPPは、アミド結合により該ペプチドまたはペプチドアナログに結合されていてもよい。したがって、いくつかの実施形態では、該ペプチドまたはペプチドアナログは、配列Z₁ Z₂ Z₃ Z₄ X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ EまたはX₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E Z₁ Z₂ Z₃ Z₄（配列番号75）を含むかまたはそれからなり、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、及びX₆は先に定義したとおりであり、Z₁、Z₂、Z₃、及びZ₄は個別にR及びKから選択される。

40

【0076】

いくつかの実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログP₁はさらに、インビトロ及び／またはインビボ検出を可能にする検出可能部分を含んでもよい。該検出可能部分は、いくつかの実施形態では、後にセクション「結合部分」で詳述するフルオロフォア、クロモフォア、及び放射性化合物を含む群より選択される。一実施形態では、該検出可能部分はフルオロフォアである。別の実施形態では、該検出可能部分はフルオロフォア5／6カルボキシーテトラメチルローダミン（TMR）である。

【0077】

本発明のいくつかの実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログは、製薬上許容さ

50

れる組成物に含まれていてもよく、神経系疾患の治療及び／または予防用の医薬としての用途で有用である。本発明のペプチドまたはペプチドアナログは、精神及び行動障害、先天性神経発達異常及び染色体異常、脳血管疾患の脳血管症候群を含む心血管疾患、代謝及び摂食障害及び腫瘍性疾患の治療及び予防にも有用であり得る。

【0078】

結合部分

本発明で説明するペプチドまたはペプチドアナログはさらに、追加の部分（Y）に結合されていてもよい。該部分は、ペプチドまたはペプチドアナログの末端に結合されていてもよい。

【0079】

一実施形態では、該結合部分はペプチドであり、アミド結合によりペプチドまたはペプチドアナログに結合されていてもよい。該結合ペプチドは、組成物がたとえば細胞膜を容易に透過できるようにする細胞透過性ペプチド（CPP）であってもよい。該結合ペプチドは、アルギニン及びリジンを含む群より選択される少なくとも4つのアミノ酸残基を含んでいてもよい。本発明の別の実施形態では、該結合ペプチドは5つのアルギニン残基を含む。さらなる実施形態では、該結合ペプチドは、13以下のアミノ酸残基を含む。

【0080】

他の実施形態では、該結合部分は、本明細書では任意の好適な化学基に結合するアルブミンと定義されるアルブミン結合部分（ABM）である。好適なABMの非限定的な例は脂肪酸であるが、他の化学基も使用してよい。いくつかの実施形態では、ABMは、二量体ペプチドまたはペプチドアナログのリンカーに結合されている。

【0081】

一実施形態では、該結合部分は検出可能部分（Z）であり、該部分は蛍光または放射活性またはUV分光に基づく技術により検出することができる。該検出可能部分は、ペプチドまたはペプチドアナログのN末端に結合されていてもよい。該検出可能部分（Z）はまた、CPPのC末端に結合されていてもよい。

【0082】

本明細書で説明するペプチドまたはペプチドアナログは、検出可能部分に、たとえばフルオロフォアに結合されていてもよい。好適なフルオロフォアは、当業者には既知である。

【0083】

いくつかの実施形態では、フルオロフォアはTMRである。該フルオロフォアは、一般的な蛍光顕微法により検出することができる。他の実施形態では、検出可能部分は、超分解能顕微法で用いることができる色素である。検出可能部分の非限定的な例のリストには、Alexa Fluor（登録商標）488、Alexa Fluor（登録商標）532、Alexa Fluor（登録商標）568、Alexa Fluor（登録商標）647、ATTO488、及びATTO532が含まれる。該フルオロフォアは、超分解能顕微法により検出することができる。

【0084】

一実施形態では、該検出可能部分の存在により、組成物に含まれるペプチドまたはペプチドアナログのインビトロ及び／またはインビボ条件下での検出が可能になる。したがって、さらなる実施形態では、該検出可能部分により、インビトロ及び／またはインビボで、ペプチドまたはペプチドアナログに結合しているあらゆる化合物の間接的検出が可能になる。該他の化合物は、ペプチドまたはペプチドアナログと相互作用するタンパク質であってもよい。一実施形態では、該他の化合物は、シナプスタンパク質、すなわち自然な状況で、周囲のニューロンにより分泌されるにせよ、他の細胞種により分泌されるにせよ、2つのシナプス間に存在するシナプス間空隙内に見られるようなタンパク質であってもよい。

【0085】

ペプチドまたはペプチドアナログはまた、ポリマーに結合されていてもよい。該ポリマ

10

20

30

40

50

ーは樹脂であってもよく、該樹脂をタンパク質を含む混合物と接触させてもよい。本発明の一実施形態では、該樹脂はビーズの形をとる。該樹脂と結合させたペプチドまたはペプチドアナログは、該混合物に含まれるタンパク質に結合することができ、したがってこれらを単離することが可能になる。該ペプチドまたはペプチドアナログは、末端のアミノ酸残基を介して樹脂に結合されていてもよい。本発明の一実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログは、末端のシステイン残基を介して該樹脂に結合されていてもよい。本発明の別の実施形態では、ペプチドまたはペプチドアナログは、C P PのC末端に位置するアミノ酸残基を介して樹脂に結合されている。該残基はシステインの場合がある。さらに、ペプチドまたはペプチドアナログは、たとえばチオール系の化学反応により、共有結合的に樹脂と結合させることもできる。

10

【0086】

I I I. ポリヌクレオチド、ベクター、及び宿主細胞

本発明は、各請求項で定められるとおりである。

【0087】

本発明のいくつかの実施形態では、本明細書で定義するペプチドP₁は、ポリヌクレオチドによりコードされている。ポリペプチドをコードする該ポリヌクレオチド（以下、「コード配列」とも呼ばれる）は、該ポリペプチドの発現の指令に好適な1つ以上の制御領域に、センス方向で機能的に連結されていることを理解されたい。コード配列と制御領域は、これらの制御領域とコード配列が、該制御領域が該配列の転写または翻訳を有効に制御できるように配置されているときに、機能的に連結されている、とみなされる。

20

【0088】

「制御領域」は、転写または翻訳の開始及び速度、ならびに転写産物または翻訳産物の安定性及び／または流動性に影響を及ぼすヌクレオチド配列を有する核酸を指す。制御領域としては、限定ではないが、プロモーター配列、エンハンサー配列、応答エレメント、タンパク質認識部位、誘発性エレメント、タンパク質結合配列、5'及び3'非翻訳領域（UTR）、転写開始部位、終結配列、ポリアデニル化配列、イントロン、ならびにそれらの組合せが挙げられる。制御領域は一般に、少なくとも1つのコア（基本）プロモーターを含む。制御領域はまた、少なくとも1つのコントロール・エレメント、たとえばエンハンサー配列、上流エレメントまたは上流活性化領域（UAR）を含む場合もある。制御領域は、該制御領域とコード配列を、該制御領域が該配列の転写または翻訳を有効に制御できるように配置することにより、該コード配列に機能的に連結される。

30

【0089】

含まれる制御領域の選択は、宿主細胞の種類など、いくつかの要因に左右される。当業者にとっては、コード配列に対し制御領域を適宜選択し配置することにより、コード配列の発現を調節することは、日常的なことである。なお、2種以上の制御領域、たとえばイントロン、エンハンサー、上流活性化領域、転写ターミネーター、及び誘発性エレメントが存在する場合もあることを理解されたい。

【0090】

遺伝暗号の縮重のせいで、いくつかの核酸がある特定のポリペプチドをコードできることが理解されよう。すなわち、アミノ酸の多くには、アミノ酸のコドンとして働く2つ以上の3連ヌクレオチドが存在する。したがって、所与のポリペプチドのコード配列中のコドンは、特定の宿主生物において最適な発現が得られるように、その宿主細胞（たとえば、バクテリア細胞、哺乳類細胞、ヒト細胞）の適切なコドンバイアス表を用いて修飾することができる。核酸もまた、特定の宿主について好ましいGC含量となるように、及び／または反復配列数が減少するように、最適化することができる。単離核酸として、これらの修飾された配列は精製された分子として存在することができ、ベクターまたはウイルスに組み込まれて、組換え核酸構築物のモジュールの構築に用いられる場合がある。

40

【0091】

I V. 疾患の治療及び／または予防へのペプチドの使用

本発明の一態様では、本明細書で説明するペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌ

50

クレオチド、ペクター、細胞、または組成物は、神経系疾患、たとえば主に中枢神経系を侵す全身性萎縮症、たとえばハンチントン病、及び中枢神経系の変性疾患、たとえばアルツハイマー病、錐体外路及び運動神経系障害、たとえばパーキンソン病のうちの1種以上の治療及び／または予防用途で有用である。

【0092】

本発明の別の態様では、本明細書で説明するペプチドもしくはペプチドアナログP₁、ポリヌクレオチド、ペクター、細胞、または組成物は、1種以上の精神及び行動障害、たとえば鬱病、不安症、強迫性障害（OCD）、双極性障害（BD）、統合失調症（SZ）、及びRet t症候群の治療及び／または予防にも有用である。

【0093】

本発明の別の態様では、本発明のペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ペクター、細胞、または組成物は、1種以上の先天性神経発達異常及び染色体異常、たとえばルビンシュタイン・ティビ症候群の治療及び／または予防にも有用である。

【0094】

本発明の別の態様では、本発明のペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ペクター、細胞、または組成物は、脳血管疾患の脳血管症候群を含む心血管疾患のうちの1種以上、たとえば卒中の治療及び／または予防にも有用である。

【0095】

本発明の別の態様では、本発明のペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ペクター、細胞、または組成物は、1種以上の代謝及び摂食障害及び腫瘍性疾患、たとえば糖尿病、肥満、インスリン抵抗症、及び神経性食欲不振症の治療及び／または予防にも有用である。

【0096】

そのような実施形態では、それら用途には、本明細書のセクションII「ペプチドまたはペプチドアナログ」で先に説明した「活性化」ペプチドもしくはペプチドアナログP₁、本明細書のセクションIII「ポリヌクレオチド、ペクター、及び宿主細胞」で先に説明した該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含むペクター、該ポリヌクレオチドもしくはペクターを含む宿主細胞、または前述したものをいずれか1つ以上含む、セクション「医薬組成物」で説明する組成物を、それを必要とする対象、すなわち該疾患に罹患しているかまたは罹患が疑われる対象に投与することが含まれる。

【0097】

本発明の別の態様では、本発明のペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ペクター、細胞、または組成物は、悪性腫瘍性疾患、たとえば尿生殖器異常または性腺芽腫または腎臓の新生物の治療及び／または予防にも有用である。

【0098】

本発明の別の態様では、本発明のペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ペクター、細胞、または組成物は、1種以上の突発性及び発作性神経系疾患、たとえばてんかん、てんかん重積、及び片頭痛からなるリストから選択されるものの治療及び／または予防にも有用である。

【0099】

本発明の別の態様では、本発明のペプチドもしくはペプチドアナログ、ポリヌクレオチド、ペクター、細胞、または組成物は、1種以上の他の神経系障害、たとえば神経障害性疼痛及び神経障害性疼痛により誘発される痛覚過敏症の治療及び／または予防にも有用である。

【0100】

そのような実施形態では、それら用途には、本明細書のセクションII「ペプチドまたはペプチドアナログ」で先に説明した「阻害」ペプチドもしくはペプチドアナログP₁、本明細書のセクションIII「ポリヌクレオチド、ペクター、及び宿主細胞」で先に説明した該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含むペクター、該ポリヌクレオチドもしくはペクターを含む宿主細胞、または前述したものをいずれか1つ

10

20

30

40

50

以上含む、セクション「医薬組成物」で説明する組成物を、それを必要とする対象、すなわち該疾患に罹患しているかまたは罹患が疑われる対象に投与することが含まれる。

【0101】

別の態様では、本明細書で先に説明した疾患の該治療方法には、本明細書のセクション「SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のC末端ドメイン」で後に説明する1つ以上のVps10ドメインを含む受容体のC末端ドメインのリン酸化を調節することができる化合物を、それを必要とする対象に投与することが含まれる。該化合物は、本明細書のセクションII「ペプチドまたはペプチドアナログ」で先に説明したペプチドもしくはペプチドアナログP₁、本明細書のセクションIII「ポリヌクレオチド、ベクター、及び宿主細胞」で先に説明した該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含むベクター、該ポリヌクレオチドもしくはベクターを含む宿主細胞、または前述したものをいずれか1つ以上含む、セクション「医薬組成物」で説明する組成物であってもよいが、任意の他の化合物であってもよく、具体的には本明細書の後のセクション「Vps10pドメイン受容体のC末端細胞質ドメインのリン酸化を調節することができる化合物を特定する方法」の説明において特定される化合物であってもよい。

10

【0102】

さらに別の態様では、本発明は、対象のシナプス数を増やす方法に関し、該方法は、本明細書のセクションII「ペプチドまたはペプチドアナログ」で先に説明したペプチドもしくはペプチドアナログP₁、本明細書のセクションIII「ポリヌクレオチド、ベクター、及び宿主細胞」で先に説明した該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含むベクター、該ポリヌクレオチドもしくはベクターを含む宿主細胞、または前述したものをいずれか1つ以上含む、セクション「医薬組成物」で説明する組成物、またはSorCS2、SorCS1、もしくはSorCS3のC末端ドメインのリン酸化を調節することができる化合物を対象に投与することを含む。

20

【0103】

さらに別の態様では、本発明は、初代海馬神経細胞におけるSorCS2、SorCS1、またはSorCS3のC末端ドメインのリン酸化を誘発する方法に関し、該方法は、本明細書のセクションII「ペプチドまたはペプチドアナログ」で先に説明したペプチドもしくはペプチドアナログP₁、本明細書のセクションIII「ポリヌクレオチド、ベクター、及び宿主細胞」で先に説明した該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含むベクター、該ポリヌクレオチドもしくはベクターを含む宿主細胞、または前述したものをいずれか1つ以上含む、セクション「医薬組成物」で説明する組成物、またはSorCS2、SorCS1、もしくはSorCS3のC末端ドメインのリン酸化を調節することができる化合物を投与することを含む。

30

【0104】

いくつかの実施形態では、神経障害または精神及び行動障害は、損なわれたシナプス可塑性と関連がある。特に、障害は、長期増強（LTP）不足、長期抑制（LTD）不足、またはLTPとLTD両方の不足と関連がある場合がある。いくつかの実施形態では、神経障害または精神及び行動障害は、制御解除されたBDNFシグナリングと関連がある。

【0105】

したがって、本明細書で説明するペプチドまたはペプチドアナログは、競合性阻害剤の場合がある。いくつかの実施形態では、該ペプチドまたはペプチドアナログは、BDNFの競合性阻害剤であり、したがってシナプス可塑性を低下させ、ニューロンの形態変化、たとえば樹状突起や軸索の分枝の量を減少させるので、本明細書で先に説明した「阻害剤」ペプチドである。他の実施形態では、該ペプチドまたはペプチドアナログは、シナプス可塑性の活性化剤であり、外来性BDNFの貢献がなくてもニューロンの形態変化、たとえば樹状突起や軸索の分枝の量を増加させ、したがって機能性BDNF及び／またはBDNFシグナリングの必要性を代用するものなので、本明細書で先に説明した「活性化」ペプチドである。

40

【0106】

50

V. 医薬組成物

本発明の化合物または塩は、そのままペプチドまたはペプチドアナログとして投与することも可能であるが、好ましくは、医薬製剤として提供される。したがって、本発明はさらに、本明細書で定義される医薬製剤を提供し、該製剤は、本発明の化合物またはその製薬上許容される塩もしくはエステル、及びその製薬上許容される担体を含む。該医薬製剤は、たとえば Remington: The Science and Practice of Pharmacy 2005, Lippincott, Williams & Wilkins で説明されているような一般的な製薬法により調製することができる。

【0107】

10

製薬上許容される担体は、固体でも液体でもよい。固体型調製物としては、粉末、錠剤、丸薬、カプセル、カシェー、坐剤、及び分散顆粒が挙げられる。固体担体は、希釈剤、香料、溶解剤、潤滑剤、懸濁剤、結合剤、保存料、湿潤剤、錠剤崩壊剤の働きもできる1種以上の賦形剤、またはカプセル材であってもよい。

【0108】

また、使用直前に、経口投与用の液体型調製物に変えられるようにされている、固体型調製物も含まれる。そのような液体型の種類としては、溶液、懸濁液、及び乳濁液が挙げられる。これらの調製物は、活性成分に加えて、着色料、香味料、安定化剤、バッファー、人工及び天然の甘味料、分散剤、増粘剤、溶解剤などを含む場合がある。

【0109】

20

本発明の化合物は、非経口投与用に製剤してもよく、アンプル、プレフィルド・シリンジ、少量点滴または複数用量容器の単位剤形としてもよく、任意選択により保存料が添加されている。組成物は、油性または水性ビヒクル中懸濁液、溶液、または乳濁液、たとえばポリエチレングリコール水溶液などとしてもよい。油性つまり非水性担体、希釈剤、溶媒、またはビヒクルの例としては、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油（たとえばオリーブ油）、及び注射用有機エステル（たとえばオレイン酸エチル）が挙げられ、たとえば保存料、湿潤剤、乳化もしくは懸濁剤、安定剤、及び／または分散剤などの剤を含んでいてもよい。あるいは活性成分は、使用前に好適なビヒクル、たとえば滅菌パイロジェン・フリー水を用いて構成するように、滅菌固体の無菌単離または溶液からの凍結乾燥によって得られる粉末状であってもよい。

30

【0110】

調製可能ならば、本化合物の製薬上許容される塩も本発明の範囲内とする。それらの塩は、製薬用途への適用が許容されるものである。つまり、塩は、親化合物の生物学的活性を保持し、かつ疾患治療での適用及び使用で不適切または有害な効果のないものである。

【0111】

製薬上許容される塩は、標準的な方法で調製する。親化合物が塩基の場合は、好適な溶媒中、過剰な有機または無機酸を加えて処理する。親化合物が酸の場合は、好適な溶媒中、無機または有機塩基を加えて処理する。

【0112】

40

本発明の化合物は、そのアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩として、製薬上許容される担体または希釈剤と共に、同時に、または一緒に、特に好ましくはその医薬組成物として、経口経路でも、直腸経路でも、非経口（皮下を含む）経路でも、有効量を投与することができる。

【0113】

VI. SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のC末端ドメイン

本発明は、Vps10ドメインを含む受容体 SorCS2、SorCS1、及び／または SorCS3 のC末端ドメインのリン酸化がシナプス可塑性にとって重要である、という知見に関する。SorCS2、SorCS1、及び SorCS3 は、Vps10p と高い相同性を有する N末端 Vps10p ドメイン、及び細胞質C末端ドメインを含む。

【0114】

50

S o r C S 2 の天然型は 4 つあり、これらを配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7 に示す。本発明全体で、「S o r C S 2」という用語は、後に定義するこれらの型のいずれかを指す場合があり、「S o r C S 2 の C 末端ドメイン」という用語は、後に定義するこれらの型のいずれかの C 末端ドメインを指す場合がある。

【0115】

第 1 の型（尾部 A）を配列番号 1 に示す。これは 1159 残基長であり、この型の C 末端ドメインは、配列番号 1 のアミノ酸残基 1099、1100 または 1101～1159 にわたる領域と定義する。

【0116】

第 2 の型（尾部 B）を配列番号 3 に示す。これは 1173 残基長であり、残基 1139～1152 にわたる酸ドメインを含む。この型の C 末端ドメインは、配列番号 3 のアミノ酸残基 1099、1100 または 1101～1173 にわたる領域と定義する。

10

【0117】

第 3 の型（尾部 C）を配列番号 5 に示す。これは 1174 残基長であり、追加のセリンを 1104 の位置に含むとともに、配列番号 5 の残基 1140～1153 にわたる酸ドメインを含む。この型の C 末端ドメインは、配列番号 5 のアミノ酸残基 1099、1100 または 1101～1174 にわたる領域と定義する。

【0118】

第 4 の型（尾部 D）を配列番号 7 に示す。これは 1160 残基長であり、追加のセリンを 1104 の位置に含むが、酸ドメインはない。この型の C 末端ドメインは、配列番号 7 のアミノ酸残基 1099、1100 または 1101～1160 にわたる領域と定義する。

20

【0119】

したがって、いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 1 のアミノ酸残基 1099～1159 にわたる領域に対応する。いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 1 のアミノ酸残基 1100～1159 にわたる領域に対応する。いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 1 のアミノ酸残基 1101～1159 にわたる領域に対応する。

【0120】

いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 3 のアミノ酸残基 1099～1173 にわたる領域に対応する。いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 3 のアミノ酸残基 1100～1173 にわたる領域に対応する。いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 3 のアミノ酸残基 1101～1173 にわたる領域に対応する。

30

【0121】

いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 5 のアミノ酸残基 1099～1174 にわたる領域に対応する。いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 5 のアミノ酸残基 1100～1174 にわたる領域に対応する。いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 5 のアミノ酸残基 1101～1174 にわたる領域に対応する。

【0122】

いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 7 のアミノ酸残基 1099～1160 にわたる領域に対応する。いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 7 のアミノ酸残基 1100～1160 にわたる領域に対応する。いくつかの実施形態では、S o r C S 2 の C 末端ドメインは、配列番号 7 のアミノ酸残基 1101～1160 にわたる領域に対応する。

40

【0123】

V I I . V p s 10 p ドメイン受容体の C 末端細胞質ドメインのリン酸化を調節することができる化合物を特定する方法

一態様では、本発明は、S o r C S 2、S o r C S 1、及び S o r C S 3 からなる群より選択される V p s 10 p ドメイン受容体の C 末端細胞質ドメインのリン酸化を調節する

50

ことができる化合物を特定する方法に関し、該方法は、

(i) 1つ以上の候補化合物、及びSorCS2、SorCS1、またはSorCS3を発現する細胞を準備するステップ、

(ii) 該候補化合物の非存在下で、該細胞における(i)のタンパク質のリン酸化レベルを測定するステップ、

(iii) (ii)の細胞を該候補化合物と接触させるステップ、

(iv) (iii)のタンパク質のリン酸化レベルを測定するステップ、

(v) (ii)と(iv)のリン酸化レベルを比較するステップ、

(vi) SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のC末端ドメインのリン酸化を調節することができる(v)の化合物を選択することにより化合物を特定するステップを含む。

10

【0124】

SorCS2は、配列番号1、配列番号3、配列番号5、または配列番号7に示す4つの型のどれであってもよい。したがって、SorCS2を発現する細胞は、4つ全部の型、3つの型、2つの型、または1つの型を発現する場合がある。

【0125】

SorCS2、SorCS1、またはSorCS3を発現する細胞は、神経系の細胞、たとえば神経系の発達中の細胞または成体細胞であってもよい。いくつかの実施形態では、SorCS2、SorCS1、またはSorCS3を発現する細胞は、海馬ニューロン細胞、初代ニューロンまたはiPSC（人工多能性幹細胞）ニューロンなどのニューロン細胞である。iPSCは、ヒト胚の破壊を必要としない方法で得ることができる(19)。

20

【0126】

細胞は、正常なシナプス可塑性を有する対象、たとえば神経障害、精神神経障害または精神及び行動障害の病歴のない対象に由来するのが好ましい。対象は、たとえばヒト、またはマウスやラットなどのげっ歯類など、哺乳類が好ましい。

【0127】

候補化合物

本方法の第1のステップでは、1つ以上の候補化合物、及びSorCS2、SorCS1、またはSorCS3を発現する細胞を準備する。

30

【0128】

候補化合物は、単独で準備してもよく、すなわち1つの候補化合物だけを試験してもよく、またはライブラリーの一部として、もしくはライブラリーのサブセットとして、すなわち多数の候補化合物を、同時にまたは順次試験する。そのようなライブラリーは、市販品であってもよいし、本方法を実施するために設計してもよい。そのようなライブラリーはまた、市販のライブラリーの一部または下位集団であってもよい。

【0129】

ライブラリーはまた、特定の種類の分子を含むライブラリーであってもよく、たとえばライブラリーは血液脳関門の透過率が高い化合物を含むライブラリーであってもよい。ライブラリーはまた、中枢神経系の標的を対象とする化合物のライブラリーであってもよい。ライブラリーはまた、抗体を含んでもよい。いくつかの実施形態では、候補化合物は抗体またはその機能的等価物である。

40

【0130】

いくつかの実施形態では、候補化合物は、経口投与に好適な化合物である。

【0131】

VIII. リン酸化レベル

Vps10ドメインを含む受容体SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のこれらが発現する細胞におけるリン酸化レベルを候補化合物の非存在下で（ステップii）またはその存在下で（ステップiv）測定する。所与のタンパク質のリン酸化レベルを測定する方法は当業界では既知であり、限定ではないが、免疫組織化学、免疫細胞化学、

50

ウェスタンブロット、SILAC、ELISA、及び任意選択によりオートラジオグラフィと組み合わせた電気泳動が挙げられる。

【0132】

SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のリン酸化レベルを、候補化合物の非存在下と存在下で比較する。SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のC末端ドメインのリン酸化を調節することができる候補化合物を選択する。いくつかの実施形態では、候補化合物の存在下のリン酸化レベルのほうが、その非存在下のリン酸化レベルよりも高くなる。他の実施形態では、候補化合物の存在下のリン酸化レベルのほうが、その非存在下のリン酸化レベルよりも低くなる。化合物は、蛍光模倣体として作用することができ、すなわちリン酸化状態にあるSorCS2、SorCS1、またはSorCS3を模倣することができる。

10

【0133】

他の実施形態では、選択された候補化合物（本明細書では以後、化合物とも呼ぶ）は、Vps10ドメインを含む受容体SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3のC末端ドメインのリン酸化を直接調節することができ、SorCS2のC末端ドメインは先に定義したとおりである。

【0134】

いくつかの実施形態では、化合物は、配列番号1に示すSorCS2の残基1125、1128及び1130のうちの少なくとも1つにおいてSorCS2のリン酸化を調節することができる。したがって、一実施形態では、化合物は、配列番号1に示すSorCS2の残基1125においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。別の実施形態では、化合物は、配列番号1に示すSorCS2の残基1128においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号1に示すSorCS2の残基1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号1に示すSorCS2の残基1125及び1128においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号1に示すSorCS2の残基1125及び1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号1に示すSorCS2の残基1128及び1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号1に示すSorCS2の残基1125、1128、及び1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに、化合物は、他の残基、たとえばC末端ドメイン内に含まれない残基において、SorCS2のリン酸化を調節する場合もあれば調節しない場合もあり、ここでSorCS2のC末端ドメインは、

20

30

- a) 配列番号1のアミノ酸残基1099～1159、
 - b) 配列番号1のアミノ酸残基1100～1159、及び
 - c) 配列番号1のアミノ酸残基1101～1159
- からなる群より選択される。

【0135】

いくつかの実施形態では、化合物は、配列番号3に示すSorCS2の残基1125、1128、及び1130のうちの少なくとも1つにおいてリン酸化を調節することができる。したがって、一実施形態では、化合物は、配列番号3に示すSorCS2の残基1125においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。別の実施形態では、化合物は、配列番号3に示すSorCS2の残基1128においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号3に示すSorCS2の残基1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号3に示すSorCS2の残基1125及び1128においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号3に示すSorCS2の残基1125及び1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号3

40

50

に示すSorCS2の残基1128及び1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号3に示すSorCS2の残基1125、1128、及び1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに、化合物は、他の残基、たとえばC末端ドメイン内に含まれない残基において、SorCS2のリン酸化を調節する場合もあれば調節しない場合もあり、ここでSorCS2のC末端ドメインは、

- a) 配列番号3のアミノ酸残基1099～1173、
- b) 配列番号3のアミノ酸残基1100～1173、及び
- c) 配列番号3のアミノ酸残基1101～1173

からなる群より選択される。

10

【0136】

いくつかの実施形態では、化合物は、配列番号5に示すSorCS2の残基1126、1129、及び1131のうちの少なくとも1つにおいてリン酸化を調節することができる。したがって、一実施形態では、化合物は、配列番号5に示すSorCS2の残基1126においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。別の実施形態では、化合物は、配列番号5に示すSorCS2の残基1129においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号5に示すSorCS2の残基1131においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号5に示すSorCS2の残基1126及び1129においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号5に示すSorCS2の残基1126及び1131においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号5に示すSorCS2の残基1129及び1131においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号5に示すSorCS2の残基1126、1129、及び1131においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに、化合物は、他の残基、たとえばC末端ドメイン内に含まれない残基において、SorCS2のリン酸化を調節する場合もあれば調節しない場合もあり、ここでSorCS2のC末端ドメインは、

20

- a) 配列番号5のアミノ酸残基1099～1174、
- b) 配列番号5のアミノ酸残基1100～1174、及び
- c) 配列番号5のアミノ酸残基1101～1174

30

からなる群より選択される。

【0137】

いくつかの実施形態では、化合物は、配列番号7に示すSorCS2の残基1125、1128、及び1130のうちの少なくとも1つにおいてリン酸化を調節することができる。したがって、一実施形態では、化合物は、配列番号7に示すSorCS2の残基1125においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。別の実施形態では、化合物は、配列番号7に示すSorCS2の残基1128においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号7に示すSorCS2の残基1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号7に示すSorCS2の残基1125及び1128においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号7に示すSorCS2の残基1125及び1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号7に示すSorCS2の残基1128及び1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに別の実施形態では、化合物は、配列番号7に示すSorCS2の残基1125、1128、及び1130においてSorCS2のリン酸化を調節することができる。さらに、化合物は、他の残基、たとえばC末端ドメイン内に含まれない残基において、SorCS2のリン酸化を調節する場合もあれば調節しない場合もあり、ここでSorCS2のC末端ドメインは、

40

50

- a) 配列番号7のアミノ酸残基1099～1160、
b) 配列番号7のアミノ酸残基1100～1160、及び
c) 配列番号7のアミノ酸残基1101～1160
からなる群より選択される。

【0138】

化合物は、SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のリン酸化を調節することができるキナーゼ及び／またはホスファターゼを調節することにより、SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のリン酸化を調節する場合がある。化合物は、それに加えて、またはその代わりに、BDNF媒介性シグナリングの調節により、SorCS2、SorCS1、またはSorCS3のリン酸化を調節する場合がある。

10

【0139】

化合物は、損なわれたBDNF活性を救済することができる場合がある。化合物は、ニューロン形態の変化を誘発することができる場合がある。

【0140】

選択した化合物は、半減期を延長し、安定性、可溶性、及び／または生体利用度を高めるように、さらに修飾してもよい。

【0141】

IX. SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3の発現の調節

本明細書で先に定義した化合物はいずれも、配列番号1、配列番号3、配列番号5、もしくは配列番号7に示すSorCS2のあらゆる型、SorCS1、またはSorCS3の発現を調節することができる場合がある。

20

【0142】

したがって、本発明は、SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3の発現を調節することができる化合物を特定する方法にも関し、該方法は、

(i) 1つ以上の候補化合物、ならびにSorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3を発現する細胞を準備するステップ、

(ii) 該候補化合物の非存在下で、該細胞における(i)のタンパク質の発現レベルを測定するステップ、

(iii) (ii)の細胞を該候補化合物と接触させるステップ、

(iv) (iii)のタンパク質の発現レベルを測定するステップ、

30

(v) (ii)と(iv)の発現レベルを比較するステップ、

(vi) SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3の発現を調節することができる(v)の化合物を選択することにより、化合物を特定するステップを含む。

【0143】

SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3の発現レベルは、当業者には既知の方法、たとえば、限定ではないが、免疫組織化学、免疫細胞化学、インサイツハイブリダイゼーション、qPCR、rtPCR、PCR、ウェスタンブロット、ELISA、SILAC、及び任意選択によりオートラジオグラフィと組み合わせた電気泳動などにより決定することができる。

40

【0144】

いくつかの実施形態では、化合物は、SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3の発現を誘発することができる。他の実施形態では、化合物は、SorCS2、SorCS1、及び／またはSorCS3の発現率を低下させることができる。

【実施例】

【0145】

実施例1：動物実験

SorCS2ノックアウトマウスは、10代戻し交配してC57／BL6Jとされている。行動試験は、戻し交配に用いられた同じC57／BL6J亜株と比較してホモ接合である戻し交配マウスで行った(Glerup, Olsen et al., 2014

50

）。ここに記載する各実験では、すべてのマウス株を10代戻し交配してC57／BL6 Jbom (Taconic)とし、同腹のコントロールを実験に用いた。すべての実験は、デンマーク国法務省管轄のDanish Animal Experiments Inspectorateの承認を受け(許可番号2011／561-119)、施設及び国のガイドラインにしたがい実施した。動物はすべて、Aarhus大学の実験動物施設で繁殖し収容した。動物の収容は、プラスチック製ケージ(42x25x15cm)1つにつきマウス5匹までのグループとし、病原体フリー条件で、12時間／12時間の明暗サイクルとし、標準餌(Altromin#1324)と水を自由に摂らせた。毎週ケージを掃除し、床敷及び巣材料、木の棒、及び金属のトンネルを入れた。行動実験は、午前9時から午後5時の間の明サイクル中に12～16週齢の雄マウスで実施した。後述する各行動試験では無処置動物を用い、マウス遺伝子型を盲検として担当者が無作為の順で試験した。後続の分析から除外した動物はいなかった。実験終了時、頸部脱臼により動物を屠殺した。

10

【0146】

実施例2：ガラス玉埋め試験

野生型マウスとSorCS2^{-/-}マウスに、食塩水のみ、または20mg/ml(20mg/kg)のフルオキセチン(商品名Prozac(商標))を含む食塩水を注射した。先行研究では、フルオキセチン注射によるTrkBのリン酸化は1時間後にピークに達することがわかっている(Lieto et al, Plos one 2012)。そこで、マウスをもとのケージ内に1時間放置してから、床敷上に12個のガラス玉を置いた別のケージに移した。そしてマウスをこのケージ内に20分放置し、その後各ケージで50%よりも深く埋められたガラス玉の数を数えた。

20

【0147】

図1に示す結果から、SorCS2^{-/-}マウスは野生型マウスと同程度にガラス玉を埋めたことがわかる。同結果からはさらに、フルオキセチンを注射した野生型マウスは落ち着きがあり、埋めたガラス玉の数も少なかったことがわかるが、この効果はSorCS2^{-/-}マウスでは観察されなかった。

【0148】

実施例3：SorCS2は、BDNFが媒介するシナプス数の増加に重要である

BDNFが誘発する抑制性シナプスの形成についての試験では、p0の野生型(wt)の子とSorCS2^{-/-}の子のニューロンを、カバーガラス当たり100,000ニューロンの密度で播種した。インビトロで7日後、培地を1nMのBDNFまたは同量の滅菌D-PBSのいずれかを含む培地に変えた。ニューロンを72時間、37℃、5%CO₂でインキュベートしてから、氷冷の4%PFA中で20分固定した。D-PBSで5分ずつ3回洗った後、ニューロンを、抑制性マーカーであるゲフィリンに対し染色し、また樹状突起樹のマーカーであるMap2に対し同時染色した。共焦点顕微鏡で撮像し、Imarisソフトウェアを用いて分析した。

30

【0149】

インビトロの棘密度を決定するため、P0の海馬ニューロンを単離し、カバーガラス当たり100,000ニューロンの密度で培養し増殖させた。インビトロで7日後、ニューロンを、GFPを含むプラスミドで、リポフェクタミンLTX試薬(15338-100)を製造業者のプロトコルにより用いて、トランスフェクトした。インビトロで13日目、培地を1nMまたは0nMのBDNFを含む培地に変えた。その後細胞を37℃のインキュベーター内に24時間置いてから、4%PFA中で20分、室温で固定した。棘密度を決定するために、共焦点画像を取得し、その後Imarisソフトウェアを用いて評価した。

40

【0150】

結果を図2に示す。BDNF刺激後、wtニューロンの抑制性シナプス数の増加が観察された(図2A)。このことはSorCS2不足のニューロンには当てはまらない(図2A)。同様に、BDNF刺激後、wtニューロンにはグルタミン酸作動性棘の数の増加が

50

見られるが（図2B）、このことはSorCS2不足のニューロンには当てはまらない（図2B）。

【0151】

この例は、BDNFが媒介するシナプス数の増加にはSorCS2が重要であることを示している。

【0152】

実施例4：SorCS2不足は樹状突起の複雑性に影響を及ぼす

インビトロのニューロンの樹状突起の分枝を決定するために、P0マウスから海馬ニューロンを単離し、カバーガラス当たり5000ニューロンの密度で培養し増殖させた。24時間後、培地を1nMのBDNFまたは同量の滅菌PBSのいずれかを含む培地に変えた。その後細胞を37℃のインキュベーター内に72時間置いてから、4%PFA中で20分、室温で固定した。細胞の形態を決定するため、ニューロンをβ-チューブリンに対し染色した（β-チューブリンマウスmAb chemicon MAB3408）。共焦点顕微鏡で撮像し、分枝パターンをZen 2011 Image Processing（Carl Zeiss）により次のように分析した。ニューロンの第1次、第2次、第3次、及び第4次の分枝パターンを計数し、ここで第1次の枝は細胞体から突出している神経突起と定義し、細胞体の直径よりも枝が長い場合のみ第1次の枝とした。第2次の枝は、第1次の枝から伸びる突起と定義し、以下同じとした。

【0153】

GABA作動性インターニューロンのBDNF誘発性形態変化についての試験では、p3のWTの子及びSorCS2^{-/-}の子のニューロンを、カバーガラス当たり5,000ニューロンの密度で播種した。WT及びSorCS2^{-/-}のニューロンは、1nMのBDNFまたは同量の滅菌D-PBSのいずれかを含む1mLのNeurobasal-A培地に播種した。ニューロンを72時間、37℃、5%CO₂でインキュベートしてから、氷冷の4%PFA中で20分固定した。D-PBSで5分ずつ3回洗った後、ニューロンをマウス抗β-チューブリン及びウサギ抗GABAに対し染色した。共焦点顕微鏡で撮像し、分枝パターンをZen 2011 Image Processing（Carl Zeiss）により次のように分析した。ニューロンの第1次、第2次、第3次、及び第4次の分枝パターンを計数し、ここで第1次の枝は細胞体から突出している神経突起と定義し、細胞体の直径よりも枝が長い場合のみ第1次の枝とした。第2次の枝は、第1

【0154】

図3に示すように、BDNF刺激後、wtのグルタミン酸作動性ニューロンは複雑性が増加しているが、このことはSorCS2不足のニューロンには当てはまらない（図3A）。同様に、wtのGABA作動性インターニューロンもBDNF刺激後に複雑性が増加しているが、SorCS2不足のインターニューロンは応答していない（図3B）。

【0155】

この実験は、樹状突起の分枝にはSorCS2が必要であることを示している。

【0156】

実施例5：SorCS2は、BDNFシグナリングの媒介に重要である

SorCS2のリン酸化についての試験では（図4A）、wtニューロンを6ウェル当たり250万の密度で播種した。培養して5日後、培地をホスファートを含まない培地+0.4mCi/mlの³²Pラベル化ホスファートに変え、4時間、37℃、5%CO₂で放置した。その後、ホスファートを含まない培地でニューロンを1度洗ってから、1nMのBDNFまたは同量の滅菌PBSのいずれかを含む培地を加えた。これを10分放置してから、培地を回収し、プロテアーゼ阻害剤及びホスファターゼ阻害剤を含む溶解バッファーを加えた。対SorCS2抗体を用いて試料からの免疫沈降を実施した。次いで試料をSDSゲル、続いてオートラジオグラフィーで分析して、SorCS2のリン酸化を評価した。

【0157】

B D N F 媒介性の分枝における S o r C S 2 の役割を調べるため (図 4 B ~ 図 4 G)、S o r C S 2 - / - ニューロンを、G F P と一緒に所望の S o r C S 2 ミュータントを含む培地中、カバーガラス当たり 100,000 ニューロンの密度で播種した。6 時間後、培地を、1 n M の B D N F または同量の滅菌 P B S のいずれかを含む規定の n e u r o b a s a l A 培地に変えた。ニューロンを 72 時間、37 °C、5 % C O₂ でインキュベートしてから、氷冷の 4 % P F A 中で 20 分固定し、その後 D - P B S で 5 分ずつ 3 回洗った。共焦点顕微鏡で撮像し、分枝パターンを Z e n 2011 I m a g e P r o c e s s i n g (C a r l Z e i s s) により次のように分析した。G F P 陽性ニューロンの第 1 次、第 2 次、第 3 次、及び第 4 次分枝パターンを計数し、ここで第 1 次の枝は細胞体から突出している神経突起と定義し、細胞体の直径よりも枝が長い場合のみ第 1 次の枝とした。第 2 次の枝は、第 1 次の枝から伸びる突起と定義し、以下同じとした。

【0158】

放射性ホスファートとともにプレインキュベートしたニューロンからの S o r C S 2 の免疫沈降により、無刺激 (右側レーン) よりも B D N F 刺激後 (図 4 A、左側レーン) のほうがリン酸化率が高いことが示された。

【0159】

S o r C S 2 - / - ニューロンを全長 S o r C S 2 でトランスフェクションすると、B D N F に対する応答が救済される (図 4 B 1)。しかし、細胞内ドメインのないバリエーションでのトランスフェクションでは、B D N F 付加後に神経突起の分枝の増加は見られない (図 4 B 2)。最後の 21 (図 4 B 3) または 35 (図 4 B 4) アミノ酸が欠失したバリエーションを作成すると、表現型はなおも救済された。ところが、56 アミノ酸の欠失後 (図 4 B 5) は B D N F に対する応答は失われた。3 つの異なる位置のセリン残基がアラニンに変えられている全長バリエーション (S 1125A、S 1128A、及び S 1130A) を作成することで、応答はやはり減少し (図 5. 2)、これらの 3 つのセリン残基は B D N F 刺激の媒介に重要であることが示された。

【0160】

さらに、対象となる 3 つのセリン位置のいずれかにセリンからアラニンへの置換を含むプラスミドを作成した (1125 (図 5. 3)、1128 (図 5. 4)、及び 1130 (図 5. 5))。1128 及び 1130 の位置ではセリンの変異があるが、1125 の位置では変異がない場合、B D N F に対する応答は失われ (図 5)、これらの残基の、B D N F に対する応答の媒介における重要な役割が示された。

【0161】

結論として、この実験は、B D N F シグナリングの媒介には S o r C S 2 が重要であることを示している。

【0162】

図 6 では、S o r C S 2 が B D N F 受容体 T r k B のリン酸化に重要であることを示す。h S Y 5 Y 細胞を S o r C S 2、T r k B、または両方のいずれかでトランスフェクトした (図 6、パネル A 及び B)。B D N F 刺激後の T r k B のリン酸化は、T r k B が単独で存在する場合よりも、S o r C S 2 も存在する場合のほうが、2.5 倍高かった (図 6、パネル B)。さらに、下流キナーゼである P L C γ のリン酸化も、T r k B のみのトランスフェクトよりも、S o r C S 2 が存在するほうが大幅な増加を示した (図 6、パネル C 及び D)。このことは、B D N F に対する応答の媒介における S o r C S 2 の重要な役割を示している。

【0163】

実施例 6：フルオキセチンは海馬における S o r C S 2 の発現レベルに影響を及ぼす

3 匹の野生型マウスに、普通の水道水または 0.8 m g / m l のフルオキセチンを含む水道水を、1 週間に 1 度 w a t e r - c h a n c e で 3 週間与えた。その後、マウスを頸部脱臼により安楽死させ、海馬及び皮質を切除した。試料をプロテアーゼ阻害剤及びホスファターゼ阻害剤を含む溶解バッファー中で溶解した。次いで試料をウェスタンブロット分析して、フルオキセチン処置により S o r C S 2 レベルが上昇するかどうかを調べた

。

【0164】

ウェスタンブロット分析では、SorCS2の発現率が海馬では上昇したが、皮質では上昇しなかったことが明らかになった（図7）。試料は、フルオキセチン処置をしなかった海馬に対し標準化した。

【0165】

実施例7：細胞膜でのSorCS2の活性化は、形態的応答の増加をもたらさず、SorCS2の細胞外ドメインは必要ではない

BDNF媒介性シグナリングにおけるSorCS2の細胞外部分の役割を調べるため、SorCS2-/-ニューロンをカバーガラス当たり100,000ニューロンの密度で播種した。ニューロンを、膜内への挿入を容易にするようにSorCS2の細胞外部分がGFPで置換されている構築物（wt memと表記する）でトランスフェクトした。ここで、全長SorCS2でトランスフェクトしたニューロンとwt memでトランスフェクトしたニューロンの差異は観察されなかった（図8）。しかし、wt memでトランスフェクトしBDNFで刺激したニューロンは、全長SorCS2でトランスフェクトしたニューロンよりも形態が大幅に増加し（図8）、細胞外ドメインは十分なBDNF応答にとって必要ではないことが示された。

【0166】

細胞膜でのSorCS2の活性化が、SorCS2不足のニューロンにおける形態的応答の誘発に十分かどうかを調べるため、SorCS2-/-ニューロンをカバーガラス当たり100,000ニューロンの密度で播種した。ニューロンを、膜内への挿入を容易にするようにSorCS2の細胞外部分がGFPで置換されている構築物でトランスフェクトした。さらに、リン酸化セリンを模倣するため、上述した1125、1128、及び1130の位置のセリンをアスパラギン酸に変えた（mut memと表記する）。mut memでトランスフェクトしたニューロンでは、全長SorCS2でトランスフェクトしたニューロンよりも大幅に少ない形態が観察された（図9）。この減少は、BDNFを付加すると救済され（図9）、SorCS2の膜での活性化はニューロンの形態増加をもたらさないことが示された。

【0167】

実施例8：SorCS2尾部の活性化は、BDNFの付加と同様の応答誘発に十分である

SorCS2尾部の可溶性バリエーションが形態的応答の誘発に十分であるかどうかを調べるため、SorCS2-/-ニューロンをカバーガラス当たり100,000ニューロンの密度で播種した。これらのニューロンをSorCS2の細胞内部分を含む構築物でトランスフェクトした（図10.1）（「wt可溶性尾部」と表記する）。wt可溶性尾部でトランスフェクトしたニューロンは、全長SorCS2でトランスフェクトしたニューロンと比べて形態の増加を示した。この応答はさらに、BDNFを付加すると増加した。次に発明者らは、リン酸化セリンを模倣するため1125、1128、及び1130の位置のセリンをアスパラギン酸に変えたSorCS2の細胞内部分を含む構築物を作成した（図10.2）（「活性化された可溶性尾部」と表記する）。活性可溶性尾部でトランスフェクトしたニューロンを全長SorCS2でトランスフェクトしたニューロンと比較すると、有意な応答が観察された。この応答は、BDNFを活性可溶性尾部に加えてもさらに増加はしなかった。このことは、活性可溶性尾部がニューロンの形態的応答の誘発に十分であることを示す。要約すると、SorCS2は、ニューロンにおけるBDNFが媒介する応答にとって重要であるだけでなく、十分でもある。

【0168】

実施例9：構成的活性型SorCS2尾部は、BDNFを付加してもさらに増加しない応答を誘発する

発明者らは次に、SorCS2の細胞内尾部と同様のペプチドを作成した。第1のペプチドは、アスパラギン酸に変えた1125、1128、及び1130の位置のセリンを除

10

20

30

40

50

いては、野生型 S o r C S 2 尾部と同じ配列であった。さらに、ニューロンへの侵入を容易にするため T A T 配列が付加されていた（図 1 1）（「P p e p」と表記する）。このペプチドが神経栄養性応答を誘発できるかどうかを調べるため、内在性レベルの S o r C S 2 を発現する野生型ニューロンをカバーガラス当たり 2 0, 0 0 0 ニューロンの密度で、0. 1 μ M、1 μ M、または 1 0 μ M を 1 n M の B D N F または同量の滅菌食塩水と組み合わせて含む培地中に播種した。0. 1 μ M も 1 0 μ M も応答を誘発しなかったが、1 μ M の P p e p は、コントロール（無刺激）と比べて有意な応答を誘発した（図 1 1. 4）。また、B D N F 処理してもさらなる増加は観察されず（図 1 1. 2）、P p e p はニューロンにおける神経栄養性応答の誘発に十分であることが示された。

【0169】

10

実施例 1 0：構成的不活性型 S o r C S 2 尾部は、B D N F の存在下でも、B D N F 誘発性形態的応答を阻害することができる

p P e p の付加は、B D N F の非存在下でも神経栄養性応答の誘発に十分であったため、発明者らは、不活性ペプチドの付加が B D N F の存在下でも B D N F シグナリングの阻害に十分であるかどうか、検証したいと考えた。そこで発明者らは、不活性 S o r C S 2 尾部を模倣するため S o r C S 2 尾部の 1 1 2 5、1 1 2 8、及び 1 1 3 0 の位置のセリンをアラニンに変えたペプチドを作成した（図 1 2 では A p e p と表記する）。さらに、このペプチドは、細胞への侵入を容易にするため T A T 配列（H I V タンパク質形質導入ドメイン）を備えている。0. 1 μ M の A p e p では、B D N F はまだ、有意な応答を誘発できた（図 1 2. 1）。しかし、1 μ M の A p e p（図 1 2. 2）または 1 0 μ M の A p e p（図 1 2. 3）の添加ではそうではなかった。コントロールと比較すると、コントロール（B D N F を加えていない）と 1 μ M A p e p + B D N F（図 1 2. 4）では差異が観察されなかった。このことは、A p e p は、1 μ M で、B D N F の存在下でも、B D N F 誘発性形態的応答を阻害することができることを示している。

20

【0170】

実施例 1 1：短ペプチドは、神経栄養性応答の活性化と阻害の両方を誘発することができる

より小さいペプチドを作成し、これらが神経栄養性応答の誘発に十分であるかどうかを調べた。1 n M の B D N F の付加では（図 1 3. 2）、w t ニューロンは、B D N F なし（図 1 3. 1）の W T ニューロンと比べて複雑性が増加した。実施例 9 及び 1 0 からわかるように、2 5、2 8、及び 3 0 の位置のセリンがアラニンに変異しているペプチドは、B D N F の存在下でも、形態的応答を阻害し（図 1 3. 3）、2 5、2 8、及び 3 0 の位置のセリンがアスパラギン酸に変えられているペプチドは、B D N F の非存在下でも、神経栄養性応答を誘発できた（図 1 3. 4）。そこで発明者らは、セリンをアラニンに変え、より小さいペプチドを作成した。このペプチドは、B D N F が誘発する神経栄養性応答を阻害することができた（図 1 3. 5）。さらに、セリンがアスパラギン酸に変えられている短ペプチドは、B D N F の非存在下でも、神経栄養性応答を誘発できた（図 1 3. 6）。

30

【0171】

実施例 1 2：S o r C S 1、S o r C S 2、及び S o r C S 3 の細胞内尾部の配列アラインメントで明らかになる高度に保存されたソルチリンファミリー細胞内尾部

40

一般的な高度に保存されている配列のほかに、図 1 4 に示すように、S o r C S 1 では 1 1 2 5、1 1 2 8、及び 1 1 3 0 の位置のセリンが保存されている。S o r C S 3 では、1 1 2 8 及び 1 1 3 0 の位置のセリンが保存されている（これらのセリンは、B D N F 応答の媒介に重要な 2 つのセリンであることがわかっている。図 5 参照）。したがって、S o r C S 1 及び S o r C S 3 の尾部も、S o r C S 2 と同様に神経栄養シグナリングを媒介し得る。

【0172】

実施例 1 3：T r k B の過剰な活性化は、側頭葉（t e m p o r a l l o p e）てんかん（T L E）と関連している

50

てんかん重積状態を原因とする T r k B の過剰な活性化は、側頭葉 (t e m p o r a l l o p e) てんかん (T L E) の発症を促進する (3) 。 T r k B の全阻害は、ニューロン生存率の低下をもたらすので望ましくない (3) 。リード化合物が、ニューロン生存率を低下させることなく、てんかん重積状態を原因とする T r k B の過剰なシグナリングの悪影響を阻害することができるかどうかを試験するため、発明者らは、 (3) で説明されていると同様に、カイニン酸を注射する前に、リード化合物を注射する。ここで発明者らは、リード化合物が、てんかん発作の発症を阻害することができるかどうか、及び／または T r k B の過剰な活性化を原因とする悪影響を阻害し、そうすることで側頭葉 (t e m p o r a l l o p e) てんかんの発症を阻害することができるかどうかを試験する。

10

【 0 1 7 3 】

実施例 1 4 : B D N F シグナリングの損失はハンチントン病と関連がある

ハンチントン病は、B D N F シグナリングの損失によりニューロンへの栄養補助が不足することで起きると考えられている、常染色体優性神経変性障害である (4) 。リード化合物が、ハンチントン病において下流シグナリングカスケードを活性化できるかどうかを調べるため、発明者らは、全長ヒトミュータントハンチンチンが挿入されている、B A C H D と称されるハンチントン病のトランスジェニックマウスモデルを用いる。これらのマウスでは、B D N F は、シナプス強化または L T P を誘発することができない (4) 。発明者らは、リード化合物の付加が、B A C H D マウスの脳において L T P を誘発することができるかどうか、電気生理学的に調査する。

20

【 0 1 7 4 】

実施例 1 5 : B D N F はアルツハイマー病との関連がある

B D N F は、中枢神経系のニューロンの栄養補助に重要であると考えられており、アルツハイマー病患者で観察される B D N F レベルの低下は、B D N F が該疾患において果たし得る役割を示している (5) 。ここで B D N F は、アルツハイマー病の病理特徴と考えられているアミロイド斑の形成を阻害する役割を果たしている可能性がある。リード化合物が該疾患の発症を減衰させることができるかどうかを調べるため、海馬ニューロンをカバーガラス当たり 1 0 0 , 0 0 ニューロンの密度で播種する。リード化合物は、 (6) で説明されているように、アミロイド斑 $A \beta_{1-42}$ の毒性成分を付加する 4 時間前に付加する。 $A \beta_{1-42}$ の付加は、ニューロン死をもたらすと記載されているので、発明者らは、 $A \beta_{1-42}$ を発明者らのリード化合物またはビヒクルと一緒に付加した場合のニューロン生存率を調査する。

30

【 0 1 7 5 】

実施例 1 6 : B D N F ハプロ不全は W A G R 症候群と関連がある

論文 (7) では、著者らは、W A G R 症候群の子どもの一群を調査している。この疾患は、染色体 1 1 p 1 3 の一部が欠失している疾患である。一サブグループの子どもは、b d n f 遺伝子も欠失しているため B D N F ハプロ不全を有する。b d n f が欠失している子どもの 1 0 0 % が、1 0 歳までに肥満症になっていた。ここでは B D N F は、視床下部内で作用してエネルギー吸収を制御すると考えられている。B D N F ハプロ不全のマウスも肥満であり (8) 、脳室内 B D N F 注射により救済することが可能である (9) 。エネルギー恒常性にとって重要な受容体であるレプチン受容体に変異のあるマウス (d b / d b マウス) と、B D N F ハプロ不全マウスは、どちらも野生型の動物よりも肥満である。d b / d b マウスでは、B D N F の中枢または末梢投与により食物摂取量が減少し、エネルギー消費量が増加し、糖尿病が予防された (1 0 、 1 1) 。リード化合物が糖尿病の発症を減衰することができるかどうかを調べるため、発明者らは d b / d b マウス及び B D N F ハプロ不全マウスを調査する。ここで、リード化合物またはビヒクルを 4 週齢の d b / d b マウス、B D N F ハプロ不全マウス、または野生型マウスに、1 2 週間注射する。この間、血液試料を週 2 回採取して、グルコースレベル及びインスリンレベルを測定する。さらに、動物の体重、エネルギー消費量、食物摂取量を、実験の間中測定する。

40

【 0 1 7 6 】

50

db/dbマウスは、8週齢頃に前糖尿病とみなされる。そこで発明者らは、リード化合物の投与がdb/dbマウスにおいて糖尿病の発症を減衰することができるかどうかを調べたいと考える。ここで、リード化合物またはビヒクルを、8週齢のdb/dbマウス、BDNFハプロ不全マウス、または野生型マウスに週2回、8週間注射する。ここで、この間ずっと、食物摂取量、エネルギー消費量、体重、ならびにインスリン及びグルコースのレベルを測定する。その後、一晚食餌を除去して、グルコースの空腹時レベルを測定する。

【0177】

実施例17：リン酸化SorCS2の検出

野生型の出生後0日目の子を断頭により安楽死させ、脳を回収し、海馬を切除して氷冷のLeibovitz's L15培地に入れる。切除後、組織を、予め活性化させた20U/mlのパパイン中30分かけて分離させる。その後、組織を、0.01mg/mlのDNase及び10%ウシ胎仔血清(FBS)を含むDMEMで洗ってから、0.01mg/mlのDNase及び10%FBSを含むDMEM中ですり潰す。

【0178】

その後、DMEMを除去し、Neurobasal-A培地を細胞に加える。細胞をPoly-D及びラミニンカバーガラスに、カバーガラス当たり100,000ニューロンの密度で播種し、37℃、5%CO₂で放置し、培地を2日おきに交換する。培養して5日後、培地を、ホスファートを含まない培地+0.4mCi/mlのP32ラベル化ホスファートに変え、4時間、37℃、5%CO₂で放置する。その後、ニューロンをホスファートを含まない培地で1回洗ってから、薬物ライブラリーから1ユニットを含む培地を加える。そのような化合物は、限定ではないが、たとえば、OTAVA chemicalsのCNS化合物ライブラリー(<http://www.otavachemicals.com/products/compound-libraries-for-hits/cns-library>)またはChemBridgeのキナーゼ指定ライブラリー(<http://www.chembridge.com/screening-libraries/targeted-libraries/>)などの化合物ライブラリーで見つけることができる。これらのライブラリーは、血液脳関門の透過性が高くなるように設計されている。

【0179】

ニューロンと培地を10分間放置してから、培地を除去し、プロテアーゼ阻害剤及びホスファターゼ阻害剤を含む溶解バッファーを加える。対SorCS2抗体を用いて試料からの免疫沈降を実施する。次いで試料をSDSゲル、続いてオートラジオグラフィにより分析して、SorCS2のリン酸化を評価する。コントロールとして、SorCS2発現不足のニューロンで同時実験を行う。

【0180】

実施例18：SorCS2発現の分析

Wtマウスに、注射で、または水に混ぜて、薬物を3週間与える。その後マウスを頸部脱臼により安楽死させ、目標部位をマウスから切除する。これらの部位を、次いでウェスタンブロットまたはELISAで分析して、SorCS2などいくつかの遺伝子の制御について調査する。

【0181】

実施例19：ニューロンにおけるSorCS2リン酸化(phosphorylation)を高める小分子のスクリーニング

初代海馬ニューロンにおいてSorCS2のリン酸化を誘発する、またはSorCS2の発現を増加させる能力について、CNS化合物ライブラリーのスクリーニングを実施する。候補化合物はさらに、WT及びKOの海馬ニューロンを用いて、神経突起のSorCS2依存性の成長を誘発する能力について試験する。リード化合物を1種類特定し、これが動物モデル、たとえばBDNFヘテロ接合マウスの精神神経性行動を調節する能力を試験する。

10

20

30

40

50

【0182】

配列

配列番号1：配列尾部Aを有するSorCS2タンパク質；ホモサピエンス

MAHRGSPSRASKGPGPTARAPSPGAPPPPRSPRSLLLLLLLGACGAAGRSPEPG
RLGPHALTRVPRSPPPAGRAEPGGGEDRQARGTEPGAGPSPGPAPGPGEDGAPA
AGYRRVERAAPLAGVASRAQVSLUSTSFVLKGDATHNQAMVHWGTGENSSVILITKY
HADMGKVLSSLRSSDFGTSYKLTLPQGVTTVIDNFYICPTNKRKVLVSSSLSDRD
QSLFLSADEGATFQKQPIFFVETLIFHPKEEDKVLAYTKESKLYVSSDLGKKWTLQ
RVTKDHFVFSVSGVDADPDLVHVEAQDLGGDFRYVTCAIHNCSEKMLTAPFAGPIDH
GSLTVQDDYIFFKATSANQTKYYVSYRRNEFVLMKLPKYALPKDLQIISTDESQVFAV
QEWYQMDTYNLYQSDPRGVRYALVLDQVRSRQAEESVLDILEVRGVKGVFLANQK
IDGKVMTLITYNKGRDWDYLRPPSMDMNGKPTNCKPPDCHLHLRWADNPYVSGT
VHTKDTAPGLIMGAGNLGSQLVEYKEEMYITSDCGHTWRQVFEHHILYLDHGGVIV
AIKDTSIPLKILKFSVDEGLTWSTHNTSTSVFVDGLLSEPGDETLVMTVFGHISFRSD
WELVKVDFRPSFSRQCCEEDYSSWELSNLQDRCIMGQQRFSFRKRKSTSWCIKGR
SFTSALTSRVCECRDSDFLCDYGFERSSSSESSTNKCSANFWFNPLSPDDCALGQT
YTSSLGYRKVVSNVCEGGVDMQSQVQLQCPLTPPRGLQVSIQGEAVAVRPGEDVL
FVVRQEQQDVLTTKYQVDLGDGFKAMYVNLTLTGEPIRHRYESPGIYRVSVRAENTA
GHDEAVLFVQVNSPLQALYLEVVPVIGLNQEVNLTAVLLPLNPLTVFYWWGHSLQP
LLSLDNSVTTRFSOTGDVRVTVQAACGNSVLQDSRVLRVLDQFQVMPLOFSKELDAY
NPNTPEWREDVGLVTRLLSKETSVPQELLTVVVKPGLPTLADLYVLLPPRPTRKRS
LSSDKRLAAIQVNLNAQKISFLLRGGVRLVALRDTGTGAELGGGGGYWAVVVLVI
GLFAAGAFILYKFRKRPRGRTVYAQMHNKEQEMTSPVSHSEVDQGAQGNHSGVV
LSINSREMHSLVLS

10

配列番号2：尾部Aを有するSorCS2タンパク質配列；S1125X、S1128X、S1130X；Xは、E、D；またはホスホセリン（J）である

MAHRGSPSRASKGPGPTARAPSPGAPPPPRSPRSLLLLLLLGACGAAGRSPEPG
RLGPHALTRVPRSPPPAGRAEPGGGEDRQARGTEPGAGPSPGPAPGPGEDGAPA
AGYRRVERAAPLAGVASRAQVSLUSTSFVLKGDATHNQAMVHWGTGENSSVILITKY
HADMGKVLSSLRSSDFGTSYKLTLPQGVTTVIDNFYICPTNKRKVLVSSSLSDRD
QSLFLSADEGATFQKQPIFFVETLIFHPKEEDKVLAYTKESKLYVSSDLGKKWTLQ
RVTKDHFVFSVSGVDADPDLVHVEAQDLGGDFRYVTCAIHNCSEKMLTAPFAGPIDH
GSLTVQDDYIFFKATSANQTKYYVSYRRNEFVLMKLPKYALPKDLQIISTDESQVFAV
QEWYQMDTYNLYQSDPRGVRYALVLDQVRSRQAEESVLDILEVRGVKGVFLANQK
IDGKVMTLITYNKGRDWDYLRPPSMDMNGKPTNCKPPDCHLHLRWADNPYVSGT

20

VHTKDTAPGLIMGAGNLGSQLVEYKEEMYITSDCGHTWRQVFEHHILYLDHGGVIV
AIKDTSIPLKILKFSVDEGLTWSTHNTSTSVFVDGLLSEPGDETLVMTVFGHISFRSD
WELVKVDFRPSFSRQCCEEDYSSWELSNLQDRCIMGQQRFSFRKRKSTSWCIKGR
SFTSALTSRVCECRDSDFLCDYGFERSSSSESSTNKCSANFWFNPLSPDDCALGQT
YTSSLGYRKVVSNVCEGGVDMQSQVQLQCPLTPPRGLQVSIQGEAVAVRPGEDVL
FVVRQEQQDVLTTKYQVDLGDGFKAMYVNLTLTGEPIRHRYESPGIYRVSVRAENTA
GHDEAVLFVQVNSPLQALYLEVVPVIGLNQEVNLTAVLLPLNPLTVFYWWGHSLQP
LLSLDNSVTTRFSOTGDVRVTVQAACGNSVLQDSRVLRVLDQFQVMPLOFSKELDAY
NPNTPEWREDVGLVTRLLSKETSVPQELLTVVVKPGLPTLADLYVLLPPRPTRKRS
LSSDKRLAAIQVNLNAQKISFLLRGGVRLVALRDTGTGAELGGGGGYWAVVVLVI
GLFAAGAFILYKFRKRPRGRTVYAQMHNKEQEMTSPVSHSEVDQGAQGNHSGVV
LSINSREMHSLVLS

30

配列番号3：尾部Bを有するSorCS2タンパク質配列；ホモサピエンス

MAHRGSPSRASKGPGPTARAPSPGAPPPPRSPRSLLLLLLLGACGAAGRSPEPG
RLGPHALTRVPRSPPPAGRAEPGGGEDRQARGTEPGAGPSPGPAPGPGEDGAPA
AGYRRVERAAPLAGVASRAQVSLUSTSFVLKGDATHNQAMVHWGTGENSSVILITKY
HADMGKVLSSLRSSDFGTSYKLTLPQGVTTVIDNFYICPTNKRKVLVSSSLSDRD
QSLFLSADEGATFQKQPIFFVETLIFHPKEEDKVLAYTKESKLYVSSDLGKKWTLQ
RVTKDHFVFSVSGVDADPDLVHVEAQDLGGDFRYVTCAIHNCSEKMLTAPFAGPIDH
GSLTVQDDYIFFKATSANQTKYYVSYRRNEFVLMKLPKYALPKDLQIISTDESQVFAV
QEWYQMDTYNLYQSDPRGVRYALVLDQVRSRQAEESVLDILEVRGVKGVFLANQK
IDGKVMTLITYNKGRDWDYLRPPSMDMNGKPTNCKPPDCHLHLRWADNPYVSGT
VHTKDTAPGLIMGAGNLGSQLVEYKEEMYITSDCGHTWRQVFEHHILYLDHGGVIV
AIKDTSIPLKILKFSVDEGLTWSTHNTSTSVFVDGLLSEPGDETLVMTVFGHISFRSD
WELVKVDFRPSFSRQCCEEDYSSWELSNLQDRCIMGQQRFSFRKRKSTSWCIKGR
SFTSALTSRVCECRDSDFLCDYGFERSSSSESSTNKCSANFWFNPLSPDDCALGQT
YTSSLGYRKVVSNVCEGGVDMQSQVQLQCPLTPPRGLQVSIQGEAVAVRPGEDVL
FVVRQEQQDVLTTKYQVDLGDGFKAMYVNLTLTGEPIRHRYESPGIYRVSVRAENTA
GHDEAVLFVQVNSPLQALYLEVVPVIGLNQEVNLTAVLLPLNPLTVFYWWGHSLQP
LLSLDNSVTTRFSOTGDVRVTVQAACGNSVLQDSRVLRVLDQFQVMPLOFSKELDAY
NPNTPEWREDVGLVTRLLSKETSVPQELLTVVVKPGLPTLADLYVLLPPRPTRKRS
LSSDKRLAAIQVNLNAQKISFLLRGGVRLVALRDTGTGAELGGGGGYWAVVVLVI
GLFAAGAFILYKFRKRPRGRTVYAQMHNKEQEMTSPVSHSEVDQGAQGNHSGVV
DSQTLGGNHSGVLSINSREMHSLVLS

40

配列番号4：尾部Bを有するSorCS2タンパク質配列；S1125X、S1128X、S1130X；XはE、D；またはホスホセリン（J）である

MAHRGPSRASKGPGPTARAPSPGAPPPRSPRSRPLLLLLLLGACGAAGRSPEPG
 RLGPHAQLTRVPRSPAGRAEPGGGEDRQARGTEPGAGPGSPGAPGPGEDGAPA
 AGYRRWERAAPLAGVASRAQVSLISTSFVLKGDATHNQAMVHWGTGENSSVILITKY
 HADMGKVLSSSLWRSSDFGTSYTKLTLPQGVTTVIDNFYICPTNKRKVLVSSSLSDRD
 QSLFLSADEGATFQKQPIFFVETLIFHPKEEDKVLAYTKE\$KLYVSSDLGKKWTLQE
 RVTKDHVFWSVSGVDADPDLVHVEAQDLGGDFRYVTCAIHCSEKMLTAPFAGPIDH
 GSLTVQDDYIFFKAT\$ANQTKYVSYRRNEFVLMKLPKYALPKDLQIISTDESQVFAV
 QEWYQMDTYNLYQSDPRGVRYALVLDQVRSRQAEESVLIDILEVRGVKGVFLANQK
 IDGKVMTLITYNKGRDWDYLRPPSMDMNGKPTNCKPPDCHLHLRWADNPYVSGT
 VHTKDTAPGLIMGAGNLGSOLVEYKEEMYITSDCGHTWRQVFEEEHHILYLDHGGVIV
 AIKDT\$IPLKILKFSVDEGLTWSTHNTSTSVFVDGLLSEPGDETLVMTVFGHISFRSD
 WELVKVDFRPSFSRQCGEEDYSSWELSNLQGDRCIMGQORSFRKRKSTSWCIKGR
 SFTSALTSRVCECRD\$DFLCDYGFERS\$SSSESSTNKCSANFWNPLSPDDCALGOT
 YTSSLG\$YRKVVSNVCEGGVDMQ\$SQVQLQCPLTPPRGLQVSIQGEAVAVRPGEDVL
 FVVRQEQGDVLT\$TKYQVDLGDGFKAMYVNLTLTGEP\$IRHRYESPGIYRVSVRAENTA
 GHDEAVLFVQVNSPLQALYLEVVPVIGLNQEVNLTAVLLPLNPLNTV\$FYWWMGHSLQP
 LLSLDNSVTTFRSDTGDV\$RVTVQAAACGNSVLQDSRVL\$RVLQDFQVMPLOFSKELDAY
 NPNTPEWREDVGLV\$VTRLLSKETSVPQELLVT\$VVKPGLPTLADLYVLLPPRPRTRKRS
 LSSDKRLAAIQV\$VNAQKISFLLRGGV\$RVLVALRDTGTGAELGGGGGYWAVV\$VFLVI
 GLFAAGAFILYKFKRKRPGRTVYAQMHNKEQEMTXPVXHXEDQGAQVEEFIDDDLD
 SQTLGGNHSGVVL\$INSREMH\$SYLVS

10

配列番号 5：尾部 C を有する S o r C S 2 タンパク質配列；ホモサピエンス

MAHRGPSRASKGPGPTARAPSPGAPPPRSPRSRPLLLLLLLGACGAAGRSPEPG
 RLGPHAQLTRVPRSPAGRAEPGGGEDRQARGTEPGAGPGSPGAPGPGEDGAPA
 AGYRRWERAAPLAGVASRAQVSLISTSFVLKGDATHNQAMVHWGTGENSSVILITKY
 HADMGKVLSSSLWRSSDFGTSYTKLTLPQGVTTVIDNFYICPTNKRKVLVSSSLSDRD
 QSLFLSADEGATFQKQPIFFVETLIFHPKEEDKVLAYTKE\$KLYVSSDLGKKWTLQE
 RVTKDHVFWSVSGVDADPDLVHVEAQDLGGDFRYVTCAIHCSEKMLTAPFAGPIDH
 GSLTVQDDYIFFKAT\$ANQTKYVSYRRNEFVLMKLPKYALPKDLQIISTDESQVFAV
 QEWYQMDTYNLYQSDPRGVRYALVLDQVRSRQAEESVLIDILEVRGVKGVFLANQK
 IDGKVMTLITYNKGRDWDYLRPPSMDMNGKPTNCKPPDCHLHLRWADNPYVSGT
 VHTKDTAPGLIMGAGNLGSOLVEYKEEMYITSDCGHTWRQVFEEEHHILYLDHGGVIV
 AIKDT\$IPLKILKFSVDEGLTWSTHNTSTSVFVDGLLSEPGDETLVMTVFGHISFRSD
 WELVKVDFRPSFSRQCGEEDYSSWELSNLQGDRCIMGQORSFRKRKSTSWCIKGR
 SFTSALTSRVCECRD\$DFLCDYGFERS\$SSSESSTNKCSANFWNPLSPDDCALGOT
 YTSSLG\$YRKVVSNVCEGGVDMQ\$SQVQLQCPLTPPRGLQVSIQGEAVAVRPGEDVL
 FVVRQEQGDVLT\$TKYQVDLGDGFKAMYVNLTLTGEP\$IRHRYESPGIYRVSVRAENTA
 GHDEAVLFVQVNSPLQALYLEVVPVIGLNQEVNLTAVLLPLNPLNTV\$FYWWMGHSLQP
 LLSLDNSVTTFRSDTGDV\$RVTVQAAACGNSVLQDSRVL\$RVLQDFQVMPLOFSKELDAY
 NPNTPEWREDVGLV\$VTRLLSKETSVPQELLVT\$VVKPGLPTLADLYVLLPPRPRTRKRS
 LSSDKRLAAIQV\$VNAQKISFLLRGGV\$RVLVALRDTGTGAELGGGGGYWAVV\$VFLVI
 GLFAAGAFILYKFKRKRPGRTVYAQMHNKEQEMTSPVSH\$EDVQGAQVEEFIDDD
 LDSQTLGGNHSGVVL\$INSREMH\$SYLVS

20

配列番号 6：尾部 C を有する S o r C S 2 タンパク質配列；S 1 1 2 5 X、S 1 1 2 8 X、
 S 1 1 3 0 X；X は E、D；またはホスホセリン（J）である

MAHRGPSRASKGPGPTARAPSPGAPPPRSPRSRPLLLLLLLGACGAAGRSPEPG
 RLGPHAQLTRVPRSPAGRAEPGGGEDRQARGTEPGAGPGSPGAPGPGEDGAPA
 AGYRRWERAAPLAGVASRAQVSLISTSFVLKGDATHNQAMVHWGTGENSSVILITKY
 HADMGKVLSSSLWRSSDFGTSYTKLTLPQGVTTVIDNFYICPTNKRKVLVSSSLSDRD
 QSLFLSADEGATFQKQPIFFVETLIFHPKEEDKVLAYTKE\$KLYVSSDLGKKWTLQE
 RVTKDHVFWSVSGVDADPDLVHVEAQDLGGDFRYVTCAIHCSEKMLTAPFAGPIDH
 GSLTVQDDYIFFKAT\$ANQTKYVSYRRNEFVLMKLPKYALPKDLQIISTDESQVFAV
 QEWYQMDTYNLYQSDPRGVRYALVLDQVRSRQAEESVLIDILEVRGVKGVFLANQK
 IDGKVMTLITYNKGRDWDYLRPPSMDMNGKPTNCKPPDCHLHLRWADNPYVSGT
 VHTKDTAPGLIMGAGNLGSOLVEYKEEMYITSDCGHTWRQVFEEEHHILYLDHGGVIV
 AIKDT\$IPLKILKFSVDEGLTWSTHNTSTSVFVDGLLSEPGDETLVMTVFGHISFRSD
 WELVKVDFRPSFSRQCGEEDYSSWELSNLQGDRCIMGQORSFRKRKSTSWCIKGR
 SFTSALTSRVCECRD\$DFLCDYGFERS\$SSSESSTNKCSANFWNPLSPDDCALGOT
 YTSSLG\$YRKVVSNVCEGGVDMQ\$SQVQLQCPLTPPRGLQVSIQGEAVAVRPGEDVL
 FVVRQEQGDVLT\$TKYQVDLGDGFKAMYVNLTLTGEP\$IRHRYESPGIYRVSVRAENTA
 GHDEAVLFVQVNSPLQALYLEVVPVIGLNQEVNLTAVLLPLNPLNTV\$FYWWMGHSLQP
 LLSLDNSVTTFRSDTGDV\$RVTVQAAACGNSVLQDSRVL\$RVLQDFQVMPLOFSKELDAY
 NPNTPEWREDVGLV\$VTRLLSKETSVPQELLVT\$VVKPGLPTLADLYVLLPPRPRTRKRS
 LSSDKRLAAIQV\$VNAQKISFLLRGGV\$RVLVALRDTGTGAELGGGGGYWAVV\$VFLVI
 GLFAAGAFILYKFKRKRPGRTVYAQMHNKEQEMTSPVSH\$EDVQGAQVEEFIDDD
 DSQTLGGNHSGVVL\$INSREMH\$SYLVS

30

配列番号 7：尾部 D を有する S o r C S 2 タンパク質配列；ホモサピエンス

40

MAHRGPSRASKGPGPTARAPSPGAPPPRSPRSPRLLLLLLGGACGAAGRSPEPG
 RLGPQAQLTRVPRSPPAAGRAEPGGGEDRQARGTEPGAGPSPGPAPGPGEDGAPA
 AGYRRWERAAPLAGVASRAQVSLJSTSVLKGDAATHNQAMVHWGTGENSSVILITKY
 HADMGKVLSSSLWRSSDFGTSYKLTLPQGVTTVIDNFYICPTNKRKVLVSSSLSDRD
 QSLFLSADEGATFQKQPIFFVETLIFHPKEEDKVLAYTKESKLYVSSDLGKKWTLQ
 RVTKDHFVFSVSGVDADPDLVHVEAQDLGGDFRYVTCAIHNCSEKMLTAPFAGPIDH
 GSLTVQDDYIFFKATSANQTKYVSYRRNEFVLMKLPKYALPKDLQIISTDESQVFAV
 QEWYQMDTYNLYQSDPRGVRYALVLDQVRSSRAEESVLIDLEVRGVKGVFLANQK
 IDGKVMTLITYNKGRWDYLRPPSMDMNGKPTNCKPPDCHLHLRWDADNPYVSGT
 VHTKDTAPGLMGAGNLGSQLVEYKEEMYITSDCGHTWRQVFEHHLILYLDHGGVIV
 AIKDTSIPLKILKFSVDEGLTWSTHNTSTSVFVQDGLLEPGDETLVMTVFGHISFRSD
 WELVKVDFRPFSRQCGEEDYSSWELSNLQGDRCIMGQQRSFRRKSTSWCIKGR
 SFTSALTSRVCECRDSDFLCDYGFERSSSSESSTNKCANFWFNPLSPDDCALGOT
 YTSSLGKRVKVSNNVCEGGVDMQGSQVQLQCLTPPRGLQVSIQGEAVAVRPGEDVL
 FVVRQEQGDVLTITYQVLDGDKFAMVYNLTLTGEPHRIHRYESPGIYRVSVRAENTA
 GHDEAVLFVQVNSPLQALYLEVVPVIGLNQEVNLTAVLLPLNPLTVFYWWGHSLQ
 LSLDLSVTTFRSDTGDVVRTVQAACGNSVLQDSRVLRLVLDQFQVMPLOFSKELDAY
 NPNTPEWREDVGLVTRLISKETSVPQELLVTVVVKPLPTLADLYVLLPPRPTKRKS
 LSSDKRLAAIQVLNAQKISFLRGGVRVLVALRDTGTGAELGGGGGYWAVVFLVI
 GLFAAGAFILYKFSRKRPGRTVYAQMHNKEQEMTSPVSHSEDEVQGAQGNHSGV
 VLSINSREMHSLVS

10

配列番号 8：尾部 D を有する S o r C S 2 タンパク質配列；S 1 1 2 5 X、S 1 1 2 8 X、S 1 1 3 0 X；X は E、D；またはホスホセリン（J）である

MAHRGPSRASKGPGPTARAPSPGAPPPRSPRSPRLLLLLLGGACGAAGRSPEPG
 RLGPQAQLTRVPRSPPAAGRAEPGGGEDRQARGTEPGAGPSPGPAPGPGEDGAPA
 AGYRRWERAAPLAGVASRAQVSLJSTSVLKGDAATHNQAMVHWGTGENSSVILITKY
 HADMGKVLSSSLWRSSDFGTSYKLTLPQGVTTVIDNFYICPTNKRKVLVSSSLSDRD
 QSLFLSADEGATFQKQPIFFVETLIFHPKEEDKVLAYTKESKLYVSSDLGKKWTLQ
 RVTKDHFVFSVSGVDADPDLVHVEAQDLGGDFRYVTCAIHNCSEKMLTAPFAGPIDH
 GSLTVQDDYIFFKATSANQTKYVSYRRNEFVLMKLPKYALPKDLQIISTDESQVFAV
 QEWYQMDTYNLYQSDPRGVRYALVLDQVRSSRAEESVLIDLEVRGVKGVFLANQK
 IDGKVMTLITYNKGRWDYLRPPSMDMNGKPTNCKPPDCHLHLRWDADNPYVSGT
 VHTKDTAPGLMGAGNLGSQLVEYKEEMYITSDCGHTWRQVFEHHLILYLDHGGVIV

20

AIKDTSIPLKILKFSVDEGLTWSTHNTSTSVFVQDGLLEPGDETLVMTVFGHISFRSD
 WELVKVDFRPFSRQCGEEDYSSWELSNLQGDRCIMGQQRSFRRKSTSWCIKGR
 SFTSALTSRVCECRDSDFLCDYGFERSSSSESSTNKCANFWFNPLSPDDCALGOT
 YTSSLGKRVKVSNNVCEGGVDMQGSQVQLQCLTPPRGLQVSIQGEAVAVRPGEDVL
 FVVRQEQGDVLTITYQVLDGDKFAMVYNLTLTGEPHRIHRYESPGIYRVSVRAENTA
 GHDEAVLFVQVNSPLQALYLEVVPVIGLNQEVNLTAVLLPLNPLTVFYWWGHSLQ
 LSLDLSVTTFRSDTGDVVRTVQAACGNSVLQDSRVLRLVLDQFQVMPLOFSKELDAY
 NPNTPEWREDVGLVTRLISKETSVPQELLVTVVVKPLPTLADLYVLLPPRPTKRKS
 LSSDKRLAAIQVLNAQKISFLRGGVRVLVALRDTGTGAELGGGGGYWAVVFLVI
 GLFAAGAFILYKFSRKRPGRTVYAQMHNKEQEMTSPVSHSEDEVQGAQGNHSGV
 VLSINSREMHSLVS

30

配列番号 9：切断型 V p s 1 0 p ドメイン受容体尾部

X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E

配列番号 10：切断型 V p s 1 0 p ドメイン受容体尾部

K E Q E M X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E

配列番号 11：切断型 V p s 1 0 p ドメイン受容体尾部

X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E X₇ X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄

配列番号 12：切断型 V p s 1 0 p ドメイン受容体尾部

K E Q E M X₁ X₂ X₃ V X₄ X₅ X₆ E X₇ X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄

配列番号 13：切断型 S o r C S 2 受容体尾部

T X₂ P V X₄ H X₆ E

配列番号 14：切断型 S o r C S 1 受容体尾部

I X₂ P V X₄ H X₆ E

配列番号 15：切断型 S o r C S 3 受容体尾部

I X₂ S V X₄ Q X₆ E

配列番号 16：切断型 S o r C S 2 受容体尾部

K E Q E M T X₂ P V X₄ H X₆ E

配列番号 17：切断型 S o r C S 1 受容体尾部

K E Q E M I X₂ P V X₄ H X₆ E

配列番号 18：切断型 S o r C S 3 受容体尾部

K E Q E M I X₂ S V X₄ Q X₆ E

配列番号 19：切断型 S o r C S 2 受容体尾部

50

T X₂ P V X₄ H X₆ E D V Q G A V Q G

配列番号 20 : 切断型 S o r C S 1 受容体尾部

I X₂ P V X₄ H X₆ E S R P N V P Q T

配列番号 21 : 切断型 S o r C S 3 受容体尾部

I X₂ S V X₄ Q X₆ E N A P K I T L S

配列番号 22 : 切断型 S o r C S 2 受容体尾部

K E Q E M T X₂ P V X₄ H X₆ E D V Q G A V Q G

配列番号 23 : 切断型 S o r C S 1 受容体尾部

K E Q E M I X₂ P V X₄ H X₆ E S R P N V P Q T

配列番号 24 : 切断型 S o r C S 3 受容体尾部

K E Q E M I X₂ S V X₄ Q X₆ E N A P K I T L S

配列番号 25 : 切断型 S o r C S 2 受容体尾部 (活性化)

T X₂ P V X₄ H X₆ E

配列番号 26 : 切断型 S o r C S 1 受容体尾部 (活性化)

I X₂ P V X₄ H X₆ E

配列番号 27 : 切断型 S o r C S 3 受容体尾部 (活性化)

I X₂ S V X₄ Q X₆ E

配列番号 28 : 切断型 S o r C S 2 受容体尾部 (活性化)

K E Q E M T X₂ P V X₄ H X₆ E

配列番号 29 : 切断型 S o r C S 1 受容体尾部 (活性化)

K E Q E M I X₂ P V X₄ H X₆ E

配列番号 30 : 切断型 S o r C S 3 受容体尾部 (活性化)

K E Q E M I X₂ S V X₄ Q X₆ E

配列番号 31 : 切断型 S o r C S 2 受容体尾部 (活性化)

T X₂ P V X₄ H X₆ E D V Q G A V Q G

配列番号 32 : 切断型 S o r C S 1 受容体尾部 (活性化)

I X₂ P V X₄ H X₆ E S R P N V P Q T

配列番号 33 : 切断型 S o r C S 3 受容体尾部 (活性化)

I X₂ S V X₄ Q X₆ E N A P K I T L S

配列番号 34 : 切断型 S o r C S 2 受容体尾部 (活性化)

K E Q E M T X₂ P V X₄ H X₆ E D V Q G A V Q G

配列番号 35 : 切断型 S o r C S 1 受容体尾部 (活性化)

K E Q E M I X₂ P V X₄ H X₆ E S R P N V P Q T

配列番号 36 : 切断型 S o r C S 3 受容体尾部 (活性化)

K E Q E M I X₂ S V X₄ Q X₆ E N A P K I T L S

配列番号 37 : 切断型 S o r C S 2 受容体尾部 (活性化)

T D P V D H D E

配列番号 38 : 切断型 S o r C S 2 受容体尾部 (活性化)

K E Q E M T D P V D H D E

配列番号 39 : 切断型 S o r C S 2 受容体尾部 (活性化)

T D P V D H D E D V Q G A V Q G

配列番号 40 : 切断型 S o r C S 2 受容体尾部 (活性化)

K E Q E M T D P V D H D E D V Q G A V Q G

配列番号 41 : 切断型 S o r C S 2 受容体尾部 (活性化)

Y A R A A A R N A R A E K E Q E M T D P V D H D E D V Q G A V Q

配列番号 42 : 切断型 S o r C S 1 受容体尾部 (活性化)

I D P V D H D E

配列番号 43 : 切断型 S o r C S 1 受容体尾部 (活性化)

K E Q E M I D P V D H D E

配列番号 44 : 切断型 S o r C S 1 受容体尾部 (活性化)

10

20

30

40

50

I D P V D H D E S R P N V P Q T

配列番号45：切断型 S o r C S 1 受容体尾部（活性化）

K E Q E M I D P V D H D E S R P N V P Q T

配列番号46：切断型 S o r C S 3 受容体尾部（活性化）

I D S V D Q D E

配列番号47：切断型 S o r C S 3 受容体尾部（活性化）

K E Q E M I D S V D Q D E

配列番号48：切断型 S o r C S 3 受容体尾部（活性化）

I D S V D Q D E N A P K I T L S

配列番号49：切断型 S o r C S 3 受容体尾部（活性化）

K E Q E M I D S V D Q D E N A P K I T L S

配列番号50：切断型 S o r C S 2 受容体尾部（不活性化）

T X ₂ P V X ₄ H X ₆ E

配列番号51：切断型 S o r C S 1 受容体尾部（不活性化）

I X ₂ P V X ₄ H X ₆ E

配列番号52：切断型 S o r C S 3 受容体尾部（不活性化）

I X ₂ S V X ₄ Q X ₆ E

配列番号53：切断型 S o r C S 2 受容体尾部（不活性化）

K E Q E M T X ₂ P V X ₄ H X ₆ E

配列番号54：切断型 S o r C S 1 受容体尾部（不活性化）

K E Q E M I X ₂ P V X ₄ H X ₆ E

配列番号55：切断型 S o r C S 3 受容体尾部（不活性化）

K E Q E M I X ₂ S V X ₄ Q X ₆ E

配列番号56：切断型 S o r C S 2 受容体尾部（不活性化）

T X ₂ P V X ₄ H X ₆ E D V Q G A V Q G

配列番号57：切断型 S o r C S 1 受容体尾部（不活性化）

I X ₂ P V X ₄ H X ₆ E S R P N V P Q T

配列番号58：切断型 S o r C S 3 受容体尾部（不活性化）

I X ₂ S V X ₄ Q X ₆ E N A P K I T L S

配列番号59：切断型 S o r C S 2 受容体尾部（不活性化）

K E Q E M T X ₂ P V X ₄ H X ₆ E D V Q G A V Q G

配列番号60：切断型 S o r C S 1 受容体尾部（不活性化）

K E Q E M I X ₂ P V X ₄ H X ₆ E S R P N V P Q T

配列番号61：切断型 S o r C S 3 受容体尾部（不活性化）

K E Q E M I X ₂ S V X ₄ Q X ₆ E N A P K I T L S

配列番号62：切断型 S o r C S 2 受容体尾部（不活性化）

T A P V A H A E

配列番号63：切断型 S o r C S 2 受容体尾部（不活性化）

K E Q E M T A P V A H A E

配列番号64：切断型 S o r C S 2 受容体尾部（不活性化）

T A P V A H A E D V Q G A V Q G

配列番号65：切断型 S o r C S 2 受容体尾部（不活性化）

K E Q E M T A P V A H A E D V Q G A V Q G

配列番号66：切断型 S o r C S 2 受容体尾部（不活性化）

Y A R A A A R N A R A E K E Q E M T A P V A H A E D V Q G A V Q

配列番号67：切断型 S o r C S 1 受容体尾部（不活性化）

I A P V A H A E

配列番号68：切断型 S o r C S 1 受容体尾部（不活性化）

K E Q E M I A P V A H A E

配列番号69：切断型 S o r C S 1 受容体尾部（不活性化）

10

20

30

40

50

I A P V A H A E S R P N V P Q T

配列番号70：切断型SorCS1受容体尾部（不活性化）

K E Q E M I A P V A H A E S R P N V P Q T

配列番号71：切断型SorCS3受容体尾部（不活性化）

I A S V A Q A E

配列番号72：切断型SorCS3受容体尾部（不活性化）

K E Q E M I A S V A Q A E

配列番号73：切断型SorCS3受容体尾部（不活性化）

I A S V A Q A E N A P K I T L S

配列番号74：切断型SorCS3受容体尾部（不活性化）

K E Q E M I A S V A Q A E N A P K I T L S

配列番号75：切断型SorCS3受容体尾部（不活性化）

K E Q E M I A S V A Q A E N A P K I T L S

【0183】

参考文献

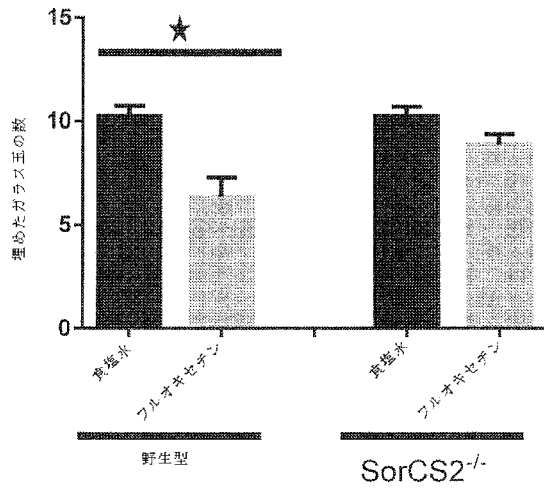
1. Lopez A D., et al., *Nat Med* 4, 1241 (Nov. 1998).
2. Glerup S., et al., *Molecular psychiatry* (Jul 26, 2016)
3. Gu B., et al., *Neuron* 88, 484 (Nov 4, 2015)
4. Plotkin J L., et al., *Neuron* 83, 178 (Jul 2, 2014).
5. Song J H., et al., *Molecular neurobiology* 52, 1477 (Dec. 2015)
6. Shin M K., et al., *Neurosci Lett* 585, 63 (May 19, 2015).
7. Han J C., et al., *The New England journal of medicine* 359, 918 (Aug 28, 2008)
8. Rios M., et al., *Molecular endocrinology* 15, 1748 (Oct. 2001).
9. Kerner S.G., et al., *The EMBO journal* 19, 1290 (Mar 15, 2000).
10. Yamanaka M., et al., *Biomed Res-Tokyo* 29, 147 (Jul, 2008)
11. Nakagawa T., et al., *Diabetes* 49, 436 (Mar, 2000).
12. Deinhardt K., et al., *Sci Signal*. 2011;4(202).
13. Glerup S., et al., *Neuron*. 2014;82(5):1074-87
14. Willnow T.E., et al., *Nat Rev Neurosci*. 2008;9(12):899-909.
15. Glerup S., et al., *Handb Exp Pharmacol*. 2014;220:165-89
16. Nielsen M.S., et al., *EMBO J*. 2001;20(9):2180-90.
17. Nielsen M.S., et al., *Traffic*. 2008;9(6):980-94.
18. Vaegter C.B., et al., *Nat Neurosci*. 2011;14(1):54-61
19. Chung et al. (2008) *Cell Stem Cell* 2(2):113-7
20. Meyer-Franke A., et al., *Nature* 256:495 (1975)
21. Ji Y., et al., *Nat Neurosci*. 2005;8(2):164-72
22. Lu Y., et al., *J Neurosci*. 2011;31(33):11762-71.
23. Nagappan G., et al., *Trends Neurosci*. 2005;28(9):464-71.
24. Woo N.H., et al., *Nat Neurosci*. 2005;8(8):1069-77
25. Pang PT., et al., *Science*. 2004;306(5695):487-91

10

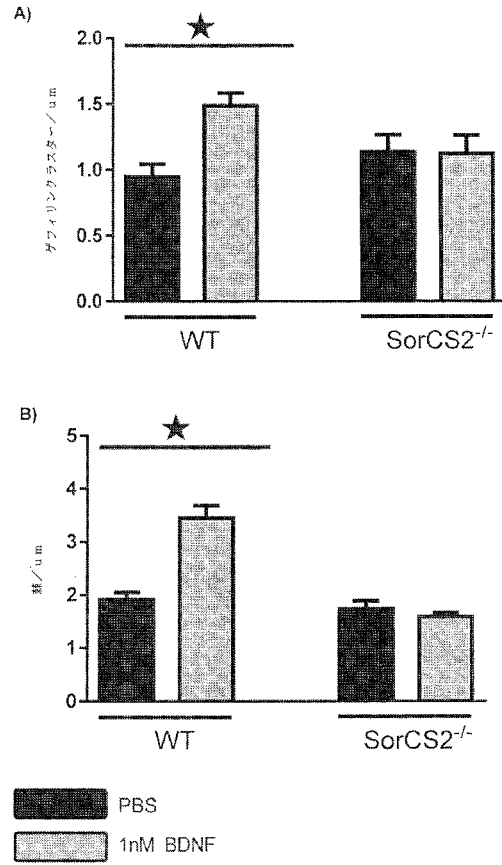
20

30

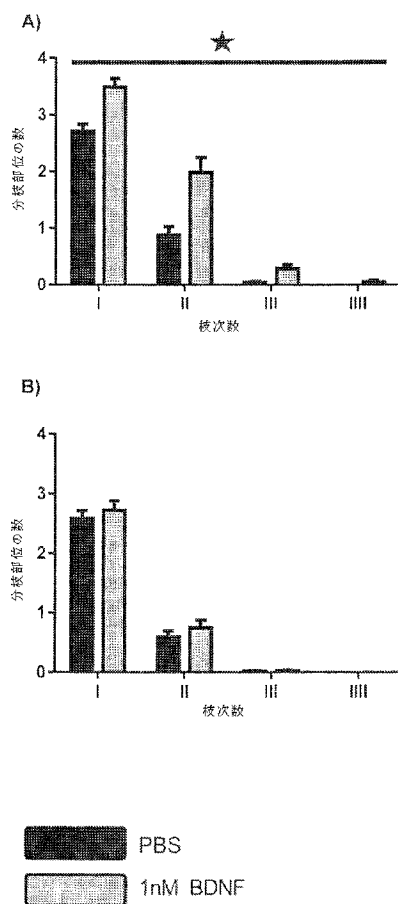
【図 1】



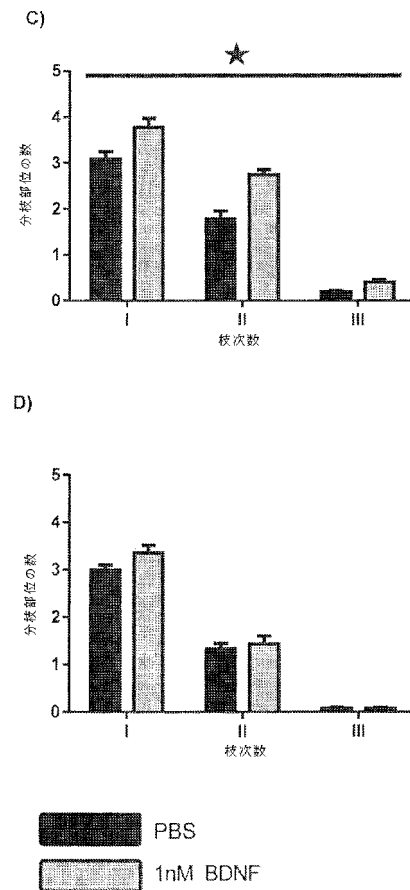
【図 2】



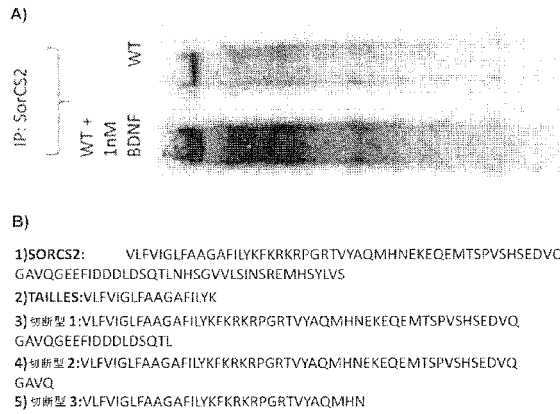
【図 3 - 1】



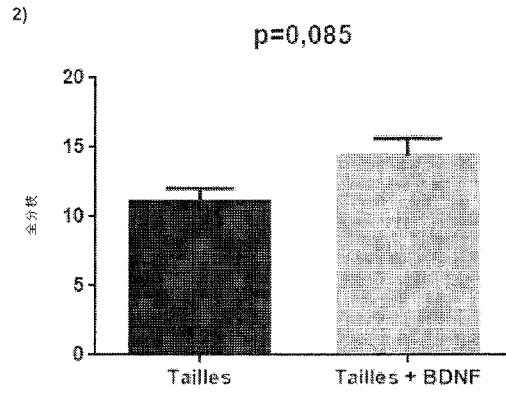
【図 3 - 2】



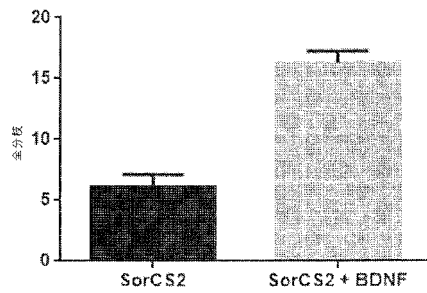
【図 4 - 1】



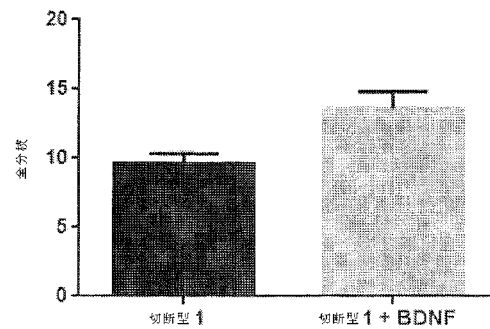
【図 4 - 2】



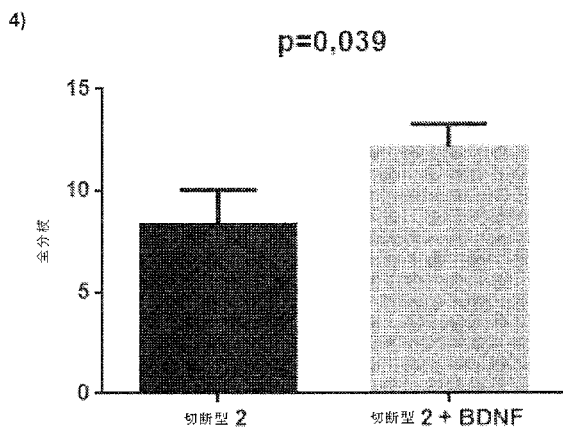
1) p=0,008



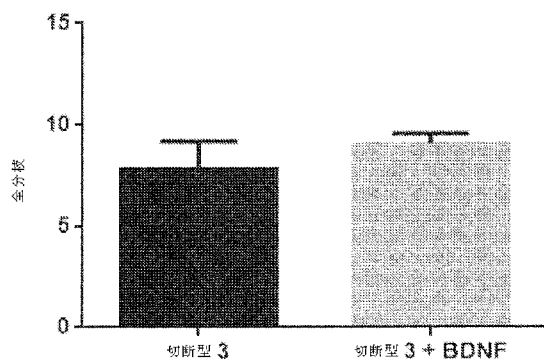
3) p=0,028



【図 4 - 3】

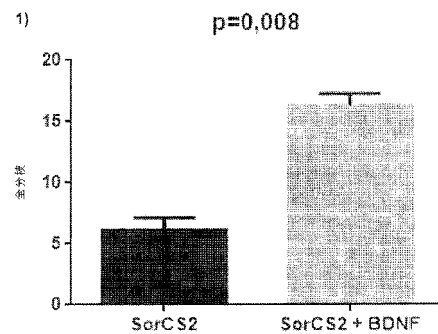


5) p=0,42

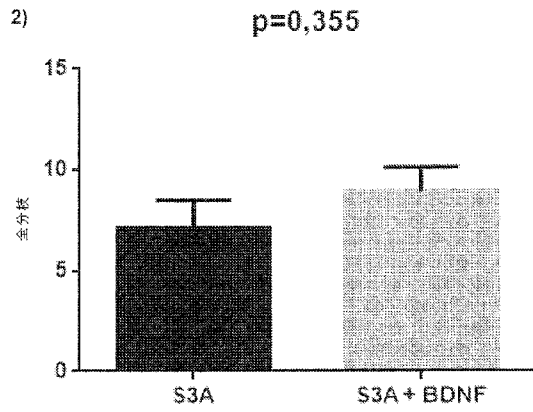


【図 5 - 1】

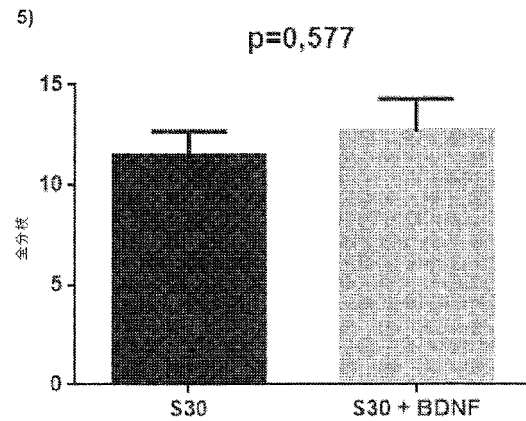
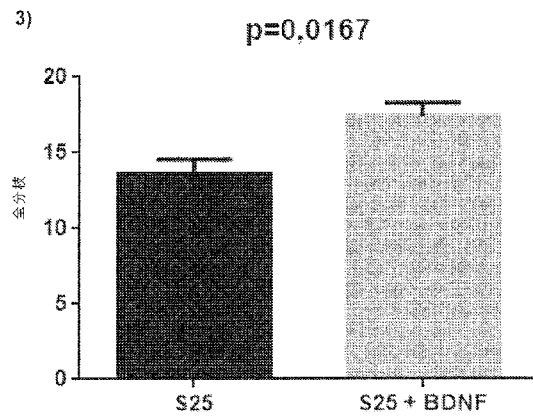
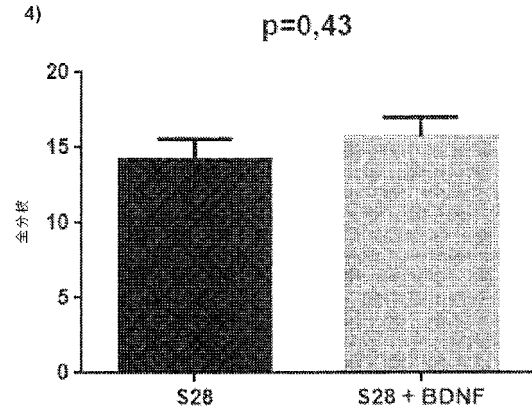
- 1) SORCS2: VLFVIGLFAAGAFILYKFKRRPGRVTYVAQMHNKEQEMTSPVSHSEVDQGAQVIGEEFI
- 2) S3A: VLFVIGLFAAGAFILYKFKRRPGRVTYVAQMHNKEQEMTAPVAHFDVQGAQVIGEEFI
- 3) S25: VLFVIGLFAAGAFILYKFKRRPGRVTYVAQMHNKEQEMTAPVSHSEVDQGAQVIGEEFI
- 4) S28: VLFVIGLFAAGAFILYKFKRRPGRVTYVAQMHNKEQEMTSPVSHSEVDQGAQVIGEEFID
- 5) S30: VLFVIGLFAAGAFILYKFKRRPGRVTYVAQMHNKEQEMTSPVSHSEVDQGAQVIGEEFI



【図 5 - 2】

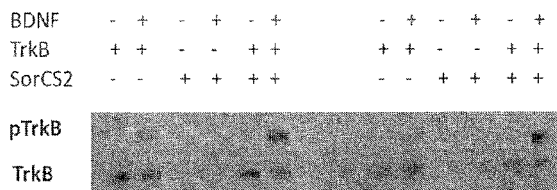


【図 5 - 3】

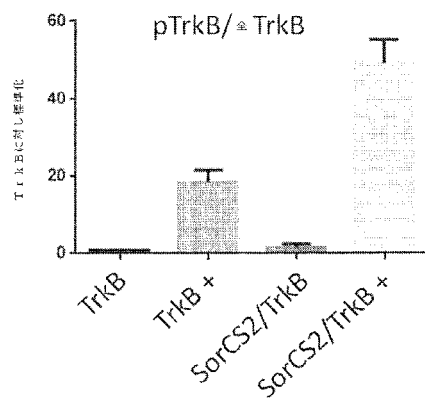


【図 6】

A

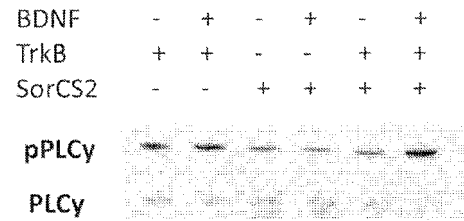


B

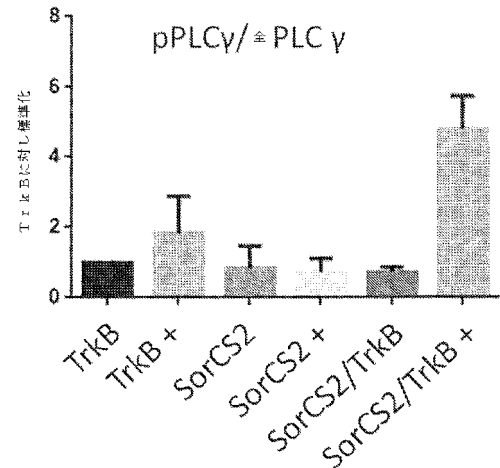


【図 6 - 2】

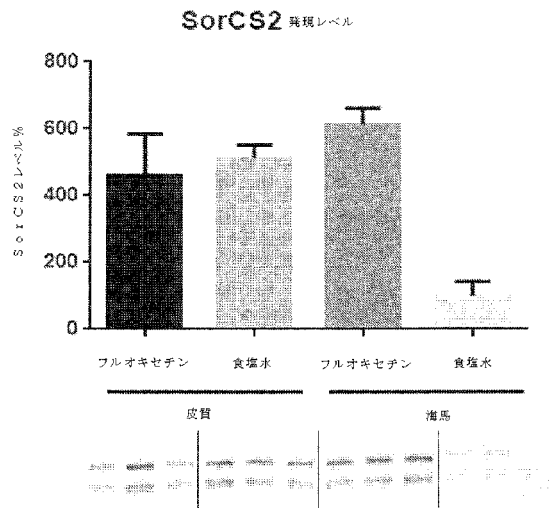
C



D



【図 7】

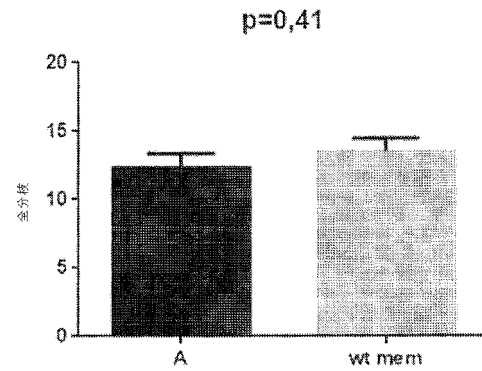


【図 8】

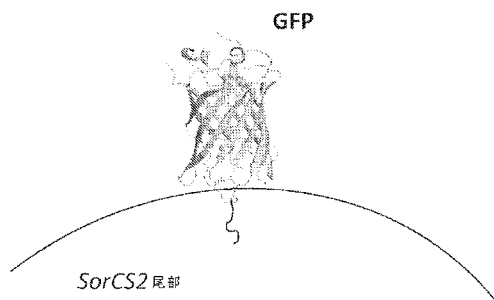
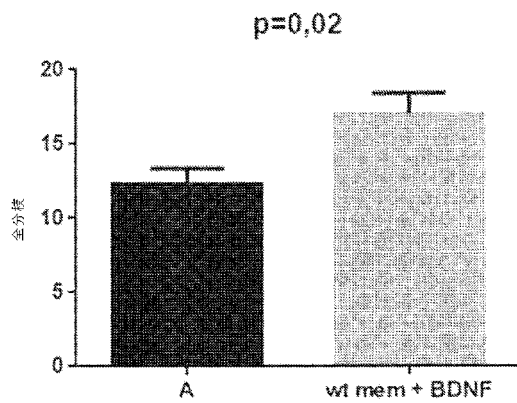
MVSKGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVSGEGEGDATYGKLTCLKFICTTGKLPVPWPPTLV
 TTLTYGVQCFSRYPDHMKQHDFFKSAMPEGYVQERTIFFKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVN
 RIELKGIDFKEDGNILGHKLEYNNSHNVIYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLADHY
 QQNTPIGDGPVLLPDNHYLSTQSALS KDPNEKRDMVLEFVTAAGITLGMDELYKQNSQ
 LGGGGGYWAVVVLVIGLFAAGAFILYKFKRKRPGRTVYAQMHNKEQEMTSPVSHSEDEVQ
 GAVQGNHSGVVLINSREMHSLVLS

EGFP

SorCS2 *TM+ICD*



【図 8 - 2】

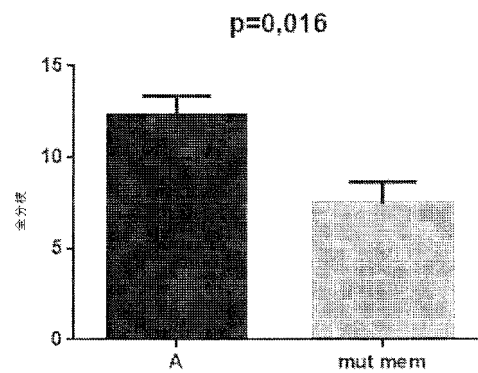


【図 9】

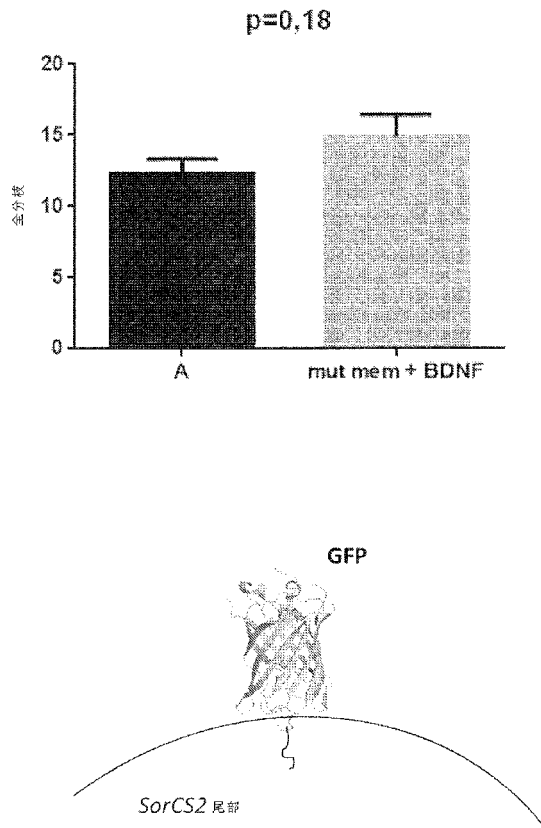
MVSKGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVSGEGEGDATYGKLTCLKFICTTGKLPVPWPPTLV
 TTLTYGVQCFSRYPDHMKQHDFFKSAMPEGYVQERTIFFKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVN
 RIELKGIDFKEDGNILGHKLEYNNSHNVIYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLADHY
 QQNTPIGDGPVLLPDNHYLSTQSALS KDPNEKRDMVLEFVTAAGITLGMDELYKQNSQ
 LGGGGGYWAVVVLVIGLFAAGAFILYKFKRKRPGRTVYAQMHNKEQEMTDPVDHDEDV
 QGAVQGNHSGVVLINSREMHSLVLS

EGFP

SorCS2 *TM+ICD*



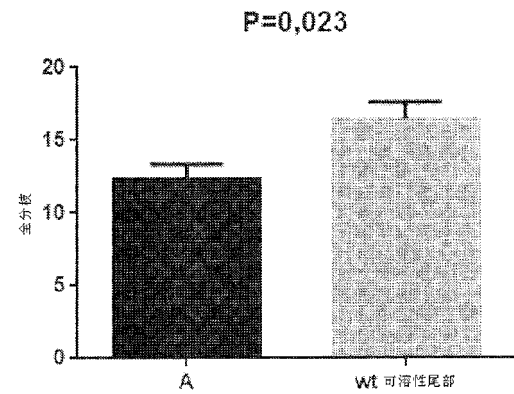
【図 9 - 2】



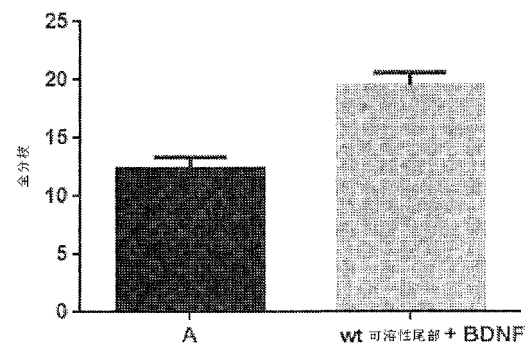
【図 10】

1) MAGAFILYKFKRKRPGRTVYAQMHNKEQEMTSPVSHSEVDVQGAV
QGNHSGVVLINSREMHSYL

1)



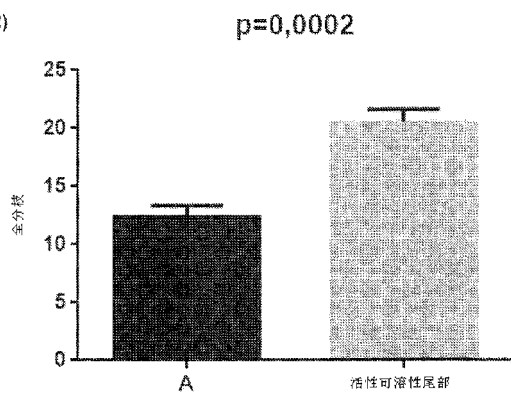
p=0,0009



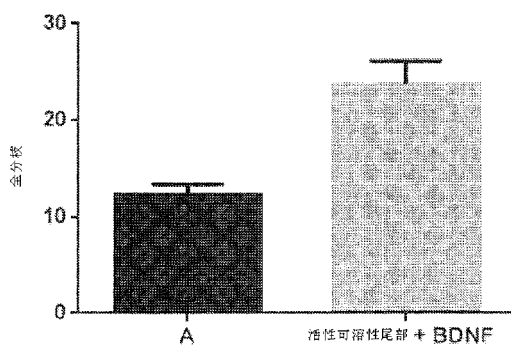
【図 10 - 2】

2) MAGAFILYKFKRKRPGRTVYAQMHNKEQEMTDPVDHDEDVQGAV
QGNHSGVVLINSREMHSYL

2)



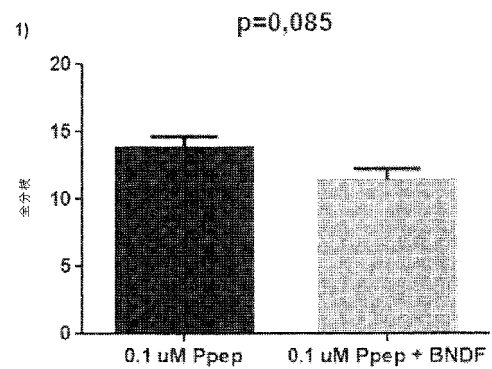
p=0,0011



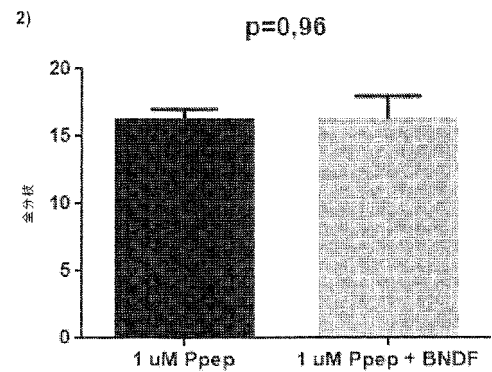
【図 11】

TAT TM SorCS2 尾部
ARAAARNARAAGAFILYKFKRKRPGRTVYAQMHNKEQEMTDPVDHDEDVQGAVQ

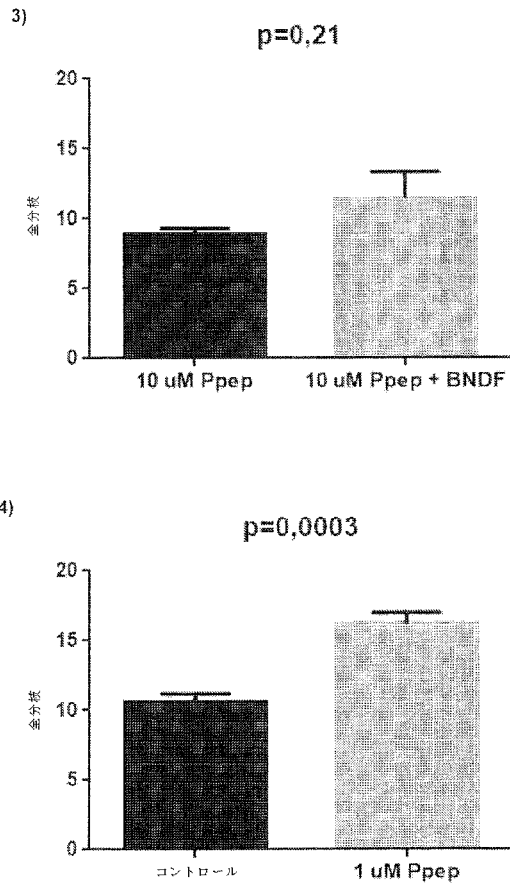
1)



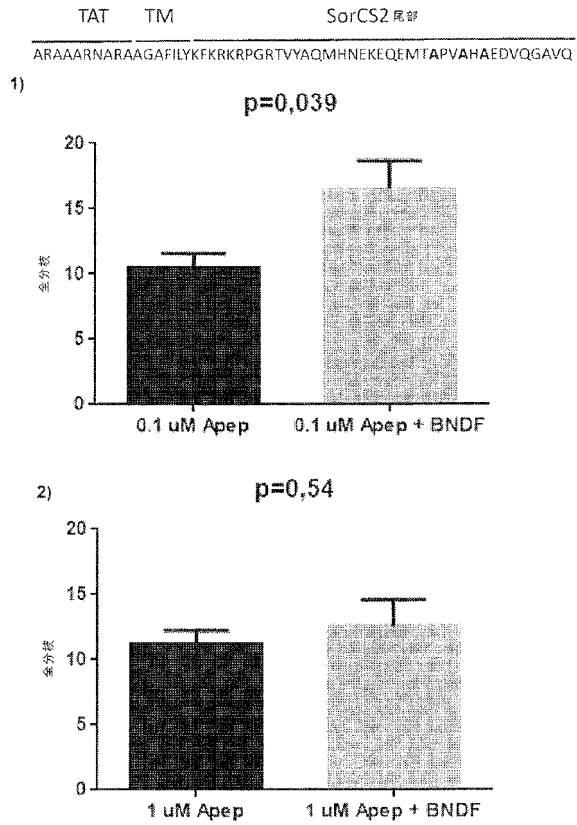
2)



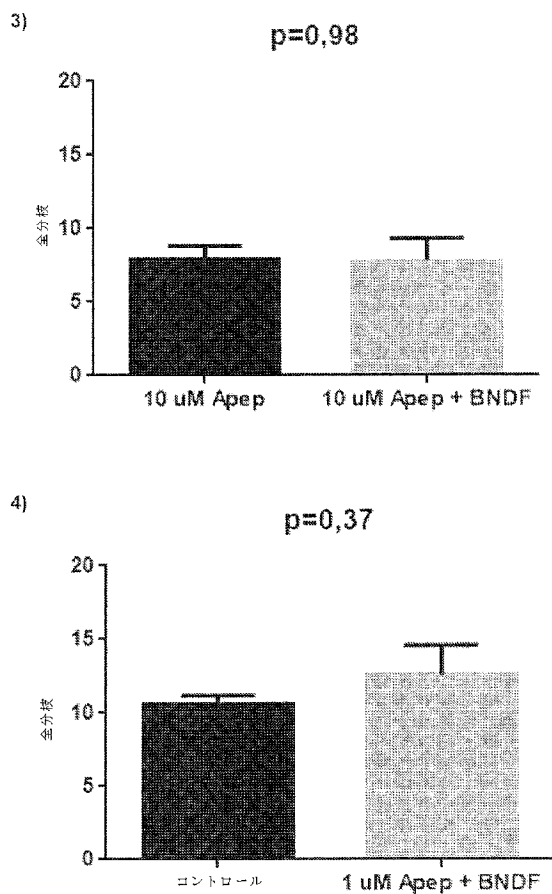
【図 1 1 - 2】



【図 1 2】

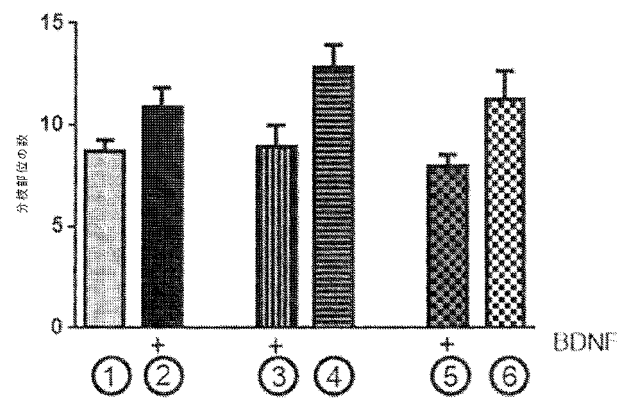


【図 1 2 - 2】



【図 1 3】

- ③ YARAAARNARAAGAFILYKFKRKPGRTVYAQMHNKEQEMT**ApvAhA**EDVQ
 ④ YARAAARNARAAGAFILYKFKRKPGRTVYAQMHNKEQEMT**DpvDhD**EDVQ
 ⑤ YARAAARNARA**AE**KEQEMT**ApvAhA**EDVQGAVQ (配列番号: 66)
 ⑥ YARAAARNARA**AE**KEQEMT**DpvDhD**EDVQGAVQ (配列番号: 41)



Q277

2311

ソルネリン	(英名)	TACHYKSYN DESPEDIIE	
足部 A	(和名)	DAGAVQ5-----NHSVILNINERKESVILVS	
足部 B	(和名)	DVGAVQ5SEIYDOLDSQTLNH	SGVSLNINERKESVILVS
足部 C	(和名)	DVGAVQ5-----NHSVILNINERKESVILVS	
足部 D	(和名)	DVGAVQ5EITDD	IDSQTLNHSVILNINERKESVILVS
SORCS1	(和名)	NAKTILNDF	TEFFELDKTNKFTVGTIATNSENKVIDNKTCSV
SORCS2	(和名)	SRHVVQTELPQOLDKRVESQIOLK	1179
SORCS3	(和名)	SRHVVQTELPQOLIDE	KVEQQLIGISIVAGNCKTKEITVNV
SORCS4	(和名)	SRHVVQTELPQOLDKRVESQIOLK	1179
SORCS5	(和名)	SRHVVQTELPQOLDKRVESQIOLK	1179

2019508018000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/DK2016/050445

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K14/705 C07K14/435
ADD.

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 practicable, search terms used)

EPO-Internal, Sequence Search, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE UniProt [Online] 22 February 2012 (2012-02-22), "SubName: Full=Uncharacterized protein {ECO:0000313 Ensembl:ENSTGUP00000000181}; Flags: Fragment; IYGLAVLLGA GSATILVTSI SMTADLIGN THSSAFVYGA MSFTDKMANG LAVMLIQNLH", XP002767625, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:H0YPI2 Database accession no. H0YPI2 the whole document ----- -/--	1-3,5-8, 15-19, 30-33, 40,41

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

"E" earlier application or patent 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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 March 2017

Date of mailing of the international search report

15/05/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Behrens, Joyce

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DK2016/050445

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE Protein [Online] 21 March 2013 (2013-03-21), "hypothetical protein [Sphingobium sp. AP49]", XP002767626, retrieved from EBI accession no. RefSeq:WP_007705966.1 Database accession no. WP_007705966.1 the whole document -----	1,5, 12-19, 30-33, 40,41
X	WO 2010/069331 A2 (LUNDBECK & CO AS H [DK]; PEDERSEN SIMON GLERUP [DK]; BOELCHO ULRICH [D] 24 June 2010 (2010-06-24) claims 1-80 pages 9-11 -----	4,9-11, 20-29, 34-39, 42-75, 78-81
A	DATABASE UniParc [Online] 18 March 2013 (2013-03-18), "hypothetical protein [Syntrophobacter fumaroxidans (strain DSM 10017 / MPOB)]", XP002767627, retrieved from UniProt Database accession no. UPI00030E9F14 the whole document -----	1-75, 78-81
A	MERIE M REZGAOUI ET AL: "Identification of SorCS2, a novel member of the VPS10 domain containing receptor family, prominently expressed in the developing mouse brain", MECHANISMS OF DEVELOPMENT., vol. 100, no. 2, 1 February 2001 (2001-02-01), pages 335-338, XP055349177, IE ISSN: 0925-4773, DOI: 10.1016/S0925-4773(00)00523-2 abstract -----	1-75, 78-81
A	WO 2012/068332 A2 (UNIV CORNELL [US]; UNIV NEW YORK [US]; HEMPSTEAD BARBARA L [US]; KIM T) 24 May 2012 (2012-05-24) claims 1-18 -----	1-75, 78-81
A	WO 2004/056385 A2 (UNIV AARHUS [DK]; NYKJAER ANDERS [DK]; PETERSEN CLAUS MUNCK [DK]) 8 July 2004 (2004-07-08) claims 1-57 -----	1-75, 78-81
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DK2016/050445

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	W0 2009/155932 A2 (LUNDBECK & CO AS H [DK]; NYKJAER ANDERS [DK]; BJERRUM OLE J [DK]; BJER) 30 December 2009 (2009-12-30) claims 1-272 -----	1-75, 78-81
T	S GLERUP ET AL: "SorCS2 is required for BDNF-dependent plasticity in the hippocampus", MOLECULAR PSYCHIATRY, vol. 21, no. 12, 26 July 2016 (2016-07-26) , pages 1740-1751, XP055349158, GB ISSN: 1359-4184, DOI: 10.1038/mp.2016.108 abstract -----	1-75, 78-81

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/DK2016/050445

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

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, 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 report covers 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.:

1-75, 78-81(all partially)

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 Application No. PCT/DK2016/050445

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-75, 78-81(all partially)

A peptide comprising the sequence T[X2]PV[X4]H[X6]E (SEQ ID NO: 9), wherein X2, X4, X6 are selected from the group consisting of phosphoserine (J), aspartic acid (D), glutamic acid (E), alanine (A) and serine (S).

2. claims: 1-75, 78-81(all partially)

A peptide comprising the sequence IGSV[X4]Q[X6]E (SEQ ID NO: 9), wherein X4, X6 are selected from the group consisting of phosphoserine (J), aspartic acid (D), glutamic acid (E), alanine (A) and serine (S).

3. claims: 1-75, 78-81(all partially)

A peptide comprising the sequence I[X2]PV[X4]H[X6]E (SEQ ID NO: 9), wherein X2, X4, X6 are selected from the group consisting of phosphoserine (J), aspartic acid (D), glutamic acid (E), alanine (A) and serine (S).

4. claims: 1-75, 78-81(all partially)

A peptide comprising the sequence T[X2]PV[X4]H[X6]E (SEQ ID NO: 50), wherein X2, X4, X6 are selected from the group consisting of alanine (A), glycine (G), leucine (L), isoleucine (I), proline (P) and methionine (M).

5. claims: 1-75, 78-81(all partially)

A peptide comprising the sequence I[X2]PV[X4]H[X6]E (SEQ ID NO: 51), wherein X2, X4, X6 are selected from the group consisting of alanine (A), glycine (G), leucine (L), isoleucine (I), proline (P) and methionine (M).

6. claims: 1-75, 78-81(all partially)

A peptide comprising the sequence I[X2]SV[X4]Q[X6]E (SEQ ID NO: 52), wherein X2, X4, X6 are selected from the group consisting of alanine (A), glycine (G), leucine (L), isoleucine (I), proline (P) and methionine (M).

7. claim: 76

A method for identifying a compound capable of modulating phosphorylation of the C-terminal cytoplasmic domain of a

International Application No. PCT/DK2016/050445

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Vps10p-domain receptor selected from the group consisting of
SorCS2, SorCS1 and SorCS3.

8. claim: 77

A method for identifying a compound capable of modulating
expression of a Vps10p-domain receptor selected from the
group consisting of SorCS2, SorCS1, and/or SorCS3.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/DK2016/050445

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 2010069331	A2	24-06-2010	CN	102439041 A		02-05-2012
			CN	105641694 A		08-06-2016
			EP	2379593 A2		26-10-2011
			EP	3165537 A1		10-05-2017
			US	2012052075 A1		01-03-2012
			US	2014242087 A1		28-08-2014
			WO	2010069331 A2		24-06-2010

WO 2012068332	A2	24-05-2012	US	2013336988 A1		19-12-2013
			WO	2012068332 A2		24-05-2012

WO 2004056385	A2	08-07-2004	AT	545429 T		15-03-2012
			AU	2003287930 A1		14-07-2004
			DK	1891966 T3		02-04-2012
			EP	1589988 A2		02-11-2005
			EP	1891966 A1		27-02-2008
			ES	2380055 T3		08-05-2012
			US	2007264195 A1		15-11-2007
			US	2012082671 A1		05-04-2012
			US	2013164297 A1		27-06-2013
			US	2015232565 A1		20-08-2015
			WO	2004056385 A2		08-07-2004

WO 2009155932	A2	30-12-2009	DK	2307042 T3		12-05-2014
			EP	2307042 A2		13-04-2011
			EP	2732823 A1		21-05-2014
			ES	2464459 T3		02-06-2014
			US	2011142830 A1		16-06-2011
			WO	2009155932 A2		30-12-2009

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	14/71	(2006.01)	C 0 7 K	14/71	4 H 0 4 5	
C 1 2 N	15/63	(2006.01)	C 1 2 N	15/63		Z
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21		
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10		
C 1 2 N	5/0793	(2010.01)	C 1 2 N	5/0793		
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)	C 1 2 Q	1/02		
A 6 1 K	38/17	(2006.01)	A 6 1 K	38/17		
A 6 1 K	38/08	(2019.01)	A 6 1 K	38/08		
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00		
A 6 1 P	25/08	(2006.01)	A 6 1 P	25/08		
A 6 1 P	25/06	(2006.01)	A 6 1 P	25/06		
A 6 1 P	25/14	(2006.01)	A 6 1 P	25/14		
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28		
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/16		
A 6 1 P	25/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/02		
A 6 1 P	25/18	(2006.01)	A 6 1 P	25/18		
A 6 1 P	25/22	(2006.01)	A 6 1 P	25/22		
A 6 1 P	25/24	(2006.01)	A 6 1 P	25/24		
G 0 1 N	33/50	(2006.01)	G 0 1 N	33/50		Z
G 0 1 N	33/15	(2006.01)	G 0 1 N	33/15		Z
C 1 2 N	9/16	(2006.01)	C 1 2 N	9/16		B
C 1 2 N	9/12	(2006.01)	C 1 2 N	9/12		
C 0 7 K	1/13	(2006.01)	C 0 7 K	1/13		

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

(72)発明者 ピーデーソン, グラーアップ, シモン

デンマーク国, 8 2 4 0 リスコブ, ソルシッケヴェフ 8

Fターム(参考) 2G045 AA25

4B050 GG02 GG06

4B063 QA05 QA18 QQ08 QQ27 QQ61 QQ79 QR07 QR41 QR48 QR77
QS33 QS36 QX02

4B065 AA90Y AA91X AA93X AB01 AC12 AC14 BA01 BB19 BC12 CA24
CA44

4C084 AA02 AA07 BA01 BA08 BA10 BA17 BA23 CA18 CA28 NA14
ZA021 ZA022 ZA061 ZA062 ZA121 ZA122 ZA151 ZA152 ZA161 ZA162
ZA181 ZA182 ZA201 ZA202 ZC411 ZC412

4H045 AA10 AA20 AA30 BA15 BA16 BA17 BA18 BA19 BA20 BA21
BA41 CA05 CA40 DA50 EA20 EA21 EA27 EA28 FA74