

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】令和2年4月2日(2020.4.2)

【公表番号】特表2019-511567(P2019-511567A)
 【公表日】平成31年4月25日(2019.4.25)
 【年通号数】公開・登録公報2019-016
 【出願番号】特願2018-561933(P2018-561933)
 【国際特許分類】

A 6 1 K 38/16 (2006.01)
 A 6 1 P 9/10 (2006.01)
 A 6 1 P 25/00 (2006.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 K 38/49 (2006.01)
 A 6 1 K 47/56 (2017.01)
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 38/16 Z N A
 A 6 1 P 9/10
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 K 38/49
 A 6 1 K 47/56
 A 6 1 K 47/68
 A 6 1 K 39/395 Y

【手続補正書】

【提出日】令和2年2月14日(2020.2.14)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0305

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0305】

三量体型H-NOX L144Fの局在を評価するために、単一用量の三量体型H-NOX L144F(240mg/kg)をpMCAOから1時間後に投与し、動物をpMCAOから2時間後に安楽死させ、脳を切片化し、抗H-NOX抗体及び抗CD31抗体で染色した。pMCAOから1時間後に投与したとき、三量体型H-NOX L144Fは、pMCAOから早くも2時間後に、梗塞周囲脳実質に局在した(図17A)。正常脳組織(対側)では、三量体型H-NOX L144Fは血管に制限されていた。その後、虚血病変に対する三量体型H-NOX L144Fの効果を試験した。閉塞から1時間後、動物に単一用量の三量体型H-NOX L144F(240mg/kg)を投与し、pMCAOから6時間後に脳を摘出し、先に記載されている通りに、低酸素については、ピモニダゾールのELISAにより、カスパーゼ9活性については、ルミノメトリーによりアッセイした。図17Bに示されているように、三量体型H-NOX L144F投与は、pMCAOから6時間後、低酸素状態及びカスパーゼ9活性を軽減し、三量体型H-NOX L144Fが脳卒中を治療するための有望な薬剤であることを示している。

(配列)

核酸配列は5'から3'へと示されている。

アミノ酸配列はN-末端からC-末端へと示されている。

(サーモアナエロパクター・テングコンジェンシスH-NOX-野生型)

(核酸)

【化1】

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATG
 TGGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGA
 GGATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAA
 AATGTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGT
 TTCCCTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACA
 CCTACAGCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTT
 GCAAAGATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTTAG
 GGTTTATAGAGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTCAGTGGAAGAGGTTCGAAAG
 AGGCGAAAAAGATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTT
 GAGTGA (配列番号:1)

(アミノ酸)

【化2】

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLKSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGK
 NVNEIWREVGRQNIKTFSEWFP SYFAGRRLVNF LMMMDEVHLQLTKMIK GATPPRLIAKPV
 AKDAIEMEYVSKRKM DYFLGLIEGSSKFFKEEISVVEEVERGEK DGF SRLKVRIKFKNPVF
 E (配列番号:2)

(フォールドドメイン)

(核酸)

【化3】

ggttatattcctgaagctccaagagatgggcaagcttacgttcgtaaagatggcgaatggg
 tattactttctaccttttta (配列番号:3)

(アミノ酸)

【化4】

GYIPEAPRDGQAYVRKDG EWVLLSTFPL (配列番号:4)

(サーモアナエロバクター・テングコンジェンシスH-NOX-L144F)

(核酸)

【化5】

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATG
 TGGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGA
 GGATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAA
 AATGTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGT
 TTCCCTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACA
 CCTACAGCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTT
 GCAAAGATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTTAG
 GGTTTATAGAGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTCAGTGGAAGAGGTTCGAAAG
 AGGCGAAAAAGATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTT
 GAGTGA (配列番号:5)

(アミノ酸)

【化6】

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSKSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGK
 NVNEIWREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPV
 AKDAIEMEYVSKRKMYYDFLGFIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIFKKNPVF
 E (配列番号:6)

(サーモアナエロバクター・テングコンジェンシスH-NOX-L144F-フォルドン)

【化7】

atgaaggggacaatcgtcgggacatggataaagaccctgagggacctttacggggaatgatg
 tggttgatgaatcttataaaaagtgtgggttgggaaccagatagggttaattacacctctgga
 ggatattgatgacgatgaggttaggagaattttctgctaagggtgagtgaaaaactggtaaa
 aatgtcaacgaaatattggagagaggttaggaaggcagaacataaaaaactttcagcgaatggt
 ttccctcctattttgcagggagaaggctagtgaattttttaatgatgatggatgaggtaca
 cctacagcttaccaagatgataaaaaggagccactcctccaaggcttattgcaaagcctggt
 gcaaaagatgccattgaaatggagtacgtttctaaaagaaagatgtacgattacttttttag
 ggtttatagagggtagttctaaattttcaaggaagaaatctcagtggagaggtcgaaag
 aggcgaaaaagatggctttcaaggctaaaagt caggataaaatttaaaaaccccggtttt
 gagtataagaaaaatctcgagggcagcggcggttatattcctgaagctccaagagatgggc
 aggcttacgttcgtaaagatggcgaatgggtattactttctacctttttatga
 (配列番号:7)

(アミノ酸)

【化8】

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSKSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVN
 EIWREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIE
 MEYVSKRKMYYDFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIFKKNPVFEYKKNLEGS
 GGYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFPL (配列番号:8)

本件出願は、以下の構成の発明を提供する。

(構成1)

個体の脳卒中を治療する方法であって、該個体にH-NOXの治療有効量を投与することを含み、ここで、該H-NOXが、ポリエチレングリコール(PEG)に共有結合しているH-NOX及びポリエチレングリコールに共有結合していないH-NOXを含む、前記方法。

(構成2)

脳卒中後の個体に酸素を送達する方法であって、該個体にH-NOXの治療有効量を投与することを含み、ここで、N-NOXが、ポリエチレングリコールに共有結合しているH-NOX及びPEGに共有結合していないH-NOXを含む、前記方法。

(構成3)

前記脳卒中が虚血性脳卒中又は出血性脳卒中である、構成1又は2記載の方法。

(構成4)

個体の一過性虚血発作を治療する方法であって、該個体にH-NOXの治療有効量を投与することを含み、ここで、該H-NOXが、PEGに共有結合しているH-NOX及びPEGに共有結合していないH-NOXを含む、前記方法。

(構成5)

一過性虚血発作後の個体に酸素を送達する方法であって、該個体にH-NOXの治療有効量を投与することを含み、ここで、該H-NOXが、PEGに共有結合しているH-NOX及びPEGに共有結合していないH-NOXを含む、前記方法。

(構成6)

個体の低酸素脳損傷を治療する方法であって、該個体にH-NOXの治療有効量を投与する

ことを含み、ここで、該H-NOXが、PEGに共有結合しているH-NOX及びPEGに共有結合していないH-NOXを含む、前記方法。

(構成7)

低酸素脳損傷後の個体に酸素を送達する方法であって、該個体にH-NOXの治療有効量を投与することを含み、ここで、該H-NOXが、PEGに共有結合しているH-NOX及びPEGに共有結合していないH-NOXを含む、前記方法。

(構成8)

前記H-NOXが前記脳卒中と関連する低酸素ペナンプラにO₂を送達する、構成1~3のいずれか一項記載の方法。

(構成9)

前記H-NOXが前記一過性虚血発作と関連する低酸素ペナンプラにO₂を送達する、構成4又は5記載の方法。

(構成10)

前記H-NOXが前記低酸素脳損傷と関連する低酸素ペナンプラにO₂を送達する、構成6又は7記載の方法。

(構成11)

前記H-NOXの投与が前記低酸素ペナンプラにおける炎症を軽減する、構成8~10のいずれか一項記載の方法。

(構成12)

前記個体が、前記脳卒中、一過性虚血発作、又は低酸素脳損傷の結果として、脳の持続的低灌流を示す、構成1~11のいずれか一項記載の方法。

(構成13)

閉塞の部位又は脳卒中、一過性虚血発作、もしくは低酸素脳損傷と関連する低酸素ペナンプラへのH-NOXの送達が、該閉塞の部位又は該ペナンプラにおけるアストロサイト、ミクログリア、及び/又はマクロファージの活性化を低下させる、構成8~12のいずれか一項記載の方法。

(構成14)

閉塞の部位又は脳卒中、一過性虚血発作、もしくは低酸素脳損傷と関連する低酸素ペナンプラへのH-NOXの送達、脳卒中、低酸素脳損傷、又は一過性虚血発作と関連する感覚運動障害を軽減する、構成8~12のいずれか一項記載の方法。

(構成15)

前記PEGに共有結合しているH-NOXが前記PEGに共有結合していないH-NOXとともに投与される、構成1~14のいずれか一項記載の方法。

(構成16)

PEGに共有結合しているH-NOXとPEGに共有結合していないH-NOXの比が、約9:1、約8:2、約7:3、約6:4、約5:5、約4:6、約3:7、約2:8、又は約1:9である、構成15記載の方法。

(構成17)

前記PEGに共有結合しているH-NOX及び前記PEGに共有結合していないH-NOXが組成物中にあり、構成15又は16記載の方法。

(構成18)

前記PEGに共有結合しているH-NOX及び前記PEGに共有結合していないH-NOXが同時に又は順次送達される、構成1~14のいずれか一項記載の方法。

(構成19)

前記PEGに共有結合しているH-NOX及び前記PEGに共有結合していないH-NOXが同時に送達される、構成18記載の方法。

(構成20)

前記PEGに共有結合しているH-NOX及び前記PEGに共有結合していないH-NOXが順次送達される、構成18記載の方法。

(構成21)

前記PEGに共有結合しているH-NOXが前記PEGに共有結合していないH-NOXの投与の前に投

与される、構成20記載の方法。

(構成22)

前記PEGに共有結合しているH-NOXが前記PEGに共有結合していないH-NOXの投与の後に投与される、構成20記載の方法。

(構成23)

前記PEGに共有結合しているH-NOXが、前記PEGに共有結合していないH-NOXの投与から約1時間後、約2時間後、約4時間後、約6時間後、約8時間後、約10時間後、約12時間後、約24時間後、又は約24時間よりも長い時間の後に投与される、構成22記載の方法。

(構成24)

前記PEGに結合しているH-NOXが、PEGに結合していないH-NOXの投与から1時間後、1日後、2日後、又は3日後のうちの1つ又は複数で投与される、構成22記載の方法。

(構成25)

前記PEGに結合しているH-NOXが、PEGに結合していないH-NOXの投与から約1時間後、約1日後、及び約2日後に投与される、構成22記載の方法。

(構成26)

前記個体が哺乳動物である、構成1~25のいずれか一項記載の方法。

(構成27)

前記哺乳動物がヒトである、構成26記載の方法。

(構成28)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が同じH-NOXタンパク質に由来する、構成1~27のいずれか一項記載の方法。

(構成29)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が異なるH-NOXタンパク質に由来する、構成1~27のいずれか一項記載の方法。

(構成30)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が、T.テングコンジェンシスH-NOX、L.ニューモフィラ2群H-NOX、ヒト 1、ラット 1、タイリクオオカミH-NOX、キイロショウジョウバエ 1、キイロショウジョウバエCG14885-PA、線虫GCY-35、N.パンクチフォルムH-NOX、C.クレセンツスH-NOX、S.オネイデンシスH-NOX、又はC.アセトブチリクムH-NOXである、構成1~29のいずれか一項記載の方法。

(構成31)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が、配列番号2に示されるT.テングコンジェンシスのH-NOXドメインに対応するH-NOXドメインを含む、構成1~30のいずれか一項記載の方法。

(構成32)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が1以上の遠位ポケット突然変異を含む、構成1~31のいずれか一項記載の方法。

(構成33)

前記遠位ポケット突然変異がT.テングコンジェンシスH-NOXのL144に対応する部位におけるアミノ酸置換である、構成32記載の方法。

(構成34)

前記H-NOXが位置144におけるアミノ酸置換を含むT.テングコンジェンシスH-NOXである、構成32又は33記載の方法。

(構成35)

前記位置144におけるアミノ酸置換がL144F置換である、構成34記載の方法。

(構成36)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が重合体型H-NOXタンパク質である、構成1~35のいずれか一項記載の方法

。

(構成37)

前記重合体型H-NOXタンパク質が単量体を含み、ここで、該単量体がH-NOXドメイン及び重合ドメインを含む、構成36記載の方法。

(構成38)

前記H-NOXドメインが前記重合ドメインに共有結合している、構成37記載の方法。

(構成39)

前記重合体型H-NOXタンパク質が三量体型H-NOXタンパク質である、構成36～38のいずれか一項記載の方法。

(構成40)

前記三量体型H-NOXタンパク質が1以上の三量体化ドメインを含む、構成39記載の方法。

(構成41)

前記三量体型H-NOXタンパク質が3つの単量体を含み、ここで、該単量体がH-NOXドメイン及び三量体化ドメインを含み、ここで、該三量体化ドメインがバクテリオファージT4三量体化ドメインである、構成40記載の方法。

(構成42)

前記三量体化ドメインがフォールドドメインである、構成40又は41記載の方法。

(構成43)

前記フォールドドメインが配列番号4のアミノ酸配列を含む、構成42記載の方法。

(構成44)

前記H-NOXタンパク質が免疫グロブリンのFcドメインに融合している、構成1～43のいずれか一項記載の方法。

(構成45)

前記H-NOXタンパク質の O_2 解離定数がヘモグロビンの O_2 解離定数の2桁以内であり、かつ該H-NOXタンパク質のNO反応性がヘモグロビンのNO反応性よりも少なくとも10倍低い、構成1～44のいずれか一項記載の方法。

(構成46)

前記重合体型H-NOXタンパク質の O_2 解離定数が 20 で約1nM～約1000nMである、構成1～45のいずれか一項記載の方法。

(構成47)

前記H-NOXタンパク質の O_2 解離定数が 20 で約1 μ M～約10 μ Mである、構成1～46のいずれか一項記載の方法。

(構成48)

前記H-NOXタンパク質の O_2 解離定数が 20 で約10 μ M～約50 μ Mである、構成1～47のいずれか一項記載の方法。

(構成49)

前記H-NOXタンパク質のNO反応性が 20 で約700s⁻¹未満である、構成1～48のいずれか一項記載の方法。

(構成50)

前記H-NOXタンパク質のNO反応性がヘモグロビンのNO反応性よりも少なくとも100倍低い、構成1～49のいずれか一項記載の方法。

(構成51)

前記H-NOXタンパク質のNO反応性がヘモグロビンのNO反応性よりも少なくとも1,000倍低い、構成50記載の方法。

(構成52)

前記H-NOXタンパク質の酸素に対する k_{off} が 20 で約0.65s⁻¹以下である、構成1～51のいずれか一項記載の方法。

(構成53)

前記H-NOXタンパク質の酸素に対する k_{off} が 20 で約0.21s⁻¹～約0.65s⁻¹である、構成1～52のいずれか一項記載の方法。

(構成54)

前記H-NOXタンパク質の酸素に対する k_{off} が20 で約 $1.35s^{-1}$ ~ 約 $2.9s^{-1}$ である、構成1 ~ 53のいずれか一項記載の方法。

(構成55)

前記H-NOXタンパク質のヘム自動酸化の速度が37 で約 $1h^{-1}$ 未満である、構成1 ~ 54のいずれか一項記載の方法。

(構成56)

前記H-NOXが別の療法と組み合わせて投与される、構成1 ~ 55のいずれか一項記載の方法。

(構成57)

前記他の療法が組織プラスミノゲン活性化因子及び/もしくは再疎通又は神経保護物質による治療である、構成56記載の方法。

(構成58)

前記H-NOX投与が、前記他の治療の前、その間、又はその後に行われる、構成56又は57記載の方法。

(構成59)

H-NOXの治療有効量を含む組成物であって、該H-NOXがポリエチレングリコール(PEG)に共有結合しているH-NOX及びポリエチレングリコールに共有結合していないH-NOXを含む、前記組成物。

(構成60)

PEGに共有結合しているH-NOXとPEGに共有結合していないH-NOXの比が、約9:1、約8:2、約7:3、約6:4、約5:5、約4:6、約3:7、約2:8;又は約1:9である、構成59記載の組成物。

(構成61)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が同じH-NOXタンパク質に由来する、構成59又は60記載の組成物。

(構成62)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が異なるH-NOXタンパク質に由来する、構成59 ~ 61のいずれか一項記載の組成物。

(構成63)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が、T.テングコンジェンシスH-NOX、L.ニューモフィラ2群H-NOX、ヒト 1、ラット 1、タイリクオオカミH-NOX、キイロショウジョウバエ 1、キイロショウジョウバエCG14885-PA、線虫GCY-35、N.パンクチフォルムH-NOX、C.クレセンツスH-NOX、S.オネイデンシスH-NOX、又はC.アセトブチリクムH-NOXである、構成59 ~ 62のいずれか一項記載の組成物。

(構成64)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が配列番号2に示されるT.テングコンジェンシスのH-NOXドメインに対応するH-NOXドメインを含む、構成59 ~ 63のいずれか一項記載の組成物。

(構成65)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が1以上の遠位ポケット突然変異を含む、構成59 ~ 64のいずれか一項記載の組成物。

(構成66)

前記遠位ポケット突然変異がT.テングコンジェンシスH-NOXのL144に対応する部位におけるアミノ酸置換である、構成65記載の組成物。

(構成67)

前記H-NOXが位置144におけるアミノ酸置換を含むT.テングコンジェンシスH-NOXである、構成65又は66記載の組成物。

(構成 6 8)

前記位置144におけるアミノ酸置換がL144F置換である、構成67記載の組成物。

(構成 6 9)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が重合体型H-NOXタンパク質である、構成59～68のいずれか一項記載の組成物。

(構成 7 0)

前記重合体型H-NOXタンパク質が単量体を含み、ここで、該単量体がH-NOXドメイン及び重合ドメインを含む、構成69記載の組成物。

(構成 7 1)

前記H-NOXドメインが前記重合ドメインに共有結合している、構成70記載の組成物。

(構成 7 2)

前記重合体型H-NOXタンパク質が三量体型H-NOXタンパク質である、構成69～71のいずれか一項記載の組成物。

(構成 7 3)

前記三量体型H-NOXタンパク質が1以上の三量体化ドメインを含む、構成72記載の組成物。

(構成 7 4)

前記三量体型H-NOXタンパク質が3つの単量体を含み、ここで、該単量体がH-NOXドメイン及び三量体化ドメインを含み、ここで、該三量体化ドメインがバクテリオファージT4三量体化ドメインである、構成73記載の組成物。

(構成 7 5)

前記三量体化ドメインがフォールドドメインである、構成73又は74記載の組成物。

(構成 7 6)

前記フォールドドメインが配列番号4のアミノ酸配列を含む、構成75記載の組成物。

(構成 7 7)

前記H-NOXタンパク質が免疫グロブリンのFcドメインに融合している、構成59～76のいずれか一項記載の組成物。

(構成 7 8)

前記H-NOXタンパク質の O_2 解離定数がヘモグロビンの O_2 解離定数の2桁以内であり、かつ該H-NOXタンパク質のNO反応性がヘモグロビンのNO反応性よりも少なくとも10倍低い、構成59～77のいずれか一項記載の組成物。

(構成 7 9)

前記重合体型H-NOXタンパク質の O_2 解離定数が 20 で約1nM～約100nMである、構成59～78のいずれか一項記載の組成物。

(構成 8 0)

前記H-NOXタンパク質の O_2 解離定数が 20 で約 $1\mu\text{M}$ ～約 $10\mu\text{M}$ である、構成59～79のいずれか一項記載の組成物。

(構成 8 1)

前記H-NOXタンパク質の O_2 解離定数が 20 で約 $10\mu\text{M}$ ～約 $50\mu\text{M}$ である、構成59～80のいずれか一項記載の組成物。

(構成 8 2)

前記H-NOXタンパク質のNO反応性が 20 で約 700s^{-1} 未満である、構成59～81のいずれか一項記載の組成物。

(構成 8 3)

前記H-NOXタンパク質のNO反応性がヘモグロビンのNO反応性よりも少なくとも100倍低い、構成59～82のいずれか一項記載の組成物。

(構成 8 4)

前記H-NOXタンパク質のNO反応性がヘモグロビンのNO反応性よりも少なくとも1,000倍低い、構成83記載の組成物。

(構成 85)

前記H-NOXタンパク質の酸素に対する k_{off} が20 で約 $0.65s^{-1}$ 以下である、構成59~84のいずれか一項記載の組成物。

(構成 86)

前記H-NOXタンパク質の酸素に対する k_{off} が20 で約 $0.21s^{-1}$ ~約 $0.65s^{-1}$ である、構成59~85のいずれか一項記載の組成物。

(構成 87)

前記H-NOXタンパク質の酸素に対する k_{off} が20 で約 $1.35s^{-1}$ ~約 $2.9s^{-1}$ である、構成59~86のいずれか一項記載の組成物。

(構成 88)

前記H-NOXタンパク質のヘム自動酸化の速度が37 で約 $1h^{-1}$ 未満である、構成59~87のいずれか一項記載の組成物。

(構成 89)

構成1~58のいずれか一項記載の方法による個体の脳卒中、低酸素脳損傷、又は一過性虚血発作の治療のためのH-NOXを含む医薬組成物。

(構成 90)

個体の脳卒中、低酸素脳損傷、又は一過性虚血発作の治療のためのH-NOXを含む医薬組成物であって、構成59~88のいずれか一項記載の組成物を含む、前記医薬組成物。

(構成 91)

個体の脳卒中、低酸素脳損傷、又は一過性虚血発作の治療のためのH-NOXを含む医薬組成物であって、構成59~88のいずれか一項記載の組成物を含む、前記医薬組成物の使用。

(構成 92)

個体の脳卒中、低酸素脳損傷、又は一過性虚血発作の治療のための医薬の製造における、構成59~88のいずれか一項記載の組成物を含む、H-NOXを含む組成物の使用。

(構成 93)

ポリエチレングリコール(PEG)に共有結合しているH-NOXの治療有効量及びポリエチレングリコールに共有結合していないH-NOXの治療有効量を含むキット。

(構成 94)

PEGに共有結合しているH-NOXとPEGに共有結合していないH-NOXの比が、約9:1、約8:2、約7:3、約6:4;約5:5;約4:6;約3:7;約2:8;又は約1:9である、構成93記載のキット。

(構成 95)

脳卒中、一過性虚血発作、又は低酸素脳損傷後の個体に酸素を送達する方法で使用される、構成93又は94記載のキット。

(構成 96)

個体の脳卒中、一過性虚血発作、又は低酸素脳損傷を治療する方法で使用される、構成93~95のいずれか一項記載のキット。

(構成 97)

前記H-NOXが、前記脳卒中、一過性虚血発作、又は低酸素脳損傷と関連する低酸素ペナンプラに O_2 を送達する、構成95又は96記載のキット。

(構成 98)

前記個体が、前記脳卒中、一過性虚血発作、又は低酸素脳損傷の結果として、脳の持続的低灌流を示す、構成95~97のいずれか一項記載のキット。

(構成 99)

閉塞の部位又は脳卒中、一過性虚血発作、もしくは低酸素脳損傷と関連する低酸素ペナンプラへのH-NOXの送達、該閉塞の部位又は該ペナンプラにおけるアストロサイト、ミクログリア、及び/又はマクロファージの活性化を低下させる、構成95~98のいずれか一項記載のキット。

(構成 100)

閉塞の部位又は脳卒中、一過性虚血発作、もしくは低酸素脳損傷と関連する低酸素ペナンプラへのH-NOXの送達、脳卒中、低酸素脳損傷、又は一過性虚血発作と関連する感覚

運動障害を軽減する、構成95～99のいずれか一項記載のキット。

(構成101)

前記PEGに共有結合しているH-NOXが前記PEGに共有結合していないH-NOXとともに投与される、構成93～100のいずれか一項記載のキット。

(構成102)

前記H-NOXが、約9:1、約8:2、約7:3、約6:4;約5:5;約4:6;約3:7;約2:8;又は約1:9である、PEGに共有結合しているH-NOXとPEGに共有結合していないH-NOXの比で送達される、構成101記載のキット。

(構成103)

前記PEGに共有結合しているH-NOX及び前記PEGに共有結合していないH-NOXが組成物中にあり、構成101又は102記載のキット。

(構成104)

前記PEGに共有結合しているH-NOX及び前記PEGに共有結合していないH-NOXが同時に又は順次送達される、構成93～103のいずれか一項記載のキット。

(構成105)

前記PEGに共有結合しているH-NOX及び前記PEGに共有結合していないH-NOXが同時に送達される、構成104記載のキット。

(構成106)

前記PEGに共有結合しているH-NOX及び前記PEGに共有結合していないH-NOXが順次送達される、構成104記載のキット。

(構成107)

前記PEGに共有結合しているH-NOXが前記PEGに共有結合していないH-NOXの投与の前に投与される、構成106記載のキット。

(構成108)

前記PEGに共有結合しているH-NOXが前記PEGに共有結合していないH-NOXの投与の後に投与される、構成106記載のキット。

(構成109)

前記PEGに共有結合しているH-NOXが、前記PEGに共有結合していないH-NOXの投与から約1時間後、約2時間後、約4時間後、約6時間後、約8時間後、約10時間後、約12時間後、約24時間後、又は約24時間よりも長い時間の後に投与される、構成108記載のキット。

(構成110)

前記PEGに結合しているH-NOXが、PEGに結合していないH-NOXの投与から1時間後、1日後、2日後、又は3日後のうちの1つ又は複数で投与される、構成108記載のキット。

(構成111)

前記PEGに結合しているH-NOXが、PEGに結合していないH-NOXの投与から約1時間後、約1日後、及び約2日後に投与される、構成108記載のキット。

(構成112)

前記個体が哺乳動物である、構成93～111のいずれか一項記載のキット。

(構成113)

前記哺乳動物がヒトである、構成112記載のキット。

(構成114)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が同じH-NOXタンパク質に由来する、構成93～113のいずれか一項記載のキット。

(構成115)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が異なるH-NOXタンパク質に由来する、構成93～114のいずれか一項記載のキット。

(構成116)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が、T.テングコンジェンシスH-NOX、L.ニューモフィラ2群H-NOX、ヒト 1

、ラット 1、タイリクオオカミH-NOX、キイロショウジョウバエ 1、キイロショウジョウバエCG14935-PA、線虫GCV-35、N.パンクチフォルムH-NOX、C.クレセンツスH-NOX、S.オネイデンシスH-NOX、又はC.アセトブチリウムH-NOXである、構成93～115のいずれか一項記載のキット。

(構成117)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が、配列番号2に示されるT.テングコンジェンシスのH-NOXドメインに対応するH-NOXドメインを含む、構成93～116のいずれか一項記載のキット。

(構成118)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が1以上の遠位ポケット突然変異を含む、構成93～117のいずれか一項記載のキット。

(構成119)

前記遠位ポケット突然変異がT.テングコンジェンシスH-NOXのL144に対応する部位におけるアミノ酸置換である、構成118記載のキット。

(構成120)

前記H-NOXが、位置144におけるアミノ酸置換を含むT.テングコンジェンシスH-NOXである、構成118又は119記載のキット。

(構成121)

前記位置144におけるアミノ酸置換がL144F置換である、構成120記載のキット。

(構成122)

前記PEGに共有結合しているH-NOXタンパク質及び/又は前記PEGに共有結合していないH-NOXタンパク質が重合体型H-NOXタンパク質である、構成93～121のいずれか一項記載のキット。

(構成123)

前記重合体型H-NOXタンパク質が単量体を含み、ここで、該単量体がH-NOXドメイン及び重合ドメインを含む、構成122記載のキット。

(構成124)

前記H-NOXドメインが前記重合ドメインに共有結合している、構成123記載のキット。

(構成125)

前記重合体型H-NOXタンパク質が三量体型H-NOXタンパク質である、構成122～124のいずれか一項記載のキット。

(構成126)

前記三量体型H-NOXタンパク質が1以上の三量体化ドメインを含む、構成125記載のキット。

(構成127)

前記三量体型H-NOXタンパク質が3つの単量体を含み、ここで、該単量体がH-NOXドメイン及び三量体化ドメインを含み、ここで、該三量体化ドメインがバクテリオファージT4三量体化ドメインである、構成126記載のキット。

(構成128)

前記三量体化ドメインがフォールドドメインである、構成126又は127記載のキット。

(構成129)

前記フォールドドメインが配列番号4のアミノ酸配列を含む、構成128記載のキット。

(構成130)

前記H-NOXタンパク質が免疫グロブリンのFcドメインに融合している、構成93～129のいずれか一項記載のキット。

(構成131)

前記H-NOXタンパク質のO₂解離定数がヘモグロビンのO₂解離定数の2桁以内であり、かつ該H-NOXタンパク質のNO反応性がヘモグロビンのNO反応性よりも少なくとも10倍低い、構成93～130のいずれか一項記載のキット。

(構成132)

前記重合体型H-NOXタンパク質の O_2 解離定数が20 で約1nM～約1000nMである、構成93～131のいずれか一項記載のキット。

(構成133)

前記H-NOXタンパク質の O_2 解離定数が20 で約1 μ M～約10 μ Mである、構成93～132のいずれか一項記載のキット。

(構成134)

前記H-NOXタンパク質の O_2 解離定数が20 で約10 μ M～約50 μ Mである、構成93～133のいずれか一項記載のキット。

(構成135)

前記H-NOXタンパク質のNO反応性が20 で約700s⁻¹未満である、構成93～134のいずれか一項記載のキット。

(構成136)

前記H-NOXタンパク質のNO反応性がヘモグロビンのNO反応性よりも少なくとも100倍低い、構成93～135のいずれか一項記載のキット。

(構成137)

前記H-NOXタンパク質のNO反応性がヘモグロビンのNO反応性よりも少なくとも1,000倍低い、構成136記載のキット。

(構成138)

前記H-NOXタンパク質の酸素に対する k_{off} が20 で約0.65s⁻¹以下である、構成93～137のいずれか一項記載のキット。

(構成139)

前記H-NOXタンパク質の酸素に対する k_{off} が20 で約0.21s⁻¹～約0.65s⁻¹である、構成93～138のいずれか一項記載のキット。

(構成140)

前記H-NOXタンパク質の酸素に対する k_{off} が20 で約1.35s⁻¹～約2.9s⁻¹である、構成93～139のいずれか一項記載のキット。

(構成141)

前記H-NOXタンパク質のヘム自動酸化の速度が37 で約1h⁻¹未満である、構成93～140のいずれか一項記載のキット。

(構成142)

使用のための指示をさらに含む、構成93～141のいずれか一項記載のキット。

(構成143)

脳卒中、一過性虚血発作、又は低酸素脳損傷を治療するための組成物を調製する方法であって、PEGと共有結合しているH-NOXをPEGに共有結合していないH-NOXと混合することを含む、前記方法。

(構成144)

PEGに共有結合しているH-NOXとPEGに共有結合していないH-NOXの比が、約9:1、約8:2、約7:3、約6:4、約5:5、約4:6、約3:7、約2:8、又は約1:9である、構成143記載の方法。

(構成145)

前記組成物が構成59～88のいずれか一項記載の組成物である、構成143又は144記載の方法。