(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2016-53084
(P2016-53084A)
(43)公開日　平成28年4月14日(2016.4.14)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 19/00	(2006.01)	C07K	19/00	ZNA	4B024
A61K 38/00	(2006.01)	A61K	37/02		4B065
A61K 31/7088	(2006.01)	A61K	31/7088		4C084
A61K 48/00	(2006.01)	A61K	48/00		4C086
A61P 3/00	(2006.01)	A61P	3/00		4C087

審査請求 有　請求項の数 13　ＯＬ　（全 85 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2015-247398 (P2015-247398)
(22)出願日　平成27年12月18日 (2015.12.18)
(62)分割の表示　特願2008-553393 (P2008-553393)の分割
原出願日　平成19年2月5日 (2007.2.5)
(31)優先権主張番号　60/764,761
(32)優先日　平成18年2月3日 (2006.2.3)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　508233526
オプコ　バイオロジクス　リミテッド
イスラエル国ネスジオナ７４１４０・セカンドフロア・ゴルダメア　ストリート　７
(74)代理人　110001379
特許業務法人　大島特許事務所
(72)発明者　ファレス、フアド
イスラエル国アワーフィッシュビレッジ２５１５５・ピーオーボックス　４２３
(72)発明者　フィマ、ウディ・エヤル
イスラエル国ビアシェバ８４８３３・アルベクストリート　３０

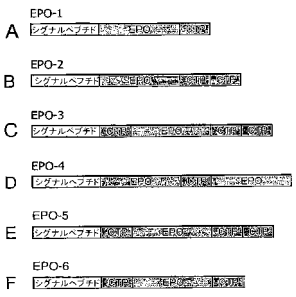
Ｆターム(参考)　4B024 AA01 BA03 BA80 CA02 CA09 DA02 EA04 FA02 GA11

最終頁に続く

(54)【発明の名称】長期間作用型ポリペプチド並びにその製造方法及び投与方法。

(57)【要約】
【課題】治療用ポリペプチドの半減期を延長する技術を提供する。
【解決手段】目的のペプチドに結合した少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）を含むポリペプチド及びそれをエンコードするポリヌクレオチドが開示されている。また、本発明の前記ポリペプチド及びポリヌクレオチドを含む医薬組成物、並びにその使用方法が開示されている。少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドは、前記目的のペプチドのアミノ末端に結合し、前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドは、前記目的のペプチドのカルボキシ末端に結合している。

【選択図】図１



【特許請求の範囲】
【請求項１】
目的のペプチド及び少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを含むポリペプチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記目的のペプチドのアミノ末端に結合し、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記目的のペプチドのカルボキシ末端に結合したポリペプチド。
【請求項２】
請求項１に記載のポリペプチドであって、
前記第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドに直列に結合した第３の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドをさらに含むポリペプチド。
【請求項３】
請求項１又は２に記載のポリペプチドであって、
前記目的のペプチドが、ｈＧＨペプチドであるポリペプチド。
【請求項４】
請求項１又は２に記載のポリペプチドであって、
前記目的のペプチドが、インターフェロンペプチド及びＧＬＰ－１ペプチドから選択されるポリペプチド。
【請求項５】
請求項１～４のいずれかに記載のポリペプチドであって、
前記目的のペプチドがグリコシル化されたポリペプチド。
【請求項６】
請求項１～４のいずれかに記載のポリペプチドであって、
前記目的のペプチドがグリコシル化されていないポリペプチド。
【請求項７】
請求項３に記載のポリペプチドであって、
前記ペプチドの配列が、配列番号３９～４１に記載の配列から選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド。
【請求項８】
目的のペプチド及び少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを含むポリペプチドをエンコードするコード部分を含むポリヌクレオチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記目的のペプチドのアミノ末端に結合し、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記目的のペプチドのカルボキシ末端に結合したポリヌクレオチド。
【請求項９】
請求項８に記載のポリヌクレオチドであって、
前記ポリペプチドが、前記第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドに直列に結合した第３の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドをさらに含むポリヌクレオチド。
【請求項１０】
請求項８又は９に記載のポリヌクレオチドであって、
前記目的のペプチドが、ｈＧＨペプチドであるポリヌクレオチド。
【請求項１１】
請求項９～１１のいずれかに記載のポリヌクレオチドであって、

前記目的のペプチドが、インターフェロンペプチド及びＧＬＰ－１ペプチドから選択されるポリヌクレオチド。
【請求項１２】
請求項１０に記載のポリヌクレオチドであって、
前記ポリヌクレオチドの配列が、配列番号４４～４６に記載の配列から選択される配列を含むポリヌクレオチド。
【請求項１３】
対象の成長、体重関連又は代謝の状態を治療する方法であって、
治療効果のある量の請求項３に記載のポリペプチド又は請求項１０に記載のポリヌクレオチドを前記対象へ投与するステップを含む方法。
【請求項１４】
目的のペプチドの生物学的半減期を向上させる方法であって、
第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記目的のペプチドのアミノ末端に結合させ、
第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記目的のペプチドのカルボキシ末端に結合させるステップを含む方法。
【請求項１５】
目的のペプチドを、それを必要とする療対象に投与する方法であって、
第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記目的のペプチドのアミノ末端に結合させ、
第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記目的のペプチドのカルボキシ末端に結合させて、
前記対象への投与用の改良されたポリペプチドを生成するステップを含む方法。
【請求項１６】
ＥＰＯペプチド及び少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを含むポリペプチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記ＥＰＯペプチドのアミノ末端に結合し、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記ＥＰＯペプチドのカルボキシ末端に結合したポリペプチド。
【請求項１７】
請求項１６に記載のポリペプチドであって、
前記ポリペプチドが、前記第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドに直列に結合した第３の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドをさらに含むポリペプチド。
【請求項１８】
請求項１６又は１７に記載のポリペプチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの少なくとも１つの配列が、配列番号１７及び１８に記載の配列から選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド。
【請求項１９】
請求項１～７又は１６～１８のいずれかに記載のポリペプチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの少なくとも１つの配列が切断されたポリペプチド。
【請求項２０】
請求項１～７及び１６～１９のいずれかに記載のポリペプチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの少なくとも１つが、グリコシル化されたポリペプチド。

【請求項２１】
請求項１～７及び１６～２０のいずれかに記載のポリペプチドであって、
シグナルペプチドをさらに含むポリペプチド。
【請求項２２】
請求項２１に記載のポリペプチドであって、
前記シグナルペプチドの配列が、配列番号１９に記載の配列であるポリペプチド。
【請求項２３】
請求項１６～２２に記載のポリペプチドであって、
前記ポリペプチドの配列が、配列番号３及び６に記載の配列から選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド。
【請求項２４】
請求項１～７及び１６～２３のいずれかに記載のポリペプチドを含む薬学的組成物。
【請求項２５】
ＥＰＯペプチド及び少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを含むポリペプチドをエンコードするコード配列を含むポリヌクレオチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記ＥＰＯペプチドのアミノ末端に結合し、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記ＥＰＯペプチドのカルボキシ末端に結合したポリヌクレオチド。
【請求項２６】
請求項２５に記載のポリペプチドであって、
前記ポリペプチドが、前記第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドに直列に結合した第３の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドをさらに含むポリヌクレオチド。
【請求項２７】
請求項８～１２及び２５～２６のいずれかに記載のポリヌクレオチドであって、
前記ポリペプチドが、シグナルペプチドをさらに含むポリヌクレオチド。
【請求項２８】
請求項２７に記載のポリヌクレオチドであって、
前記シグナルペプチドの配列が、配列番号１９に記載の配列であるポリヌクレオチド。
【請求項２９】
請求項８～１２及び２５～２８のいずれかに記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。
【請求項３０】
請求項２９に記載の発現ベクターを含む細胞。
【請求項３１】
請求項２９に記載の発現ベクターを含む薬学的組成物。
【請求項３２】
対象の貧血を治療する又は貧血の発生率を低下させる方法であって、
前記対象に、治療効果のある量の請求項１６～２３のいずれかに記載のポリペプチド又は請求項２５～２８のいずれかに記載のポリヌクレオチドを投与するステップを含む方法。
【請求項３３】
ＥＰＯペプチドの生物学的半減期を向上させる方法であって、
第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記ＥＰＯペプチドのアミノ末端に結合させ、
第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記ＥＰＯペプチドのカルボキシ末端に結合させるステップを含む方法。

【請求項３４】
ＥＰＯペプチドを、それを必要とする対象に投与する方法であって、
第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記ＥＰＯペプチドのアミノ末端に結合させ、
第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記ＥＰＯペプチドのカルボキシ末端に結合させて、
前記治療対象への投与用の改良されたポリペプチドを生成するステップを含む方法。
【請求項３５】
請求項１３～１５及び３２～３４のいずれかに記載の方法であって、
前記第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドに、第３の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを直列に結合させるステップをさらに含む方法。
【請求項３６】
請求項１３～１５及び３２～３５のいずれかに記載の方法であって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの少なくとも１つの配列が、配列番号１７及び１８に記載の配列から選択されるアミノ酸配列を含む方法。
【請求項３７】
目的の非ヒトペプチド及び少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを含むポリペプチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記目的のペプチドのアミノ末端に結合し、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記目的のペプチドのカルボキシ末端に結合したポリペプチド。
【請求項３８】
請求項３７に記載のポリペプチドであって、
前記ポリペプチドが、前記第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドに直列に結合した第３の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドをさらに含むポリペプチド。
【請求項３９】
請求項３７又は３８に記載のポリペプチドであって、
前記目的の非ヒトペプチドが、ｈＧＨペプチドであるポリペプチド。
【請求項４０】
請求項３７又は３８に記載のポリペプチドであって、
前記目的の非ヒトペプチドが、ＥＰＯペプチドであるポリペプチド。
【請求項４１】
請求項３７又は３８に記載のポリペプチドであって、
前記目的の非ヒトペプチドが、組み換えタンパク質、ＧＬＰ－１、又はインターフェロンから選択されるポリペプチド。
【請求項４２】
目的の非ヒトペプチド及び少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを含むポリペプチドをエンコードするコード部分を含むポリヌクレオチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記目的のペプチドのアミノ末端に結合し、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記目的のペプチドのカルボキシ末端に結合したポリヌクレオチド。

【請求項４３】
請求項４２に記載のポリヌクレオチドであって、
前記第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドに直列に結合した第３の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドをさらに含むポリヌクレオチド。
【請求項４４】
請求項４２又は４３に記載のポリヌクレオチドであって、
前記目的の非ヒトペプチドが，ｈＧＨペプチドであるポリヌクレオチド。
【請求項４５】
請求項４２～４４のいずれかに記載のポリヌクレオチドであって、
前記目的の非ヒトペプチドが、組み換えペプチド、インターフェロンペプチド、又はＧＬＰ－１ペプチドから選択されるポリヌクレオチド。
【請求項４６】
非ヒト対象の成長、体重関連又は代謝の状態を治療する方法であって、
治療効果のある量の請求項３７に記載のポリペプチド又は請求項４２に記載のポリヌクレオチドを前記治療対象へ投与するステップを含む方法。
【請求項４７】
目的のペプチドを、それを必要とする非ヒト対象に投与する方法であって、
第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記目的のペプチドのアミノ末端に結合させ、
第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記目的のペプチドのカルボキシ末端に結合させて、
前記対象への投与用に改良されたポリペプチドを生成するステップを含む方法。
【請求項４８】
非ヒトＥＰＯペプチド及び少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを含むポリペプチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記ＥＰＯペプチドのアミノ末端に結合し、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記ＥＰＯペプチドのカルボキシ末端に結合したポリペプチド。
【請求項４９】
請求項３７～４１のいずれかに記載のポリペプチドを含む薬学的組成物。
【請求項５０】
ＥＰＯペプチド及び少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを含む非ヒトポリペプチドをエンコードするコード配列を含むポリヌクレオチドであって、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記非ヒトＥＰＯペプチドのアミノ末端に結合し、
前記少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、前記非ヒトＥＰＯペプチドのカルボキシ末端に結合したポリヌクレオチド。
【請求項５１】
請求項５０に記載のポリヌクレオチドであって、
前記第２の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドに直列に結合した第３の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドをさらに含むポリヌクレオチド。
【請求項５２】
請求項５０又は５１に記載の発現ベクターを含む細胞。
【請求項５３】

請求項５２に記載の発現ベクターを含む薬学的組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
目的のペプチドに結合した少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）を含むポリペプチド及びそれをエンコードするポリヌクレオチドが開示されている。また、本発明の前記ポリペプチド及びポリヌクレオチドを含む薬学的組成物、並びにその使用方法が開示されている。
【背景技術】
【０００２】
ポリペプチドは、血液、肝臓又は腎臓内で、変性や酵素分解の影響を受けやすい。したがって、一般に、ペプチドの循環半減期は数時間と短い。従ってペプチドの安定性は低いので、活性ペプチドの有効血漿中濃度を維持するために、ペプチド薬は通常は持続的に投与される。さらに、ペプチド薬は通常は注入によって投与されるが、ペプチド薬の頻繁な注射は治療対象に対して著しい不快感をもたらす。そのため、治療用ポリペプチドの薬理効果を維持しつつ、前記治療用ポリペプチドの半減期を延長する技術が求められている。また、そのような望ましいペプチド薬は、治療対象に注射した際の、血清安定性の向上、高活性、及び望ましくない免疫反応が発生する可能性の低減という要求を満たすべきである。
【０００３】
短い血中半減期などの好ましくない薬物動態は、多くの他の有望な薬候補の薬学的開発を阻害する。血中半減期は分子の実験的特性であるため、有望な新薬のそれぞれの血中半減期は実験的に測定する必要がある。例えば、低分子量ポリペプチド薬の場合は、要求される投与計画のコスト又は頻度の理由で、腎臓ろ過などの生理学的クリアランス機構で薬剤の治療レベルを維持することは不可能である。逆に、長い血中半減期は、薬剤又はその代謝産物が中毒性副作用を有するので望ましくない。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００４】
ある実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列に結合した少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチド（carboxy terminal peptide：ＣＴＰ）アミノ酸配列を含むポリペプチドを提供する。
【０００５】
他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列のアミノ末端に結合した第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）アミノ酸配列と、目的のポリペプチド配列のカルボキシ末端に結合した第２のＣＴＰアミノ酸配列とを含むポリペプチドを提供する。
【０００６】
他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列のカルボキシ末端に結合した２つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰ配列を含むポリペプチドを提供する。
【０００７】
他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列のアミノ末端に結合した第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）アミノ酸配列と、目的のポリペプチド配列のカルボキシ末端に結合した第２及び第３のＣＴＰアミノ酸配列とを含むポリペプチドを提供する。
【０００８】
他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列に結合した少なくとも３つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供する。
【０００９】
他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列に結合した少なくとも２つの絨

毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列を含むポリペプチドをエンコードする配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【００１０】

他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列のアミノ末端に結合した第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）アミノ酸配列と、目的のポリペプチド配列のカルボキシ末端に結合した第２のＣＴＰアミノ酸配列とをエンコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【００１１】

他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列のカルボキシ末端に結合した２つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列をエンコードする配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【００１２】

他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列のアミノ末端に結合した第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）アミノ酸配列と、目的のポリペプチド配列のカルボキシ末端に結合した第２及び第３のＣＴＰアミノ酸配列とをエンコードする配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【００１３】

他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列に結合した少なくとも３つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列をエンコードする配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【００１４】

他の実施形態では、本発明は、治療対象の成長、体重関連又は代謝の状態を治療する方法であって、治療効果のある量のＣＴＰ－ｈＧＨを前記治療対象へ投与するステップを含む方法を提供する。ｈＧＨは、一般に成長疾患に使用され、特に成長ホルモン欠損症関連疾患に使用される。本明細書では、下垂体摘出ラット（成長ホルモンを分泌しないラット）における、ＣＴＰ－ｈＧＨ注射後の成長度合いについて実証している。

【００１５】

他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列の生物学的半減期を向上させる方法であって、少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列を目的のポリペプチド配列へ結合させるステップを含む方法を提供する。

【００１６】

他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列を、それを必要とする治療対象に投与する方法であって、少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列を目的のポリペプチド配列へ結合させるステップを含む方法を提供する。

【００１７】

他の実施形態では、本発明は、ＥＰＯペプチドに結合した少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供する。

【００１８】

他の実施形態では、本発明は、ＥＰＯペプチドのアミノ末端に結合した第１の絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列と、ＥＰＯペプチドのカルボキシ末端に結合した第２のＣＴＰアミノ酸配列とを含むポリペプチドを提供する。

【００１９】

他の実施形態では、本発明は、ＥＰＯペプチドのカルボキシ末端に結合した２つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供する。

【００２０】

他の実施形態では、本発明は、ＥＰＯペプチドのアミノ末端に結合した第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）アミノ酸配列と、ＥＰＯペプチドのカルボキシ末端に結合した第２及び第３のＣＴＰアミノ酸配列とを含むポリペプチドを提供する。

【００２１】

他の実施形態では、本発明は、ＥＰＯペプチドに結合した少なくとも３つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供する。

【００２２】

他の実施形態では、本発明は、ＥＰＯペプチドに結合した少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列をエンコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【００２３】

他の実施形態では、本発明は、ＥＰＯペプチドのアミノ末端に結合した第１の絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列と、ＥＰＯペプチドのカルボキシ末端に結合した第２のＣＴＰアミノ酸配列とをエンコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【００２４】

他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列のカルボキシ末端に結合した２つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列をエンコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【００２５】

他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列のアミノ末端に結合した第１の絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）アミノ酸配列と、目的のポリペプチド配列のカルボキシ末端に結合した第２及び第３のＣＴＰアミノ酸配列とをエンコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【００２６】

他の実施形態では、本発明は、目的のポリペプチド配列に結合した少なくとも３つの絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列をエンコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【００２７】

他の実施形態では、本発明は、治療対象の貧血を治療又は予防する方法であって、治療対象に治療効果のある量のＥＰＯ－ＣＴＰを投与するステップを含む方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【００２８】

【図１】Ａ～Ｆは、６つのＥＰＯ－ＣＴＰ構築物を示す略図である。Ａは、配列番号１のポリペプチドの略図である。Ｂは、配列番号２のポリペプチドの略図である。Ｃは、配列番号３のポリペプチドの略図である。Ｄは、配列番号４のポリペプチドの略図である。Ｅは、配列番号５のポリペプチドの略図である。Ｆは、配列番号６のポリペプチドの略図である。

【図２】トランスフェクトされたＤＧ４４細胞からの変異型ＥＰＯ－ＣＴＰの発現を示す図である。トランスフェクトされた細胞からの最終試験サンプルは、上記の「サンプルの調製」で説明したように調整し、ＳＤＳ／ＰＡＧＥで泳動させた。ウエスタンブロットでタンパク質を検出した。

【図３】組み換え型ｈＥＰＯ誘導体及びＥＰＯ－３（配列番号３）のインビボ生物活性を示すグラフである。ＩＣＲマウス（７匹／１群）に、１５μｇ／ｋｇのＥＰＯ－３、ｒｈＥＰＯ－ＷＴ（配列番号１６）、若しくははRecormon（市販のＥＰＯ）を週１回、又は５μｇ／ｋｇのRecormonを週３回、３週間にわたって静脈注射した。対照動物には、ＰＢＳを静脈注射した。週３回血液のサンプルを採取し、ヘマトクリットレベルを検出した。各点は、各群の平均ヘマトクリット値（％）±標準誤差を表す。

【図４】組み換え型ｈＥＰＯ誘導体及びＥＰＯ－１（配列番号１）のインビボ生物活性を示すグラフである。ＩＣＲマウス（７匹／１群）に、１５μｇ／ｋｇのＥＰＯ－１、ｒｈＥＰＯ－ＷＴ（配列番号１６）、若しくははRecormonを週１回、又は５μｇ／ｋｇのRecormonを週３回、３週間にわたって静脈注射した。対照動物には、ＰＢＳを静脈注射した。週３回血液のサンプルを採取し、ヘマトクリットレベルを検出した。各点は、各群の平均ヘマトクリット値（％）±標準誤差を表す。

【図５】組み換え型ｈＥＰＯ誘導体及びＥＰＯ－２（配列番号２）のインビボ生物活性を示すグラフである。ＩＣＲマウス（７匹／１群）に、１５μｇ／ｋｇのＥＰＯ－２（配列番号２）、ｒｈＥＰＯ－ＷＴ（配列番号１６）、若しくはRecormonを週１回、又は５μｇ／ｋｇのRecormonを週３回、３週間にわたって静脈注射した。対照動物には、ＰＢＳを静脈注射した。週３回血液のサンプルを採取し、ヘマトクリットレベルを検出した。各点は、各群の平均ヘマトクリット値（％）±標準誤差を表す。
【図６】ＥＰＯ－０（配列番号１６）、ＥＰＯ－３（配列番号３）、及びAranespを１回注射した後の網状赤血球レベルにおける変化を示す時間グラフである。
【図７】ＥＰＯ－０（配列番号１６）、ＥＰＯ－３（配列番号３）、及びAranespを１回注射した後のヘモグロブリンレベルにおける変化（ベースラインからの変化量として表されている）を示す時間グラフである。
【図８】ＥＰＯ－０（配列番号１６）、ＥＰＯ－３（配列番号３）、及びAranespを１回注射した後のヘマトクリットレベルにおける変化を示す時間グラフである。
【図９】ＥＰＯ－０（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６）、ＥＰＯ－３（配列番号３）、及びAranespを静脈注射した後の血清濃度の変化を示すグラフである。
【図１０】ＭＯＤ－４０２０（配列番号３６）、ＭＯＤ－４０２１（配列番号３７）、ＭＯＤ－４０２２（配列番号３８、ＭＯＤ－４０２３（配列番号３９）、及びＭＯＤ－４０２４（配列番号４０）の分子量の検出及びそれぞれのタンパク質の同定を示すウエスタンブロットである。抗ｈＧＨ抗体を使用してＰＡＧＥ－ＳＤＳゲルをブロット及び染色した。この写真は、市販及び野生型のｈＧＨと同様に、変異型ＭＯＤ－７０２０－４もまた、抗ｈＧＨ抗体によって認識されることを示す。
【図１１】本発明のＧＨ－ＣＴＰポリペプチドの投与後の下垂体摘出ラットの体重増加を示す棒グラフである。
【発明を実施するための形態】
【００２９】
ある実施形態では、本発明は、長期間作用型ポリペプチド並びにその製造方法及び使用方法を提供する。ある実施形態では、長期間作用型ポリペプチドは、ヒト絨毛性ゴナドトロピン（human Chorionic Gonadotropin：ｈＣＧ）のカルボキシ末端ペプチド（carboxy terminal peptide：ＣＴＰ）を含む。ある実施形態では、ＣＴＰは、それに由来するタンパク質又はペプチドの分解に対する保護剤として作用する。ある実施形態では、ＣＴＰは、それに由来するタンパク質又はペプチドの循環半減期を延長する。いくつかの実施形態では、ＣＴＰは、それに由来するタンパク質又はペプチドの効力を高める。
【００３０】
他の実施形態では、「ＣＴＰペプチド」、「カルボキシ末端ペプチド」、及び「ＣＴＰ配列」は、本明細書中では同じ意味で使用される。他の実施形態では、前記カルボキシ末端ペプチドは、全長ＣＴＰである。他の実施形態では、前記カルボキシ末端ペプチドは、切断されたＣＴＰである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。
【００３１】
他の実施形態では、「ＥＰＯペプチド」及び「ＥＰＯ配列」は、本明細書中では同じ意味で使用される。他の実施形態では、前記ＥＰＯペプチドは、ＥＰＯタンパク質である。他の実施形態では、前記カルボキシ末端ペプチドは、切断されたＥＰＯタンパク質である。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。
【００３２】
他の実施形態では、「シグナル配列」及び「シグナルペプチド」は、本明細書中では同じ意味で使用される。他の実施形態では、ポリヌクレオチドに関する場合、「配列」はコード部分を意味する。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。
【００３３】
他の実施形態では、「目的のペプチド」及び「目的のポリペプチド配列」は、本明細書中では同じ意味で使用される。他の実施形態では、目的のペプチドは、全長タンパク質である。他の実施形態では、前記目的のペプチドは、タンパク質断片である。各可能な形態

は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【００３４】

ある実施形態では、目的のポリペプチド配列に結合した少なくとも２つの絨毛性ゴナドトロピンのカルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）配列を含むポリペプチドであって、前記少なくとも２つのＣＴＰ配列のうちの第１のＣＴＰ配列が前記目的のポリペプチド配列のアミノ末端に結合され、前記少なくとも２つのＣＴＰ配列のうちの第２のＣＴＰ配列が前記目的のポリペプチド配列のカルボキシ末端に結合したポリペプチドが提供される。他の実施形態では、前記カルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）配列は、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのＣＴＰ配列である。

【００３５】

他の実施形態では、カルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）は、目的のポリペプチド配列に、リンカーを介して結合している。他の実施形態では、前記ＣＴＰ配列を前記目的のポリペプチド配列に結合する前記リンカーは、共有結合である。他の実施形態では、前記ＣＴＰ配列を前記目的のポリペプチド配列に結合する前記リンカーは、ペプチド結合である。他の実施形態では、前記ＣＴＰ配列を前記目的のポリペプチド配列に結合する前記リンカーは、置換されたペプチド結合である。

【００３６】

「目的のポリペプチド配列」という用語は、他の実施形態では、生物学的活性を有するポリペプチド配列を意味する。他の実施形態では、前記ペプチドは、グリコシル化されている。他の実施形態では、前記ペプチドは、グリコシル化されていない。循環半減期延長の利益を得るポリペプチドの例としては、これらに限定されるものではないが、エリスロポエチン（erythropoietin：ＥＰＯ）、インターフェロン、ヒト成長ホルモン（human growth hormone：ｈＧＨ）、及びグルカゴン様ペプチド－１（glucagon-like peptide-l：ＧＬＰ－１）がある。

【００３７】

他の実施形態では、前記ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ｈＣＧ）のカルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）は、タンパク質に融合している。他の実施形態では、前記ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ｈＣＧ）のカルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）は、糖タンパク質に融合している。他の実施形態では、前記ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ｈＣＧ）のカルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）は、糖タンパク質ホルモンに融合している。他の実施形態では、前記ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ｈＣＧ）のカルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）は、糖タンパク質ホルモンに由来するペプチドに融合している。いくつかの実施形態では、糖タンパク質ホルモンは、ＥＰＯ、ＦＳＨ又はＴＳＨ、或いはそれらに由来するペプチドを含む。

【００３８】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドのアミノ末端及びカルボキシ末端の両方のＣＴＰ配列は、タンパク質の分解に対する保護を向上させる。ある実施形態では、ポリペプチドのアミノ末端及びカルボキシ末端の両方のＣＴＰ配列は、結合したタンパク質の半減期を延長させる。

【００３９】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドのアミノ末端のＣＴＰ配列、前記ポリペプチドのカルボキシ末端のＣＴＰ配列、及び前記カルボキシ末端の前記ＣＴＰ配列に直列に結合した少なくとも１つのさらなるＣＴＰ配列は、前記結合したタンパク質の分解に対する保護を向上させる。いくつかの実施形態では、ポリペプチドのアミノ末端のＣＴＰ配列、前記ポリペプチドのカルボキシ末端のＣＴＰ配列、及び前記カルボキシ末端の前記ＣＴＰ配列に直列に結合した少なくとも１つのさらなるＣＴＰ配列は、結合したタンパク質の半減期を延長させる。いくつかの実施形態では、ポリペプチドのアミノ末端のＣＴＰ配列、前記ポリペプチドのカルボキシ末端のＣＴＰ配列、及び前記カルボキシ末端の前記ＣＴＰ配列に直列に結合した少なくとも１つのさらなるＣＴＰ配列は、結合したタンパク質の活性を向上させる。

【００４０】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドのアミノ末端のＣＴＰ配列、前記ポリペプチドのカルボキシ末端のＣＴＰ配列、及び前記アミノ末端の前記ＣＴＰ配列に直列に結合した少なくとも１つのさらなるＣＴＰ配列は、前記結合したタンパク質の分解に対する保護を向上させる。いくつかの実施形態では、ポリペプチドのアミノ末端のＣＴＰ配列、前記ポリペプチドのカルボキシ末端のＣＴＰ配列、及び前記アミノ末端の前記ＣＴＰ配列に直列に結合した少なくとも１つのさらなるＣＴＰ配列は、結合したタンパク質の半減期を延長させる。いくつかの実施形態では、ポリペプチドのアミノ末端のＣＴＰ配列、前記ポリペプチドのカルボキシ末端のＣＴＰ配列、及び前記アミノ末端の前記ＣＴＰ配列に直列に結合した少なくとも１つのさらなるＣＴＰ配列は、結合したタンパク質の活性を向上させる。

【００４１】

他の実施形態では、本発明のカルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）は、配列番号１７番に記載のヒト絨毛性ゴナドトロピンのアミノ酸位置１１２～１４５から成るアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、本発明のカルボキシ末端ペプチド（ＣＴＰ）は、配列番号１８番に記載のヒト絨毛性ゴナドトロピンのアミノ酸位置１１８～１４５から成るアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、前記ＣＴＰ配列はまた、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのアミノ酸位置１１２～１１８の間の任意の位置から始まり、アミノ酸位置１４５で終端する。いくつかの実施形態では、前記ＣＴＰ配列ペプチドは、ＣＴＰアミノ酸配列の位置１１２、１１３、１１４、１１５、１１６、１１７又は１１８から始まり、２８、２９、３０、３１、３２、３３又は３４のアミノ酸長さを有する。

【００４２】

他の実施形態では、前記ＣＴＰペプチドは、米国特許第５、７１２、１２２号に開示されているように、１～５個の同類アミノ酸置換によって天然ＣＴＰと異ならせた、絨毛性ゴナドトロピンＣＴＰの変異型である。他の実施形態では、前記ＣＴＰペプチドは、１個の同類アミノ酸置換によって天然ＣＴＰと異ならせた、絨毛性ゴナドトロピンＣＴＰの変異型である。他の実施形態では、前記ＣＴＰペプチドは、２個の同類アミノ酸置換によって天然ＣＴＰと異ならせた、絨毛性ゴナドトロピンＣＴＰの変異型である。他の実施形態では、前記ＣＴＰペプチドは、３個の同類アミノ酸置換によって天然ＣＴＰと異ならせた、絨毛性ゴナドトロピンＣＴＰの変異型である。他の実施形態では、前記ＣＴＰペプチドは、４個の同類アミノ酸置換によって天然ＣＴＰと異ならせた、絨毛性ゴナドトロピンＣＴＰの変異型である。他の実施形態では、前記ＣＴＰペプチドは、５個の同類アミノ酸置換によって天然ＣＴＰと異ならせた、絨毛性ゴナドトロピンＣＴＰの変異型である。他の実施形態では、本発明のＣＴＰペプチドアミノ酸配列は、天然ＣＴＰアミノ酸配列又はそのペプチドと少なくとも７０％相同する。他の実施形態では、本発明のＣＴＰペプチドアミノ酸配列は、天然ＣＴＰアミノ酸配列又はそのペプチドと少なくとも８０％相同する。他の実施形態では、本発明のＣＴＰペプチドアミノ酸配列は、天然ＣＴＰアミノ酸配列又はそのペプチドと少なくとも９０％相同する。他の実施形態では、本発明のＣＴＰペプチドアミノ酸配列は、天然ＣＴＰアミノ酸配列又はそのペプチドと少なくとも９５％相同する。

【００４３】

他の実施形態では、本発明のＣＴＰペプチドのＤＮＡ配列は、天然ＣＴＰ又はそのペプチドのＤＮＡ配列と少なくとも７０％相同する。他の実施形態では、本発明のＣＴＰペプチドのＤＮＡ配列は、天然ＣＴＰ又はそのペプチドのＤＮＡ配列と少なくとも８０％相同する。他の実施形態では、本発明のＣＴＰペプチドのＤＮＡ配列は、天然ＣＴＰ又はそのペプチドのＤＮＡ配列と少なくとも９０％相同する。他の実施形態では、本発明のＣＴＰペプチドのＤＮＡ配列は、天然ＣＴＰ又はそのペプチドのＤＮＡ配列と少なくとも９５％相同する。

【００４４】

他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の少なくとも１つが切断されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列

の両方が切断されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の２つが切断されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の２つ以上が切断されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の全てが切断されている。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の配列における最初の１０個のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の配列における最初の１１個のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の配列における最初の１２個のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の配列における最初の１３個のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の配列における最初の１４個のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の配列における最初の１５個のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の配列における最初の１６個のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の配列における最初の１７個のアミノ酸配列を含む。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【００４５】

他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の少なくとも１つがグリコシル化されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の両方がグリコシル化されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の２つがグリコシル化されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の２つ以上がグリコシル化されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の全てがグリコシル化されている。他の実施形態では、本発明のＣＴＰ配列は、少なくとも１つの糖鎖付加部位を含む。他の実施形態では、本発明のＣＴＰ配列は、２つの糖鎖付加部位を含む。他の実施形態では、本発明のＣＴＰ配列は、３つの糖鎖付加部位を含む。他の実施形態では、本発明のＣＴＰ配列は、４つの糖鎖付加部位を含む。

【００４６】

いくつかの実施形態では、エリスロポエチン（erythropoietin：ＥＰＯ）が、本発明の教示に従って使用される。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列をエンコードする任意のＥＰＯがＥＰＯ配列である。いくつかの実施形態では、核酸配列をエンコードする任意のＥＰＯがＥＰＯ配列である。いくつかの実施形態では、ＣＴＰ配列を、ＥＰＯタンパク質のアミノ末端及びカルボキシ末端の両方に結合させることにより、組み換え型ＥＰＯ並びにＥＰＯ及びＣＴＰの他の組み合わせと比較して、赤血球生成を促進する効力が高まる（図３～５、及び実施例４の表６）。いくつかの実施形態では、３つのＣＴＰ配列と結合したＥＰＯはその受容体との結合を妨げない。このことは、３つのＣＴＰ配列と結合したＥＰＯが野生型ＥＰＯと同じ程度でＴＦ－１細胞の増殖促進に対して効果的であることを実証した、実施例３の表４に証明されている。いくつかの実施形態では、本発明のＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドは、配列番号３及び配列番号６に記載の配列である。

【００４７】

ある実施形態では、「エリスロポエチン」は、哺乳類のエリスロポエチンである。ある実施形態では、「エリスロポエチン」は、遺伝子バンク・アクセス番号ＡＡＡ５２４００に記載されているような、ヒトのエリスロポエチンである。

【００４８】

ある実施形態では、本発明のエリスロポエチン（ＥＰＯ）配列は、その相同体を含む。ある実施形態では、本発明のエリスロポエチン・アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（National Center of Biotechnology Information：ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、遺伝子バンク・アクセス番号ＡＡＡ５２４００に記載のエリスロポエチン配列と少なくとも５０％相同する。ある実施形態では、本発明のエリスロポエチン・アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルト

パラメータを用いて測定した際に、遺伝子バンク・アクセス番号ＡＡＡ５２４００に記載のエリスロポエチン配列と少なくとも６０％相同する。ある実施形態では、本発明のエリスロポエチン・アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、遺伝子バンク・アクセス番号ＡＡＡ５２４００に記載のエリスロポエチン配列と少なくとも７０％相同する。ある実施形態では、本発明のエリスロポエチン・アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、遺伝子バンク・アクセス番号ＡＡＡ５２４００に記載のエリスロポエチン配列と少なくとも８０％相同する。ある実施形態では、本発明のエリスロポエチン・アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、遺伝子バンク・アクセス番号ＡＡＡ５２４００に記載のエリスロポエチン配列と少なくとも９０％相同する。ある実施形態では、本発明のエリスロポエチン・アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、遺伝子バンク・アクセス番号ＡＡＡ５２４００に記載のエリスロポエチン配列と少なくとも９５％相同する。

【００４９】

他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号５に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明の方法は、貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。

【００５０】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２０に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２１に記載の核酸配列を提供する。

【００５１】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号５に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。

【００５２】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するための核酸配列であって、

そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２０に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、貧血を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２１に記載の核酸配列を提供する。

【００５３】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号５に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。また、他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。

【００５４】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する

。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２０に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２１に記載の核酸配列を提供する。

【００５５】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号５に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。また、他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。

【００５６】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するための核酸配列であ

って、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２０に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍関連貧血を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２１に記載の核酸配列を提供する。

【００５７】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号５に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。また、他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。

【００５８】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つ

のＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２０に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、腫瘍低酸素症を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２１に記載の核酸配列を提供する。

【００５９】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号５に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。

【００６０】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するための核酸配列であっ

て、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２０に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２１に記載の核酸配列を提供する。

【００６１】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号５に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。

【００６２】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２０に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性感染症（ＨＩＶ、炎症性腸疾患、敗血症など）を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２１に記載の核酸配列を提供する。

【００６３】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号５に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチド

を有する配列番号２２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。

【００６４】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２０に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、癌化学療法後の疲労症候群を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２１に記載の核酸配列を提供する。

【００６５】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号５に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。また、他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。

【００６６】
他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２０に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、幹細胞移植を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２１に記載の核酸配列を提供する。

【００６７】
他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号５に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号１６に記載のＥＰＯペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る

方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためのＥＰＯペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２２に記載のＥＰＯペプチドを提供する。

【００６８】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるためを治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２０に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、再生不良性貧血又は骨髄異形成症候群の患者の生存率を増加させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＥＰＯペプチドをエンコードする配列番号２１に記載の核酸配列を提供する。

【００６９】

いくつかの実施形態では、本発明における相同体は、その欠損変異型、挿入変異型、又は置換変異型（アミノ酸置換型を含む）、及びその生物活性ポリペプチド断片を包含する。ある実施形態では、前記置換変異型は、エリスロポエチン・アミノ酸配列において、位置１０４のグリシンがセリンに置換されたものを含む（配列番号２２）。

【００７０】

いくつかの実施形態では、ヒト成長ホルモン（human growth hormone：ｈＧＨ）が、本発明の教示に従って使用される。ある実施形態では、ＣＴＰ配列を、ｈＧＨタンパク質のアミノ末端及びカルボキシ末端の両方に結合させることにより、効力が増大される（図１１）。いくつかの実施形態では、ＣＴＰ配列を、ｈＧＨタンパク質のアミノ末端及びカルボキシ末端の両方に結合させることにより、インビボ活性が長期間持続される。ある実施形態では、本発明のＣＴＰ－ｈＧＨポリペプチドは、配列番号３９～４１に記載のものである。

【００７１】

ある実施形態では、「ヒト成長ホルモン（human growth hormone：ｈＧＨ）」は、遺伝子バンク・アクセス番号Ｐ０１２４１（配列番号４７）に記載のポリペプチドであり、ｈＧＨ活性を示す（すなわち、成長を促進する）。

【００７２】

ある実施形態では、「ヒト成長ホルモン（ｈＧＨ）」は、遺伝子バンク・アクセス番号Ｐ０１２４１（配列番号４７）に記載のポリペプチドであり、ｈＧＨ活性を示す（すなわち、成長を促進する）。ある実施形態では、本発明のｈＧＨは、その相同体を含む。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のｈＧＨアミノ酸配列は、遺伝子バンク・アクセス番号Ｐ０１２４１に記載のｈＧＨ配列と少なくとも５０％相同する。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のｈＧＨアミノ酸配列は、遺伝子バンク・アクセス番号Ｐ０１２４１に記載のｈＧＨ配列と少なくとも６０％相同する。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のｈＧＨアミノ酸配列は、遺伝子バンク・アクセス番号Ｐ０１２４１に

記載のｈＧＨ配列と少なくとも７０％相同する。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のｈＧＨアミノ酸配列は、遺伝子バンク・アクセス番号Ｐ０１２４１に記載のｈＧＨ配列と少なくとも８０％相同する。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のｈＧＨアミノ酸配列は、遺伝子バンク・アクセス番号Ｐ０１２４１に記載のｈＧＨ配列と少なくとも９０％相同する。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のｈＧＨアミノ酸配列は、遺伝子バンク・アクセス番号Ｐ０１２４１に記載のｈＧＨ配列と少なくとも９５％相同する。

【００７３】

本発明のＣＴＰ－ｈＧＨポリペプチドの例示的なものは、配列番号３９、４０及び４１に記載のものである。

【００７４】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【００７５】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有

するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋成長を促進するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【００７６】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【００７７】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨成長を促進するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【００７８】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、筋肉の質を維持するための本発明に係るｈＧＨペプチドを提供する。

【００７９】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨の質を維持するための本発明に係るｈＧＨを提供する。

【００８０】
他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨の質を維持するための本発明に係るｈＧＨ・ＣＴＰ核酸配列を提供する。
【００８１】
他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。
【００８２】
他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。
【００８３】
他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸

ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【００８４】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、心臓機能を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【００８５】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチ

ドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【００８６】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、脂肪分解を増大させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【００８７】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１

つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【００８８】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、体液平衡を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【００８９】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【００９０】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つ

のＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を治療するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【００９１】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【００９２】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、骨粗しょう症を抑制するための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【００９３】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、運動能力を向上させるための本発明に係るｈＧＨペプチドを提供する。

【００９４】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【００９５】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、肺機能を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【００９６】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向

上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【００９７】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫を向上させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【００９８】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する

配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【００９９】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、重要臓器を再生させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【０１００】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、健康感を増大させるための本発明に係るｈＧＨペプチドを提供する。

【０１０１】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２３に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３６に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３７に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号３８に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号３９に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４０に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４１に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方

法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号４２に記載のｈＧＨペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるためのｈＧＨペプチドであって、配列番号４４に記載のｈＧＨペプチドを提供する。

【０１０２】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるための核酸配列であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４５に記載の核酸配列を提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、レム睡眠を回復させるための核酸配列であって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨペプチドをエンコードする配列番号４６に記載の核酸配列を提供する。

【０１０３】

いくつかの実施形態では、本発明における相同体は、その欠損変異型、挿入変異型、又は置換変異型（アミノ酸置換型を含む）、及びその生物活性ポリペプチド断片を包含する。ある実施形態では、前記置換変異型は、ｈＧＨの位置６５のグルタミンがバリンに置換されたものを含む（配列番号２３）（Gellerfors et al., J Pharm Biomed Anal 1989, 7:173-83）。

【０１０４】

いくつかの実施形態では、インターフェロンが、本発明の教示に従って使用される。いくつかの実施形態では、ＣＴＰ配列を、インターフェロンのアミノ末端及びカルボキシ末端の両方に結合させることにより、効力が増大される。ある実施形態では、ＣＴＰ配列を、インターフェロンタンパク質のアミノ末端及びカルボキシ末端の両方に結合させることにより、インビボ活性が長期間持続される。

【０１０５】

ある実施形態では、「インターフェロン」は、哺乳類のインターフェロンＩ型ポリペプチドである。ある実施形態では、「インターフェロン」は、哺乳類のインターフェロンＩＩ型ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、当業者に周知の他の適切なインターフェロン・ポリペプチドが使用される。いくつかの実施形態では、前記インターフェロンは、アルファ・インターフェロンである。いくつかの実施形態では、前記インターフェロンは、ベータ・インターフェロンである。いくつかの実施形態では、前記インターフェロンは、ガンマ・インターフェロンである。いくつかの実施形態では、前記インターフェロンは、オメガ・インターフェロンである。いくつかの実施形態では、前記インターフェロンは、亜種インターフェロンである。ある実施形態では、前記亜種インターフェロン（interferon：ＩＦＮ）は、ＩＦＮ－α２ａである。ある実施形態では、前記亜種インターフェロン（ＩＦＮ）は、ＩＦＮ－α２ｂである。ある実施形態では、前記亜種インターフェロン（ＩＦＮ）は、ＩＦＮ－β１ａである。ある実施形態では、前記亜種インターフェロン（ＩＦＮ）は、ＩＦＮ－β１ｂである。

【０１０６】

ある実施形態では、本発明のインターフェロンは、抗ウイルス作用又は抗増殖作用などのインターフェロン活性を示す。いくつかの実施形態では、これらに限定されるものではないが、インターフェロンの例の遺伝子バンク・アクセス番号が下記の表１に記載されている。

【０１０７】

ある実施形態では、本発明のインターフェロンは、その相同体も含む。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のインターフェロンアミノ酸配列は、表１に記載されたインターフェロン配列と少なくとも５０％相同する。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のインターフェロンアミノ酸配列は、表１に記載されたインターフェロン配列と少なくとも６０％相同する。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のインターフェロンアミノ酸配列は、表１に記載されたインターフェロン配列と少なくとも７０％相同する。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のインターフェロンアミノ酸配列は、表１に記載されたインターフェロン配列と少なくとも８０％相同する。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のインターフェロンアミノ酸配列は、表１に記載されたインターフェロン配列と少なくとも９０％相同する。ある実施形態では、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、本発明のインターフェロンアミノ酸配列は、表１に記載されたインターフェロン配列と少なくとも９５％相同する。いくつかの実施形態では、本発明における相同体は、その欠損変異型、挿入変異型、又は置換変異型（アミノ酸置換型を含む）、及びその生物活性ポリペプチド断片を包含する。ある実施形態では、インターフェロンβの位置１７のシステインがセリンに置換されたものを含む（配列番号２４）。

【０１０８】

下記の表１は、インターフェロンの例と、そのＮＣＢＩ配列番号を示す。

【０１０９】

表１

インターフェロンの名称	*NCBI* 配列番号
インターフェロン, α1	NP_076918.1
インターフェロン, α10	NP_002162.1
インターフェロン, α13	NP_008831.2
インターフェロン, α14	NP_002163.1
インターフェロン, α16	NP_002164.1
インターフェロン, α17	NP_067091.1
インターフェロン, α2	NP_000596.2
インターフェロン, α21	NP_002166.1
インターフェロン, α4	NP_066546.1
インターフェロン, α5	NP_002160.1
インターフェロン, α6	NP_066282.1
インターフェロン, α7	NP_066401.2
インターフェロン, α8	NP_002161.2
インターフェロン, β1	NP_002167.1
インターフェロン, ε1	NP_795372.1
インターフェロン, γ	NP_000610.2
インターフェロン, ε	NP_064509.1
インターフェロン, Ω1	NP_002168.1

【０１１０】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、多発性硬化症を治療又は抑制するためのインターフェロンβ１ペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインターフェロンβ１ペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、多発性硬化症を治療又は抑制するためのインターフェロンβ１ペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインターフェロンβ１ペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、多発性硬化症を治療又は抑制するためのインターフェロンβ１ペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２４に記載のインターフェロンβ１ペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、多発性硬化症を治療又は抑制するためのインターフェロンβ１ペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する配列番号２６に記載のインターフェロンβ１ペプチドを提供する。

【０１１１】

いくつかの実施形態では、グルカゴン様ペプチド－１が、本発明の教示に従って使用される。いくつかの実施形態では、ＣＴＰ配列を、「グルカゴン様ペプチド－１」のアミノ末端及びカルボキシ末端の両方に結合させることにより、効力が増大される。いくつかの

実施形態では、ＣＴＰ配列を、ペプチドのアミノ末端及びカルボキシ末端の両方に結合させることにより、インビボ活性が長期間持続される。いくつかの実施形態では、ＣＴＰ配列を、グルカゴン様ペプチドのアミノ末端及びカルボキシ末端の両方に結合させることにより、インビボ活性が長期間持続される。

【０１１２】

ある実施形態では、「グルカゴン様ペプチド－１（glucagon-like peptide-1：ＧＬＰ－１）」は、哺乳類のポリペプチドである。いくつかの実施形態では、「グルカゴン様ペプチド－１（ＧＬＰ－１）」は、ヒトのポリペプチドである。ある実施形態では、ＧＬＰ－１は、ＧＬＰ－１受容体と結合し、信号伝達経路を形成する能力を有するグルカゴンのプレプロタンパク質（遺伝子バンク・ＩＤ番号ＮＰ００２０４５）から切断され、その結果、インスリン分泌促進作用がもたらされる。ある実施形態では、「インスリン分泌促進作用」は、グルコースレベルの上昇に応じて、インスリンの分泌を促進する作用を意味する。このことにより、細胞によるグルコース摂取が誘導され、血漿グルコース値が減少する。いくつかの実施形態では、ＧＬＰ－１・ポリペプチドは、これに限定されるものではないが、米国特許第５、１１８、６６６号に開示されているものを含む（この参照により本明細書に組み込まれる）。

【０１１３】

ある実施形態では、「ＧＬＰ－１」は、配列番号２５に記載のポリペプチドである。ある実施形態では、「ＧＬＰ－１」は、ＧＬＰ－１の相同体である。ある実施形態では、本発明のエリスロポエチン又はＥＰＯ配列は、その相同体を含む。ある実施形態では、本発明のＧＬＰ－１アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、配列番号２５に記載のＧＬＰ－１配列と少なくとも５０％相同する。ある実施形態では、本発明のＧＬＰ－１アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、配列番号２５に記載のＧＬＰ－１配列と少なくとも６０％相同する。ある実施形態では、本発明のＧＬＰ－１アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、配列番号２５に記載のＧＬＰ－１配列と少なくとも７０％相同する。ある実施形態では、本発明のＧＬＰ－１アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、配列番号２５に記載のＧＬＰ－１配列と少なくとも８０％相同する。ある実施形態では、本発明のＧＬＰ－１アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、配列番号２５に記載のＧＬＰ－１配列と少なくとも９０％相同する。ある実施形態では、本発明のＧＬＰ－１アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のＢｌａｓｔＰソフトウエアを使用し、デフォルトパラメータを用いて測定した際に、配列番号２５に記載のＧＬＰ－１配列と少なくとも９５％相同する。

【０１１４】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、２型糖尿病を治療又は抑制するためのＧＬＰ－１ペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＧＬＰ－１ペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、２型糖尿病を治療又は抑制するためのＧＬＰ－１ペプチドであって、そのＮ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に２つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＧＬＰ－１ペプチドを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法は、２型糖尿病を治療又は抑制するための配列番号２５に記載のＧＬＰ－１ペプチドであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する、ＧＬＰ－１ペプチドを提供する。

【０１１５】

ある実施形態では、本発明における相同体は、その欠損変異型、挿入変異型、又は置換変異型（アミノ酸置換型を含む）、及びその生物活性ポリペプチド断片を包含する。

【０１１６】

ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、ＥＰＯである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、インターフェロンである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、ｈＧＨである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、ＧＬＰ－１である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、インスリンである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、エンケファリンである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、ＡＣＴＨである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、グルカゴンである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、インスリン様成長因子である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、上皮成長因子である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、酸性又は塩基性の線維芽細胞成長因子である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、血小板由来成長因子である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、顆粒球ＣＳＦである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、マクロファージＣＳＦである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、ＩＬ－２である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、ＩＬ－３である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、腫瘍壊死因子である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、ＬＨＲＨである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、ＬＨＲＨ類似体である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、ソマトスタチンである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、成長ホルモン放出ホルモンである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、エンドルフィンである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、肺胞界面活性タンパク質である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、ナトリウム排出増加因子である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、付着因子である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、アンギオスタチンである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、エンドスタチンである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、受容体ペプチドである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、受容体結合リガンドである。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、抗体である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、抗体断片である。ある実施形態では、前記目的のポリペプチド配列は、任意の変異型を含むペプチド又はタンパク質である。

【０１１７】

他の実施形態では、本発明の前記ペプチドは、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する目的のペプチドを含む。そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する前記目的のペプチドは、次のリストから選択されるタンパク質を含む。インスリン、アルブテイン／アルブミン、Activase（altiplase）／ｔＰＡ、アデノシンデアミナーゼ、免疫グロブリン、グルコセレブロシダーゼ、Leukine（sargraraostira）／ＧＭ－ＣＳＦ、Ｇ－ＣＳＦ、ベノグロブリン－Ｓ／ＩｇＧ、プロリュウキン（アルデスロイキン）、ＤＮａｓｅ、第ＶＩＩＩ因子、Helixate、Ｌ－アスパラギナーゼ、WinRho SDF Rh I、Retavase（reteplase）／ｔＰＡ、第ＩＸ因子、ＦＳＨ、グロブリン、フィブリン、インターロイキン－１１、ベカプレルミン／ＰＤＧＦ、レピルジン／ヒルジン、ＴＮＦ、サイモグロブリン、第ＶＩＩａ活性化因子、インターフェロンα－２ａ、インターフェロンα－ｎ１、インターフェロンα－ｎ３、インターフェロンβ－１ｂ、インターフェロンγ－１ｂ、インターロイキン－２、ｈＧＨ、又はモノクローナル抗体。

【０１１８】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、糖尿病を治療するためのインスリンであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくと

も１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインスリンを提供する。

【０１１９】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、血液量減少性ショックの治療、血液透析又は心肺バイパスのためのアルブミンであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するアルブミンを提供する。

【０１２０】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、急性心筋梗塞、重症急性肺塞栓症、又は（通じて変化する）虚血性脳卒を治療するためのActivase（altiplase）／ｔＰＡであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するActivase（altiplase）／ｔＰＡを提供する。

【０１２１】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、重症複合型免疫不全症を治療するためのアデノシンデアミナーゼであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するアデノシンデアミナーゼを提供する。

【０１２２】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、移植者を治療するための免疫グロブリンであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する免疫グロブリンを提供する。他の実施形態では、本発明に係る方法が提供する免疫グロブリンは、ＣＭＶ免疫グロブリンである。

【０１２３】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、ゴーシェ病を治療するためのグルコセレブロシダーゼであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するグルコセレブロシダーゼを提供する。

【０１２４】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、造血系前駆細胞を刺激するためのLeukine（sargraraostira）／ＧＭ－ＣＳＦであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するLeukine（sargraraostira）／ＧＭ－ＣＳＦを提供する。

【０１２５】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、好中球減少症を治療するためのＧ－ＣＳＦであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＧ－ＣＳＦを提供する。

【０１２６】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、免疫不全症を治療するためのベノグロブリン－Ｓ／ＩｇＧであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するベノグロブリン－Ｓ／ＩｇＧを提供する。

【０１２７】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、腎臓癌又は転移性メラノーマを治療するためのプロリュウキン（アルデスロイキン）であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するプロリュウキン（アルデスロイキン）を提供する。

【０１２８】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、嚢胞性線維症を治療するためのＤＮａｓｅであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＤＮａｓｅを提供する。

【０１２９】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、血友病Ａを治療するための第ＶＩＩＩ因子であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する第ＶＩＩＩ因子を提供する。

【０１３０】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、急性リンパ性白血病を治療するためのHelixateであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するHelixateを提供する。

【０１３１】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、急性リンパ性白血病を治療するためのＬ－アスパラギナーゼであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＬ－アスパラギナーゼを提供する。

【０１３２】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、Ｒｈ同種免疫及び免疫性血小板減少性紫斑病を治療するためのWinRho SDF Rh IgGであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するWinRho SDF Rh IgGを提供する。

【０１３３】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、急性心筋梗塞を治療するためのRetavase（reteplase）／ｔＰＡであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するRetavase（reteplase）／ｔＰＡを提供する。

【０１３４】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、Ｂ型血友病を治療するための第ＩＸ因子であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する第ＩＸ因子を提供する。

【０１３５】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、生殖補助中の排卵を促進するためＦＳＨであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＦＳＨを提供する。

【０１３６】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、呼吸器合胞体ウイルス疾患を治療するためのグロブリンであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するグロブリンを提供する。

【０１３７】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、創傷管理及び止血のためのフィブリンであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するフィブリンを提供する。

【０１３８】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、化学療法による血小板減少症を治療するためのインターロイキン－１１であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインターロイキン－１１を提供する。

【０１３９】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、足の糖尿病性壊疽を治療するためのベカプレルミン／ＰＤＧＦであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するベカプレルミン／ＰＤＧＦを提供する。

【０１４０】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、ヘパリン起因性血小板減少症での抗凝固のた

めを治療するためのレピルジン／ヒルジンであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するレピルジン／ヒルジンを提供する。

【０１４１】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、リウマチ性関節炎を治療するための溶解性ＴＮＦであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する溶解性ＴＮＦを提供する。

【０１４２】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、移植臓器拒絶症を治療するためのサイモグロブリンであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するサイモグロブリンを提供する。

【０１４３】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、血友病を治療するための第ＶＩＩａ因子であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有する第ＶＩＩａ因子を提供する。

【０１４４】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、ヘアリー細胞白血病及びエイズに関連するカポジ肉腫を治療するためのインターフェロンα－２ａであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインターフェロンα－２ａを提供する。

【０１４５】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、ヘアリー細胞白血病、陰部疣贅、エイズに関連するカポジ肉腫、Ｃ型肝炎、Ｂ型肝炎、悪性黒色腫、及び濾胞性リンパ腫を治療するためのインターフェロンα－２ｂであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインターフェロンα－２ｂを提供する。

【０１４６】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、陰部疣贅を治療するためのインターフェロンα－ｎ３であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインターフェロンα－ｎ３を提供する。

【０１４７】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、慢性肉芽腫症を治療するためのインターフェロンγ－１ｂであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインターフェロンγ－１ｂを提供する。

【０１４８】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、Ｃ型肝炎を治療するためのインターフェロンα－ｎ１であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインターフェロンα－ｎ１を提供する。

【０１４９】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、腎臓癌及び転移性メラノーマを治療するためのインターロイキン－２であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインターロイキン－２を提供する。

【０１５０】

他の実施形態では、本発明に係る方法は、多発性硬化症を治療するためのインターフェロンβ－１ｂであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するインターフェロンβ－１

ｂを提供する。
【０１５１】
また、他の実施形態では、本発明に係る方法は、消耗性疾患、エイズ、悪液質、又はｈＧＨ欠乏の治療用のｈＧＨであって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するｈＧＨを提供する。
【０１５２】
他の実施形態では、本発明に係る方法は、臓器移植に使用されるＯＫＴ３モノクローナル抗体であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＯＫＴ３モノクローナル抗体を提供する。
【０１５３】
他の実施形態では、本発明に係る方法は、冠状動脈インターベンション及び血管形成からの合併症を防止するためのＲｅｏモノクローナル抗体であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するＲｅｏモノクローナル抗体を提供する。
【０１５４】
他の実施形態では、本発明に係る方法は、結腸直腸癌、非ホジキンリンパ腫、腎移植拒絶反応若しくは転移性乳癌を治療するための、又は呼吸器合胞体ウイルス疾患を予防するためのモノクローナル抗体であって、そのＮ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有し、そのＣ末端に少なくとも１つのＣＴＰアミノ酸ペプチドを有するモノクローナル抗体を提供する。
【０１５５】
ある実施形態では、本発明は、獣医学に用いられる。ある実施形態では、本発明は、ペット（例えば、イヌ、ネコ、ウマ）、商業的価値が高いもの（例えば、乳牛、肉牛、スポーツ用動物）、科学的価値が高いもの（絶滅危惧種の飼育下若しくは自由環境下の標本）、又は他の価値のある家畜哺乳類の治療に利用される。
【０１５６】
ある実施形態では、本発明のポリペプチド、抗体又ポリヌクレオチドは、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ハムスター、モルモット、ブタ、マイクロブタ、ニワトリ、ラクダ、ヤギ、ウマ、ウシ、ヒツジ、イヌ、ネコ、非ヒト霊長類）に投与される。ある実施形態では、前記に列挙した用途は、様々なホストに使用される。ある実施形態では、前記ホストとしては、これらに限定されるものではないが、マウス、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、マウス、ラット、ハムスター、ブタ、マイクロブタ、ニワトリ、ヤギ、ウシ、ヒツジ、イヌ、ネコ、又は非ヒト霊長類がある。
【０１５７】
ある実施形態では、家畜が、本発明に係る方法により治療される。ある実施形態では、前記家畜は、ブタ、ウシ、乳牛、ウマ、ヤギ、ヒツジ、ニワトリ、七面鳥、ガチョウ、アヒル、及び関連種を含む。ある実施形態では、実験動物が、本発明に係る方法により治療される。ある実施形態では、前記実験動物は、ラット、マウス、モルモット、ウサギ、ヤギ、サル、イヌ、ネコなどを含む。ある実施形態では、動物園の動物が、本発明に係る方法により治療される。ある実施形態では、前記動物園の動物は、動物園で飼育されている全ての脊椎動物を含む。ある実施形態では、水生動物が、本発明に係る方法により治療される。ある実施形態では、前記水生動物は、魚、ウナギ、カメ、アザラシ、ペンギン、サメ、クジラ、及び関連種を含む。ある実施形態では、家畜が本発明に係る方法により治療される。ある実施形態では、前記家畜は、ペット（ネコ、イヌなど）や人間に飼われている動物（ウマ、ウシ、ブタ、ヤギ、ウサギ、ニワトリ、七面鳥、ガチョウ、アヒルなど）を含む。
【０１５８】
本発明では、ブタという用語は、豚、子豚、成豚、未経産雌豚、経産雌、去勢雄豚、去

勢雄豚を含む。他の実施形態では、「ウシ」という用語は、子牛、乳牛、未経産雌牛、経産雌牛、未去勢雄牛、去勢雄牛を含む。

【０１５９】

ある実施形態では、ウシ成長ホルモンが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、人工的ウシ成長ホルモンが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記人工的ウシ成長ホルモンは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＡＡＡ７２２６２に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記人工的ウシ成長ホルモンは、当該技術分野で公知の他の人工的ウシ成長ホルモンである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１６０】

ある実施形態では、ヒツジ成長ホルモンが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記ヒツジ成長ホルモンは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＮＰ＿００１００９３１５に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ヒツジ成長ホルモンは、当該技術分野で公知の他のヒツジ成長ホルモンである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１６１】

ある実施形態では、ウマ成長ホルモンが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記ウマ成長ホルモンは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＡＡＡ２１０２７に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ウマ成長ホルモンは、当該技術分野で公知の他のウマ成長ホルモンである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１６２】

ある実施形態では、ニワトリ成長ホルモンが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記ニワトリ成長ホルモンは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＣＡＡ３５６１に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ニワトリ成長ホルモンは、当該技術分野で公知の他のニワトリ成長ホルモンである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１６３】

ある実施形態では、マウス成長ホルモンが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記マウス成長ホルモンは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＮＰ＿０３２１４３に記載の配列を有する。また、他の実施形態では、前記マウス成長ホルモンは、当該技術分野で公知の他のマウス成長ホルモンである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１６４】

ある実施形態では、テラピア（tilapia）成長ホルモンが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記テラピア成長ホルモンは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＣＡＡ００８１８に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記テラピア成長ホルモンは、当該技術分野で公知の他のテラピア成長ホルモンである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１６５】

ある実施形態では、ウシＥＰＯが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、人工的ウシＥＰＯが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記人工的ウシＥＰＯは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＮＰ＿７７６３３４に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記人工的ウシＥＰＯは、当該技術分野で公知の他の人工的ウシＥＰＯである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１６６】

ある実施形態では、ブタＥＰＯが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記ブタＥＰＯは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＮＰ＿９９９２９９に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ブタＥＰＯは、当該技術分野で公知の他のブタＥＰＯである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１６７】

ある実施形態では、ヒツジＥＰＯが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、ヒツジ成長ホルモンは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＮＰ＿００１０１９９０８に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ヒツジ成長ホルモンは、当該技術分野で公知の他のヒツジ成長ホルモンである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１６８】

ある実施形態では、マウスＥＰＯが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記マウス成長ホルモンは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＣＡＡ７２７０７に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記マウス成長ホルモンは、当該技術分野で公知の他のマウスホルモンである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１６９】

ある実施形態では、ウシＧＬＰ－１が、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記ウシＧＬＰ－１は、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号Ｐ０１２７２に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ウシＧＬＰ－１は、当該技術分野で公知の他のウシＧＬＰ－１である。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１７０】

ある実施形態では、ヒツジＧＬＰ－１が、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記ヒツジＧＬＰ－１は、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号Ｑ８ＭＪ２５に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ヒツジＧＬＰ－１は、当該技術分野で公知の他のヒツジＧＬＰ－１である。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１７１】

ある実施形態では、ニワトリＧＬＰ－１が、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記ニワトリＧＬＰ－１は、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号Ｐ０１２７４に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ニワトリＧＬＰ－１は、当該技術分野で公知の他のニワトリＧＬＰ－１である。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１７２】

ある実施形態では、マウスＧＬＰ－１が、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記マウスＧＬＰ－１は、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＮＰ＿０３２１２７に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記マウスＧＬＰ－１は、当該技術分野で公知の他のマウスＧＬＰ－１である。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１７３】

ある実施形態では、ウシインターフェロンαが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記ウシインターフェロンαは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＡＢＤ５７３１１に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ウシインターフェロンαは、当該技術分野で公知の他のウシインターフェロンαである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１７４】

ある実施形態では、ヒツジインターフェロンαが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記ヒツジインターフェロンαは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＣＡＡ４１７９０に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ヒツジインターフェロンαは、当該技術分野で公知の他のヒツジインターフェロンαである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１７５】

ある実施形態では、ブタインターフェロンαが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記ブタインターフェロンαは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＡＡＰ９２１１８に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記ブタインターフェロンαは、当該技術分野で公知の他のブタインターフェロンαである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１７６】

ある実施形態では、マウスインターフェロンαが、本発明に係る方法で使用される。ある実施形態では、前記マウスインターフェロンαは、ＮＣＢＩの配列ＩＤ番号ＡＡＡ３７

８８６に記載の配列を有する。他の実施形態では、前記マウスインターフェロンαは、当該技術分野で公知の他のマウスインターフェロンαである。各可能な形態は、本発明の異なる実施形態に相当する。

【０１７７】

いくつかの実施形態では、ＣＴＰの修飾は、投与量を低下させることが可能になる点で有益である。

【０１７８】

いくつかの実施形態では、本明細書で使用される「ポリペプチド」は、未変性ポリペプチド（分解産物、人工的に合成されたポリペプチド、又は組換えポリペプチドのいずれか）及びペプチド様物質（典型的には、人工的に合成されたポリペプチド）と、ポリペプチド類似体であるペプトイド及びセミペプトイドとを含み、これらは、いくつかの実施形態では、ポリペプチドを、体内で更に安定させる又は細胞への浸透をより可能にするようにする修飾を有する。

【０１７９】

いくつかの実施形態では、修飾は、限定されるものではないが、Ｎ末端修飾、Ｃ末端修飾、ポリペプチド結合修飾（限定されるものではないが、ＣＨ２－ＮＨ、ＣＨ２－Ｓ、ＣＨ２－Ｓ＝Ｏ、Ｏ＝Ｃ－ＮＨ、ＣＨ２－Ｏ、ＣＨ２－ＣＨ２、Ｓ＝Ｃ－ＮＨ、ＣＨ＝ＣＨ又はＣＦ＝ＣＨを含む）、主鎖修飾及び残基修飾を含む。ペプチド様化合物を作製する方法は、当該技術分野では公知であり、例えば、「Quantitative Drug Design, CA. Rarnsden Gd., Chapter 17.2, F. Choplin Pergamon Press (1992)」に記載されている（この参照により、本明細書中に組み込まれるものとする）。以下、この点について、更に詳しく説明する。

【０１８０】

いくつかの実施形態では、ポリペプチド内のポリペプチド結合（－ＣＯ－ＮＨ－）が置換される。いくつかの実施形態では、前記ポリペプチド結合は、Ｎ－メチル化結合（－Ｎ（ＣＨ３）－ＣＯ－）によって置換される。いくつかの実施形態では、前記ポリペプチド結合は、エステル結合（－Ｃ（Ｒ）Ｈ－Ｃ－Ｏ－Ｏ－Ｃ（Ｒ）－Ｎ－）によって置換される。いくつかの実施形態では、前記ポリペプチド結合は、ケトメチレン結合（－ＣＯ－ＣＨ２－）によって置換される。いくつかの実施形態では、前記ポリペプチド結合は、αアザ結合（－ＮＨ－Ｎ（Ｒ）－ＣＯ－）によって置換される（Ｒは任意のアルキルであり、例えば、メチル、カルバ結合（－ＣＨ２－ＮＨ－）である）。いくつかの実施形態では、前記ポリペプチド結合は、ヒドロキシエチレンジアミン結合（－ＣＨ（ＯＨ）－ＣＨ２－）によって置換される。いくつかの実施形態では、前記ポリペプチド結合は、チオアミド結合（－ＣＳ－ＮＨ－）によって置換される。いくつかの実施形態では、前記ポリペプチド結合は、オレフィン二重結合（－ＣＨ＝ＣＨ－によって置換される。いくつかの実施形態では、前記ポリペプチド結合は、レトロアミド結合（－ＮＨ－ＣＯ－）によって置換される。いくつかの実施形態では、前記ポリペプチド結合は、ポリペプチド誘導体（－Ｎ（Ｒ）－ＣＨ２－ＣＯ－）によって置換される（Ｒは、炭素原子に天然に存在する「直鎖状」側鎖である）。いくつかの実施形態では、これらの修飾は、ポリペプチド鎖における前記結合のいずれかで生じ、いくつかの結合（２～３個の結合）において同時に生じる場合もある。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドの天然芳香族アミノ酸（Ｔｒｐ、Ｔｙｒ及びＰｈｅなど）は、フェニルグリシン、ＴＩＣ、ナフチルアミン（Ｎｏｌ）、Ｐｈｅの環メチル化誘導体、Ｐｈｅのハロゲン化誘導体、又はｏ－メチル－Ｔｙｒなどの非天然の合成酸に置換される。いくつかの実施形態では、本発明のポリペプチドは、１つ以上の修飾アミノ酸又は１つ以上の非アミノ酸単量体（例えば、脂肪酸、複合糖質など）を含む。

【０１８２】

ある実施形態では、「アミノ酸」は、２０種類の天然に存在するアミノ酸を含み、これらのアミノ酸は、多くの場合、翻訳後にインビボで修飾され、例えば、ヒドロキシプロリ

ン、ホスホセリン及びホスホスレオニンを含み、他の異常アミノ酸は、限定されるものではないが、２－アミノアジピン酸、ヒドロキシリジン、イソデスモシン、ノルバリン、ノルロイシン及びオルニチンを含むことを理解されたい。ある実施形態では、「アミノ酸」は、Ｄ－アミノ酸及びＬ－アミノ酸の両方を含む。

【０１８３】

いくつかの実施形態では、本発明のポリペプチドは、ポリペプチドが水溶性であることが要求される治療に利用される。いくつかの実施形態では、本発明のポリペプチドは、これに限定されるものではないが、ヒドロキシル含有側鎖によってポリペプチドの溶解性を増大させることができるセリン及びスレオニンを含む１つ以上の非天然又は天然の極性アミノ酸を含む。

【０１８４】

いくつかの実施形態では、本発明のポリペプチドは、直鎖状で利用される。ただし、環状にしてもポリペプチド特性を著しく妨げないような場合は、環状ポリペプチドも利用可能であることは当業者には理解されるであろう。

【０１８５】

いくつかの実施形態では、本発明のポリペプチドは、例えば標準的な固相技術を用いることによって、生化学的に合成される。いくつかの実施形態では、これらの生化学的方法には、独占的固相合成法、部分的固相合成法、フラグメント縮合、又は古典的な液相合成法が含まれる。いくつかの実施形態では、これらの方法は、ポリペプチドが比較的短い（約５～１５ｋＤａ）とき、及び／又はポリペプチドが組換え技術によって合成することができず（即ち、核酸配列によってコード化されない）、それゆえに異なる化学的性質を含むときに用いられる。

【０１８６】

いくつかの実施形態では、固相ポリペプチド合成手順は、当業者に公知であり、さらにまた「John Morrow Stewart and Janis Dillaha Young, Solid Phase Polypeptide Syntheses (2nd Ed., Pierce Chemical Company, 1984)」に記載されている。いくつかの実施形態では、合成ポリペプチドは、分取高速液体クロマトグラフィーによって精製され（Creighton T. (1983) Proteins, structures and molecular principles. WH Freeman and Co. N.Y.）、その成分は、当業者に知られている方法によってアミノ酸配列決定法によって確認することができる。

【０１８７】

いくつかの実施形態では、組換えタンパク質技術が、本発明のポリペプチドを産生するために用いられる。いくつかの実施形態では、組換えタンパク質技術は、比較的長いポリペプチド（例えば１８～２５アミノ酸より長い）の産生のために用いられる。いくつかの実施形態では、組換えタンパク質技術は、本発明のポリペプチドを大量に産生するのに用いられる。いくつかの実施形態では、組換え技術は、「Bitter et al., (1987) Methods in Enzymol. 153:516-544、Studier et al. (1990) Methods in Enzymol. 185:60-89、Brisson et al. (1984) Nature 310:511-514、Takamatsu et al. (1987) EMBO J. 6:307-311、Coruzzi et al. (1984) EMBO J. 3: 1671-1680、Brogli et al., (1984) Science 224:838-843、Gurley et al. (1986) MoI. Cell. Biol. 6:559-565、Weissbach & Weissbach, 1988, Methods for Plant Molecular Biology, Academic Press, NY, Section Vm, pp 421-463」に記載されている。

【０１８８】

ある実施形態では、本発明のポリペプチドは、本発明のポリペプチドをエンコードするポリヌクレオチドを用いて合成される。いくつかの実施形態では、本発明のポリペプチドをエンコードするポリヌクレオチドは、発現ベクターに連結されて、シス制御配列（例えばプロモータ配列）の転写調節を含む。いくつかの実施形態では、シス制御配列は、本発明のポリペプチドの構成的な発現を調整するのに適している。いくつかの実施形態では、シス制御配列は、本発明のポリペプチドの組織特異的な発現を調整するのに適している。いくつかの実施形態では、シス制御配列は、本発明のポリペプチドの誘導性発現を調整す

るのに適している。

【０１８９】

いくつかの実施形態では、本発明のポリペプチドを発現するポリヌクレオチドは、配列番号２０、２１、４４、４５及び４６に記載されている。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、本発明と併用するのに適する組織特異的プロモータは、特定の細胞集団において機能し得る配列を含み、例を挙げれば、これらに限定されるものではないが、肝臓特異的であるアルブミンなどのプロモータ（Pinkert et al., (1987) Genes Dev. 1:268-277）、リンパ球特異的プロモータ（Calame et al., (1988) Adv. Immunol. 43:235-275）、とりわけ、Ｔ細胞受容体（Winoto et al., (1989) EMBO J. 8:729-733）及び免疫グロブリン（Banerji et al. (1983) Cell 33729-740）のプロモータ、ニューロフィラメントプロモータなどのニューロン特異的プロモータ（Byrne et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:5473-5477）膵臓特異的プロモータ（Edlunch et al. (1985) Science 230:912-916）又は乳漿プロモータなどの乳腺特異的プロモータ（米国特許第４，８７３，３１６号及び欧州出願公開第２６４，１６６号明細書）が含まれる。本発明と併用するのに適する誘導プロモータは、例えば、テトラサイクリン誘導プロモータを含む（Srour, M.A., et al., 2003. Thromb. Haemost. 90: 398-405）。

【０１９１】

ある実施形態では、「ポリヌクレオチド」という用語は、単離され、ＲＮＡ配列、相補的ポリヌクレオチド配列（ｃＤｌＶＡ）、ゲノムポリヌクレオチド配列及び／又は合成ポリヌクレオチド配列（例えば上記の組合せ）の形で提供される、一本鎖又は二本鎖の核酸配列を指す。

【０１９２】

ある実施形態では、「相補的ポリヌクレオチド配列」は、逆転写酵素又は任意の他のＲＮＡ依存性ＤＮＡポリメラーゼを用いてメッセンジャーＲＮＡの逆転写によって生じる配列を指す。ある実施形態では、前記配列は、その後、ＤＮＡポリメラーゼを用いてインビボ又はインビトロで増幅させることができる。

【０１９３】

ある実施形態では、「ゲノムポリヌクレオチド配列」は、染色体由来の（染色体から単離された）配列を指し、それゆえ、染色体の隣接部分を表す。

【０１９４】

ある実施形態では、「合成ポリヌクレオチド配列」は、少なくとも部分的に相補的でかつ少なくとも部分的にゲノミックであるような配列を指す。ある実施形態では、合成配列は、本発明のポリペプチドをエンコードするのに必要なエキソンの配列と、それらの間に介在するイントロンの配列とを含むことができる。ある実施形態では、イントロンの配列は、他の遺伝子由来である場合があり、典型的には、保存されたスプライシングシグナル配列を含む。ある実施形態では、イントロンの配列は、シス発現調整エレメントを含む。

【０１９５】

ある実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドの分泌のためのシグナルペプチドをコード化するシグナル配列を更に含む。いくつかの実施形態では、前記シグナル配列は、限定されるものではないが、配列番号１９に記載されているＥＰＯのための内在シグナル配列又は配列番号２６に記載されているＩＦＮ－Ｄ１のための内在シグナル配列を含む。他の実施形態では、前記シグナル配列は、ＣＴＰ配列のＮ末端であり、ＣＴＰ配列は目的のポリペプチド配列のＮ末端であって、例えば配列は（ａ）シグナル配列－（ｂ）ＣＴＰ－（ｃ）目的の配列－（ｄ）１つ以上のさらなるＣＴＰ配列（随意的）である。他の実施形態では、１つ以上のＣＴＰ配列は、目的のポリペプチド配列のシグナル配列と目的のポリペプチド配列それ自体の間に挿入されており、それ故に、目的の野生型配列を中断する。各可能性な形態は、本発明の異なる実施形態を表す。

【０１９６】

ある実施形態では、発現及び分泌に続いて、シグナルペプチドは前駆体タンパク質から

切断され、成熟タンパク質を生じさせる。

【０１９７】

いくつかの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、実施例１で説明するＰＣＲ法又は任意の他の方法又は当業者に周知の手順を用いて作製される。いくつかの実施形態では、前記手順は、２つの異なるＤＮＡ配列の連結反応を含む（例えば "Current Protocols in Molecular Biology", eds. Ausubel et al., John Wiley & Sons, 1992 を参照されたい）。

【０１９８】

ある実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、組換えポリペプチドの発現を可能にするように発現ベクター（即ち核酸構築物）に挿入される。ある実施形態では、本発明の発現ベクターは、このベクターを原核生物における複製及び組込みに適したものにするような追加配列を含む。ある実施形態では、本発明の発現ベクターは、このベクターを真核生物における複製及び組込みに適したものにするような追加配列を含む。ある実施形態では、本発明の発現ベクターは、このベクターを原核生物及び真核生物の両方における複製及び組込みに適したものにするようなシャトルベクターを含む。いくつかの実施形態では、クローニングベクターは、転写及び翻訳開始配列（例えば、プロモータ、エンハンサー）及び転写及び翻訳ターミネーター（例えば、ポリアデニレーションシグナル）を含む。

【０１９９】

ある実施形態では、様々な原核又は真核細胞が、本発明のポリペプチドを発現するために宿主発現系として用いることができる。いくつかの実施形態では、宿主発現系として、これらに限定されるものではないが、微生物（例えば、ポリペプチドコード配列を含む組換えバクテリオファージＤＮＡ、プラスミドＤＮＡ又はコスミドＤＮＡ発現ベクターで形質転換された細菌）、ポリペプチドコード配列を含む組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母、組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルスＣａＭＶ、タバコモザイクウイルス、ＴＭＶ）に感染した或いはポリペプチドコード配列を含むＴｉプラスミドなどの組換えプラスミド発現ベクターで形質転換された植物細胞系がある。

【０２００】

いくつかの実施形態では、本発明のポリペプチドを発現するために、非細菌発現系（例えばＣＨＯ細胞などの哺乳動物発現系）が用いられる。ある実施形態では、哺乳動物細胞において本発明のポリヌクレオチドを発現するために用いられる発現ベクターは、ＣＭＶプロモータ及びネオマイシン耐性の遺伝子を含むｐＣＩ－ＤＨＦＲベクターである。ある実施形態に係るｐＣＩ－ｄｈｆｒベクターの構築は、実施例１に記載されている。

【０２０１】

いくつかの実施形態では、本発明の細菌系において、発現を目的とするポリペプチドに応じて、様々な発現ベクターを好適に選択することができる。ある実施形態では、大量のポリペプチドが望まれる。ある実施形態では、タンパク質産物が容易に精製される培地又は細菌のペリプラズム内に発現産物を導くような疎水性シグナル配列との融合体として、高レベルのタンパク質産物の発現を提供するベクターが望まれる。ある実施形態では、特定の融合タンパク質が、ポリペプチドの回収に役立つような特定の切断部位を有するように操作される。ある実施形態では、そのような操作に適応できるベクターは、限定されるものではないが、大腸菌発現ベクターのｐＥＴシリーズを含む（Studier et al., Methods in Enzymol. 185:60-89 (1990)）。

【０２０２】

ある実施形態では、酵母発現系が用いられる。ある実施形態では、構成プロモータ又は誘導プロモータを含む多くのベクターは、米国特許出願第５，９３２，４４７号明細書に開示されているような酵母において用いることができる。他の実施形態では、外来ＤＮＡ配列の酵母染色体への組込みを促進するベクターが用いられる。

【０２０３】

ある実施形態では、本発明の発現ベクターは、例えば単一のｍＲＮＡからの幾つかのタ

ンパク質の翻訳を可能にするさらなるポリヌクレオチド配列（内部リボソーム侵入部位（ＩＲＥＳ）など）、及びプロモーターキメラポリペプチドのゲノム組込みのための配列を更に含むことができる。

【０２０４】

いくつかの実施形態では、哺乳動物の発現ベクターは、これらに限定されるものではないが、ｐｃＤＮＡ３、ｐｃＤＮＡ３．１（＋／－）、ｐＧＬ３、ｐＺｅｏＳｖ２（＋／－）、ｐＳｅｃＴａｇ２、ｐＤｉｓｐｌａｙ、ｐＥＦ／ｍｙｃ／ｃｙｔｏ、ｐＣＭＶ／ｍｙｃ／ｃｙｔｏ、ｐＣＲ３．１、ｐＳｉｎＲｅｐ５、ＤＨ２６Ｓ、ＤＨＢＢ、ｐＮＭＴ１、ｐＮＭＴ４１、ｐＮＭＴ８１（これらはInvitrogen社から入手可能である）、ｐＣＩ（これはPromega社から入手可能である）、ｐＭｂａｃ、ｐＰｂａｃ、ｐＢＫ－ＲＳＶ、ｐＢＫ－ＣＭＶ（これらはストラタジーン社から入手可能である）、ｐＴＲＥＳ（これはClontech社から入手可能である）、及びそれらの誘導体を含む。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、レトロウイルスなどの真核性ウイルスからの調整要素を含む発現ベクターが本発明によって用いられる。ＳＶ４０ベクターは、ｐＳＶＴ７及びｐＭＴ２を含む。いくつかの実施形態では、ウシ乳頭腫ウイルス由来のベクターはｐＢＶ－１ＭＴＨＡを含み、エプスタイン・バーウイルス由来のベクターはｐＨＥＢＯ及びｐ２Ｏ５を含む。他の例示的なベクターは、ｐＭＳＧ、ｐＡＶ００９／Ａ$^{+}$、ｐＭＴＯ１０／Ａ$^{+}$、ｐＭＡＭｎｅｏ－５、バキュロウイルスｐＤＳＶＥを含み、ＳＶ－４０初期プロモータ、ＳＶ－４０後期プロモータ、メタロチオネインプロモータ、マウス乳腺癌ウイルスプロモータ、ラウス肉腫ウイルスプロモータ、ポリヘドリンプロモータ、又は真核細胞において発現に対して効果的であることが明らかである他のプロモータの調整下でタンパク質の発現を可能にする任意の他のベクターを含む。

【０２０６】

いくつかの実施形態では、組換えウイルスベクターは、本発明のポリペプチドのインビボ発現に有用であるが、それというのも、組換えウイルスベクターは、ラテラル感染（lateral infection）及び標的特異性などの利点を提供するからである。ある実施形態では、ラテラル感染は、例えばレトロウイルスの生活環に固有のものであり、そのプロセスによって、１つの感染した細胞が、出芽しかつ近隣の細胞を感染させるような子孫ビリオンを多数産出する。ある実施形態では、その結果として広い領域が急速に感染するが、そのほとんどは最初に原型のウイルス粒子によって感染しなかったところである。ある実施形態では、ラテラルに拡散することができないウイルスベクターが産生される。ある実施形態では、この特性は、目的が特定の遺伝子を限定された数の標的細胞内のみに導入することであるならば、有用であることがある。

【０２０７】

ある実施形態では、本発明の発現ベクターを細胞に導入するために、種々の方法を用いることができる。そのような方法は、「Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Springs Harbor Laboratory, New York (1989, 1992)、Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Baltimore, Md. (1989)、Chang et al., Somatic Gene Therapy, CRC Press, Ann Arbor, Mich. (1995)、Vega et al., Gene Targeting, CRC Press, Ann Arbor Mich. (1995)、Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses, Butterworths, Boston Mass. (1988)、Gilboa et at. [Biotechniques 4 (6): 504-512, 1986]」に概ね記載されており、例えば、安定又は一時的トランスフェクション、リポフェクション、電気穿孔法、及び組換えウイルスベクターによる感染を含む。更に、ポジティブネガティブ選択法に関しては、米国特許第５，４６４，７６４号及び第５，４８７，９９２号明細書を参照されたい。

【０２０８】

いくつかの実施形態では、ウイルス感染による核酸の導入は、ウイルスの感染性のおかげでより高いトランスフェクション効率が得られるので、リポフェクション及び電気穿孔法などの他の方法に比べて幾つかの利点を有する。

【０２０９】
ある実施形態では、当然のことながら、本発明のポリペプチドは、上記した任意の適切な投与方法を用いて個体に投与された核酸構築物から発現されることもできる（即ち、インビボ遺伝子治療）。ある実施形態では、核酸構築物は、適切な遺伝子運搬手段／方法（トランスフェクション、形質導入、相同組換えなど）と、必要に応じて発現系とにより、適切な細胞に導入され、その後、改変された細胞は培養液中で増殖して個体に戻される（即ち、エキソビボ遺伝子治療）。
【０２１０】
ある実施形態では、ＥＰＯを用いたインビボ遺伝子治療は、げっ歯類（Bohl et al., Blood. 2000; 95:2793-2798）、霊長類（Gao et al., Blood, 2004, Volume 103, Number 9）などの動物モデルにおいて試みられ、慢性腎不全の患者に対するヒト臨床試験において成功した（Lippin et al Blood 2005, 106, Number 7）。
【０２１１】
ある実施形態では、植物発現ベクターが用いられる。ある実施形態では、配列をコードするポリペプチドの発現は、多くのプロモータによって推進される。いくつかの実施形態では、ＣａＭＶの３５Ｓ ＲＮＡ及び１９Ｓ ＲＮＡプロモータ（Brisson et aL, Nature 310:511-514 (1984)）又はＴＭＶのコートタンパク質プロモータ（Takamatsu et al., EMBO J. 6:307- 311 (1987)）などのウイルスプロモータが用いられる。他の実施形態では、例えば、ＲＵＢＩＳＣＯ小サブユニット（Coruzzi et aL, EMBO J. 3:1671-1.680 (1984); and Brogli et al., Sci&ncQ 224:838-843 (1984)）又は熱ショックプロモータ（例えば、ダイズｈｓｐ１７．５－Ｅ又はｈｓｐ１７．３－Ｂ）（Gurley et al., MoI. Cell. Biol. 6:559-565 (1986)）などの植物プロモータが用いられる。ある実施形態では、構築物は、Ｔｉプラスミド、Ｒｉプラスミド、植物ウイルスベクター、直接ＤＮＡ形質転換、微量注射法、電気穿孔法、及びその他の当業者に公知の技術を用いて、植物細胞に導入される。例えば、「Weissbach & Weissbach [Methods for Plant Molecular Biology, Academic Press, NY, Section VIII, pp 421-463 (1988)]」を参照されたい。当該技術分野で周知である、昆虫及び哺乳動物の宿主細胞系などの他の発現系も、本発明で用いることができる。
【０２１２】
当然のことながら、本発明の発現構築物は、（ポリペプチドをエンコードする）挿入コード配列の転写及び翻訳のための必要要素以外にも、発現されたポリペプチドの安定性、産生、精製、収率又は活性を最適化するように操作された配列を含むこともできる。
【０２１３】
いくつかの実施形態では、本発明の発現ベクターを宿主細胞系に導入するために種々の方法が用いられることができる。いくつかの実施形態では、そのような方法は、「Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Springs Harbor Laboratory, New York (1989, 1992)、Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Baltimore, Md. (1989)、Chang et al., Somatic Gene Therapy, CRC Press, Ann Arbor, Mich. (1995)、Vega et al., Gene Targeting, CRC Press, Ann Arbor Mich. (1995)、Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses, Butterworths, Boston Mass. (1988)、Gilboa et at. [Biotechniques 4 (6): 504-512; 1986]」に概ね記載されており、例えば、安定又は一時的トランスフェクション、リポフェクション、電気穿孔法、及び組換えウイルスベクターによる感染を含む。更に、ポジティブネガティブ選択法に関しては、米国特許第５，４６４，７６４号及び第５，４８７，９９２号明細書を参照されたい。
【０２１４】
いくつかの実施形態では、形質転換された細胞は、豊富な量の組換えポリペプチドの発現を可能にさせるような、効果的な条件下で培養される。いくつかの実施形態では、効果的な培養条件は、限定されるものではないが、タンパク質産出を許すような、効果的な培地、バイオリアクター、温度、ｐＨ及び酸素条件を含む。ある実施形態では、効果的な培

地は、本発明の組換えポリペプチドを産生するように細胞が培養される任意の培地を指す。いくつかの実施形態では、培地は、通常、同化できる炭素、窒素及びリン酸塩源を有する水溶液と、適切な塩、ミネラル、金属及び他の栄養素、例えばビタミンなどを含む。いくつかの実施形態では、本発明の細胞は、従来の発酵バイオリアクター、振盪フラスコ、試験管、微量定量皿及びペトリ皿において培養されることができる。いくつかの実施形態では、培養は、組換え細胞に適した温度、ｐＨ及び酸素含有量で行われる。いくつかの実施形態では、培養条件は、当業者の専門知識の範囲内である。

【０２１５】

いくつかの実施形態では、産生のために用いられるベクター及び宿主系に応じて、結果として生じる本発明のポリペプチドは、組換え細胞内に留まるか、発酵培地に分泌されるか、２つの細胞性膜間（大腸菌におけるペリプラズムなど）の空間に分泌されるか、細胞又はウイルス性膜の外面上に保持されるかのいずれかである。

【０２１６】

ある実施形態では、所定時間培養した後に、組換えポリペプチドが回収される。

【０２１７】

ある実施形態では、本明細書で用いられている「組換えポリペプチドを回収する」なる語は、ポリペプチドを含む全発酵培地を集めることを指し、追加の分離又は精製ステップを必ずしも伴わない。

【０２１８】

ある実施形態では、本発明のポリペプチドは、これらに限定されるものではないが、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、濾過、電気泳動法、疎水性相互作用クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、コンカナバリンＡクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、選択的可溶化などの様々な標準タンパク質精製技術を用いて精製される。

【０２１９】

ある実施形態では、回収を容易にするために、発現したコード配列を、本発明のポリペプチド及び融合切断可能部分をエンコードするように操作することができる。ある実施形態では、融合タンパク質は、ポリペプチドがアフィニティークロマトグラフィーによって容易に単離される（例えば、切断可能な部位に特異的なカラムに固定することによって）ことができるようにデザインすることができる。ある実施形態では、切断部位はポリペプチドと切断可能部分の間に位置するように操作され、この部位で融合タンパク質を特異的に切断するような適切な酵素又は薬剤での処置によってポリペプチドはクロマトグラフィーのカラムから放出することができる（例えば、Booth et al., Immunol. Lett. 19:65-70 (1988)、Gardella et al., J. Biol. Chem. 265:15854- 15859 (1990)を参照）。

【０２２０】

ある実施形態では、本発明のポリペプチドは、「実質的に純粋」な形態で回収される。

【０２２１】

ある実施形態では、「実質的に純粋」という用語は、本明細書に記載の用途において、タンパク質の効果的な利用を可能にするような純度を指す。

【０２２２】

ある実施形態では、本発明のポリペプチドは、インビトロ発現系を用いて合成することもできる。ある実施形態では、インビトロ合成方法は当該技術分野では公知であり、前記インビトロ発現の構成要素は市販されている。

【０２２３】

ある実施形態では、組換えＤＮＡ技術を用いたＣＴＰ－ＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドの産出は、実施例１に示されている。

【０２２４】

いくつかの実施形態では、組換えポリペプチドは、合成及び精製され、その治療効果は、インビボ又はインビトロのいずれかで分析することができる。ある実施形態では、本発明の組換えＥＰＯポリペプチドの結合活性は、実施例２～６及び８～９に記載の様々な分

析法を使用して確認することができる。ある実施形態では、インビトロ結合活性は、ＴＦ－１細胞の増殖を刺激するポリペプチドの能力を測定することによって確認される。ある実施形態では、インビボ活性は、ヘマトクリットレベル（図３～図５）を分析することによって、及び／又は網状赤血球のパーセンテージとして導き出される。

【０２２５】

ある実施形態では、本発明のＥＰＯポリペプチドは、様々なエリスロポエチン関連疾患の対象の治療に使用することができる。いくつかの実施形態では、前記対象は、人間である。

【０２２６】

ある実施形態では、「エリスロポエチン関連疾患」という用語は、エリスロポエチンの正常以下の、異常な又は不適切な変化に関連するあらゆる病状を意味する。ある実施形態では、前記病状に関連するエリスロポエチンのレベルは、当該技術分野で容認され使用される任意の測定方法によって測定される。ある実施形態では、エリスロポエチン関連疾患は一般に、貧血症を含む。

【０２２７】

いくつかの実施形態では、「貧血症」は、貧血に関連するあらゆる病状、疾患又は疾病を意味する。いくつかの実施形態では、貧血症は、これらに限定されるものではないが、再生不良性貧血、自己免疫性溶血性貧血、骨髄移植、チャーグ・ストラウス症候群、Diamond Blackfan貧血、ファンコーニ貧血、フェルティ症候群、移植片対宿主病、造血幹細胞移植、溶血性尿毒症症候群、骨髄異形成症候群、発作性夜間血色素尿症、骨髄腫症、汎血球減少症、赤芽球癆、シェーンライン・ヘノッホ紫斑病、鉄芽球性貧血、過剰な芽球を伴う不応性貧血、リウマチ性関節炎、シュワッハマン症候群、鎌状赤血球病、サラセミアメジャー、サラセミアマイナー、血小板減少性紫斑病などを含む。

【０２２８】

ある実施形態では、本発明は、ＣＴＰ－ｈＧＨ－ＣＴＰポリペプチドを含む。ある実施形態では、実施例７に示すように、ＣＴＰ－ｈＧＨ・ＣＴＰポリペプチドの生成に組換えＤＮＡ技術が使用される。ある実施形態では、本発明のＣＴＰ－ｈＧＨ－ＣＴＰポリペプチドの治療効果は、インビボで測定される。ある実施形態では、本発明のＣＴＰ－ｈＧＨ－ＣＴＰポリペプチドの治療効果は、インビトロで測定される。ある実施形態では、本発明の組換え型ｈＧＨポリペプチドの結合活性は、予めヒト成長ホルモン受容体でトランスフェクトされたＮｂ２（プロラクチン依存性ラットのリンパ腫細胞株（ＥＣＡＣＣ細胞バンク））又はＦＣＤ－Ｐ１マウス細胞株を使用して測定される。ある実施形態では、ｈＧＨをこれらの受容体と結合させることにより、細胞増殖が誘導される。前記細胞増殖は、ある実施形態では、ｈＧＨ活性の関数としてのＭＴＴ細胞株のレベルにより測定される。ある実施形態では、インビボ活性は、治療した成長ホルモン欠乏動物の所定期間における重量増加を測定することにより推定される。

【０２２９】

いくつかの実施形態では、本発明のヒト成長ホルモン・ポリペプチドは、次に列記するような成長及び体重に関連する疾患の対象の治療に使用される。発育不全症、ＡＩＤＳ消耗症、老化、ＨＩＶ感染患者の免疫機能障害、異化作用症術後回復、うっ血性心筋症、肝臓移植、肝切除後の肝再生、慢性腎不全、腎性骨ジストロフィー、骨粗しょう症、軟骨無形成症／軟骨低形成症、骨異形成症、慢性炎症性腸疾患又は栄養障害（例えば、クローン病）、短腸症候群、若年性慢性関節炎、嚢胞性線維症、男性不妊、Ｘ連鎖性低リン酸血症性くる病、ダウン症候群、二分脊椎症、ヌーナン症候群、肥満、筋力障害、及び線維筋痛など。

【０２３０】

いくつかの実施形態では、本発明のインターフェロン・ポリペプチドは、次の疾患を治療するのに使用される。ヘアリー細胞白血病（hairy cell leukemia：ＨＣＬ）、カポジ肉腫（Kaposi's sarcoma：ＫＳ）、慢性骨髄性白血病（chronic myelogenous leukemia：ＣＭＬ）、慢性Ｃ型肝炎（chronic hepatitis Ｃ：ＣＨＣ）、尖圭コンジローム（condylo

mata acuminata：ＣＡ）、慢性Ｂ型肝炎、悪性黒色腫、濾胞性非ホジキンリンパ腫、多発性硬化症、慢性肉芽腫症、マイコバクテリウム・アビウムコンプレックス（mycobacterium avium complex：ＭＡＣ）症、肺線維症、及び骨粗しょう症など。

【０２３１】

いくつかの実施形態では、本発明のグルカゴン様ペプチド－１（ＧＬＰ－１）ポリペプチドが、次の疾患を有する患者を治療するのに使用される。非インスリン依存型糖尿病、肥満、脳卒中、心筋梗塞、脳梗塞、ストレス誘導性高血糖症、又は過敏性腸症候群。

【０２３２】

ある実施形態では、本発明のポリペプチドは、それ自体が固体に提供される。ある実施形態では、本発明のポリペプチドは、薬学的に許容される担体と混合されて、薬学的組成物の一部として固体に提供される。

【０２３３】

ある実施形態では、「薬学的組成物」は、本明細書で説明した１つ以上の有効成分を、他の化学成分（生理学的に適切な担体、賦形剤など）と共に含む製剤である。薬学的組成物は、生物への化合物の投与を容易にすることを目的としている。

【０２３４】

ある実施形態では、「有効成分」は、生物学的効果に対して責任がある目的のポリペプチド配列を意味する。

【０２３５】

いくつかの実施形態では、本発明の組成物のいずれも、目的のタンパク質に結合した少なくとも２つの任意のＣＴＰ配列を含む（任意の形態で）。ある実施形態では、本発明は、組み合わせられた製剤を提供する。ある実施形態では、「組み合わせられた製剤」は、「キット薬剤（kit of parts）」を意味する。前記キット薬剤における組み合わせられた成分は、独立して投与することができる。或いは、前記キット薬剤における前記組み合わせられた成分の量を変えた様々な固定された組み合わせを用いて投与可能である。すなわち、前記キット薬剤は、同時に、一斉に、別々に、又は連続して投与可能である。いくつかの実施形態では、前記キット薬剤の任意の部分を、同時に又は経時的に、異なる時点で、同じ若しくは異なる間隔で投与することができる。前記組み合わせる成分の総量の割合は、ある実施形態では、組み合わされた製剤に処方することができる。ある実施形態では、前記組み合わせられた製剤は、例えば、治療する患者の亜母集団の要求、又は特定の疾患、疾患の重症度、年齢、性別、又は体重に起因して要求が異なる単一の患者の要求に対処するために変更することができ、そのような変更は当業者であれば容易に行うことができる。

【０２３６】

ある実施形態では、「生理学的に許容される担体」及び「薬学的に許容される担体」という用語は同じ意味で使用され、生体を強く刺激せず、投与した組成物の生物学的活性及び性質を抑制しない担体又は希釈剤を意味する。補助剤は、これらの用語に含まれる。ある実施形態では、薬学的に許容される担体に含まれる成分の１つとしては、例えば、ポリエチレン・グリコール（polyethylene glycol：ＰＥＧ）や有機及び水性培地の両方に対して幅広い溶解度を示す、生体適合性ポリマーなどがある（Mutter et al. (1979)）。

【０２３７】

ある実施形態では、「賦形剤」は、有効成分の投与をさらに容易にすべく薬学的組成物に加えられる不活性物質を意味する。ある実施形態では、賦形剤は、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、様々な糖質及び種類のでんぷんセルロース誘導体、ゼラチン、直物油、及びポリエチレン・グリコールを含む。

【０２３８】

薬剤の製剤及び投与の技術は、「Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA, latest edition)」に開示されている（この参照により本明細書に組み込まれる）。

【０２３９】

ある実施形態では、適切な投与経路は、例えば、経口、直腸、経粘膜、経鼻、経腸、又は非経口投与を含む。非経口投与としては、筋肉内、皮下及び髄内注射、並びに、くも膜下、直接の脳室内、静脈内、腹膜内、鼻腔内、眼内注射がある。

【０２４０】

ある実施形態では、前記製剤は、例えば、前記製剤を患者身体の特定部位に注射することによって、全身ではなく局所に投与される。

【０２４１】

本発明の様々な実施形態では、様々な投与量の範囲を含む。本発明のポリペプチドの投与量は、ある実施形態では、０．０５～８０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、０．０５～５０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、０．１～２０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、０．１～１０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、０．１～５ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、０．５～５ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、０．５～５０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、５～８０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、３５～６５ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、２０～６０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、４０～６０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、４５～６０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、６０～１２０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、１２０～２４０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、４０～６０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、２４０～４００ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、４５～６０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、１５～２５ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、５～１０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、５５～６５ｍｇ／日の範囲である。

【０２４２】

ある実施形態では、前記投与量は、２０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、３０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、４０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、５０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、６０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、７０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、８０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、９０ｍｇ／日の範囲である。他の実施形態では、前記投与量は、１００ｍｇ／日の範囲である。

【０２４３】

経口投与は、ある実施形態では、例えば、錠剤、カプセル、トローチ、チュアブル錠、懸濁液、乳剤などの単位投与量形態を含む。そのような単位投与量形態は、安全で有効な量の前記所望の化合物を含む。前記安全で有効な量は、ある実施形態では、約０．７又は３．５ｍｇ～２８０ｍｇ／７０ｋｇであり、他の実施形態では、約０．５又は１０ｍｇ～２１０ｍｇ／７０ｋｇである。経口投与用の前記単位投与量形態の製剤に適した前記薬学的に許容される担体は、当該技術分野では周知である。ある実施形態では、錠剤は一般に、従来の薬学的に適合する不活性希釈剤としての補助剤（炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、マンニトール、ラクトース、セルロースなど）、結合剤（デンブン、ゼラチン、サッカロースなど）、潤滑剤（ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルク）を含む。ある実施形態では、粉状混合体の流動性を向上させるために、例えば二酸化ケイ素などの流動促進剤を使用することができる。ある実施形態では、外観のために、例えばＥＤ＆Ｃ染料などの着色剤を添加することができる。例えばアスパルテーム、サッカリン、メントール、ペパーミント、果実フレーバーなどの甘味料及び芳香料は、チュアブル錠剤にとって有用な補助材である。カプセル剤は一般に、上述した１つ以上の固体希釈剤を含む。ある実施形態では、担体組成物の選択は、本発明の目的には重要ではない、味、コスト及び保存安定性などの二次的な配慮に依存する。また、前記担体組成物は、当業者であれば容

易に作成することができる。

【０２４４】

ある実施形態では、経口投与剤は、予め定められた放出特性を含む。ある実施形態では、本発明の経口投与剤は、持続放出性の錠剤、カプセル剤、トローチ剤又はチュアブル錠剤を含む。ある実施形態では、本発明の経口投与剤は、徐放性の錠剤、カプセル剤、トローチ剤又はチュアブル錠剤を含む。ある実施形態では、本発明の経口投与剤は、即時放出性の錠剤、カプセル剤、トローチ剤又はチュアブル錠剤を含む。ある実施形態では、前記経口投与剤は、薬学的な有効成分の所望の放出性に従って、当業者に周知の方法によって作成される。

【０２４５】

非経口投与剤は、いくつかの実施形態では、溶液、乳液、懸濁液などを含む。いくつかの実施形態では、非経口投与剤に適する薬学的に許容される担体は、当該技術分野では周知である。液体の経口投与剤は、いくつかの実施形態では、約０．０１２～０．９３３％の、他の実施形態では約０．０３３～０．７％の目的の組成物を含む。

【０２４６】

いくつかの実施形態では、本発明に係る方法で使用する組成物は、溶液又は乳液を含む。また、いくつかの実施形態では、前記組成物は、安全で効果的な量の本発明の組成物（随意的に、局所的な経鼻投与用の他の組成物）を含有する水性溶液又は乳液を含む。いくつかの実施形態では、前記組成物は、前記組成物の経鼻投与による全身送達に使用される、約０．０１～１０．０％ｗ／ｖ、より好ましくは約０．１～２．０％ｗ／ｖの対象組成物を含む。

【０２４７】

他の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、液体製剤の静脈内注射、動脈内注射又は筋肉内注射によって投与される。いくつかの実施形態では、液体製剤としては、溶液、懸濁液、分散液、乳濁液、油などがある。ある実施形態では、前記薬学的組成物は、静脈内投与に適した形態に作成され、静脈内に投与される。他の実施形態では、本発明に係る薬学的組成物は、動脈内投与に適した形態に作成され、動脈内に投与される。他の実施形態では、本発明に係る薬学的組成物は、筋肉内投与に適した形態に作成され、筋肉内に投与される。

【０２４８】

さらに、他の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、局所投与に適した形態に作成され、体表面に局所的に投与される。適切な局所性製剤としては、ゲル、軟膏、クリーム、ローション、液滴などがある。局所的に投与するために、本発明の薬学的組成物は、さらなる適切な治療物質と組み合わされ、薬学的の許容される担体を用いて又は用いることなく、生理学的に認容される希釈液を含む溶液、懸濁液、又は乳状液として作成され投与される。

【０２４９】

ある実施形態では、本発明の薬学的組成物は、当該技術分野で周知の方法（例えば、従来の、混合、溶解、顆粒化、糖衣錠形成、微粒子化、乳化、カプセル化、封入化、又は凍結乾燥化のプロセス）によって製造される。

【０２５０】

ある実施形態では、本発明に従って使用する薬学的組成物は、前記生理学的に許容される担体は、有効成分を処理して薬学的に使用可能な製剤を作成することを容易にする賦形剤および補助剤を含む１つ以上の生理学的に許容される担体を使用する従来の方法によって作成される。ある実施形態では、製剤の作成は、選択される投与の経路に依存する。

【０２５１】

ある実施形態では、本発明の注入物質は、水溶液中に配合される。ある実施形態では、本発明の注入物質は、ハンクス溶液、リンガー液、又は生理食塩緩衝液などの生理学的に適合する緩衝液中に配合される。ある実施形態では、経粘膜投与のためには、浸透されるべきバリアに対して適した浸透剤が前記製剤に使用される。このような浸透剤は一般に、

当該分野で公知である。

【０２５２】

ある実施形態では、本明細書で説明された薬学的組成物は、ボーラス注入や持続注入などの非経口投与用に作成される。いくつかの実施形態では、注入用の製剤は、単位投与量形態（例えば、アンプル）又は複数用量容器の形態で、随意的に添加された保存剤と共に存在する。いくつかの実施形態では、前記組成物は、油性及び水性の賦形剤中の懸濁物、溶液又は乳剤であり、懸濁剤、安定化剤、及び／又は分散剤のような製剤化剤処方剤を含む。

【０２５３】

本発明に係る薬学的組成物はまた、いくつかの実施形態では、次に列記するようなものを含む。防腐剤（塩化ベンザルコニウム、チメロサールなど）、キレート剤（エデト酸塩など）、緩衝剤（リン酸塩、クエン酸塩、酢酸塩など）、等張化剤（塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセリン、マンニトールなど）、抗酸化物質（アスコルビン酸、アセチルシステイン、メタ重亜硫酸ナトリウムなど）、芳香剤、粘性調整剤（例えば、セルロース及びその誘導体を含むポリマー）、及び、これらの水性組成物のｐＨを必要に応じて調整するポリビニル・アルコール並びに酸及び塩基。前記記薬学的組成物はまた、局部麻酔薬又は他の有効成分を含み得る。前記記薬学的組成物は、スプレー、ミスト、液滴などの形態で使用することもできる。

【０２５４】

いくつかの実施形態では、非経口投与のための薬学的処方物は、水溶性形態での活性製剤の水溶液を含む。さらに、有効成分の懸濁物は、いくつかの実施形態では、適切な油性又は水性の注入用懸濁液として調製される。適切な親油性溶媒又は担体としては、いくつかの実施形態では、油脂（ゴマ油など）又は合成脂肪酸エステル（オレイン酸エチル、トリグリセリド又はリポソーム）がある。水性注入懸濁液は、ある実施形態では、カルボキシルメチル・セルロース・ナトリウム、ソルビトール又はデキストランなどの懸濁液の粘度を増加させ物質を含む。他の実施形態では、必要に応じて、懸濁物はまた、有効成分の溶解度を増加させる適切な安定剤又は薬剤を含み、高度に濃縮された溶液の作成を可能にする。

【０２５５】

他の実施形態では、活性化合物は、ヘシクル（特にリポソーム）中に存在する状態で送達される。詳細については、「Langer, Science 249: 1527-1533, 1990; Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, 353-365, 1989; Lopez-Berestein, ibid, 317-327」を参照されたい（主にibidを参照されたい）。

【０２５６】

他の実施形態では、制御放出システムによって送達される医薬組成物は、静脈内注入、植込型浸透圧ポンプ、経皮パッチ、リポソーム、又は他の投与形態で投与するように作成される。ある実施形態では、ポンプが使用される（例えば、「Langer, supra; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201, 1987; Buchwald et al., Surgery 88:507, 1980; Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574, 1989」を参照されたい）。他の実施形態では、高分子材料を使用することができる。さらなる別の実施形態では、制御放出システムは、治療標的すなわち脳の近くに設けることができる。このことにより、必要とされる投与量は、全身投与量と比べるとほんの少量で済む（例えば、「Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp.115-138, 1984」を参照されたい）。他の制御放出システムは、「Langer（Science 249:1527-1533, 1990）」によるレビューに記載されている。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、前記活性物質は、使用前に、適切な担体（例えば、殺菌された無ピロゲン水ベースの溶液）と共に粉末形状に形成される。いくつかの実施形態では、前記組成物は、噴霧又は吸入投与用に作成される。ある実施形態では、前記組成物は、噴

霧手段に装着された容器内に収容される。

【０２５８】

ある実施形態では、本発明の製剤は、座薬又は保持浣腸（例えば、カカオバター又は他のグリセリドのような従来の座薬基剤を含む）のような直腸組成物として作成される。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、本発明での使用に適した薬学的組成物は、意図する目的を達成するのに効果的な量の有効成分を含有する組成物を含む。ある実施形態では、治療に効果的な量とは、有効成分が症状を予防、緩和又は改善するのに、又は治療中の患者の生存を延長するのに効果的な量を意味する。

【０２６０】

ある実施形態では、治療に効果的な量の判断は、当業者の能力の範囲内にある。

【０２６１】

前記薬学的組成物は、次に列挙するものをさらに含む。防腐剤（塩化ベンザルコニウム、チメロサールなど）、キレート剤（エデト酸ナトリウムなど）、緩衝剤（リン酸塩、クエン酸塩、酢酸塩など）、等張化剤（塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセリン、マンニトールなど）、抗酸化物質（アスコルビン酸、アセチルシステイン、メタ重亜硫酸ナトリウムなど）、芳香剤、粘性調整剤（例えば、セルロース及びその誘導体を含むポリマー）、及び、これらの水性組成物のｐＨを必要に応じて調整するポリビニル・アルコール並びに酸及び塩基。前記薬学的組成物はまた、局部麻酔薬又は他の有効成分を含み得る。前記薬学的組成物は、スプレー、ミスト、液滴などの形態で使用することもできる。

【０２６２】

薬学的に許容される担体又はその成分となる物質のいくつかの例としては、次のものがある。糖（ラクトース、グルコース、サッカロースなど）、デンプン（コーンのデンプン、ジャガイモのデンプン）、セルロース及びその誘導体（カルボキシメチルセルロース、エチルセルロース、メチルセルロースなど）、トラガカント粉末、麦芽、ゼラチン、タルク、固体潤滑剤（ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウムなど）、硫酸カルシウム、植物性油（ピーナッツ油、綿実油、ゴマ油、オリーブ油、コーンオイル、テオブロマカカオ油など）、ポリオール（プロピレン・グリコール、グリセリン、ソルビトール、マンニトール、ポリエチレン・グリコールなど）、アルギン酸、乳化剤（Tween（登録商標）など）、湿潤剤（ラウリル硫酸ナトリウムなど）、着色剤、芳香料、錠剤成形剤、安定剤、抗酸化物質、防腐剤、無ピロゲン水、等張食塩水、及びリン酸緩衝液。前記組成物と共に使用される薬学的に許容される担体は、基本的には、組成物の投与方法に基づいて選択される。対象組成物を注入する場合は、ある実施形態では、薬学的に許容される担体は、ｐＨが約７．４に調整された血液適合性懸濁化剤を含有する、食塩水、生理食塩水である。

【０２６３】

さらに、前記薬学的組成物は、次に挙げるものをさらに含む。結合剤（アカシア、コーンスターチ、ゼラチン、カルボマー、エチルセルロース、グアーガム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポビドンなど）、崩壊剤（コーンスターチ、ジャガイモデンプン、アルギン酸、二酸化ケイ素、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、グアーガム、澱粉グリコール酸エステルナトリウムなど）、様々なｐＨ及びイオン強度の緩衝液（トリス－ＨＣＩ、アセテート、リン酸塩など）、洗剤（例えば、トウィーン２０、トウィーン８０、プルロニックＦ６８、胆汁酸塩）、プロテアーゼ阻害剤、界面活性剤（ラウリル硫酸ナトリウムなど）、浸透エンハンサー、可溶化剤（グリセロール、ポリエチレングリセロールなど）、抗酸化剤（アスコルビン酸、メタ重亜硫酸ナトリウム、ブチルヒドロキシアニソールなど）、安定剤（ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなど）、粘度上昇剤（カルボマー、コロイド状二酸化ケイ素、エチルセルロース、グアーガムなど）、甘味料（アスパルテーム、クエン酸など）、防腐剤（チメロサール、ベンジルアルコール、パラオキシ安息香酸エステル類など）、潤滑剤（ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレン・グリコール、ラウリル硫酸ナトリウムなど）、流動助剤（コロイド状二酸化ケイ素など

）、可塑剤（フタル酸ジエチル、クエン酸トリエチルなど）、乳化剤（カルボマー、ヒドロキシプロピルセルロース、ラウリル硫酸ナトリウムなど）、ポリマー被覆剤（例えば、ポロキサマー、ポロキサミンなど）、被覆剤及び膜形成剤（例えば、エチルセルロース、アクリル酸塩、ポリメタクリル酸塩）、及び／又は、アジュバント。

【０２６４】

シロップ、エリキシル剤、乳剤及び懸濁液用の担体としての一般的な成分としては、エタノール、グリセロール、プロピレン・グリコール、ポリエチレン・グリコール、サッカロース液、ソルビトール及び水がある。懸濁液の場合は、一般的な懸濁化剤は、メチルセルロース、カルボキシルメチル・セルロース・ナトリウム、セルロース（Ａｖｉｃｅｌ（登録商標）、ＲＣ－５９１など）、トラガカント及びアルギン酸ナトリウムを含む。一般的な湿潤剤は、レシチン及びポリエチレン・オキシド・ソルビタン（ポリソルベート８０など）がある。一般的な防腐剤は、メチルパラペン及び安息香酸ナトリウムを含む。また、他の実施形態では、経口液体組成物は、上述した甘味料、芳香料及び／又は着色剤などの１つ以上の組成物を含む。

【０２６５】

本発明の薬学的組成物は、活性物質を、ポリマー化合物（ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ヒドロゲルなど）の粒子状製剤や、リポソーム、マイクロエマルション、ミセル、単層若しくは多層状の小胞、赤血球ゴースト、又はスフェロプラストなどの活性物質と結合させたものを含む。そのような薬学的組成物は、物理的状態、溶解度、安定性、インビボでの放出速度、及びインビボでの排出速度に影響を及ぼす。

【０２６６】

ポリマー（ポロキサマー、ポロキサミンなど）で被覆された粒子状組成物も本発明に含まれる。また、組織特異性受容体、リガンド又は抗原に対する抗体と結合した化合物や、組織特異性受容体のリガンドと結合した化合物も本発明に含まれる。

【０２６７】

また、水溶性ポリマーの共有結合によって修飾された化合物も本発明に含まれる。前記水溶性ポリマーとしては、例えば、ポリエチレン・グリコール、ポリエチレン・グリコールとポリプロピレン・グリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニル・アルコール、ポリビニルピロリドン、及びポリプロリンがある。他の実施形態では、前記修飾された化合物は、対応する修飾されていない化合物と比較すると、静脈注射後に血液中で著しく長い半減期を示す。ある実施形態では、前記修飾は、前記化合物の水溶液中での溶解度を高め、凝集を防止し、前記化合物の物理的及び化学的安定性を向上させ、前記化合物の免疫原性及び反応性を著しく低下させる。他の実施形態では、前記ポリマー化合物を、修飾されていない化合物よりも低い頻度で又は少ない用量で投与することにより、インビボでの望ましい生物学的活性が得られる。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、薬剤の治療に効果的な量又は投与量は、インビトロ試験によって推定することができる。ある実施形態では、投与量は、動物モデルで策定することができ、このような情報は、ヒトにおいて有用な用量をより正確に決定するために使用することができる。

【０２６９】

ある実施形態では、本明細書で説明された有効成分の毒性及び治療効果は、インビトロ、細胞培養又は実験動物において標準的な薬学的手法によって決定することができる。ある実施形態では、インビトロ及び細胞培養分析並びに動物実験から得られたデータは、ヒトに使用する場合の投薬量範囲を策定するのに使用することができる。ある実施形態では、投薬量は、使用される投薬形態及び利用される投与経路に応じて変更される。ある実施形態では、正確な配合、投与経路、及び投薬量は、患者の状態を参照して、個々の医師によって選択される。（例えば、Finglら、1975、「The Pharmacological Basis of Therapeutics」、第１章、第１ページ）。

【０２７０】

ある実施形態では、治療する疾患の重症度及び反応性に応じて、薬剤投与は１回又は複数回行われる。薬剤投与を複数回行う場合は、数日から数週間の期間で、治療効果があるまで若しくは病状が改善されるまで続けられる。

【０２７１】

ある実施形態では、投与される組成物の量は、当然のことながら、処置される対象、疾患の重症度、投与方法、処方医師の判断などに応じる。

【０２７２】

ある実施形態では、適合する薬学的担体中に配合された本発明の製剤を含む組成物が、適切な容器に入れられ、示された疾患の治療のためにラベルされる。

【０２７３】

ある実施形態では、本発明の組成物は、所望であれば、活性成分を含有する単位投薬形態を１つ以上収容可能なパック又はディスペンサー装置（例えば、ＦＤＡ認可キット）に収容される。ある実施形態では、前記パックは、例えば、金属又はプラスチックホイル（例えば、ブリスターパック）を含む。ある実施形態では、前記パック又はディスペンサー装置には、投与のための説明書が添付されている。ある実施形態では、前記パック又はディスペンサー装置には、収容物に関係する注意文書が、製造、薬剤の使用及び販売を規制する政府機関によって規定された形態で添付されている。前記注意文書は、前記機関による前記組成物又はヒト又は動物への投与形態についての承認を反映している。そのような注意文書は、ある実施形態では、処方薬又は承認された製品挿入について、米国食品医薬品局に承認されてラベルされる。

【０２７４】

ある実施形態では、本発明のポリペプチドは、各成分のみで治療する場合と比べて治療効果を向上させるために、さらなる有効成分と共に個人に提供することができることに留意されたい。他の実施形態では、併用療法に関連する副作用に対抗するための措置が取られる（例えば、相補製剤の投与及び選択）。

【０２７５】

本発明のさらなる目的、利点及び新規な特徴は、限定するものではない以下の実施例によって、当業者にはより明らかになるであろう。さらに、上記に明記した及び特許請求の範囲に記載された本発明の各実施形態及び態様は、以下の実施例によって実験的な支持を得るであろう。

【実施例】

【０２７６】

一般的に、ここで使用する用語、及び本発明で使用する実験手段は、分子技術、生物化学技術、微生物学的技術、及び組み換えＤＮＡ技術に関する。そのような技術は、様々な文献に記載されている。例えば、「"Molecular Cloning: A laboratory Manual" Sambrook et al., (1989)」、「"Current Protocols in Molecular Biology" Volumes I-III Ausbel, R. M., ed. (1994)」、「Ausubel et al., "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989)」、「Perbal, "A Practical Guide to Molecular Cloning", John Wiley & Sons, New York (1988)」、「Watson et al., "Recombinant DNA", Scientific American Books, New York」、「Birren et al. (eds) "Genome Analysis: A Laboratory Manual Series", Vols. 1-4, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1998)」、米国特許第４，６６６，８２８号、第４，６８３，２０２号、第４，８０１，５３１号、第５，１９２，６５９号、及び第５，２７２，０５７号に記載されている方法論、「"Cell Biology: A Laboratory Handbook", Volumes I-III Cellis, J. E., ed. (1994)」、「"Culture of Animal Cells - A Manual of Basic Technique" by Freshney, Wiley-Liss, N. Y. (1994), Third Edition」、「"Current Protocols in Immunology" Volumes I-III Coligan J. E., ed. (1994)」、「"Culture of Animal Cells - A Manual of Basic Technique" by Freshney, Wiley-Liss, N. Y. (1994), Third Edition」、「"Current Protocols in Immunology" Volumes I-III Coligan J. E., ed. (1994)」、「Stites et al. (eds), "Basic and Clinical Immunology" (8t

h Edition), Appleton & Lange, Norwalk, CT (1994)」、並びに「Mishell and Shiigi (eds), "Selected Methods in Cellular Immunology", W. H. Freeman and Co., New York (1980)」を参照されたい。利用できるイムノアッセイは、様々な特許及び科学文献に記載されている。例えば、米国特許第３，７９１，９３２号、第３，８３９，１５３号、第３，８５０，７５２号、第３，８５０，５７８号、第３，８５３，９８７号、第３，８６７，５１７号、第３，８７９，２６２号、第３，９０１，６５４号、第３，９３５，０７４号、第３，９８４，５３３号、第３，９９６，３４５号、第４，０３４，０７４号、第４，０９８，８７６号、第４，８７９，２１９号、第５，０１１，７７１号、及び第５，２８１，５２１号、「"Oligonucleotide Synthesis" Gait, M. J., ed. (1984)」、「"Nucleic Acid Hybridization" Hames, B. D., and Higgins S. J., eds. (1985)」、「"Transcription and Translation" Hames, B. D., and Higgins S. J., eds. (1984)」、「"Animal Cell Culture" Freshney, R. I., ed. (1986)」、「"Immobilized Cells and Enzymes" IRL Press, (1986)」、「"A Practical Guide to Molecular Cloning" Perbal, B., (1984) and "Methods in Enzymology" Vol. 1-317, Academic Press」、「"PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications", Academic Press, San Diego, CA (1990)」、並びに「Marshak et al., "Strategies for Protein Purification and Characterization - A Laboratory Course Manual" CSHL Press (1996)」を参照されたい（参照により、本明細書に含まれるものとする）。他の一般的な引用文献は、本明細書に記載されている。

【０２７７】

≪実施例１：ＥＰＯ構築物の作成≫

【０２７８】

＜材料及び方法＞

【０２７９】

発現ベクターｐＣＩ－ｄｈｆｒの構築：

【０２８０】

PromegaからｐＣＩ－ｎｅｏ哺乳類発現ベクターを調達した（カタログ番号：Ｅ１８４１）。このベクターは、ＣＭＶ　ＩＥエンハンサ／プロモータとネオマイシン・ホスホトランスフェラーゼ遺伝子とを含む。ＡＴＣＣ（アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション）からｐＳＶ２－ｄｈｆｒクローンを調達した（カタログ番号：３７１４６）。このプラスミドは、マウスのｄｈｆｒ遺伝子を含む。ｐＣＩ－ｄｈｆｒベクターの構築は、下記のように行った。

【０２８１】

ａ．ｐＳＶ２－ｄｈｆｒプラスミドを、制限酵素ＢｇＩＩＩで切断した（ｄｈｆｒ遺伝子の３′末端）。ＤＮＡポリメラーゼＩの大きな（クレノウ）断片を使用して５′の突出部分を補完して平滑末端を形成した。次に、制限酵素ＡｖｒＩＩでＤＮＡを切断した（ｄｈｆｒ遺伝子の５′末端）。ＡｖｅＩＩで切断し、平滑末端を有するｄｈｆｒ遺伝子を単離した。

【０２８２】

ｂ．ｐＣＩ－ｎｅｏベルターを、制限酵素ＢｓｔＸＩで切断した（ｎｅｏ遺伝子の３′末端）。ＤＮＡポリメラーゼＩの大きな（クレノウ）断片を使用して３′の突出部分がないようにして平滑末端を形成した。次に、ＤＮＡを制限酵素ＡｖｒＩＩで切断した（ｎｅｏ遺伝子の５′末端）。平滑末端を有する発現ベクターを単離した。

【０２８３】

ｃ．ｄｈｆｒ遺伝子をｐＣＩベクターに連結して、ｄｈｆｒ遺伝子を含む発現ベクター（ｐＣＩ－ｄｈｆｒ）を作成した。

【０２８４】

変異型ｈＥＰＯ－ＣＴＰの構築：

【０２８５】

ｈＣＧのベータサブユニットのＣ末端ペプチドを含むカセット遺伝子を、ヒトＥＰＯ（

ＮＰ＿０００７９０．２）配列に、異なる部位で融合した。図１Ａ～Ｄに示されている４つの変異型ＥＰＯ－ＣＴＰを構築した。ｐｒｏＥＰＯシグナルペプチドを使用して、変異型分泌ＥＰＯ－ＣＴＰを作成した。Ｅｐｏ配列を含むＸｂａＩ－ＮｏｔＩ断片を、本発明に係るｐＣＩ－ｄｈｆｒ発現ベクターに連結した。

【０２８６】

下記の表２に、本発明に係るＣＴＰ含有ポリペプチドの構築に使用したプライマーを要約した。

表２

プライマー番号	配列番号	配列	制限部位（配列の下線部分）
1	7	5' AATCTAGAGGTCATCATGGGGGTGC 3'	XbaI
2	8	5'ATTGCGGCCGCGGATCCAGAAGACCTTTATTG 3'	NotI
17^R	9	5' TAAATATTGGGGTGTCCGAGGGCCC 3'	SspI
10	10	5' CCAATATTACCACAAGCCCCACCACGCCTCAT 3'	SspI
11^R	11	5'TGCGGCCGCGGATCCTTATCTGTCCCCTGTCCTGC 3'	NotI
15.	12	5' GCCCTGCTGTCGGAAGC 3'	
2^R	13	5' ATTGCGGCCGCGGATCCAGAAGACCTTTATTG	NotI
23^R	14	5'CTTTGAGGAAGAGGAGCCCAGGACTGGGAGGC3'	
24	15	5' CCTGGGCTCCTCTTCCTCAAAGGC 3'	
38^R	16	5' GCTTCCGACAGCAGGGC 3'	

【０２８７】

ＥＰＯ－１　７０１－１－ｐ１７－６（Ｅｐｏ－１、配列番号１）：上記のプライマー（配列番号７～１６）を使用してＰＣＲを行うことで７０２ｂｐのＸｂａＩ－ＮｏｔＩ断片を構築した。次に、ＥＰＯ－ｃｔｐ配列を含むＸｂａＩ－ＮｏｔＩＰＣＲ断片を、ｐＣＩ－ｄｈｆｒ発現ベクターに連結した。

【０２８８】

ＥＰＯ－２　７０１－２－ｐ２４－２（Ｅｐｏ－２、配列番号２）：ｐＣＩ－ｄｈｆｒ－４０１－２－ｐ２１－２（ｈＧＨ－ｃｔｐ×２）のＸｂａＩ／ＡｐａＩ断片（ｈＧＨ－ｃｔｐ）を、７０１－１－ｐ１７－６のＸｂａＩ／ＡｐａＩ断片（ＥＰＯ－ｃｔｐ）で置換してＥｐｏ－ｃｔｐ×２を形成した。

【０２８９】

ＥＰＯ－４－７０１－４－ｐ４２－１（Ｅｐｏ－４、配列番号４）：最初に、プライマー１及び１７を使用してｐＣＩ－ｄｈｆｒ－ＥＰＯ－ｃｔｐ（７０１－１－ｐ１７－６）に対してＰＣＲを行い、その後にＰＣＲ産物をＸｂａＩ／ＳｓｐＩで切断した。これにより、ＥＰＯ及びＣＴＰの５′部分を含む断片が得られた。

【０２９０】
次に、ｐＧＴ１２３－ｈＥｐｏを鋳型として、プライマー１０及びプライマー１１を使用してＰＣＲを行うことで、新しい断片を構築した。ＳｓｐＩ／ＮｏｔＩで切断したところ、ＣＴＰの３′部分とＥｐｏとを含む断片が得られた。
【０２９１】
２つの断片を、ｐＣＩ－ｄｈｆｒに連結してｐ７０１－４－ｐ４２－１クローンを構築した。
【０２９２】
ＥＰＯ－３－ｐ５６－６（Ｅｐｏ－３、配列番号３）：プライマーは、Sigma-Genosysから調達した。プライマー１５（配列番号１２）及びプライマー２^{R}（配列番号１３）、並びに鋳型としてのｐＣＩ－ｄｈｆｒ－ＥＰＯ－ｃｔｐ×２（７０１－２－ｐ２４－２）プラスミドを使用してＰＣＲを行った。ＰＣＲ増幅の結果、４６８ｂｐの産物が形成された。このＰＣＲ産物を、ＴＡクローニングベクター（Invitrogen、カタログ番号Ｋ２００－０１）に連結した。Ｅｐｏ－ｃｔｐ×２配列を含むＳｔｕＩ－ＮｏｔＩ断片を単離した（２０９ｂｐ）。
【０２９３】
３つのＰＣＲ反応を連続して行った。最初の反応は、プライマー１（配列番号７）及びプライマー２３^{R}（配列番号１４）、並びに鋳型としてのｐＧＴ１２３－ｅｐｏ－ｃｔｐプラスミドを使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、８０ｂｐの産物が形成された（シグナルペプチド）。
【０２９４】
第２の反応は、プライマー２４（配列番号１５）及びプライマー１１^{R}（配列番号１１）、並びに鋳型としての７０１－４－ｐ４２－１プラスミドを使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、６１０ｂｐの産物が形成された。
【０２９５】
最後の反応は、プライマー１（配列番号７）及びプライマー１１^{R}（配列番号１１）、並びに鋳型としての上記２つの反応で得られた産物の混合物を使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、７００ｂｐの産物が形成された。ＸｂａＩ－ＳｔｕＩの断片を単離した。
【０２９６】
２つの断片（ＸｂａＩ－ＳｔｕＩ及びＳｔｕＩ－ＮｏｔＩ）を真核細胞発現ベクターｐＣＩ－ｄｈｆｒに連結して（３連結）７０１－３－ｐ５６－６クローンを作成した。
【０２９７】
ＥＰＯ－５－ｐ９１－４（Ｅｐｏ－５、配列番号５、（ｃｔｐ－Ｅｐｏ））：プライマーは、Sigma-Genosysから調達した。プライマー１（配列番号７）及びプライマー１１^{R}（配列番号１１）、並びに鋳型としてのｐＣＩ－ｄｈｆｒ－ｃｔｐ－ＥＰＯ－ｃｔｐ×２（７０１－３－ｐ５６－６）ＤＮＡプラスミドを使用してＰＣＲ反応を行った。ＰＣＲ増幅の結果、６７０ｂｐの産物が形成された。この産物をＴＡクローニングベクター（Invitrogen、カタログ番号Ｋ２０００－０１）に連結した。ｃｔｐ－ＥＰＯ配列を含むＸｂａＩ－ＮｏｔＩ断片を真核細胞発現ベクターｐＣＩ－ｄｈｆｒに連結して７０１－５－ｐ９１－４クローンを作成した。
【０２９８】
ＥＰＯ－６－ｐ９０－１（Ｅｐｏ－６、配列番号６、（ｃｔｐ－Ｅｐｏ－ｃｔｐ））：３つのＰＣＲ反応を行った。第１の反応は、プライマー１（配列番号７）及びプライマー３８^{R}（配列番号１６）、並びに鋳型として７０１－３－ｐ５６－６プラスミドＤＮＡを使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、４００ｂｐの産物が形成された。
【０２９９】
第２の反応は、プライマー１５（配列番号１２）及びプライマー２^{R}（配列番号１３）、並びに鋳型としての７０１－１－ｐ１７－６プラスミドＤＮＡを使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、３９０ｂｐの産物が形成された。
【０３００】

最後の反応は、プライマー１（配列番号７）及びプライマー２^{R}（配列番号１３）、並びに鋳型として前の２つの反応で得られた産物の混合物を使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、７８７ｂｐの産物が形成された。この産物をＴＡクローニングベクター（Invitrogen、カタログ番号Ｋ２０００－０１）に連結した。ｃｔｐ－ＥＰＯ－ｃｔｐ配列を含むＸｂａＩ－Ｎｏｔ１断片を真核細胞発現ベクターｐＣＩ－ｄｈｆｒに連結して、７０１－６－ｐ９０－１クローンを作成した。

【０３０１】

≪実施例２：ＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドの発現及び単離≫

【０３０２】

＜材料及び方法＞

【０３０３】

ＤＮＡトランスフェクション及びクローン選択：

【０３０４】

FuGENE6 Reagent（FuGENE Transfection Reagent、Rocheカタログ番号：１１　８１５　０９１　００１）を使用して変異型ＥＰＯ－ＣＴＰを含むｐＣＩ－ＤＨＦＲ発現ベクターをＤＧ４４細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの４８時間後、細胞を希釈し、５０～２００細胞／ウエルになるように、選択培地（８ｍＭのＬ－グルタミン（Biological Industries、カタログ番号：０３－０２０－１Ａ）及び１８ｍＬ／Ｌの１０％プルロニックＦ－６８溶液（Gibco、カタログ番号：２４００４０－０３２）が添加されたＨＴ欠失ＣＤ　ＤＧ４４培地（Gibco、Scotland、カタログ番号０７９９０１１１Ａ）（Ｓｋｕ番号：ＭＥ０６００２７））に植種した。市販のＥＬＩＳＡを使用して、選択したクローンから、タンパク質合成の最も高いものをスクリーニングした。各変異型の３～５つのクローンを、バックアップ細胞バンクのために凍結した。各変異型に関して選択したクローンを、軌道振盪台上での大きなスケールの培養液（最大１Ｌフラスコ）での生育に順応させた。上清を回収し、ＥＬＩＳＡ、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ，及びウエスタンブロットで分析した。アリコートを採取した後、タンパク質含有上清を、次の使用までに凍結保存した。

【０３０５】

細胞培養：

【０３０６】

８％のCO_2を有する加湿されたインキュベータ（３７℃）内に、８ｍＭのＬ－グルタミン（Biological Industries、カタログ番号：０３－０２０－１Ａ）及び１８ｍＬ／Ｌの１０％のプルロニックＦ－６８溶液（Gibco、カタログ番号：２４００４０－０３２）が添加されたＨＴ含有のＤＧ４４培地（Gibco、カタログ番号：１２６１０－０１０）にて細胞を維持した。トランスフェクトしたクローンは、ＨＴ、ヒポキサンチン、及びチミジンを含有しない、且つプルロニック酸及びＬ－グルタミンを含有するＤＧ４４基礎培地にて維持した。

【０３０７】

サンプルの調整：

【０３０８】

上清を回収し、ろ過し、ＥＬＩＳＡで分析してタンパク質濃度を測定した。純度の評価及び同定のために、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ及びウエスタンブロットを使用した。ＥＬＩＳＡの後、サンプルの濃度を決定し、ＰＢＳに対して透析した。アリコートを採取した後は、タンパク質含有の上清を、次の使用までに－２０℃で凍結保存した。

【０３０９】

ウエスタンブロット：

【０３１０】

非変性１５％ＳＤＳポリアクリルアミドゲルでサンプルを電気泳動した。ゲルは、２５ｍＭのＴｒｉｓ及び１９２ｍＭグリシン含有の２０％（体積／体積）メタノール）で１０分間平衡化した。Mini Trans-Blot電気泳動セル（Biorad Laboratori.es, Richmond, CA

）を使用して、２５０ｍＡ、３時間でタンパク質を、０．２μｍの細孔を有するニトロセルロース膜（Sigma, Saint Louis, MO）に転写した。次に、ニトロセルロース膜を、５％の無脂肪乾燥乳にて、２時間、室温でインキュベートした。膜を、ＥＰＯ抗血清（タイター１：１０００）と共に一晩、４℃でインキュベートし、０．１％のＴｗｅｅｎ含有のＰＢＳで３回洗浄した（１０分間／１回の洗浄）。次に、膜を、西洋ワサビペルオキシダーゼ（Horse Radish Peroxidase：ＨＲＰ）（Zymed, San Francisco, CA）に融合した２次抗体と共に、２時間、室温でインキュベートし、３回洗浄した。最後に、ニトロセルロース膜を強化型化学発光基質（enhanced chemiluminescent substrate：ＥＣＬ）（Pierce, Rockford, IL）と５分間反応させ、Whatmanシートで乾燥させ、Ｘ線フィルムに曝した。

【０３１１】

＜結果＞

【０３１２】

表３：選択した５クローンから得られた、ＣＴＰで修飾された様々なＥＰＯの濃度及び、さらなる検査のための調整。

【０３１３】

表３

バージョン番号	クローン番号	ストックのタイター *IU/ml*[1]	Epo3のタイターに合わせるようにMock sup で希釈した後のタイター *IU/ml*[2]	限外ろ過後 *IU/ml*[3]
Epo0 配列番号16	17	3093	102	335
Epo1 配列番号1	47	1049	104	291
Epo2 配列番号2	67	2160	110	303
Epo3 配列番号3	85	105	119	392
Epo4 配列番号4	112	6100	ND	342

１．変異型ＥＰＯのストック濃度は、ＥＬＩＳＡ（Quantikine IVD Epo ELISA, DEPOO, R&D Systems）で測定した。

２．ＥＰＯ－０、１、２及び４のサンプルは、偽上清（mock sup）で１０５ＩＵ／ｍｌに希釈した（Ｅｐｏ３のタイターに合わせた）。Ｅｐｏ０＝ＣＴＰが修飾されたＥＰＯと同じ系で発現される野生型ＥＰＯ。

３．全てのサンプルを濃縮し、最終濃度が１８０ＩＵ／ｍｌになるまで限外ろ過法でＰＢＳに対して透析した。

【０３１４】

図２に示されているように、全てのタンパク質をウエスタンブロット検出した。

【０３１５】
≪実施例３：本発明のＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドの生物活性≫
【０３１６】
ＴＦ－１生物活性テストによって、変異型ＥＰＯ－ＣＴＰが自身の受容体に結合し細胞増殖を引き起こす活性を促進する能力を確認することができる。したがって、本発明に係るＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドの生物学的な効力を評価する第１のステップとして、このテストを使用した。
【０３１７】
＜材料及び方法＞
【０３１８】
細胞増殖の分析：
【０３１９】
ＥＰＯ活性に応じた細胞株のＭＴＴレベルを測定する増殖アッセイを細胞株ＴＦ－１に対して行った（「Kitarnura et al., Kitamura, T. et al. (1989) Establishment and characterization of a unique human cell line that proliferates; Hammerling U. et al.」及び「In vitro bioassay for human erythropoietin based on proliferative stimulation of an erythroid cell line and analysis of carbohydrate-dependent microheterogeneity. Journal of Pharm. Biomed. Analysis 14(1 1): 1455-1469 (1996).」を参照）。指数増殖期にあるＴＦ－１細胞を２回洗浄し、マイクロタイタプレートに10^4細胞／ウエルになるように播種し、ＥＰＯ（Recormon）、ＥＰＯスタンダード（NIBSCスタンダード）、ｒｈＥＰＯ（ＭＯＤ－７０１０）、変異型ＭＯＤ－７０１（ＥＰＯ－１、ＥＰＯ－２、ＥＰＯ－３、及びＥＰＯ－４）の希釈液を滴定した基礎培地で４８時間インキュベートした。細胞増殖分析の４時間前、ウエルにＭＴＴ試薬を加え、ＥＬＩＳＡリーダーで吸光度を測定した。Ｅｐｒｅｘ（ヒトのホルモンから作成されたエポエチン（Ｅｐｏ））の投与量－応答標準曲線を用いて、各変異型に関するタンパク質濃度を計算した。
【０３２０】
＜結果＞
【０３２１】
ＥＰＯポリペプチドのインビトロ生物活性は、ＥＰＯ依存細胞株であるヒト赤白血細胞株ＴＦ－１（DSMZセルバンク）（Dong et al.. Biochemical and Biophysical Research Communications, Volume 339, Issue 1, 6 January 2006, Pages 380- 385）を使用して評価した。ＭＴＴアッセイを行い（Hanimerling U. et al. In vitro bioassay for human erythropoietin based on proliferative stimulation of an erythroid cell line and analysis of carbohydrate-dependent microheterogeneity. Journal of Pharm. Biomed. Analysis 14(11): 1455-1469 (1996)）、標準曲線を得るために使用されるＥＰＯの実験室基準を、国際基準（Ｅｐｏアンプル（ampoule）コード８７／６８４（ＮＩＢＳＣ））に対して較正した。
【０３２２】
結果を下記の表４に要約した。最も優れた効果が、ＥＰＯ３及びＥＰＯ０を２及び０．５ＩＵ／ｍｌの濃度で使用することによって得られることが示された。
【０３２３】
表４

Eprex STD	*TF-1* 生物活性 *IU/ml*						
IU/ml	EPO 0 配列番号16	EPO 1 配列番号1	EPO 2 配列番号2	EPO 3 配列番号3	EPO 4 配列番号4	Recormon	EPO st
2	4.93	2.32	2.13	6.91	3.55	3.44	7.40
0.5	1.60	0.76	0.53	1.34	0.84	0.87	1.53

【０３２４】
＜結論＞
【０３２５】
上記の表４で要約したように、ＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドによって異なるレベルの効果が見られた。これは、受容体結合に相違があることを示す。ＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドは、ＣＴＰカセットの数及び融合部位において互いに異なる。ＥＰＯ－１及びＥＰＯ－２はＥＰＯのＣ末端でそれぞれ１つのＣＴＰ配列及び２つのＣＴＰ配列を有するのに対して、ＥＰＯ－３はＮ末端で１つのＣＴＰ配列、Ｃ末端で２つのＣＴＰ配列を含む。ＥＰＯ－４は、ＣＴＰ配列によって互いに連結した２つのＥＰＯ分子の二量体である。ＥＰＯ－３は、ＷＴ（野生型）－ＥＰＯと非常に類似する効果を示した。一方、ＥＰＯ－１及びＥＰＯ－４は、ＷＴ－ＥＰＯのものよりも５０％低い効果を示し、ＥＰＯ－２の効果はＷＴ－ＥＰＯの効果の５０％よりも低かった。
【０３２６】
≪実施例４：本発明に係るＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドのマウスモデルにおける評価≫
【０３２７】
本発明に係るＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドの生物活性と市販のＥＰＯの生物活性とを比較するために、下記の実験を行った。
【０３２８】
＜材料及び方法＞
【０３２９】
動物：
種：約２０～２５ｇの雌雄のＩＣＲ又はＣＤ－１マウス
群の規模：ｎ＝７
群の数：９
動物の総数：ｎ＝６３
【０３３０】
本研究の実験設計：下記の表５で要約したように実験を行った。
【０３３１】
表５

群の番号	群当たりのマウスの数	処置		
		化合物	投与量	投与方式
1		賦形剤	0	
2		MOCK		
3		MOD-7010	15 μg/kg	
4		MOD-7011		
5		MOD-7012		
6		MOD-7013		
7		MOD-7014		
8		市販のrhEPO	15 μg/kg	
9			5 μg/kg	週3回

【０３３２】
動物の処理：
【０３３３】
全ての動物に、対照又は本発明に係るＥＰＯポリペプチドを、ボーラス注入法で投与した。注入量は、１０ｍｌ／ｋｇ以下であった。実験は、２２日間にわたって行った。毎日、疾病率及び死亡率を確認した。
【０３３４】
網状赤血球の計測及びヘマトクリット（ｈｃｔ）測定：
【０３３５】
最初の賦形剤又は治療剤の注入後の１４時間目又は２日目に、全ての実験動物に網状赤血球を計測した。最初の治療の前（「０」ベースライン対照）、及び賦形剤又は治療剤の最初の注入の２４時間後に１回ＨＣＴを測定した。その後、研究終了（２２日目）までに週２回ＨＣＴを測定した。
【０３３６】
＜結果＞
【０３３７】
図３～５に示されているヘマトクリットの結果から、ＥＰＯ１、ＥＰＯ２、Ｒｅｃｏｒｍｏｎ１、Ｒｅｃｏｒｍｏｎ３、ｒｈＥＰＯ、及び賦形剤に比べて、ＥＰＯ３が最も高いヘマトクリットの変化率を示すことが確認された。ＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドで処理されたマウスにおけるヘマトクリットの割合は、表６に示されている。これらの結果は、ＥＰＯ－３が赤血球生成の最も強力な促進剤であることを示す。
【０３３８】
表６

	網状赤血球の%	
日	*2*	*14*
対照	3.72	3.46
	1.08	0.8
Mock	3.5	3.64
	0.6	1.13
7010 配列番号16	3.5	3.9
	0.6	1.54
7011 配列番号1	3.52	1.94
	1.38	1.08
7012 配列番号2	3.82	3.0
	1.02	0.88
7013 配列番号3	2.66	5.20
	0.97	2.96
7014 配列番号4	3.48	3.82
	0.71	0.90
Recormon 週1回	3.23	3.27
	0.73	0.59
Recormon 週3回	4.13	4.24
	1.21	1.14

【０３３９】
＜結論＞
【０３４０】
インビボ実験は、２つのパラメータを測定するために設計した。第１のパラメータは、網状赤血球の割合、ヘモグロビン、ＲＢＣ、及びヘマトクリットレベルの増加などの赤血球生成パラメータである。第２のパラメータは、週１回に投与した場合の各変異型ＥＰＯの生物活性の持続期間である。
【０３４１】

赤血球生成の促進に関してＥＰＯ－３が優れた機能を有することが正常なマウスで確認された。

【０３４２】

≪実施例５：本発明に係るＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチドとＡｒａｎｅｓｐとの比較≫

【０３４３】

下記の実験は、本発明に係る幾つかのＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチド、市販のＥＰＯ、及びＡｒａｎｓｅｐを１回ボーラス投与した場合のそれぞれの生物活性を比較するために行ったものである。Ａｒａｎｅｓｐは、長期間作用する組み換え型のエリスロポエチンであり、２つの部位に変異が導入されいる結果、２つのＮ－糖鎖付加部位をさらに有し、シアル酸残基がさらに多く組み込まれている。

【０３４４】

＜材料及び方法＞

動物：

種：約２０～２５ｇの雌のＣＤ－１マウス

群の規模：ｎ＝３

【０３４５】

本研究の実験設計：下記の表７で要約したように実験を行った。

【０３４６】

表７

群の番号	被験物質	群当たりの動物の数	投与溶液の濃度（μｇ／ｍＬ）	投与量（ｍＬ／ｋｇ）	時点*（投与後の時間）
1	MOD-7010 配列番号11	3	1.5	10	0（投与前）、投与後の0. 25、0. 5、1、2、6、24、48、96、168、216、264及び336時間
2	MOD-7013 配列番号3	3	1.5	10	投与後の0. 25、0. 5、1、2、6、24、48、96、168、216、264及び336時間
3	Aranesp	3	1.5	10	投与後の0. 25、0. 5、1、2、6、24、48、96、168、216、264及び336時間

【０３４７】

動物の処理：

【０３４８】

全ての動物に、対照又は本発明に係るＥＰＯポリペプチドを、ボーラス注入法で投与した。注入量は、１０ｍｌ／ｋｇ以下であった。実験は、１４日間にわたって行った。毎日、疾病率及び死亡率を確認した。

【０３４９】

網状赤血球の計測及びヘマトクリット（ｈｃｔ）測定：

【０３５０】
上記と同様に網状赤血球の計測及びヘマトクリット測定を行った。
【０３５１】
＜結果＞
【０３５２】
結果は、図６～９に示されている。１５μｇ／ｋｇのＥＰＯ３の静脈注入後、エリスロポエチンに関連する全てのパラメータ（すなわち、網状赤血球の数、ヘモグロビンレベル、及びヘマトクリット）は、同様にｒｈＥＰＯ又はＡｒａｎｅｓｐを注入したものに比べて、向上した。
【０３５３】
≪実施例６：本発明に係るＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチド及びＡｒａｎｓｅｐの薬物動態の比較≫
【０３５４】
本発明に係るＥＰＯ－ＣＴＰポリペプチド、市販のＥＰＯ及びＡｒａｎｓｅｐの薬物動態を比較するために下記の実験を行った。
【０３５５】
＜材料及び方法＞
【０３５６】
各血清サンプルを分析してそれぞれの具体的な濃度を測定した。WinNonLinノンコンパートメンタル解析を使用して濃度及びタイムポイント・データを処理した。ＡＵＣ、ＣＬ、Ｋｅ、ｔ１／２、Ｃｍａｘ、及びＶｄｚなどのパラメータを測定した。
【０３５７】
２つのＥＬＩＳＡキットを並行して使用することで血清の濃度を測定した。ＥＰＯ－３の血清濃度は、StemCellのＥＬＩＳＡキットで測定したのに対して、ＥＰＯ－０及びＡｒａｎｓｅｐの血清濃度は、R&D systemのＥＬＩＳＡキットを使用して測定した。
【０３５８】
＜結果＞
【０３５９】
下記の表８に薬物動態の結果を要約した。例えばＡＵＣ、ｔ１／２、及びＣｍａｘの測定結果から示されるように、ＥＰＯ－３は優れた薬物動態値を示した。Ｔｍａｘ測定値は、ＥＰＯ－０、ＥＰＯ－３、及びＡｒａｎｓｅｐの間で等しかった。
【０３６０】
表８

パラメータ	単位	EPO-0	EPO-3	Aranesp
AUClast	hr*mIU/mL	31739	306072	178661
CL^	mL/hr/kg	1.1152	0.2188	0.1207
Ke	1/hr	0.157	0.0529	0.0639
t1/2	hr	4.4139	13.1141	10.84
Cmax	mIU/mL	10766	16466	13266
Tmax	Hr	0.25	0.25	0.25
Vdz	mL/kg	7.1017	4.1394	1.8877

【０３６１】
図９に血清濃度の解析結果が示されている。これらの結果は、ＥＰＯ－３の血清濃度が１９０時間後も検出可能であったことを示す。ＥＰＯ－０及びＡｒａｎｓｅｐの血清濃度は、それぞれ約５０時間後及び１４０時間後には検出不可能であった。
【０３６２】
＜結論＞
【０３６３】
ＣＤ－１マウスの血液からのＥＰＯ－３のクリアランスは、ｒｈＥＰＯ又はＡｒａｎｓｅｐのものよりも著しく遅かった。ｒｈＥＰＯ、Ａｒａｎｓｅｐ、及びＭＯＤ－７０１３の半減期を計算したところ、それぞれ４．４１ｈ、０．８４ｈ、及び１３．１１ｈであった。
【０３６４】
≪実施例７：ｈＧＨ構築物の作成＞
【０３６５】
＜材料及び方法＞
【０３６６】
４つのｈＧＨクローン（２０ｋＤのタンパク質の変異体）を合成した。４つの変異体からのｈＧＨ配列を含むＸｂａＩ－ＮｏｔＩ断片を、予めＸｂａＩ／ＮｏｔＩで切断した真核細胞発現ベクターｐＣＩ－ｄｈｆｒに連結した。４つのクローン（４０１－０、１、２、３、及び４）からのＤＮＡを調製した。２２ｋＤのタンパク質からの他の部分的なｈＧＨクローン（１－２４２ｂｐ）をも合成した（０６０６１１４）。プライマーは、Sigma-Genosysから調達した。本発明に係るｈＧＨ－ＣＴＰポリペプチドを生成するために使用したプライマーは、下記の表９に示した。
【０３６７】
表9

プライマーの番号	配列番号	配列	制限部位（配列の下線部分）
25	27	5' CTCTAGAGGACATGGCCAC 3'	XbaI
32^{R}	28	5' ACAGGGAGGTCTGGGGGTTCTGCA 3'	
33	29	5' TGCAGAACCCCCAGACCTCCCTGTGC 3'	
4^{R}	30	5' CCAAACTCATCAATGTATCTTA 3'	
25	31	5' CTCTAGAGGACATGGCCAC 3'	XbaI
35^{R}	32	5' CGAACTCCTGGTAGGTGTCAAAGGC 3'	
34	33	5' GCCTTTGACACCTACCAGGAGTTCG 3'	
37^{R}	34	5'ACGCGGCCGCATCCAGACCTTCATCACTGAGGC 3'	NotI
39^{R}	35	5' GCGGCCGCGGACTCATCAGAAGCCGCAGCTGCCC 3'	

【０３６８】
４０２－０－ｐ６９－１（ｈＧＨ）（配列番号３６）の構築：
【０３６９】
ＭＯＤ－４０２０は、野生型組み換え型のヒト成長ホルモン（ＣＴＰを有さない）であり、下記の実験で対照として使用した。
【０３７０】
３つのＰＣＲ反応を行った。第１の反応は、プライマー２５及びプライマー３２^{R}、並びに鋳型としての０６０６１１４（ｈＧＨの部分的クローン：１～２４２ｂｐ）のプラスミドＤＮＡを使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、２４５ｂｐの産物が形成された。
【０３７１】
第２の反応は、プライマー３３及びプライマー４^{R}、並びに鋳型としての４０１－０－ｐ５７－２のプラスミドＤＮＡを使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、５４２ｂｐの産物が形成された。
【０３７２】
最後の反応は、プライマー２５及び４^{R}、並びに鋳型としての前の２つの反応における産物の混合物を使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、７０５ｂｐの産物が形成された。この産物をＴＡクローニングベクター（Invitrogen、カタログ番号Ｋ２０００－０１）に連結した。ｈＧＨ－０配列を含むＸｂａＩ－ＮｏｔＩ断片を、真核細胞の発現ベクターｐＣＩ－ｄｈｆｒに連結した。このベクターをＤＧ－４４　ＣＨＯ細胞にトランスフェクトした。細胞は、タンパク質を含有しない培地で培養した。
【０３７３】
４０２－１－ｐ３８－５（ｈＧＨ－ＣＴＰ）（配列番号３７）及び４０２－２－ｐ７２

－３（ｈＧＨ－ＣＴＰ×２）（配列番号３８）の構築：
【０３７４】
ＭＯＤ－４０２１は、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータ鎖の１コピーのＣ末端ペプチド（ＣＴＰ）に融合した組み換え型ヒト成長ホルモンである。ＭＯＤ－４０２１のＣＴＰカセットは、Ｃ末端に結合している（１カセット）。ＭＯＤ－４０２２は、ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ＣＴＰ）のベータ鎖の２コピーのＣ末端ペプチドに融合した組み換え型ヒト成長ホルモンである。ＭＯＤ－４０２２の２つのＣＴＰカセットは、Ｃ末端に結合している（２カセット）。
【０３７５】
ｈＧＦ－ＣＴＰ及びｈＧＦ－ＣＴＰ－ＣＴＰの構築は、ｈＧＨ－０と同様に行った。ｐＣＩ－ｄｈｆｒ－４０１－１－ｐ２０－１（ｈＧＨ＊－ＣＴＰ）及びｐＣＩ－ｄｈｆｒ－４０１－２－ｐ２１－２（ｈＧＨ＊－ＣＴＰ×２）を鋳型として第２のＰＣＲ反応で行った。
【０３７６】
ＭＯＤ－４０２１及びＭＯＤ－４０２２をＤＧ－４４　ＣＨＯ細胞で発現させた。細胞は、タンパク質を含有しない培地で培養した。ＭＯＤ－４０２１の分子量は、約３０．５ｋＤである。ｈＧＨの分子量が２２ｋＤであるので、各「ＣＴＰカセット」は、全分子量の内の８．５ｋＤである（図１０を参照）。ＭＯＤ－４０２２の分子量は、３９ｋＤ（図１０を参照）。
【０３７７】
４０２－３－ｐ８１－４（ＣＴＰ－ｈＧＨ－ＣＴＰ－ＣＴＰ、配列番号３９）及び４０２－４－ｐ８２－９（ＣＴＰ＊ｈＧＨ－ＣＴＰ－ＣＴＰ、配列番号４０）の構築：
【０３７８】
ＭＯＤ－４０２３は、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータ鎖の３コピーのＣ末端ペプチド（ＣＴＰ）に融合した組み換え型ヒト成長ホルモンである。ＭＯＤ－４０２３の３つのＣＴＰカセットのうち、１カセットがＮ末端に結合し、２カセットがＣ末端に結合している。ＭＯＤ－４０２４は、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータ鎖の１コピーの切断されたＣ末端ペプチド及び２コピーの完全なＣ末端ペプチド（ＣＴＰ）の両方に融合している。ＭＯＤ－４０２４の切断されたＣＴＰカセットは、Ｎ末端に結合しており、２つのカセットはＣ末端に結合している。
【０３７９】
３つのＰＣＲ反応を行った。第１の反応は、プライマー２５、プライマー３５^{R}、及び鋳型としてのプラスミドＤＮＡであるｐ４０１－３－ｐ１２－５又は４０１－４－ｐ２２を使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果として２６５又は２２０ｂｐの産物が形成された。第２の反応は、プライマー３４、プライマー３７^{R}、及び鋳型としてのプラスミドＤＮＡであるＴＡ－ｈＧＨ－２－ｑ６５－１を使用して行った。ＰＣＲの増幅の結果、６９５ｂｐの産物が形成された。最後の反応は、プライマー２５、プライマー３７^{R}、及び鋳型としての前の２つの反応における産物の混合物を使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、９３８又は８９１ｂｐの産物が形成された。この産物をＴＡクローニングベクター（Invitrogen、カタログ番号Ｋ２０００－０１）に連結した。ｈＧＨ配列を含むＸｂａＩ－ＮｏｔＩを、真核細胞発現ベクターであるｐＣＩ－ｄｈｆｒに連結した。
【０３８０】
ＭＯＤ－４０２３及びＭＯＤ－４０２４を、ＤＧ－４４　ＣＨＯ細胞で発現させた。細胞は、タンパク質欠失培地で生育させた。ＭＯＤ－４０２３の分子量は約４７．５Ｋｄであり（図１０を参照）、ＭＯＤ－４０２４の分子量は約４３．２５Ｋｄである（図１０を参照）。
【０３８１】
４０２－６－ｐ９５ａ－８（ＣＴＰ－ｈＧＨ－ＣＴＰ、配列番号４１）の構築：
【０３８２】
ｈＧＨ－６の構築は、ｈＧＨ－３の構築と同様に行った。第２のＰＣＲ反応では、ｐＣ

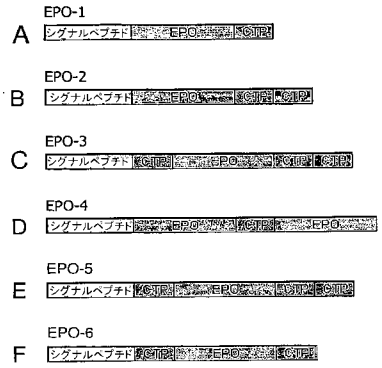
Ｉ－ｄｈｆｒ－４０２－１－ｐ３８－５（ｈＧＨ－ＣＴＰ）を鋳型として使用した。
【０３８３】
４０２－５－ｐ９６－４（ＣＴＰ－ｈＧＨ、配列番号４２）の構築、：
【０３８４】
ＰＣＲ反応は、プライマー２５、プライマー３９[R]、及び鋳型としてのプラスミドＤＮＡであるｐＣＩ－ｄｈｆｒ－ｃｔｐ－ＥＰＯ－ｃｔｐ（４０２－６－ｐ９５ａ－８）を使用して行った。ＰＣＲ増幅の結果、７６３ｂｐの産物が形成された。この産物を、ＴＡクローニングベクター（Invitrogen、カタログ番号Ｋ２０００－０１）に連結した。ｃｔｐ－ｈＧＨ配列を含むＸｂａＩ－ＮｏｔＩ断片を、真核細胞発現ベクターｐＣＩ－ｄｈｆｒに連結して４０２－５－ｐ９６－４クローンを得た。
【０３８５】
≪実施例８≫
【０３８６】
＜本発明のｈＧＨ－ＣＴＰポリペプチドのインビボ生物活性試験＞
【０３８７】
ｈＧＨ－ＣＴＰポリペプチドの潜在的な長期作用型生物活性を、市販の組み換え型ヒトＧＨ及びＭＯＤ－４０２０のものと比較するために、下記の実験を行った。
【０３８８】
＜材料及び方法＞
【０３８９】
メスの下垂体摘出ラット（６０～１００ｇ）に、週１回２１．７μｇのｈＧＨ－ＣＴＰポリペプチド又は１日１回５μｇの対照用の市販ｒｈＧＨを皮下注射した。
【０３９０】
全ての動物の体重を、処理前、最初の注射の２４時間後、かつその後に２１日目の試験終了までに１日おきに測定した。各点は、群の平均体重増加率（０日目における体重－最終日における体重／０日目における体重）を表す。平均体重増加を、１日おきの市販ｈＧＨの注射による結果に対して正規化した。
【０３９１】
表１０

番号	薬剤	数	経路	処置のスケジュール	等モル投与量（μg／ラット）	累積投与量	投与容量（ml）
1	賦形剤	7	皮下	1、7及び13日目、週1回	NA	NA	0.25
2	Mock	7	皮下	1、7及び13日目、週1回	NA	NA	0.25
3	MOD-4020 配列番号36	7	皮下	1、7及び13日目、週1回	21.7	65	0.25
4	MOD-4021 配列番号37	7	皮下	1、7及び13日目、週1回	21.7	65	0.25
5	MOD-4022 配列番号38	7	皮下	1、7及び13日目、週1回	21.7	65	0.25
6	MOD-4023 配列番号39	7	皮下	1、7及び13日目、週1回	21.7	65	0.25
7	MOD-4024 配列番号40	7	皮下	1、7及び13日目、週1回	21.7	65	0.25
8	市販のhGH v.1	7	皮下	1、7及び13日目、週1回	21.7	65	0.25
9	市販のhGH v.1	7	皮下	1～13日、毎日	5	65	0.25

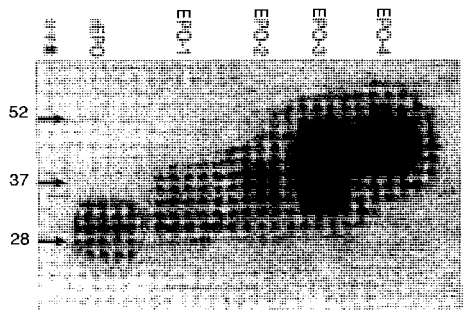
【０３９２】
＜結果＞

【０３９３】
結果を図１１に要約した。これらの結果は、市販のｒｈＧＨが１００％の体重増加を誘発したのに対して、ＭＯＤ－４０２３（配列番号３９）及びＭＯＤ－４０２４（配列番号４０）が１２０％を越える体重増加を誘発したことを示す。
【０３９４】
＜結論＞
【０３９５】
ＭＯＤ－４０２３（配列番号３）及びＭＯＤ－４０２４（配列番号４０）を週３回投与した（注射日：１日目、７日目、及び１３日目）ところ、市販のｒｈＧＨを同じ累積量で注射した（１３日間毎日５μｇ投与した）場合に比べて、下垂体摘出ラットにおいて３０％の体重増加が誘発された。

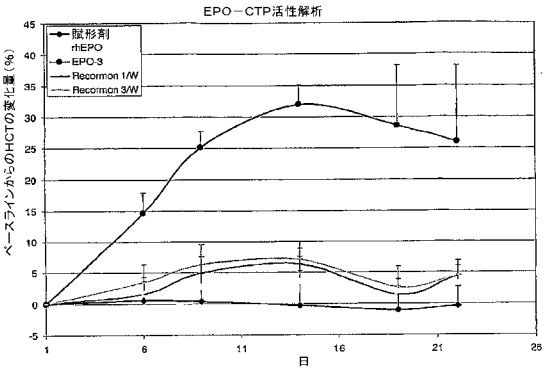
【図１】



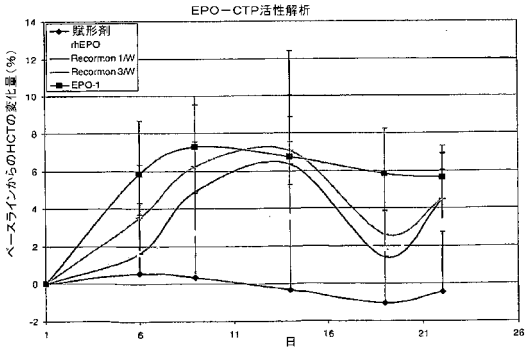
【図２】



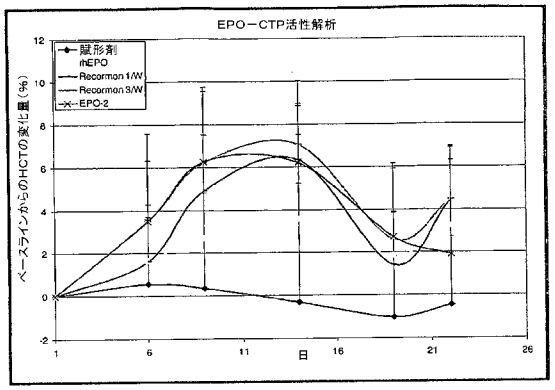
【図３】


EPO－CTP活性解析
鼠形剤
rhEPO
EPO-3
Recormon 1/W
Recormon 3/W
ベースラインからのHCTの変化量（%）
日

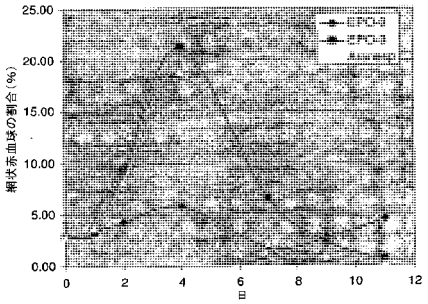
【図４】


EPO－CTP活性解析
鼠形剤
rhEPO
Recormon 1/W
Recormon 3/W
EPO-1
ベースラインからのHCTの変化量（%）
日

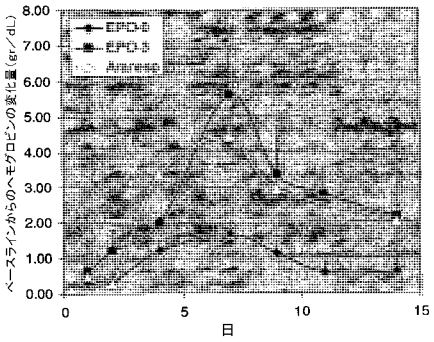
【図５】


EPO－CTP活性解析
鼠形剤
rhEPO
Recormon 1/W
Recormon 3/W
EPO-2
ベースラインからのHCTの変化量（%）
日

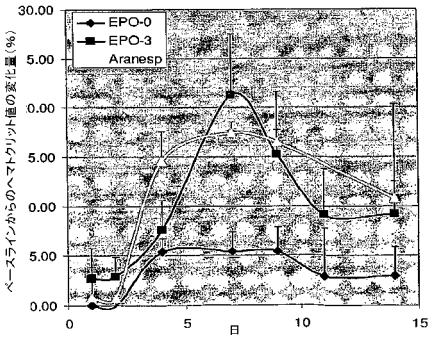
【図６】


網状赤血球の割合（%）
日

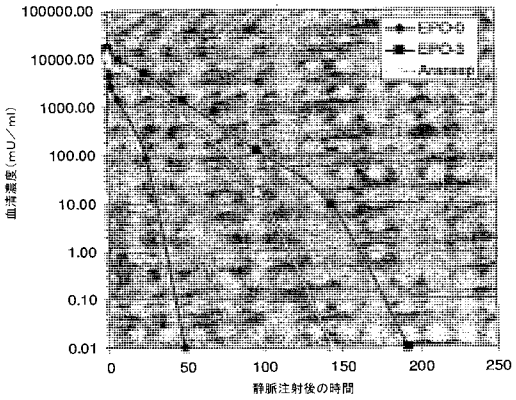
【図７】


EPO-0
EPO-3
Aranesp
ベースラインからのヘモグロビンの変化量（gr／dL）
8.00
7.00
6.00
5.00
4.00
3.00
2.00
1.00
0.00
0
5
10
15
日

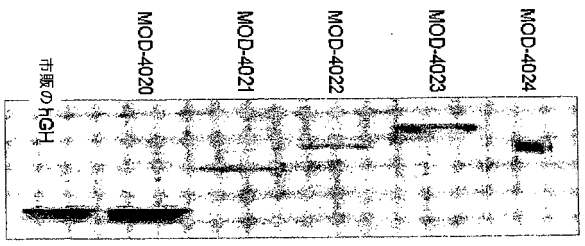
【図８】


EPO-0
EPO-3
Aranesp
ベースラインからのヘマトクリット値の変化量（%）
30.00
5.00
0.00
5.00
0.00
5.00
0.00
0
5
10
15
日

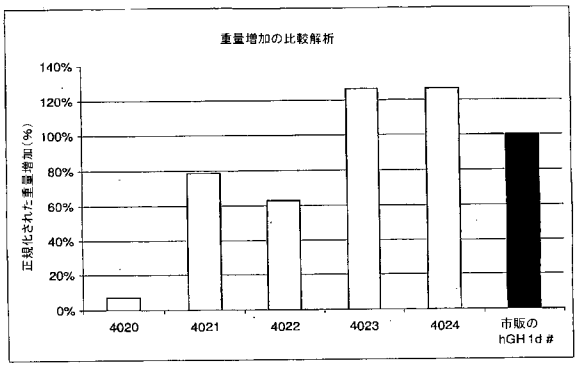
【図９】


EPO-0
EPO-3
Aranesp
血清濃度（mU／ml）
100000.00
10000.00
1000.00
100.00
10.00
1.00
0.10
0.01
0
50
100
150
200
250
静脈注射後の時間

【図１０】


市販のhGH
MOD-4020
MOD-4021
MOD-4022
MOD-4023
MOD-4024

【図１１】



【配列表】
2016053084000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成27年12月18日(2015.12.18)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
生物学的活性を有するポリペプチドであって、
目的のペプチドと、前記ペプチドのアミノ末端に結合した１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドと、前記ペプチドのカルボキシ末端に結合した２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドとからなり、前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドは、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータサブユニットに由来してアミノ酸配列ＳＳＳＳＫＡＰＰＰＳＬＰ（配列番号４３）を備え、前記ペプチドが、配列番号３９に記載のアミノ酸位置２７～３０１からなるアミノ酸配列を含み、前記目的のペプチドが、ｈＧＨペプチドであるポリペプチド。
【請求項２】
生物学的活性を有するポリペプチドであって、
目的のペプチドと、前記ペプチドのアミノ末端に結合した１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドと、前記ペプチドのカルボキシ末端に結合した２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドと、シグナルペプチドとからなり、前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドは、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータサブユニ

ットに由来してアミノ酸配列ＳＳＳＳＫＡＰＰＰＳＬＰ（配列番号４３）を備え、前記シグナルペプチドが、配列番号３９に記載のアミノ酸位置１～２６からなるアミノ酸配列を含み、前記目的のペプチドが、ｈＧＨペプチドであるポリペプチド。
【請求項３】
請求項１または２に記載のポリペプチドであって、　前記目的のペプチドがグリコシル化されたポリペプチド。
【請求項４】
請求項１または２に記載のポリペプチドであって、
前記目的のペプチドがグリコシル化されていないポリペプチド。
【請求項５】
請求項１～４のいずれかに記載のポリペプチドであって、
少なくとも１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドの配列が、配列番号１７及び配列番号１８から選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド。
【請求項６】
請求項１～５のいずれかに記載のポリペプチドであって、
前記ｈＧＨペプチドのアミノ末端に結合した前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが切断されたポリペプチド。
【請求項７】
請求項１～６のいずれかに記載のポリペプチドであって、
前記２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの少なくとも１つが、グリコシル化されたポリペプチド。
【請求項８】
請求項１～７のいずれかに記載のポリペプチドであって、
少なくとも１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、リンカーを介して前記ｈＧＨペプチドに結合したポリペプチド。
【請求項９】
請求項８に記載のポリペプチドであって、
前記リンカーがペプチド結合であるポリペプチド。
【請求項１０】
請求項１～９のいずれかに記載のポリペプチドを含む薬学的組成物。
【請求項１１】
生物学的活性を有するポリペプチドをエンコードするポリヌクレオチドであって、
前記ポリペプチドが、目的のペプチドと、前記ペプチドのアミノ末端に結合した１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドと、前記ペプチドのカルボキシ末端に結合した２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドとからなり、前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドは、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータサブユニットに由来してアミノ酸配列ＳＳＳＳＫＡＰＰＰＳＬＰ（配列番号４３）を備え、前記ポリヌクレオチドが、配列番号４５に記載の核酸位置１１～９１３からなるアミノ酸配列を含み、前記目的のペプチドが、ｈＧＨペプチドであるポリヌクレオチド。
【請求項１２】
請求項１１に記載のポリヌクレオチドであって、
少なくとも１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、リンカーを介して前記ｈＧＨペプチドに結合したポリヌクレオチド。
【請求項１３】
請求項１２に記載のポリヌクレオチドであって、
前記リンカーがペプチド結合であるポリヌクレオチド。
【請求項１４】
請求項１１～１３のいずれかに記載のポリヌクレオチドであって、
前記ポリヌクレオチドが配列番号３９をエンコードしている、ポリヌクレオチド。
【請求項１５】

請求項１１～１４のいずれかに記載のポリヌクレオチドであって、
前記ポリヌクレオチドがシグナルペプチドをエンコードする配列を含む、ポリヌクレオチド。
【請求項１６】
請求項１５に記載のポリヌクレオチドであって、
前記シグナルペプチドをエンコードする前記配列が配列番号４５に記載の核酸位置１１～８９の核酸配列を含むポリヌクレオチド。
【請求項１７】
請求項１１～１６のいずれかに記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。
【請求項１８】
請求項１７に記載の発現ベクターを含む細胞。
【請求項１９】
目的のペプチドの生物学的半減期を向上させる方法であって、
１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記目的のペプチドのアミノ末端に結合させ、２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記目的のペプチドのカルボキシ末端に結合させるステップを含み、それによって前記目的のペプチドの生物学的半減期を向上させ、前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドは、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータサブユニットに由来してアミノ酸配列ＳＳＳＳＫＡＰＰＰＳＬＰ（配列番号４３）を備え、前記ペプチドが、配列番号３９に記載のアミノ酸位置２７～３０１からなるアミノ酸配列を含み、前記目的のペプチドが、ｈＧＨペプチドである方法。
【請求項２０】
請求項１９に記載の方法であって、
前記目的のペプチドがグリコシル化された方法。
【請求項２１】
請求項１９に記載の方法であって、
前記目的のペプチドがグリコシル化されていない方法。
【請求項２２】
請求項１９～２１のいずれかに記載の方法であって、
少なくとも１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドの配列が、配列番号１７及び配列番号１８から選択されるアミノ酸配列からなる方法。
【請求項２３】
請求項１９～２２のいずれかに記載の方法であって、
前記ｈＧＨペプチドのアミノ末端に結合した前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが切断されている方法。
【請求項２４】
請求項１９～２３のいずれかに記載の方法であって、
前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドのうちの少なくとも１つが、グリコシル化された方法。
【請求項２５】
請求項１９～２４のいずれかに記載の方法であって、
少なくとも１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドが、リンカーを介して前記ｈＧＨペプチドに結合した方法。
【請求項２６】
請求項２５に記載の方法であって、
前記リンカーがペプチド結合である方法。
【請求項２７】
対象の成長、体重関連又は代謝の状態を治療するための医薬を製造するための、請求項１～９のいずれかに記載のポリペプチド、請求項１０に記載の薬学的組成物、請求項１１～１６のいずれかに記載のポリヌクレオチド、請求項１７に記載の発現ベクター又は請求

項１８に記載の細胞の使用。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００４４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００４４】
他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の少なくとも１つが切断されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の両方が切断されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の２つが切断されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の２つ以上が切断されている。他の実施形態では、前記絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰアミノ酸配列の全てが切断されている。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の配列における最初の１０個のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の配列における最初の１１個のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、前記切断されたＣＴＰは、配列番号４３に記載の絨毛性ゴナドトロピン・ＣＴＰ配列における最初の１２個のアミノ酸配列を含む。
【手続補正書】
【提出日】平成28年1月15日(2016.1.15)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
生物学的活性を有するポリペプチドであって、
目的のペプチドと、前記ペプチドのアミノ末端に結合した１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドと、前記ペプチドのカルボキシ末端に結合した２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドとからなり、前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドは、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータサブユニットに由来してアミノ酸配列ＳＳＳＳＫＡＰＰＰＳＬＰ（配列番号４３）を備え、前記ポリペプチドが、配列番号３９に記載のアミノ酸位置２７～３０１からなるアミノ酸配列を含み、前記目的のペプチドが、ｈＧＨペプチドであるポリペプチド。
【請求項２】
生物学的活性を有するポリペプチドであって、
目的のペプチドと、前記ペプチドのアミノ末端に結合した１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドと、前記ペプチドのカルボキシ末端に結合した２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドと、シグナルペプチドとからなり、前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドは、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータサブユニットに由来してアミノ酸配列ＳＳＳＳＫＡＰＰＰＳＬＰＳＰＳＲＬＰＧＰＳＤＴＰＩＬＰＱ（配列番号１８）からなり、前記シグナルペプチドが、配列番号３９に記載のアミノ酸位置１～２６からなるアミノ酸配列を含み、前記目的のペプチドが、ｈＧＨペプチドであるポリペプチド。
【請求項３】
請求項１または２に記載のポリペプチドであって、
前記目的のペプチドがグリコシル化されたポリペプチド。
【請求項４】
請求項１～３のいずれかに記載のポリペプチドであって、
前記ｈＧＨペプチドのアミノ末端に結合した前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末

端ペプチドが切断されたポリペプチド。
【請求項５】
請求項１～４のいずれかに記載のポリペプチドを含む薬学的組成物。
【請求項６】
生物学的活性を有するポリペプチドをエンコードするポリヌクレオチドであって、
前記ポリペプチドが、目的のペプチドと、前記ペプチドのアミノ末端に結合した１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドと、前記ペプチドのカルボキシ末端に結合した２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドとからなり、前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドは、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータサブユニットに由来してアミノ酸配列ＳＳＳＳＫＡＰＰＰＳＬＰ（配列番号４３）を備え、前記ポリヌクレオチドが、配列番号４５に記載の核酸位置１１～９１３からなるアミノ酸配列を含み、前記目的のペプチドが、ｈＧＨペプチドであるポリヌクレオチド。
【請求項７】
請求項６に記載のポリヌクレオチドであって、
前記ポリヌクレオチドがシグナルペプチドをエンコードする配列を含む、ポリヌクレオチド。
【請求項８】
請求項６または７に記載のポリヌクレオチドであって、
前記ポリヌクレオチドが配列番号３９のアミノ酸配列をエンコードしている、ポリヌクレオチド。
【請求項９】
請求項６～８のいずれかに記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。
【請求項１０】
請求項９に記載の発現ベクターを含む細胞。
【請求項１１】
目的のペプチドの生物学的半減期を向上させる方法であって、
１つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記目的のペプチドのアミノ末端に結合させ、２つの絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドを、前記目的のペプチドのカルボキシ末端に結合させるステップを含み、それによって前記目的のペプチドの生物学的半減期を向上させ、前記絨毛性ゴナドトロピン・カルボキシ末端ペプチドは、ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータサブユニットに由来してアミノ酸配列ＳＳＳＳＫＡＰＰＰＳＬＰ（配列番号４３）を備え、前記ペプチドが、配列番号３９に記載のアミノ酸位置２７～３０１からなるアミノ酸配列を含み、前記目的のペプチドが、ｈＧＨペプチドである方法。
【請求項１２】
請求項１１に記載の方法であって、
前記目的のペプチドがグリコシル化された方法。
【請求項１３】
対象の成長、体重関連又は代謝の状態を治療するための医薬を製造するための、請求項１～４のいずれかに記載のポリペプチド、請求項５に記載の薬学的組成物、請求項６～８のいずれかに記載のポリヌクレオチド、請求項９に記載の発現ベクター又は請求項１０に記載の細胞の使用。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*3/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/04		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ	*5/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	5/06		
Ａ６１Ｋ	*35/76*	*(2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/76		
Ｃ１２Ｎ	*15/09*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/00	Ａ	
Ｃ１２Ｎ	*1/15*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/15		
Ｃ１２Ｎ	*1/19*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/19		
Ｃ１２Ｎ	*1/21*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/21		
Ｃ１２Ｎ	*5/10*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/10		
Ｃ０７Ｋ	*14/61*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/61		
Ｃ０７Ｋ	*14/59*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/59		

Ｆターム(参考) 4B065 AA91X AA93Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA44
4C084 AA02 AA07 AA13 BA41 BA44 DB01 DB22 NA14 ZA701 ZA702
ZC041 ZC042 ZC211 ZC212
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA70 ZC04 ZC21
4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 NA14 ZA70 ZC04 ZC21
4H045 AA10 AA30 BA10 BA40 CA40 DA13 DA15 DA31 EA20 EA30
FA50 FA74 GA26