

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-527365

(P2023-527365A)

(43)公表日 令和5年6月28日(2023.6.28)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	38/47 (2006.01)	A 6 1 K	38/47		4 B 0 5 0
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/00	Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10		4 C 0 8 1
A 6 1 L	31/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1	4 C 0 8 4
A 6 1 L	31/16 (2006.01)	A 6 1 L	31/10		4 C 0 8 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全193頁) 最終頁に続く
(21)出願番号		特願2022-572586(P2022-572586)		(71)出願人	521317586
(86)(22)出願日		令和3年5月27日(2021.5.27)		イノザイム ファーマ インク.	
(85)翻訳文提出日		令和5年1月25日(2023.1.25)		Inozyme Pharma, Inc.	
(86)国際出願番号		PCT/US2021/034576		アメリカ合衆国 02210 マサチュー	
(87)国際公開番号		WO2021/243054		セッツ ボストン サマー ストリート 3	
(87)国際公開日		令和3年12月2日(2021.12.2)		21 스위트 400	
(31)優先権主張番号		63/030,870		321 Summer Street,	
(32)優先日		令和2年5月27日(2020.5.27)		Suite 400, Boston,	
(33)優先権主張国・地域又は機関		米国(US)		Massachusetts 0221	
(81)指定国・地域		AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		0, United States of	
		,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		America	
		AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A		(71)出願人	
		T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		507069575	
		,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		ヴェストフェーリッシェ ヴィルヘルム	
		最終頁に続く		スーウニヴェルズィテート ミュンスター	
				Westfaelische Wilh	
				最終頁に続く	

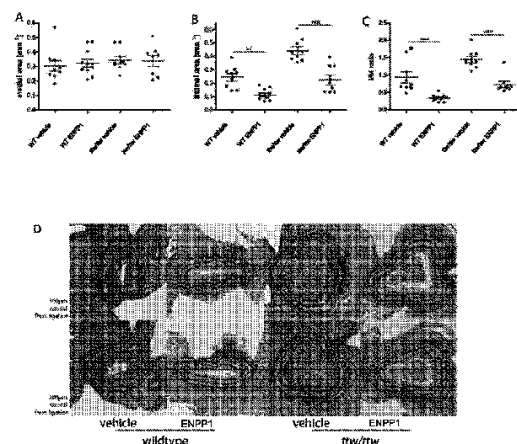
(54)【発明の名称】 血管平滑筋細胞増殖を阻害するための組成物及び方法

(57)【要約】

本開示は、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤を投与することによって、石灰化又は骨化の病理学的疾患をもたらすエクトヌクレオチドピロホスファターゼホスホジエステラーゼ1(ENPP1)の欠損を有さない対象における血管平滑筋細胞増殖を治療するための組成物及び方法を提供する。

Therapeutic Treatment

FIG. 5



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

組織損傷を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記対象における損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の E N P P 1 薬剤を前記対象に投与することであって、前記対象が、E N P P 1 欠損ではない、投与することによって、血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項 2】

前記組織損傷が、動脈の損傷を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記組織損傷が、動脈内のステント留置を含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記対象が、再狭窄を発症するリスクがある、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記対象が、再狭窄を患う、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記対象が、動脈の再狭窄を患う、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

手術部位に手術を必要とする状態を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記対象における前記手術部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の E N P P 1 薬剤を前記対象に投与することであって、前記対象が、E N P P 1 欠損ではない、投与することによって、前記手術部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項 8】

前記薬剤が、手術前、手術中、及び／又は手術後に前記対象に投与される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記手術を行うことを更に含む、請求項 7 又は 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記手術が、動脈バイパス移植術を含む、請求項 7 ～ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記手術が、動脈ステントの留置を含む、請求項 7 ～ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記手術が、血管形成術を含む、請求項 7 ～ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象においてそれを改善するための方法であって、心筋梗塞又は脳卒中を改善するのに有効な量の E N P P 1 薬剤を対前記象に投与することによって、前記心筋梗塞又は脳卒中を改善することを含む、方法。

【請求項 14】

心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、心筋梗塞又は脳卒中に関連する血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の E N P P 1 薬剤を前記対象に投与することによって、心筋梗塞又は脳卒中に関連する前記対象の血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項 15】

前記対象が、E N P P 1 欠損ではない、請求項 13 又は 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記 E N P P 1 薬剤が、E N P P 1 ポリペプチドを含む、請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記 E N P P 1 薬剤が、E N P P 1 ポリペプチドをコードする核酸である、請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記 E N P P 1 薬剤が、E N P P 1 ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む、請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記 E N P P 1 ポリペプチドが、E N P P 1 の細胞外ドメインを含む、請求項 1 6 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記 E N P P 1 ポリペプチドが、E N P P 1 の触媒ドメインを含む、請求項 1 6 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記 E N P P 1 ポリペプチドが、配列番号 1 のアミノ酸 9 9 ～ 9 2 5 を含む、請求項 1 6 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記 E N P P 1 ポリペプチドが、異種タンパク質を含む、請求項 1 6 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記異種タンパク質が、哺乳動物における前記 E N P P 1 ポリペプチドの循環半減期を増加させる、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記異種タンパク質が、イムノグロブリン分子の F c 領域である、請求項 2 2 又は 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記イムノグロブリン分子が、I g G 1 分子である、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記異種タンパク質が、アルブミン分子である、請求項 2 2 又は 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記異種タンパク質が、前記 E N P P 1 ポリペプチドのカルボキシ末端である、請求項 2 2 ～ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 8】

E N P P 1 薬剤が、リンカーを含む、請求項 2 2 ～ 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記リンカーが、前記 E N P P 1 ポリペプチドと前記異種タンパク質とを分離する、請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記リンカーが、以下のアミノ酸配列：(G G G G S)_n を含み、n が、1 ～ 1 0 の整数である、請求項 2 8 又は 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記 E N P P 1 薬剤が、前記対象に皮下投与される、請求項 1 ～ 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記 E N P P 1 薬剤が、前記対象に静脈内投与される、請求項 1 ～ 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

組織損傷を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記対象における損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び

10

20

30

40

50

／又は予防するのに有効な量の E N P P 3 薬剤を前記対象に投与することによって、血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項 3 4】

前記組織損傷が、動脈の損傷を含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記組織損傷が、動脈内のステント留置を含む、請求項 3 3 又は 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記対象が、再狭窄を発症するリスクがある、請求項 3 3 ～ 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記対象が、再狭窄を患う、請求項 3 3 ～ 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記対象が、動脈の再狭窄を患う、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

手術部位に手術を必要とする状態を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記対象における前記手術部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の E N P P 3 薬剤を前記対象に投与することによって、前記手術部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項 4 0】

前記薬剤が、手術前、手術中、及び／又は手術後に前記対象に投与される、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記手術を行うことを更に含む、請求項 3 9 又は 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記手術が、動脈バイパス移植術を含む、請求項 3 9 ～ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記手術が、動脈ステントの留置を含む、請求項 3 9 ～ 4 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記手術が、血管形成術を含む、請求項 3 9 ～ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象においてそれを改善するための方法であって、心筋梗塞又は脳卒中を改善するのに有効な量の E N P P 3 薬剤を対前記象に投与することによって、前記心筋梗塞又は脳卒中を改善することを含む、方法。

【請求項 4 6】

心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、心筋梗塞又は脳卒中に関連する血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の E N P P 3 薬剤を前記対象に投与することによって、心筋梗塞又は脳卒中に関連する前記対象の血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項 4 7】

前記対象が、E N P P 1 欠損ではない、請求項 3 3 ～ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記 E N P P 3 薬剤が、E N P P 3 ポリペプチドを含む、請求項 3 3 ～ 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記 E N P P 3 薬剤が、E N P P 3 ポリペプチドをコードする核酸である、請求項 3 3

10

20

30

40

50

～ 47 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 50】

前記 ENPP3 薬剤が、ENPP3 ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む、請求項 33～47 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 51】

前記 ENPP3 ポリペプチドが、ENPP3 の細胞外ドメインを含む、請求項 33～50 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 52】

前記 ENPP3 ポリペプチドが、ENPP3 の触媒ドメインを含む、請求項 33～51 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 53】

前記 ENPP3 ポリペプチドが、配列番号 7 のアミノ酸 49～875 を含む、請求項 33～51 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 54】

前記 ENPP3 ポリペプチドが、異種タンパク質を含む、請求項 33～53 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 55】

前記異種タンパク質が、哺乳動物における前記 ENPP3 ポリペプチドの循環半減期を増加させる、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 56】

前記異種タンパク質が、イムノグロブリン分子の Fc 領域である、請求項 54 又は 55 に記載の方法。

【請求項 57】

前記イムノグロブリン分子が、IgG1 分子である、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 58】

前記異種タンパク質が、アルブミン分子である、請求項 54 又は 55 に記載の方法。

【請求項 59】

前記異種タンパク質が、前記 ENPP3 ポリペプチドのカルボキシ末端である、請求項 54～58 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 60】

ENPP3 薬剤が、リンカーを含む、請求項 33～59 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 61】

前記リンカーが、前記 ENPP3 ポリペプチドと前記異種タンパク質とを分離する、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 62】

前記リンカーが、以下のアミノ酸配列：(GGGGS)_n を含み、n が、1～10 の整数である、請求項 60 又は 61 に記載の方法。

【請求項 63】

前記 ENPP3 薬剤が、前記対象に皮下投与される、請求項 33～62 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 64】

前記 ENPP3 薬剤が、前記対象に静脈内投与される、請求項 33～62 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 65】

コーティングされたステントであって、

血管ステントと、

前記ステント上のコーティングであって、ENPP1 薬剤を含む、コーティングと、

前記 ENPP1 薬剤のための担体と、を含み、

前記コーティングが、前記 ENPP1 薬剤を前記ステントから 1～10 μg/ml/日の速度で放出するように構成される、コーティングされたステント。

10

20

30

40

50

【請求項 6 6】

前記コーティングの総重量に基づいて、1重量%～50重量%の量の前記ENPP1薬剤である、請求項65に記載のコーティングされたステント。

【請求項 6 7】

前記ENPP1薬剤が、ENPP1、ENPP1-Fc、ENPP1-アルブミン、及びENPP1 mRNAからなる群から選択される、請求項66に記載のコーティングされたステント。

【請求項 6 8】

前記担体が、前記ENPP1薬剤と非反応性である、請求項65に記載のコーティングされたステント。

10

【請求項 6 9】

前記担体が、前記ENPP1薬剤に物理的に結合されたポリマー担体を含む、請求項65に記載のコーティングされたステント。

【請求項 7 0】

前記担体が、前記ENPP1薬剤に化学的に結合されたポリマー担体を含む、請求項65に記載のコーティングされたステント。

【請求項 7 1】

前記担体が、ポリマー生分解性担体を含む、請求項65に記載のコーティングされたステント。

【請求項 7 2】

前記担体が、非ポリマー担体を含む、請求項65に記載のコーティングされたステント。

20

【請求項 7 3】

前記非ポリマー担体が、ビタミンE、ビタミンEアセテート、ビタミンEスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油からなる群から選択される、請求項72に記載のコーティングされたステント。

【請求項 7 4】

前記担体が、体温で液体である、請求項65に記載のコーティングされたステント。

【請求項 7 5】

前記担体が、体温で固体である、請求項65に記載のコーティングされたステント。

30

【請求項 7 6】

組織損傷を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記組織損傷の近位の前記対象の動脈にENPP1薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた前記ステントが、前記対象における損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の前記ENPP1薬剤を放出するように構成され、前記対象が、ENPP1欠損ではない、埋め込むことによって、前記対象における前記損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項 7 7】

前記組織損傷が、動脈内のステント留置を含む、請求項76に記載の方法。

40

【請求項 7 8】

前記組織損傷が、前記動脈内の非溶出性動脈ステントの以前の留置に起因するか、又は前記ENPP1薬剤以外の治療剤を溶出する前記動脈内の溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する、請求項76又は77に記載の方法。

【請求項 7 9】

前記対象が、再狭窄を発症するリスクがある、請求項76～78のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 0】

手術部位に手術を必要とする状態を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記対象における前記手術部位の近位の動脈

50

に E N P P 1 薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた前記ステントが、血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の前記 E N P P 1 薬剤を放出するように構成され、前記対象が、E N P P 1 欠損ではない、埋め込むことによって、前記手術部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項 8 1】

前記薬剤が、手術前、手術中、及び／又は手術後に前記対象に投与される、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 2】

前記手術を行うことを更に含む、請求項 8 0 又は 8 1 に記載の方法。

【請求項 8 3】

前記手術が、動脈バイパス移植術を含む、請求項 8 0 ～ 8 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 4】

前記手術を必要とする状態が、前記動脈における非溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記手術を必要とする状態が、前記 E N P P 1 薬剤以外の治療剤を溶出する前記動脈における溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記手術が、血管形成術を含む、請求項 8 0 ～ 8 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 7】

心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象においてそれを改善するための方法であって、前記対象の動脈に E N P P 1 薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた前記ステントが、心筋梗塞又は脳卒中を改善するのに有効な量の前記 E N P P 1 薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、前記心筋梗塞又は脳卒中を改善することを含む、方法。

【請求項 8 8】

心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、対象の動脈に E N P P 1 薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた前記ステントが、心筋梗塞又は脳卒中に関連する血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の前記 E N P P 1 薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、心筋梗塞又は脳卒中に関連する前記対象の血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項 8 9】

前記対象が、E N P P 1 欠損ではない、請求項 8 7 又は 8 8 に記載の方法。

【請求項 9 0】

前記 E N P P 1 薬剤が、E N P P 1 ポリペプチドを含む、請求項 7 7 ～ 8 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 1】

前記 E N P P 1 薬剤が、E N P P 1 ポリペプチドをコードする核酸である、請求項 7 7 ～ 8 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 2】

前記 E N P P 1 薬剤が、E N P P 1 ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む、請求項 7 7 ～ 8 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 3】

前記 E N P P 1 ポリペプチドが、E N P P 1 の細胞外ドメインを含む、請求項 9 0 ～ 9 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 4】

10

20

30

40

50

前記 E N P P 1 ポリペプチドが、E N P P 1 の触媒ドメインを含む、請求項 9 0 ～ 9 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記 E N P P 1 ポリペプチドが、配列番号 1 のアミノ酸 9 9 ～ 9 2 5 を含む、請求項 9 0 ～ 9 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記 E N P P 1 ポリペプチドが、異種タンパク質を含む、請求項 9 0 ～ 9 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 7】

前記異種タンパク質が、哺乳動物における前記 E N P P 1 ポリペプチドの循環半減期を増加させる、請求項 9 6 に記載の方法。 10

【請求項 9 8】

前記異種タンパク質が、イムノグロブリン分子の F c 領域である、請求項 9 6 又は 9 7 に記載の方法。

【請求項 9 9】

前記イムノグロブリン分子が、I g G 1 分子である、請求項 9 8 に記載の方法。

【請求項 1 0 0】

前記異種タンパク質が、アルブミン分子である、請求項 9 6 又は 9 7 に記載の方法。

【請求項 1 0 1】

前記異種タンパク質が、前記 E N P P 1 ポリペプチドのカルボキシ末端である、請求項 9 6 ～ 1 0 0 のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項 1 0 2】

E N P P 1 薬剤が、リンカーを含む、請求項 9 6 ～ 1 0 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 0 3】

前記リンカーが、前記 E N P P 1 ポリペプチドと前記異種タンパク質とを分離する、請求項 1 0 2 に記載の方法。

【請求項 1 0 4】

前記リンカーが、以下のアミノ酸配列：(G G G G S) n を含み、n が、1 ～ 1 0 の整数である、請求項 1 0 2 又は 1 0 3 に記載の方法。 30

【請求項 1 0 5】

組織損傷を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記組織損傷の近位の対象の動脈に E N P P 3 薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた前記ステントが、前記対象における損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の前記 E N P P 3 薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、前記対象における前記損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項 1 0 6】

前記組織損傷が、動脈の損傷を含む、請求項 1 0 5 に記載の方法。 40

【請求項 1 0 7】

前記組織損傷が、動脈内のステント留置を含む、請求項 1 0 5 又は 1 0 6 に記載の方法。

【請求項 1 0 8】

前記対象が、再狭窄を発症するリスクがある、請求項 1 0 5 ～ 1 0 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 0 9】

手術部位に手術を必要とする状態を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、前記対象における前記手術部位の近位の動脈に E N P P 3 薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込ま 50

れた前記ステントが、血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の前記ENPP3薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、前記手術部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

【請求項110】

前記薬剤が、手術前、手術中、及び／又は手術後に前記対象に投与される、請求項109に記載の方法。

【請求項111】

前記手術を行うことを更に含む、請求項109又は110に記載の方法。

【請求項112】

前記手術が、動脈バイパス移植術を含む、請求項109～111のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項113】

前記手術を必要とする状態が、前記動脈における非溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する、請求項109に記載の方法。

【請求項114】

前記手術を必要とする状態が、前記ENPP3薬剤以外の治療剤を溶出する前記動脈における溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する、請求項109に記載の方法。

【請求項115】

前記手術が、血管形成術を含む、請求項109～114のいずれか一項に記載の方法。

【請求項116】

心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象においてそれを改善するための方法であって、前記対象の動脈にENPP3薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた前記ステントが、心筋梗塞又は脳卒中を改善するのに有効な量の前記ENPP3薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、前記心筋梗塞又は脳卒中を改善することを含む、方法。

20

【請求項117】

心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法であって、対象の動脈にENPP3薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた前記ステントが、心筋梗塞又は脳卒中に関連する血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の前記ENPP3薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、心筋梗塞又は脳卒中に関連する前記対象の血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む、方法。

30

【請求項118】

前記対象が、ENPP1欠損ではない、請求項105～117のいずれか一項に記載の方法。

【請求項119】

前記ENPP3薬剤が、ENPP3ポリペプチドを含む、請求項105～118のいずれか一項に記載の方法。

【請求項120】

前記ENPP3薬剤が、ENPP3ポリペプチドをコードする核酸である、請求項105～119のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項121】

前記ENPP3薬剤が、ENPP3ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む、請求項105～120のいずれか一項に記載の方法。

【請求項122】

前記ENPP3ポリペプチドが、異種タンパク質を含む、請求項105～121のいずれか一項に記載の方法。

【請求項123】

前記ENPP3ポリペプチドが、ENPP3の細胞外ドメインを含む、請求項105～

50

1 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 4】

前記 E N P P 3 ポリペプチドが、E N P P 3 の触媒ドメインを含む、請求項 1 0 5 ～ 1 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 5】

前記 E N P P 3 ポリペプチドが、配列番号 7 のアミノ酸 4 9 ～ 8 7 5 を含む、請求項 1 0 5 ～ 1 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 6】

前記 E N P P 3 ポリペプチドが、異種タンパク質を含む、請求項 1 1 9 ～ 1 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

前記異種タンパク質が、哺乳動物における前記 E N P P 3 ポリペプチドの循環半減期を増加させる、請求項 1 2 6 に記載の方法。

【請求項 1 2 8】

前記異種タンパク質が、イムノグロブリン分子の F c 領域である、請求項 1 2 6 又は 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 9】

前記イムノグロブリン分子が、I g G 1 分子である、請求項 1 2 8 に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

前記異種タンパク質が、アルブミン分子である、請求項 1 2 6 又は 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 3 1】

前記異種タンパク質が、前記 E N P P 3 ポリペプチドのカルボキシ末端である、請求項 1 2 4 ～ 1 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

E N P P 3 薬剤が、リンカーを含む、請求項 1 0 5 ～ 1 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 3】

前記リンカーが、前記 E N P P 3 ポリペプチドと前記異種タンパク質とを分離する、請求項 1 3 2 に記載の方法。

【請求項 1 3 4】

前記リンカーが、以下のアミノ酸配列：(G G G G S) n を含み、n が、1 ～ 1 0 の整数である、請求項 1 3 2 又は 1 3 3 に記載の方法。

【請求項 1 3 5】

コーティングされたステントであって、
血管ステントと、
前記ステント上のコーティングであって、E N P P 3 薬剤を含む、コーティングと、
前記 E N P P 3 薬剤のための担体と、を含み、
前記コーティングが、前記 E N P P 3 薬剤を前記ステントから 1 ～ 1 0 $\mu\text{g}/\text{ml}/\text{日}$ の速度で放出するように構成されている、コーティングされたステント。

【請求項 1 3 6】

前記コーティングの総重量に基づいて、1 重量% ～ 5 0 重量% の量の前記 E N P P 3 薬剤である、請求項 1 3 5 に記載のコーティングされたステント。

【請求項 1 3 7】

前記 E N P P 3 薬剤が、E N P P 3、E N P P 3 - F c、E N P P 3 - アルブミン、及び E N P P 3 mRNA からなる群から選択される、請求項 1 3 6 に記載のコーティングされたステント。

【請求項 1 3 8】

前記担体が、前記 E N P P 3 薬剤と非反応性である、請求項 1 3 5 に記載のコーティングされたステント。

10

20

30

40

50

【請求項 1 3 9】

前記担体が、前記 ENPP3 薬剤に物理的に結合されたポリマー担体を含む、請求項 1 3 5 に記載のコーティングされたステント。

【請求項 1 4 0】

前記担体が、前記 ENPP3 薬剤に化学的に結合されたポリマー担体を含む、請求項 1 3 5 に記載のコーティングされたステント。

【請求項 1 4 1】

前記担体が、ポリマー生分解性担体を含む、請求項 1 3 5 に記載のコーティングされたステント。

【請求項 1 4 2】

前記担体が、非ポリマー担体を含む、請求項 1 3 5 に記載のコーティングされたステント。

【請求項 1 4 3】

前記非ポリマー担体が、ビタミン E、ビタミン E アセテート、ビタミン E スクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油からなる群から選択される、請求項 1 4 2 に記載のコーティングされたステント。

【請求項 1 4 4】

前記担体が、体温で液体である、請求項 1 3 5 に記載のコーティングされたステント。

【請求項 1 4 5】

前記担体が、体温で固体である、請求項 1 3 5 に記載のコーティングされたステント。

【請求項 1 4 6】

前記 ENPP1 薬剤が、酵素活性を保持する ENPP1 バリエーションを含む、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4 7】

前記 ENPP3 薬剤が、酵素活性を保持する ENPP3 バリエーションを含む、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4 8】

前記 ENPP1 薬剤が、酵素活性を保持する ENPP1 バリエーションを含む、請求項 6 5 ～ 7 5 のいずれか一項に記載のコーティングされたステント。

【請求項 1 4 9】

前記 ENPP3 薬剤が、酵素活性を保持する ENPP3 バリエーションを含む、請求項 1 3 5 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のコーティングされたステント。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、2020年5月27日に提出された米国出願第63／030，870号の優先権を主張するものであり、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

配列表

本出願は、ASCII形式で電子的に提出された配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。2021年5月27日に作成された当該ASCIIコピーは、4427-10102__sequence__ST25.txtと名付けられ、340キロボイトのサイズである。

【背景技術】

【0003】

心筋増殖又は心筋過形成は、血管壁の平滑筋細胞の異常な増殖によって特徴付けられる血管系の複雑な病理学的プロセスである。増殖する平滑筋細胞は、内皮下領域に移動し、血管内腔の狭窄及び閉塞を引き起こし得る過形成病変を形成する。

【0004】

アテローム性動脈硬化症及び新生内膜過形成は両方とも心血管疾患（ＣＶＤ）に寄与し、アテローム性動脈硬化症は初期にネイティブな血管狭窄及び新生内膜過形成をもたらす、手術的介入後に再発性狭窄につながる。ステントは選択された冠動脈病変における再狭窄のリスクを低減するが、ステント内再狭窄は依然として頻繁にかつしばしば難治性の臨床的問題である。ステント留置は、血管壁を直接損傷し、しばしば血管再狭窄につながる新生内膜過形成を誘発し、ステントが血管形成術後の即時の血管リコイルを予防し、その後収縮性リモデリングを予防するにもかかわらず、内腔を狭め得る。冠動脈ステントを有する患者における新生内膜過形成の発生及び再発の根底にある機序は、依然として理解されていない。

【０００５】

10

新生内膜過形成はまた、血管形成術などの経皮的冠動脈介入後の再狭窄の主な原因でもある。静脈及び人工移植片などのバイパス導管における新生内膜過形成は、血管介入の長期的な成功を大きく制限する。新生内膜過形成は、冠動脈及び末梢動脈バイパスで使用される静脈及び人工導管の両方を含む血管移植片、並びに血液透析アクセスのために作製された動静脈瘻（ＡＶＦ）の全て形態に影響を及ぼし得る。

【０００６】

世界中で年間１００万を超える血管移植片が埋め込まれている。これらの移植片の最大５０％は、吻合部位における新生内膜過形成の発生に起因して、手術後最初の１８ヵ月以内に不全となる。この病態を予防するための治療の欠如は、大きな問題であり、依然として効果的に対処されていない。したがって、様々な臨床介入において新生内膜過形成を予防及び又は低減するための効率的な治療が必要である。

20

【０００７】

発明の概要

本開示は、少なくとも部分的に、可溶性ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３の投与が、ＥＮＰＰ１タンパク質活性又は発現の一方又は両方が欠損していない対象における望ましくない血管平滑筋細胞の増殖を阻害することができるという予想外の発見に基づく。以下の作業実施例に示されるように、可溶性ＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３の投与は、ＥＮＰＰ１の発現又は活性が欠損していない野生型マウスにおける組織損傷後の血管平滑筋細胞の増殖を阻害した。

【０００８】

30

したがって、一態様では、本開示は、組織損傷を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法を提供する。方法は、治療有効量のＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３薬剤を対象に投与することによって、対象における損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

【０００９】

したがって、一態様では、本開示は、組織損傷を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法を提供する。方法は、治療有効量のＥＮＰＰ１又はＥＮＰＰ３薬剤を対象に投与することによって、対象における損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

【００１０】

40

いくつかの実施形態では、対象は、ＥＮＰＰ１欠損ではない。

【００１１】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、組織損傷は、任意の動脈又は静脈の損傷である。動脈は、例えば、冠動脈又は頸動脈であり得る。

【００１２】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、組織損傷は、動脈におけるステント留置の結果である。本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、再狭窄を発症するリスクがある。本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、再狭窄を患う。本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、動脈の再狭窄を患

50

う。

【0013】

更に別の態様では、本開示は、手術を必要とする対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法の特徴とする。方法は、治療有効量のENPP1又はENPP3薬剤を対象に投与することによって、対象における手術部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

【0014】

更に別の態様では、本開示は、手術を必要とする対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法の特徴とする。方法は、治療有効量のENPP1又はENPP3薬剤を対象に投与することによって、対象における手術部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

10

【0015】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される方法のうちのいずれかはまた、例えば、損傷部位又は手術部位で、対象における血管平滑筋細胞増殖の存在を検出すること、及び／又は血管平滑筋細胞増殖の量を測定することを含み得る。いくつかの実施形態では、かかる検出及び／又は測定は、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤の投与前、投与中、又は投与後に起こり得る。

【0016】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP1薬剤は、酵素活性を保持するENPP1バリエントを含む。

20

【0017】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP3薬剤は、酵素活性を保持するENPP3バリエントを含む。

【0018】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤（例えば、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤）は、手術前に投与される。

【0019】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤（例えば、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤）は、手術中に投与される。

【0020】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤（例えば、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤）は、手術後に投与される。

30

【0021】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤（例えば、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤）は、手術前、手術中、及び／又は手術後に投与される。

【0022】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される方法のうちのいずれかは、手術を行うことを更に含む。

【0023】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術は、動脈バイパス移植術を含む。

40

【0024】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術は、動脈ステントの留置を含む。

【0025】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術は、血管形成術を含む。

【0026】

別の態様では、本開示は、非外科的組織損傷のリスクがある対象における血管平滑筋細

50

胞増殖に対する予防方法を提供する。方法は、治療有効量の E N P P 1 又は E N P P 3 薬剤を対象に投与することによって、対象の非外科的組織損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を予防するか、又は血管平滑筋細胞増殖の程度を低減することを含む。いくつかの実施形態では、非外科的組織損傷は、鈍的外傷を含む。いくつかの実施形態では、対象は、以下：望ましくない平滑筋細胞増殖に関連する心血管障害、アテローム性心血管障害、心筋梗塞、脳卒中、冠動脈疾患の発症のうちのいずれか 1 つのリスクがある。

【 0 0 2 7 】

別の態様では、本開示は、非外科的組織損傷のリスクがある対象における血管平滑筋細胞増殖に対する予防方法を提供する。方法は、治療有効量の E N P P 1 又は E N P P 3 薬剤を対象に投与することによって、対象の非外科的組織損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を予防するか、又は血管平滑筋細胞増殖の程度を低減することを含む。いくつかの実施形態では、非外科的組織損傷は、鈍的外傷を含む。いくつかの実施形態では、対象は、以下：望ましくない平滑筋細胞増殖に関連する心血管障害、アテローム性心血管障害、心筋梗塞、脳卒中、冠動脈疾患の発症のうちのいずれか 1 つのリスクがある。

10

【 0 0 2 8 】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、E N P P 1 欠損ではない。

【 0 0 2 9 】

別の態様では、本開示は、心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象を治療するための方法の特徴とする。方法は、治療有効量の E N P P 1 又は E N P P 3 薬剤を対象に投与することによって、心筋梗塞又は脳卒中を治療することを含む。

20

【 0 0 3 0 】

別の態様では、本開示は、心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象を治療するための方法の特徴とする。方法は、治療有効量の E N P 1 又は E N P P 3 薬剤を対象に投与することによって、心筋梗塞又は脳卒中を治療することを含む。

【 0 0 3 1 】

更に別の態様では、本開示は、心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法の特徴とする。方法は、治療有効量の E N P P 1 又は E N P P 3 薬剤を対象に投与することによって、対象の心筋梗塞又は脳卒中に関連する血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

30

【 0 0 3 2 】

更に別の態様では、本開示は、心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法の特徴とする。方法は、治療有効量の E N P P 1 又は E N P P 3 薬剤を対象に投与することによって、対象の心筋梗塞又は脳卒中に関連する血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

【 0 0 3 3 】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、E N P P 1 欠損ではない。

40

【 0 0 3 4 】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、乳児全身性動脈石灰化 (G A C I) 又は常染色体劣性低リン血症性くる病 2 型 (A R H R 2) に悩まされていない。

【 0 0 3 5 】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、血管平滑筋細胞増殖は、対象の動脈壁の内膜にある。

【 0 0 3 6 】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、組織損傷は、血管外傷を含む。

50

【0037】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術は、メス切開又は切除などの冠動脈介入を含む。

【0038】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、方法は、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤を同時に投与しながら手術を行うことを含む。

【0039】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、方法は、手術又は血管介入の前に、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤を投与することを含む。

【0040】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、方法は、薬剤を投与すること、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤を同時に投与しながら手術を行うこと、及び任意選択で手術後に薬剤を投与することを含む。

【0041】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、方法は、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤を投与すること、手術を行うこと、及び任意選択で手術後に薬剤を投与することを含む。

【0042】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、心筋虚血を患う。

【0043】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤は、当該心筋梗塞及び／又は当該脳卒中の治療後に投与される。

【0044】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP1薬剤は、ENPP1ポリペプチドを含むか、又はENPP1ポリペプチドである。

【0045】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP1薬剤は、ENPP1ポリペプチドをコードする核酸を含むか、又はENPP1ポリペプチドをコードする核酸である。

【0046】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP1薬剤は、ENPP1ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含むか、又はENPP1ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターである。

【0047】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP3薬剤は、ENPP3ポリペプチドを含むか、又はENPP3ポリペプチドである。

【0048】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP3薬剤は、ENPP3ポリペプチドをコードする核酸を含むか、又はENPP3ポリペプチドをコードする核酸である。

【0049】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP3薬剤は、ENPP3ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含むか、又はENPP3ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターである。

【0050】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP1ポリペプチドは、ENPP1の細胞外ドメインを含む。

【0051】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP1ポ

10

20

30

40

50

リペプチドは、E N P P 1 の触媒ドメインを含む。

【0052】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 1 ポリペプチドは、配列番号1のアミノ酸99～925を含む。

【0053】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 ポリペプチドは、配列番号7のアミノ酸49～875を含む。

【0054】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 1 薬剤又はE N P P 3 薬剤は、異種部分を含む。いくつかの実施形態では、異種部分は、異種タンパク質である。

10

【0055】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種部分は、異種部分を含まないE N P P 1 薬剤又はE N P P 3 薬剤の半減期に対して、哺乳動物におけるE N P P 1 薬剤又はE N P P 3 薬剤の半減期を増加させる。

【0056】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種部分は、IgG1などのイムノグロブリン分子のFc領域である。いくつかの実施形態では、イムノグロブリンは、ヒトイムノグロブリンである。

【0057】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種部分は、アルブミン分子である。

20

【0058】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種部分は、E N P P 1 ポリペプチド又はE N P P 3 ポリペプチドのカルボキシ末端である。

【0059】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 1 薬剤又はE N P P 3 薬剤は、リンカーを含む。

【0060】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、E N P P 1 ポリペプチド又はE N P P 3 ポリペプチドと異種タンパク質とを分離する。

30

【0061】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、以下のアミノ酸配列：(GGGGS)_nを含み、nは、1～10の整数である。

【0062】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種部分E N P P 1 薬剤又はE N P P 3 薬剤は、対象に皮下投与される。

【0063】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 1 薬剤又はE N P P 3 薬剤は、対象に静脈内投与される。

40

【0064】

更に別の態様では、本開示は、血管ステントを含むコーティングされたステントと、ステント上のコーティングとを特徴とし、コーティングは、E N P P 1 薬剤及び当該E N P P 1 薬剤用の担体を含み、当該コーティングは、当該E N P P 1 薬剤をステントから1日当たり1～10 µg / mlの速度で放出するように構成される。

【0065】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、コーティングの総重量に基づいて、1重量%～50重量%の量のE N P P 1 薬剤。

【0066】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P

50

1 薬剤は、ENPP1、ENPP1-Fc、ENPP1-アルブミン、及びENPP1 mRNAからなる群から選択される。

【0067】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP1 薬剤は、酵素活性を保持するENPP1 バリエントを含む。

【0068】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP3 薬剤は、酵素活性を保持するENPP3 バリエントを含む。

【0069】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該ENPP1 薬剤と非反応性である。

【0070】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該ENPP1 薬剤に物理学的に結合されたポリマー担体を含む。

【0071】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該ENPP1 薬剤に化学的に結合されたポリマー担体を含む。

【0072】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、ポリマー生分解性担体を含む。

【0073】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、非ポリマー担体を含む。

【0074】

本明細書に記載されるステントのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、非ポリマー担体は、ビタミンE、ビタミンEアセテート、ビタミンEスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油からなる群から選択される。

【0075】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、体温で液体である。本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、体温で固体である。

【0076】

更に別の態様では、本開示は、組織損傷を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法の特徴とし、方法は、当該組織損傷の近位の対象の動脈にENPP1 薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた当該ステントが、対象における損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の当該ENPP1 薬剤を放出するように構成され、対象が、ENPP1 欠損ではない、埋め込むことによって、当該対象における当該損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

【0077】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、組織損傷は、動脈におけるステント留置を含む。

【0078】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、組織損傷は、当該動脈内の非溶出性動脈ステントの以前の留置に起因するか、又は当該ENPP1 薬剤以外の治療剤を溶出する当該動脈内の溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する。

【0079】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、再狭窄を発症するリスクがある。

【0080】

10

20

30

40

50

更に別の態様では、本開示は、手術部位に手術を必要とする状態を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法の特徴とし、方法は、対象における当該手術部位の近位の動脈にENPP1薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた当該ステントが、血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の当該ENPP1薬剤を放出するように構成され、対象が、ENPP1欠損ではない、埋め込むことによって、当該手術部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

【0081】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤は、手術前、手術中、及び／又は手術後に対象に投与される。

10

【0082】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術行うことを更に含む。

【0083】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術は、動脈バイパス移植術を含む。

【0084】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術を必要とする状態は、当該動脈における非溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する。

【0085】

20

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術を必要とする状態は、当該ENPP1薬剤以外の治療剤を溶出する当該動脈における溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する。

【0086】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術は、血管形成術を含む。

【0087】

更に別の態様では、本開示は、心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象においてそれを改善するための方法の特徴とし、方法は、当該対象の動脈にENPP1薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた当該ステントが、心筋梗塞又は脳卒中を改善するのに有効な量の当該ENPP1薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、当該心筋梗塞又は脳卒中を改善することを含む。

30

【0088】

更に別の態様では、本開示は、心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法の特徴とし、方法は、対象の動脈にENPP1薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた当該ステントが、心筋梗塞又は脳卒中に関連する血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の当該ENPP1薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、心筋梗塞又は脳卒中に関連する当該対象の血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

40

【0089】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ENPP1欠損ではない。

【0090】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP1薬剤は、ENPP1ポリペプチドを含む。

【0091】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ENPP1薬剤は、ENPP1ポリペプチドをコードする核酸である。

【0092】

50

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 1 薬剤は、E N P P 1 ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターを含む。

【0093】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 1 ポリペプチドは、E N P P 1 の細胞外ドメインを含む。

【0094】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 1 ポリペプチドは、E N P P 1 の触媒ドメインを含む。

【0095】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 1 ポリペプチドは、配列番号1のアミノ酸99～925を含む。

10

【0096】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 1 ポリペプチドは、異種タンパク質を含む。

【0097】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、哺乳動物におけるE N P P 1 ポリペプチドの循環半減期を増加させる。

【0098】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、イムノグロブリン分子のFc領域である。

20

【0099】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、イムノグロブリン分子は、IgG1分子である。

【0100】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、アルブミン分子である。

【0101】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、E N P P 1 ポリペプチドのカルボキシ末端である。

【0102】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 1 薬剤は、リンカーを含む。

30

【0103】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、E N P P 1 ポリペプチドと異種タンパク質とを分離する。

【0104】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、以下のアミノ酸配列：(GGGGS)_nを含み、nは、1～10の整数である。

【0105】

更に別の態様では、本開示は、組織損傷を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法の特徴とし、方法は、当該組織損傷の近位の対象の動脈にE N P P 3 薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた当該ステントが、対象における損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の当該E N P P 3 薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、当該対象における当該損傷部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

40

【0106】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、組織損傷は、動脈の損傷を含む。

【0107】

50

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、組織損傷は、動脈におけるステント留置を含む。

【0108】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、再狭窄を発症するリスクがある。

【0109】

更に別の態様では、本開示は、手術部位に手術を必要とする状態を有する対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法の特徴とし、方法は、対象における当該手術部位の近位の動脈にENPP3薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた当該ステントが、血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の当該ENPP3薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、当該手術部位での血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

10

【0110】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤は、手術前、手術中、及び／又は手術後に対象に投与される。

【0111】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術行うことを更に含む。

【0112】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術は、動脈バイパス移植術を含む。

20

【0113】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術を必要とする状態は、当該動脈における非溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する。

【0114】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術を必要とする状態は、当該ENPP3薬剤以外の治療剤を溶出する当該動脈における溶出性動脈ステントの以前の留置に起因する。

【0115】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、手術は、血管形成術を含む。

30

【0116】

更に別の態様では、本開示は、心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象においてそれを改善するための方法の特徴とし、方法は、当該対象の動脈にENPP3薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた当該ステントが、心筋梗塞又は脳卒中を改善するのに有効な量の当該ENPP3薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、当該心筋梗塞又は脳卒中を改善することを含む。

【0117】

更に別の態様では、本開示は、心筋梗塞又は脳卒中を患っている対象における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するための方法の特徴とし、方法は、対象の動脈にENPP3薬剤でコーティングされた動脈ステントを埋め込むことであって、埋め込まれた当該ステントが、心筋梗塞又は脳卒中に関連する血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防するのに有効な量の当該ENPP3薬剤を放出するように構成される、埋め込むことによって、心筋梗塞又は脳卒中に関連する当該対象の血管系における血管平滑筋細胞増殖の進行を低減及び／又は予防することを含む。

40

【0118】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ENPP1欠損ではない。

【0119】

50

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 薬剤は、E N P P 3 ポリペプチドを含む。

【0120】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 薬剤は、E N P P 3 ポリペプチドをコードする核酸である。

【0121】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 薬剤は、E N P P 3 ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスペクターを含む。

【0122】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 ポリペプチドは、異種タンパク質を含む。 10

【0123】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 ポリペプチドは、E N P P 3 の細胞外ドメインを含む。

【0124】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 ポリペプチドは、E N P P 3 の触媒ドメインを含む。

【0125】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 ポリペプチドは、配列番号7のアミノ酸49～875を含む。 20

【0126】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 ポリペプチドは、異種タンパク質を含む。

【0127】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、哺乳動物におけるE N P P 3 ポリペプチドの循環半減期を増加させる。

【0128】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、イムノグロブリン分子のFc領域である。

【0129】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、イムノグロブリン分子は、IgG1分子である。 30

【0130】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、アルブミン分子である。

【0131】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、異種タンパク質は、E N P P 3 ポリペプチドのカルボキシ末端である。

【0132】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 薬剤は、リンカーを含む。 40

【0133】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、E N P P 3 ポリペプチドと異種タンパク質とを分離する。

【0134】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、以下のアミノ酸配列：(GGGGS)_nを含み、nは、1～10の整数である。

【0135】

更に別の態様では、本開示は、血管ステントを含むコーティングされたステントと、ステント上のコーティングとを特徴とし、コーティングは、E N P P 3 薬剤及び当該E N P 50

P 3 薬剤用の担体を含み、当該コーティングは、当該 E N P P 3 薬剤をステントから 1 日当たり $1 \sim 10 \mu\text{g} / \text{ml}$ の速度で放出するように構成される。

【0136】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 薬剤は、コーティングの総重量に基づいて、1 重量%～50 重量%の量である。

【0137】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、E N P P 3 薬剤は、E N P P 3、E N P P 3 - F c、E N P P 3 - アルブミン、及び E N P P 3 m R N A からなる群から選択される。

【0138】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該 E N P P 3 薬剤と非反応性である。

【0139】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該 E N P P 3 薬剤に物理学的に結合されたポリマー担体を含む。

【0140】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、当該 E N P P 3 薬剤に化学的に結合されたポリマー担体を含む。

【0141】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、ポリマー生分解性担体を含む。

【0142】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、非ポリマー担体を含む。

【0143】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、非ポリマー担体は、ビタミン E、ビタミン E アセテート、ビタミン E スクシナート、オレイン酸、ピーナツ油、及び綿実油からなる群から選択される。

【0144】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、体温で液体である。

【0145】

本明細書に記載される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、担体は、体温で固体である。

【0146】

本開示の他の特徴及び利点は、以下の発明を実施するための形態及び特許請求の範囲から明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0147】

【図 1】頸動脈ライゲーション前の W T 及び t t w / t t w マウスの予防的処置レジメンの概略図を示す。W T 及び t t w / t t w マウスを、 $10 \text{mg} / \text{kg}$ 重量の例示的な投与量で、隔日皮下注射により、E N P P 1 - F c で頸動脈ライゲーションの 7 日前に処置した。対照コホートである W T 及び t t w / t t w マウスに、p H 7. 4 のトリス緩衝生理食塩水を含むビヒクルを注射した。次いで、全てのマウスを、頸動脈ライゲーションの 14 日後に解剖し、マウスは約 9 週齢であった。

【図 2】図 2 A に組織学的解析のための頸動脈ライゲーション及び切片化の概略図を示す。ライゲーションされた頸動脈の形態計測測定のために、ライゲーション部位のすぐ近位の $5 \mu\text{m}$ の切片を採取した。約 $250 \mu\text{m}$ の距離にわたってライゲーション部位から近位の、動物 1 匹当たり合計 12 個の切片 ($25 \mu\text{m}$ 毎) を分析した。中膜面積、内膜面積、及び内膜 / 中膜比 (I / M 比) を各切片について計算し、代表的な染色切片を図 2 B に示

10

20

30

40

50

す。

【図3】血管系の組織学的分析を示す。処置されたWTマウス／ビヒクル、処置されたWTマウス／ENPP1-Fc、処置されたttw／ttwマウス／ビヒクル、及び処置されたttw／ttwマウス／ENPP1-Fcにおけるライゲーションから100 μ m（上）又は200 μ m（下）のいずれかからの代表的な染色切片を、それぞれ左から右に示す。ワンギーソン溶液は、弾性コラーゲン線維を染色し、内弾性板（IEL）及び外弾性板（EEL）を血管（L）の内腔と区別する。WTマウスでは、頸動脈ライゲーションにより、内膜過形成が引き起こされ、内腔が狭くなりより結紮に近づくほどより重度に狭く（100 μ m）、より離れるほどそれほど重度な閉塞ではない（200 μ m）。対照的に、ttw／ttwマウスでは、200 μ mでの内腔がほぼ完全に閉塞しているため、内膜過形成の程度は増加しているように見えた。WTマウス及びttw／ttwマウスは両方とも、ENPP1-Fc投与時の血管平滑筋細胞（VSMC）の増殖の減少を示す。ENPP1-Fcによる処置でのVSMC増殖の減少の効果は、ttw／ttwマウスにおいてより顕著であるが、WTマウスにおいてもVSMC増殖の低減が見られることは驚くべきことである。ENPP1欠損症を有さないWTマウスにおいてさえも、ENPP1-Fcの投与は、VSMCの増殖を大幅に低減すると思われる。ENPP1-Fcにより処置されたttw／ttwマウス及びWTマウスは、ビヒクルで処置されたマウスよりもはるかに少ない内膜過形成を示した。これは、頸動脈ライゲーション前後のENPP1-Fcの投与が、内膜過形成から保護し、内膜過形成を逆転させたことを示唆している。

【図4】図4A～C及びD～Fは、結果の形態計測定量化を示す。図4Gは、血管系の組織学的分析を示す。切片を、上記と同じ方法で染色した。外弾性板及び内弾性板並びに内腔の境界の周囲を測定することにより、中膜（M）及び内膜（I）面積の定量化が可能となる。ENPP1-Fcの投与は、WTマウス及びttw／ttwマウスにおける頸動脈ライゲーション後の内膜増殖を予防する。ENPP1-Fc治療は、頸動脈ライゲーションの7日前に開始され、左頸動脈の連続切片は、頸動脈ライゲーションの14日（A～C）又は21日（D～F）後に採取された。中膜（A及びD）及び内膜（B及びE）面積に対して形態計測定量化を行い、I／M比を計算した（C及びF）。値は平均 $\pm$ SEMとして表され、各群 $n \geq 9$ 、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ （一元配置分散分析多重群比較、続いてボンフェローニの事後検定）である。外版と内板との間の中膜面積は、一定のままであった（図4A）。内腔の周りの内膜面積は、ENPP1-Fcで処置されたWTマウスに対して、ビヒクルで処置されたWTマウスにおいて統計的に有意な増加を示した（図4B）。同様に、内腔の周りの内膜面積は、ENPP1-Fcで処置されたttw／ttwマウスに対して、ビヒクルで処置されたttw／ttwマウスにおいて統計的に有意な増加を示した（図4B）。ENPP1-Fcで処置されたttw／ttwマウスは、内膜面積及びI／M比の両方において、ENPP1-Fcで処置されたWTマウスと類似しており、結果は再び統計的に有意であった（図4C）。

【図5】図5A～Cは、ENPP1-Fcの治療的投与が、WTマウス及びttw／ttwマウスにおける頸動脈ライゲーション後の内膜増殖を阻害することを示す。図5Dは、血管系の組織学的分析を示す。切片を、上記と同じ方法で染色した。ENPP1-Fc治療は、頸動脈ライゲーションの7日後に開始され、左頸動脈の連続切片は、頸動脈ライゲーションの14日後に採取された。中膜（A）及び内膜（B）面積に対して形態計測定量化を行い、I／M比を計算した（C）。値は平均 $\pm$ SEMとして表され、WTについては $n = 7$ 、ビヒクルで処置されたttw／ttwマウス又はrhENPP1で処置されたttw／ttwマウスについては $n = 10$ 、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ （一元配置分散分析多重群比較、続いてボンフェローニの事後検定）である。ENPP1-Fcの治療効果の評価は、新生内膜過形成が間違いなく存在した場合、ライゲーションの7日後に開始された。外版と内板との間の中膜面積は、マウスの全ての群で一定のままであった（図5A）。ライゲーションの7日後に開始するENPP1-Fcによる治療は、ビヒクルで処置されたttw／ttwマウスと比較して、ENPP1-Fcで処置されたttw／ttwマウスにおいて内膜面積の有意な低減をもたらしたが（図

5 B、 $p < 0.05$ ）、一方で、ENPP1-Fcで処置されたWTマウス及びビヒクルで処置されたWTマウスの間で低減傾向が観察された。ENPP1-Fcで処置されたWTマウス及びttw/ttwマウスの両方のI/M比は、ビヒクルで処置されたWTマウス及びttw/ttwマウスのレベルと比較して有意に減少した（図5C、両方 $p < 0.05$ ）。

【図6】図6A～Cは、ttw/ttwマウス及びWTマウスの治療的処置の最良の開始点及び設計の決定のための、中膜面積、内膜面積、及びI/M比グラフを示す。最良の開始点の決定のため、7、10、及び14日間ライゲーションされたttw/ttwマウスの中膜（A）及び内膜（B）面積並びにI/M比（C）を評価した。これらのデータに基づき、ttw/ttwマウス及びWTマウスの頸動脈ライゲーションを7週齢のマウスで行い、頸動脈ライゲーションされたttw/ttwマウスの内膜過形成は、血管内でも間違いなく存在し、また、14日間ライゲーションされたttw/ttwマウスと比較して著しく異なる場合（内膜面積及びI/M比については $p < 0.001$ 、B及びC）、ENPP1-Fc（10mg/kg重量、皮下、隔日）又はビヒクル（TBS、pH7.4）の投与を、頸動脈ライゲーションの7日後に開始した（8週齢）。値は平均±SEMとして表され、* $p < 0.05$ 、*** $p < 0.001$ （一元配置分散分析多重群比較、続いてボンフェローニの事後検定）である。

【図7】ttw/ttwマウスにおける21日間の頸動脈ライゲーション後の内膜頸動脈組織の分解を示す組織学的切片を示す。21日間ライゲーションされたttw/ttwマウスの頸動脈の組織学的分析（エラスチカ・ワンギーソン染色）。ttw/ttwマウスからのライゲーション点から200、150、100、及び50µmの切片を作製し、内膜面積及び弾性線維の分解を示した（図7A）。WTマウスの頸動脈における陰性染色と比較して、21日間ライゲーションされたttw/ttwマウスの頸動脈の陽性TUNEL染色、ライゲーションから約300µm尾側（図7B）。陰性対照：TUNEL酵素なしで染色を行った；陽性対照：DNAse IグレードIを使用したDNAの分解。

【図8】WTマウス及びttw/ttwマウスにおける、頸動脈ライゲーション後の内膜増殖に対するENPP1-Fcの予防的投与及び治療的投与の比較を示す。予防的ENPP1-Fc処置は、頸動脈ライゲーションの7日前に開始され、一方で治療的ENPP1-Fc処置は、頸動脈ライゲーションの7日後に開始された。全ての動物の左頸動脈の連続切片を、頸動脈ライゲーションの14日後に採取した。中膜（A）及び内膜（B）面積に対して形態計測定量化を行い、I/M比を計算した（C）。値は平均±SEMとして表され、各群 $n \geq 8$ 、* $p < 0.05$ 、*** $p < 0.001$ （一元配置分散分析多重群比較、続いてボンフェローニの事後検定）である。

【図9A】コーティングされていないステントの存在下で再狭窄を経験している動脈の断面である。内皮12は、通常、平滑筋細胞14の層と動脈内腔20との間の固体バリアとして機能する。内皮12の小さな亀裂16は、平滑筋細胞14を曝露することができ、その後、動脈内腔20内へ移動し、それは動脈10内の血管形成術などの手順60の間に、動脈内腔20を開いたままにするために、コーティングされていないステント21が留置されているが、部分的に又は完全に内腔20を閉塞することができる塊18内に過増殖することができる。

【図9B】コーティングされたステント22を含む動脈10の断面である。ステントは、担体と、再狭窄を阻害及び又は予防するENPP1薬剤65などの生物活性化合物とを含むコーティング24を有する。このコーティング24を有するステントを使用することにより、内皮12における図9Aに示される亀裂16は、低減又は除去され得る。更に、平滑筋細胞の増殖14によって作製された塊18は、図9Aに示されるように、除去されるか、又は実質的に低減される。

【発明を実施するための形態】

【0148】

定義

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本開示

10

20

30

40

50

が属する分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似又は同等の任意の方法及び材料を、本開示の実施又は試験に使用することができるが、好ましい方法及び材料が記載される。

【0149】

明確にするために、「NPP1」及び「ENPP1」は同じタンパク質を指し、本明細書で互換的に使用される。本明細書で使用される場合、「ENPP1タンパク質」又は「ENPP1ポリペプチド」という用語は、ATPを切断してPPiを生成することができ、また軟部組織において異所性石灰化も低減する、ENPP1遺伝子によってコードされるエクトヌクレオチドピロホスファターゼ／ホスホジエステラーゼ-1タンパク質を指す。

10

【0150】

ENPP1タンパク質は、II型膜貫通糖タンパク質であり、ヌクレオチド及びヌクレオチド糖のホスホジエステル結合、並びにヌクレオチド及びヌクレオチド糖のピロホスファート結合を含む、様々な基質を切断する。ENPP1タンパク質は、膜貫通ドメイン及び可溶性細胞外ドメインを有する。細胞外ドメインは、ソマトメジンBドメイン、触媒ドメイン、及びヌクレアーゼドメインに更に細分される。野生型ENPP1の配列及び構造は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Braddock, et al. のPCT出願公開第2014/126965号に詳細に記載されている。

【0151】

本明細書で使用される場合、ENPP1ポリペプチドは、以下に記載されるように、ENPP1酵素活性を呈するポリペプチド、ENPP1酵素活性を保持するENPP1の変異体、ENPP1の断片、又はENPP1酵素活性を呈する欠失バリエントを含むENPP1のバリエントを包含する。

20

【0152】

本明細書で使用される場合、ENPP3ポリペプチドは、以下に記載されるように、酵素活性を呈するポリペプチド、酵素活性を保持するENPP3の変異体、ENPP3の断片、又は酵素活性を呈する欠失バリエントを含むENPP3のバリエントを包含する。

【0153】

ENPP1及びENPP3ポリペプチド、変異体、又はその変異体断片のいくつかの例は、国際PCT出願公開第2014/126965-Braddock et al.、同第2016/187408-Braddock et al.、同第2017/087936-Braddock et al.、及び同第2018/027024-Braddock et al. に以前に開示されており、それら全ては参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

30

【0154】

ENPP1ポリペプチド又はENPP3ポリペプチドに関して「酵素的に活性」、又は本明細書で使用される場合、ENPP1ポリペプチド又はENPP3ポリペプチドに関して「酵素活性」は、ATP加水分解活性をAMP及びPPiに、並びに／又はAP3a加水分解物をADP及びAMPに有するものとして定義される。NPP1及びNPP3は、ATPをAMP及びPPiに容易に加水分解する。NPP1の定常状態のミカエリス-メンテン酵素定数は、ATPを基質として使用して決定される。NPP1は、酵素反応のHPLC分析によってATPを切断することが示され得、反応の基質及び生成物の同一性は、ATP、AMP、及びADP標準を使用して確認される。ATP基質は、NPP1の存在下で経時的に分解し、酵素産物AMPの蓄積を伴う。ATP基質の様々な濃度を使用して、NPP1の初期速度の速度は、ATPの存在下で導出され、データは、酵素速度定数を導出するために曲線に適合される。生理学的pHでは、NPP1の運動速度定数は、 $K_m = 144 \mu M$ 及び $k_{cat} = 7.8 s^{-1}$ である。

40

【0155】

本明細書で使用される場合、「血漿ピロホスファート (PPi) レベル」という用語は、動物の血漿中に存在するピロリン酸の量を指す。ある特定の実施形態では、動物には、

50

ラット、マウス、ネコ、イヌ、ヒト、ウシ、及びウマが含まれる。血小板からの放出のため、血清ではなく血漿中の PP_i を測定する必要がある。 PP_i を測定するにはいくつかの方法があり、その1つは、修飾を伴うウリジン-ジホスホグルコース (UDPG) ピロホスホリラーゼ (Lust & Seegmiller, 1976, Clin. Chim. Acta 66: 241-249, Cheung & Suhadolnik, 1977, Anal. Biochem. 83: 61-63) を使用する酵素アッセイによるものである。

【0156】

典型的には、健康なヒト対象における血漿 PP_i レベルは、約 $1\ \mu\text{M}$ ~ 約 $3\ \mu\text{M}$ の範囲であり、いくつかの場合では、 $1\sim 2\ \mu\text{M}$ である。血漿中の正常なレベルの ENPP1 は、健康な対象において正常なレベルの血漿ピロホスファート (PP_i) を維持するために必要な ENPP1 タンパク質の量を指す。健康なヒトにおける正常なレベルの PP_i は、 $2\sim 3\ \mu\text{M}$ に相当する。ENPP1 の欠損を有する対象は、正常なレベルより少なくとも10%下回る、正常なレベルより少なくとも20%下回る、正常なレベルより少なくとも30%下回る、正常なレベルより少なくとも40%下回る、正常なレベルより少なくとも50%下回る、正常なレベルより少なくとも60%下回る、正常なレベルより少なくとも70%下回る、正常なレベルより少なくとも80%下回る、及びそれらの組み合わせの範囲の低 PP_i レベルを呈する。GACI に悩まされた患者において、 PP_i レベルは、 $1\ \mu\text{M}$ 未満であることが見出され、いくつかの場合では検出可能なレベルを下回る。PXE に悩まされた患者において、 PP_i レベルは、 $0.5\ \mu\text{M}$ を下回る。

【0157】

本明細書で使用される場合、「 PP_i 」という用語は、ピロホスファートを指す。

【0158】

本明細書で使用される場合、「変更」、「欠陥」、「変形」、又は「変異」という用語は、細胞内の遺伝子の変異を指し、それは、ミスセンス及びナンセンス変異、挿入、欠失、フレームシフト、並びに未成熟終止を含む、それがコードするポリペプチドの機能、活性、発現 (転写又は翻訳)、又は立体配座に影響を及ぼす。

【0159】

本明細書で使用される場合、「ENPP1 前駆体タンパク質」という用語は、ENPP1 N 末端でそのシグナルペプチド配列を有する ENPP1 ポリペプチドを指す。タンパク質分解時に、シグナル配列は ENPP1 から切断され、ENPP1 タンパク質を提供する。本開示内で有用なシグナルペプチド配列としては、これらに限定されないが、アルブミンシグナル配列、アズロシジンシグナル配列、ENPP1 シグナルペプチド配列、ENPP2 シグナルペプチド配列、ENPP7 シグナルペプチド配列、及び／又は ENPP5 シグナルペプチド配列が挙げられる。

【0160】

本明細書で使用される場合、「ENPP3 前駆体タンパク質」という用語は、ENPP3 N 末端でそのシグナルペプチド配列を有する ENPP3 ポリペプチドを指す。タンパク質分解時に、シグナル配列は ENPP3 から切断され、ENPP3 タンパク質を提供する。本開示内で有用なシグナルペプチド配列としては、これらに限定されないが、アルブミンシグナルペプチド配列、アズロシジンシグナルペプチド配列、ENPP1 シグナルペプチド配列、ENPP2 シグナルペプチド配列、ENPP7 シグナルペプチド配列、及び／又は ENPP5 シグナルペプチド配列が挙げられる。

【0161】

本明細書で使用される場合、「アズロシジンシグナルペプチド配列」という用語は、ヒトアズロシジンに由来するシグナルペプチドを指す。カチオン性抗微生物タンパク質 CAP37 又はヘパリン結合タンパク質 (HBP) としても知られるアズロシジンは、ヒトにおいて AZU1 遺伝子によってコードされるタンパク質である。アズロシジンシグナルペプチド (MTRLTVLALLAGLLASSRA (配列番号42) をコードするヌクレオチド配列は、コードされると ENPP1 前駆体タンパク質又は ENPP3 前駆体タンパク質を生成する NPP1 又は NPP3 遺伝子のヌクレオチド配列と融合される。(Opt

imized signal peptides for the development of high expressing CHO cell lines, Kobler et al., Biotechnol Bioeng. 2013 Apr; 110 (4): 1164-73)

【0162】

「ENPP1-Fc構築物」という用語は、IgG分子（好ましくは、ヒトIgG）のFcR結合ドメインに、（共有結合及び非共有結合の両方を含む）組換え融合及び／又は化学的にコンジュゲートされたENPP1を指す。ある特定の実施形態では、ENPP1のC末端は、FcR結合ドメインのN末端に融合又はコンジュゲートされる。

【0163】

本明細書で使用される場合、「ENPP3-Fc構築物」という用語は、IgG分子（好ましくは、ヒトIgG）のFcR結合ドメインに、（共有結合及び非共有結合の両方を含む）組換え融合及び／又は化学的にコンジュゲートされたENPP3を指す。ある特定の実施形態では、ENPP1のC末端は、FcR結合ドメインのN末端に融合又はコンジュゲートされる。

【0164】

本明細書で使用される場合、「Fc」という用語は、ヒトIgG（イムノグロブリン）Fcドメインを指す。IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4などのIgGのサブタイプは、Fcドメインとして使用するために企図される。「Fc領域又はFcポリペプチド」は、IgG分子のパイン消化により得られた結晶性断片と相関するIgG分子の部分である。Fc領域は、ジスルフィド結合によって連結されるIgG分子の2つの重鎖のC末端の半分を含む。抗原結合活性はないが、FcRn受容体を含む相補体及びFc受容体の炭水化物部分及び結合部位を含む。Fc断片は、第2の定常ドメインCH2（KabatananバリングシステムによるヒトIgG1の残基231～340）全体及び第3の定常ドメインCH3（残基341～447）を含む。「IgGヒンジ-Fc領域」又は「ヒンジ-Fc断片」という用語は、Fc領域（残基231～447）及びFc領域のN末端から延びるヒンジ領域（残基216～230）からなるIgG分子の領域を指す。「定常ドメイン」という用語は、イムノグロブリンの他の部分、抗原結合部位を含む可変ドメインに対して、より保存されたアミノ酸配列を有するイムノグロブリン分子の部分の部分を指す。定常ドメインは、重鎖のCH1、CH2、及びCH3ドメイン、並びに軽鎖のCHLドメインを含む。

【0165】

本明細書で使用される場合、「機能的等価バリエーション」という用語は、本明細書で使用される場合、ENPP1又はENPP3（上記で定義される）の配列に対して実質的に相同であり、かつそれぞれENPP1又はENPP3の酵素及び生物学的活性を保持するポリペプチドに関する。バリエーションが天然のENPP1又はENPP3の生物学的活性を保持するかを決定する方法は、当業者に広く知られており、当該出願の実験部分で使用されるアッセイのうちのいずれかを含む。特に、ウイルスベクターによって送達されるENPP1又はENPP3の機能的等価バリエーションは、本開示によって包含される。ENPP1又はENPP3の機能的等価バリエーションは、それぞれ天然のENPP1又はENPP3に対して実質的に相同であるポリペプチドである。「実質的に相同」という表現は、当該タンパク質配列が、上に記載されるENPP1又はENPP3配列に対して、それぞれ少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性の程度を有する場合のタンパク質配列に関し、酵素活性に対して野生型ENPP1又はENPP3タンパク質の少なくとも50%、55%、60%、70%、80%、又は90%の活性を依然として保持している。

【0166】

2つのポリペプチド間の同一性の程度は、当業者に広く知られているコンピュータアル

10

20

30

40

50

ゴリズム及び方法を使用して決定される。2つのアミノ酸配列間の同一性は、好ましくは、BLASTPアルゴリズム (BLAST Manual, Altschul, S., et al., NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894, Altschul, S., et al., J. Mol. Biol. 215: 403-410 (1990)) を使用することによって決定されるが、他の類似のアルゴリズムも使用することができる。BLAST及びBLAST 2.0は、本明細書に記載されるパラメータを用いて、配列同一性パーセントを決定するために使用される。BLAST解析を行うためのソフトウェアは、アメリカ国立生物工学情報センターを通じて公開されている。

【0167】

ENPP1又はENPP3の「機能的等価バリエーション」は、それぞれENPP1又はENPP3を産生するために使用される宿主細胞中のコドン選好を説明するポリヌクレオチド内のヌクレオチドを置き換えることによって得ることができる。かかる「コドン最適化」は、University of Wisconsin Package Version 9.0 (Genetics Computer Group, Madison, Wis.) によって提供されるコドン選好の「Human high.cod」などのコドン出現頻度表を組み込むコンピュータアルゴリズムを介して決定され得る。ENPP1又はENPP3ポリペプチドのバリエーションは、酵素活性に関して、野生型ENPP1又はENPP3タンパク質の少なくとも50%、55%、60%、70%、80%、又は90%の活性を保持することが予期される。

【0168】

本明細書で使用される場合、「野生型」という用語は、天然発生型起源から単離された遺伝子又は遺伝子産物を指す。野生型遺伝子は、集団で最も頻繁に観察され、したがって、ヒトENPP1遺伝子又はENPP3遺伝子の「正常」又は「野生型」形態を任意に設計される。対照的に、「機能的等価」という用語は、野生型遺伝子又は遺伝子産物と比較した場合、配列及び／又は機能的特性（すなわち、変更された特性）における修飾を示す、ENPP1若しくはENPP3遺伝子又は遺伝子産物を指す。天然発生型変異体を単離することができ、これらは、野生型遺伝子又は遺伝子産物と比較した場合、変化した特徴（変化した核酸配列を含む）を有するという事実によって特定される。

【0169】

本明細書で使用される場合、「約」は、量、時間的期間などの測定可能な値を指す場合、+20%又は+10%、より好ましくは+5%、更により好ましくは+1%、及び更により好ましくは+0.1%の、指定された値からの変形を包含することを意味し、そのようにして変形は、開示される方法を行うのに適切である。

【0170】

本明細書で定義されるように、「対象」、「個体」、又は「患者」は、哺乳動物、好ましくはヒトを指す。

【0171】

本明細書で定義されるように、「部分」という用語は、ENPP1又はENPP3タンパク質に共有結合又は非共有結合で連結され、かつそれが結合するタンパク質に所望の特性を付与する能力を有する化学成分又は生体分子を指す。例えば、部分という用語は、ポリアスパラギン酸若しくはポリグルタミン酸（4～20個の連続的なasp又はglu残基）などの骨標的化ペプチド、又はENPP1若しくはENPP3ポリペプチドの半減期を延長する分子を指すことができる。半減期延長部分のいくつかの他の例には、Fc、アルブミン、トランスフェリン、ポリエチレングリコール (PEG)、ホモアミノ酸ポリマー (HAP)、プロリン-アラニン-セリンポリマー (PAS)、エラスチン様ペプチド (ELP)、及びゼラチン様タンパク質 (GLK) が挙げられる。

【0172】

本明細書で定義されるように、「中膜面積」という語句は、動脈の外弾性板と内弾性板との間の面積である。

【0173】

本明細書で定義されるように、「内膜面積」という用語及び当該内膜面積は、当該内弾性板と動脈の内腔との間の面積である。

【0174】

本明細書で定義されるように、「外弾性板」という語句は、動脈の中膜の平滑筋のすぐ外側に横たわる弾性結合組織の層を指す。

【0175】

本明細書で定義されるように、「内弾性版」という語句は、血管の内膜の最も外側の部分を形成する弾性組織の層を指す。

【0176】

本明細書で定義されるように、「内腔」という語句は、血流が生じる動脈、静脈、又は毛細血管の中央腔など、血管の内部を指す。

【0177】

本明細書で定義されるように、「手術」という語句は、メス切開又はラジオ波焼灼療法又は冷凍アブレーション又はレーザーアブレーションによる組織損傷をもたらす冠動脈介入を伴う侵襲的医療処置を指す。

【0178】

本明細書で定義されるように、「組織損傷」という語句は、血管平滑筋の増殖又は増殖及び移動の発症を最終的に意味し、ステント留置又は血管形成術などの経皮的冠動脈介入後の再狭窄をもたらす動脈壁の肥厚及び動脈内腔空間の減少をもたらす。

【0179】

本明細書に定義される通り、「NPP1の欠損」又は「ENPP1欠損症」という語句は、ENPP1タンパク質、又は乳児全身性動脈石灰化（GACI）の診断、若しくは常染色体劣性低リン血症性くる病2型（ARHR2）の発症のリスクがある又はそれに悩まされている診断をもたらすタンパク質をコードする遺伝子における機能喪失変異を有することを指す。

【0180】

本明細書で定義されるように、「血管外傷」という語句は、血管、すなわち、血液を四肢に運ぶ動脈、又は血液を心臓に戻す静脈の損傷を指す。血管損傷はまた、経皮的冠動脈形成術及び血管バイパス術などの侵襲的処置によっても引き起こされ得る。

【0181】

本明細書で定義されるように、「偶発的外傷」という語句は、血管が穿刺、断裂、又は切断されたときに生じる物理的力の行使又は穿通性損傷に起因する、血管が破碎又は伸張されたときに生じる鈍的損傷による動脈などの血管を指す。鈍的損傷は、ボクシングなどの物理的改変の間に生じ、穿通性損傷は、ナイフなどの鋭利な物体又は弾丸による創傷に起因して生じる。外傷又は損傷は、放射線、ウイルス感染、免疫複合体の発生、及び高脂血症などの異なる要因によって引き起こされ得る。

【0182】

本明細書で定義されるように、「再狭窄」という語句は、狭窄の再発を指す。狭窄とは、血管の狭小化を指し、制限された血流をもたらす。再狭窄は通常、狭くなり、閉塞を除去する治療を受け、その後再び狭くなる動脈又は他の大きな血管に関連する。再狭窄は、超音波、X線コンピュータ断層撮影（CT）、核撮像、光学的撮像若しくは造影画像、又は免疫組織化学的検出のうちの1つ以上を使用することによって一般的に検出される。

【0183】

本明細書で定義されるように、「筋内膜増殖」という語句は、個体の動脈壁の内膜で生じる血管平滑筋細胞の増殖を指す。

【0184】

本明細書で使用される場合、「治療」又は「治療すること」という用語は、患者への可溶性NPP1（単独又は別の薬学的剤との組み合わせ）の適用若しくは投与、あるいは疾患若しくは障害、疾患若しくは障害の症状、又は疾患若しくは障害を発症する可能性を有する患者からの単離された組織若しくは細胞株（例えば、診断又はエクスピボ用）への治

10

20

30

40

50

療剤の適用若しくは投与として定義され、疾患若しくは障害、疾患若しくは障害の症状、又は疾患若しくは障害を発症する可能性を治す、癒す、緩和する、軽減する、変化させる、救済する、改善（ameliorate）する、改善（improve）する、又はそれに影響を与える目的を伴う。かかる治療は、薬理ゲノミクスの分野から得られた知識に基づいて、特異的に調整又は修飾されてもよい。

【0185】

本明細書で使用される場合、「予防する」又は「予防」又は「低減する」という用語は、何も起こらなかった場合に障害又は疾患の発症がないこと、又は障害若しくは疾患の発症が既にあった場合に更なる障害若しくは疾患の発症がないことを意味する。また、それが障害又は疾患に関連する症状のいくつか又は全てを予防する能力も考慮される。

10

【0186】

本明細書で使用される場合、「筋内膜又は新生内膜の増殖を低減又は予防する」という語句は、組織損傷部位での増殖血管平滑筋細胞のレベルを低減することによって、動脈壁の肥厚を低減し、動脈の再狭窄の発生を予防又はそのレベルを低減する、投与時の可溶性NPP1の能力を指す。

【0187】

本明細書で使用される場合、「冠動脈介入」という用語は、閉塞を除去し、かつ閉塞した血管への血流を回復させるために行われる、バルーン血管形成術、ステントを用いた血管形成術、ローターブレーション、又はカッティングバルーンカテーテル法などの外科的及び非外科的処置を指す。

20

【0188】

本明細書で使用される場合、「非外科的組織損傷」という用語は、ナイフなどの鈍的力又は鋭利な物体の使用を伴う暴行、高所からの落下などの力学的損傷、重機による労働災害、又は自動車事故などの車両による損傷を含むがこれに限定されない、外傷事象中に組織又は血管に負われた損傷を指す。

【0189】

本明細書で使用される場合、「非外科的組織損傷部位」という用語は、脳、脊髄、冠動脈血管、及び末梢動脈血管を含むがこれに限定されない、組織損傷が発生した部位を指す。

【0190】

本明細書で使用される場合、「手術部位」という用語は、血管外傷又は偶発的外傷のいずれかによって組織損傷が発生した動脈の領域を指す。

30

【0191】

本明細書で使用される場合、「ENPP1断片」という用語は、タンパク質形態で、又はそれをコードする核酸の形態で投与される少なくともENPP1触媒ドメインを有する、ENPP1タンパク質の断片若しくは一部、又は完全長NPP1の活性部分配列を指す。

【0192】

本明細書で使用される場合、「ENPP1薬剤」という用語は、アデノシン三リン酸（ATP）の切断により血漿ピロホスファート（Ppi）を産生することができる少なくとも触媒ドメインを含むENPP1ポリペプチド若しくは融合タンパク質若しくはENPP1断片、又はATP若しくはそれをコードするポリヌクレオチドを含むウイルスベクターなどのベクターの酵素切断によりPpiを産生することができる少なくとも触媒ドメインを含むENPP1ポリペプチド若しくは融合タンパク質若しくはENPP1断片をコードするcDNA又はRNAなどのポリヌクレオチドを指す。

40

【0193】

本明細書で使用される場合、「ステント」という用語は、治癒を助けるか、又は閉塞を緩和するか、又は経路の狭小化を防止するために、血管、管、又は導管内に留置された管状支持体を指す。ステントは一般に、金属（例：ステンレス鋼、コバルト合金、ニッケルチタン合金、マンガン合金、モリブデン合金、白金合金、タングステン合金）又はポリ

50

マー（例：シリコン）からなる拡張可能なメッシュコイルを含む。

【0194】

本明細書で使用される場合、「血管ステント」という用語は、治療を助けるか、又は閉塞を緩和するか、又は動脈経路の狭小化を防止するために、哺乳動物の動脈又は静脈の内側に留置された管状支持体を指す。

【0195】

本明細書で使用される場合、「コーティングされたステント」又は「溶出ステント」という用語は、埋め込み部位でステント表面（内部又は外部）から徐々に溶出することによって、治療的緩和を提供する、タンパク質、化学化合物、又は核酸などの治療用分子でコーティングされたステントを指す。ENPP1薬剤又はENPP3薬剤などの治療用分子は、金属ステントに直接結合することができ、一部は、展開中の薬物保持及びステント上の均一な分布を確実にするために薬物リザーバーとして機能するマトリックスポリマーに接合される。ステントにコーティングされたポリマーの種類、組成物、及び設計は、その場での埋め込み後の数週間又は数ヵ月の期間にわたる薬物の持続放出の溶出動態を指図する。コーティング材料は、有機物対無機物、生物分解可能物対非生物分解可能物、及び合成物対自然発生型物質に分類することができる。

【0196】

本明細書で使用される場合、「コーティング」という用語は、ステントをコーティングするためのENPP1薬剤又はENPP3薬剤と併せて使用されるポリマー担体を含む組成物を指す。コーティングは、ポリマーマトリックス中に懸濁されたENPP1薬剤又はENPP3薬剤を含むスプレー又は乾燥フィルムの形態で適用され得る。ポリマー担体は、ポリマーマトリックス又はENPP1薬剤若しくはENPP3薬剤の支持を提供するのに十分な量である。ポリマーは、好ましくはENPP1薬剤又はENPP3薬剤と非反応性であり、すなわち、2つが混合されたときに化学反応は生じない。

【0197】

本明細書で使用される場合、「溶媒」という用語は、その最も広く認識された定義に従って定義され、担体（ポリマー）及びENPP1薬剤又はENPP3薬剤が、室温又は20℃～40℃で、完全に又は部分的に溶解してコーティング組成物を形成することができる任意の材料を含む。滅菌二重蒸留水は、好ましい溶媒である。

【0198】

本明細書で使用される場合、「損傷部位」という用語は、脂質、コレステロール、カルシウム、並びに平滑筋細胞及び血小板などの様々な種類の細胞のうちの1つ以上の蓄積により、血液又は脊髄液の流れが収縮する血管系における領域を指す。損傷部位は、心臓カテーテル法を使用することによって一般的に特定される。心臓カテーテル法の間、カテーテルと称される長くて狭いチューブが、プラスチックのイントロデューサシース（腕又は脚の血管に挿入される短くて中空のチューブ）を通して挿入される。カテーテルは、X線装置の助けにより血管を通して冠動脈に誘導される。造影剤は、カテーテルを通して注射され、造影剤が心臓のチャンバー、弁、及び主要な血管を通過するとX線画像（冠動脈造影）が作製される。造影剤のデジタル写真は、冠動脈の狭小化又は閉塞の部位を特定するために使用される。血管内超音波（IVUS）及び心筋血流予備量比（FFR）と称される追加の撮像手順が、いくつかの場合では心臓カテーテル法とともに行われ、血管の壁の詳細な画像を取得することができる。

【0199】

本明細書で使用される場合、「移植部位」は、ENPP1又はENPP3でコーティングされたステントが血管系に埋め込まれる領域を指す。本発明のコーティングされたステントは、組織損傷部位の中心に、組織損傷部位にすぐ隣接して、又は組織損傷部位の中心から片側200µm以内に留置され得る。

【0200】

本明細書で使用される場合、「心筋梗塞」という用語は、動脈の内壁プラークが形成され、その結果、心臓への血流が低減され、酸素供給が欠乏するために心筋が損傷されるこ

10

20

30

40

50

とにより生じる、心筋への永久的な損傷を意味する。M Iの症状には、左腕から首まで移動する胸痛、息切れ、発汗、悪心、嘔吐、異常な心臓の鼓動、不安、疲労、脱力、ストレス、うつ病、及び他の要因が含まれる。

【0201】

本明細書で使用される場合、「心筋虚血」という用語は、胸痛又は狭心症につながる心臓組織への血液供給の減少によって特徴付けられる心筋の状態を指し、心筋梗塞は、血液供給の不在による心臓組織の死をもたらすこの虚血の終点である。冠動脈疾患（C A D）は、心筋虚血の一般的な原因と考えられている。

【0202】

本明細書で使用される場合、「鈍的外傷」という用語は、衝撃、損傷、又は物理的攻撃若しくは高速衝撃のいずれかによる、身体部分への物理的外傷を指す。鈍的外傷は、挫傷、擦過傷、裂傷、及び／又は骨折につながり得る。本明細書で使用される場合、「非外科的組織損傷」又は「穿通性外傷」という用語は、発射物又はナイフなどの物体が身体の組織に進入し、開放創傷を生じたときに起こる、身体部分の外傷を指す。

10

【0203】

本明細書で使用される場合、「メス切開」という用語は、外科的処置中にメスなどの鋭利な物体を使用して組織になされた切開を指す。切開は、外科的処置を行うことができるように、基礎組織、骨を露出させるために身体の組織になされた切断である。

【0204】

本明細書で使用される場合、「切除」という用語は、身体部分若しくは組織又はその機能の除去又は破壊を指す。切除は、手術、ホルモン、薬物、ラジオ波焼灼療法、熱によって行われ得る。

20

【0205】

本明細書で使用される場合、「有効量」という用語は、かかる量を受けていない対応する対象と比較して、状態、障害、疾患の改善を提供するか、又は状態、障害、若しくは疾患の進行若しくは発展の減少を提供するのに十分な薬剤（例えば、N P P 1融合又はN P P 3融合ポリペプチド）の量を指す。有効量はまた、状態、疾患、又は障害を治療、治癒、予防、又は改善することをもたらし得る。この用語はまた、正常な生理学的機能を強化するのに有効な量もその範囲内に含む。

【0206】

本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」という用語は、アミノ酸残基、関連する天然発生型構造バリエーション、及びペプチド結合を介して連結されたその合成非天然発生型類似体から構成されるポリマーを指す。

30

【0207】

本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、天然状態から変更又は除去されることを意味する。例えば、生きている動物に天然に存在する核酸又はポリペプチドは、「単離されて」いないが、その天然状態の共存物質から部分的又は完全に分離された同じ核酸又はポリペプチドは、「単離されて」いる。単離された核酸又はタンパク質は、実質的に精製された形態で存在することができるか、又は例えば宿主細胞などの非天然環境中に存在することができる。

40

【0208】

本明細書で使用される場合、「実質的に精製された」は、他の構成成分を本質的に含まないことを指す。例えば、実質的に精製されたポリペプチドは、通常その天然発生型状態で会合している他の構成成分から分離されているポリペプチドである。非限定的な実施形態には、95%の純度、99%の純度、99.5%の純度、99.9%の純度、及び100%の純度が含まれる。

【0209】

本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」又は「ポリヌクレオチド」という用語は、少なくとも2、ある特定の実施形態では少なくとも8、15、又は25ヌクレオチドの長さの範囲の核酸であるが、最大50、100、1000、若しくは5000ヌ

50

クレオチドの長さ、又はポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする化合物であり得る。

【0210】

本明細書で使用される場合、「薬学的組成物」又は「組成物」という用語は、薬学的に許容される担体との本開示内で有用な少なくとも1つの化合物の混合物を指す。薬学的組成物は、患者への化合物の投与を容易にする。これらに限定されないが、皮下、静脈内、経口、エアロゾル、吸入、直腸、膺、経皮、鼻腔内、頬側、舌下、非経口、髄腔内、胃内、眼、肺、及び局所投与を含む、化合物を投与する複数の技術は、当該技術分野に存在する。

【0211】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」という用語は、化合物の生物学的活性又は特性を破壊しない、担体又は希釈剤などの材料を指し、比較的非毒性であり、すなわち、材料は、望ましくない生物学的効果を引き起こすことなく、又は含まれる組成物の構成成分のうちのいずれか、例えば、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）と有害な様式で相互作用することなく、個体に投与され得る。

【0212】

本明細書で使用される場合、「病理学的石灰化」という用語は、軟部組織、分泌物、及び排泄経路におけるカルシウム塩の異常な沈着を指し、それが硬化する原因となる。2つの種類があり、それは、細胞及び組織の恒常性能力を超える、死滅する組織及び死滅した組織で発生する異栄養性石灰化と、カルシウムの細胞外レベルを上昇させた転移性石灰化（高カルシウム血症）である。石灰化には、細胞、並びに基底膜のコラーゲン及び動脈壁の弾性線維などの細胞外マトリックス成分も関与し得る。石灰化しやすい組織のいくつかの例としては、以下が挙げられる：胃粘膜－胃の内部上皮内層、腎臓及び肺、角膜、全身動脈、並びに肺静脈。

【0213】

本明細書で使用される場合、「病理学的骨化」という用語は、骨系にない組織、及び通常は骨形成特性を現わさない結合組織において骨が発生する病理学的状態を指す。骨化は、影響を受けている組織の性質に応じて3つの種類に分類され、軟骨内骨化は軟骨内で発生し、かつ軟骨を置き換える骨化である。膜内骨化は、結合組織で発生し、かつ結合組織を置き換える骨化である。変形骨化は、通常軟質の体構造における骨質物質の発生であり、異所性骨化とも称される。

【0214】

本明細書で使用される場合、「石灰化の低減」は、X線、マイクロCT、及びMRIのような非侵襲的方法を使用することにより観察される。99mTc-ピロホスファート（99mPPi）取り込みを用いるラジオイメージングを使用することによって、石灰化の低減も推測される。マウスにおける石灰化の存在は、マイクロコンピュータ断層撮影（CT）スキャン、並びに心臓、大動脈、及び腎臓から採取された組織学的切片により、ヘマトキシリン及びエオジン（H及びE）並びにアリザリンレッドなどの染料を使用して、検死を介して、Braddock et al. (Nature Communications volume 6, Article number: 10006 (2015)) に従って評価される。

【0215】

「低レベルのPPi」とは、対象が、正常なレベルの血漿ピロホスファート（PPi）の2%～5%以下を有する状態を指す。健康なヒト対象における正常なレベルの血漿PPiは、約1.8～2.6 μMである。(Arthritis and Rheumatism, Vol. 22, No. 8 (August 1979))

【0216】

本明細書で使用される場合、「異所性石灰化」という用語は、組織におけるカルシウム塩の病理学的沈着、又は軟部組織における骨成長によって特徴付けられる状態を指す。

【0217】

10

20

30

40

50

本明細書で使用される場合、「軟部組織の異所性石灰化」という用語は、典型的には、軟部組織で生じるリン酸カルシウム、ヒドロキシアパタイト、シュウ酸カルシウム、及びリン酸オクトカルシウムからなる不適切な生体石灰化を指し、軟部組織の硬化の喪失につながる。「動脈石灰化」は、動脈の硬化及び又は狭小化につながる動脈及び心臓弁で発生する異所性石灰化を指す。動脈の石灰化は、アテローム性プラークの負荷と、心筋梗塞のリスクの増加、末梢血管疾患における虚血性エピソードの増加、及び血管形成術後の解離のリスクの増加と相関する。

【0218】

本明細書で使用される場合、「静脈石灰化」という用語は、静脈の弾性を低減し、かつ血流を制限する静脈で発生する異所性石灰化を指し、これはその後血圧及び冠動脈欠損の増加につながり得る。

10

【0219】

本明細書で使用される場合、「血管石灰化」という用語は、血管系におけるミネラルの病理学的沈着を指す。内膜石灰化及び中膜石灰化を含む様々な形態を有するが、心臓の弁にも見出され得る。血管石灰化は、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、ある特定の遺伝状態、及び腎臓疾患、特にCKDと関連している。血管石灰化を有する患者は、有害な心血管事象のリスクがより高い。血管石灰化は、多種多様な患者に影響を与える。特発性乳児動脈石灰化は、新生児の動脈が石灰化する、まれな形態の血管石灰化である。

【0220】

本明細書で使用される場合、「脳石灰化」(BC)という用語は、非特異的神経病理学を指し、血管壁及び実質組織におけるカルシウム及び他のミネラルの沈着が発生し、神経細胞死及び神経膠症につながる。脳石灰化は、ダウン症候群、レビー小体病、アルツハイマー病、パーキンソン病、血管性認知症、脳腫瘍、及び様々な内分泌状態を含む様々な慢性及び急性脳障害としばしば関連している。心臓組織の石灰化は、大動脈組織及び冠動脈組織などの心臓の組織におけるカルシウムの沈着物(他のミネラルを含む可能性がある)の蓄積を指す。

20

【0221】

「アデノ随伴ウイルスベクター」、「AAVベクター」「アデノ随伴ウイルス」、「AAVウイルス」、「AAVビリオン」「AAVウイルス粒子」及び「AAV粒子」という用語は、本明細書で互換的に使用される場合、少なくとも1つのAAVカプシドタンパク質(好ましくは、特定のAAV血清型の全カプシドタンパク質による)と、カプシド形成された組換えウイルスゲノムとからなるウイルス粒子を指す。粒子は、ヒトENPP1若しくはヒトENPP3又はその機能的等価バリエーションをコードする配列、及びAAV逆位末端反復に隣接したプロモーターを少なくとも含む転写調節領域を含む異種ポリヌクレオチドを有する組換えウイルスゲノムを含む。粒子は、典型的には、「AAVベクター粒子」又は「AAVベクター」と称される。

30

【0222】

本明細書で使用される場合、「ベクター」という用語は、それが連結されている別の核酸を輸送することができる核酸分子を意味する。いくつかの実施形態では、ベクターは、プラスミド、すなわち、追加のDNAセグメントがライゲーションされ得る円形二重鎖DNAループである。いくつかの実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターであり、追加のヌクレオチド配列は、ウイルスゲノム内にライゲーションされ得る。いくつかの実施形態では、ベクターは、導入される宿主細胞(例えば、複製の細菌起源を有する細菌ベクター及びエピソーム哺乳動物ベクター)において、自律複製することができる。他の実施形態では、ベクター(例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター)は、宿主細胞に導入されると宿主細胞のゲノム内に統合されることによって、宿主ゲノムとともに複製される。更に、ある特定のベクター(発現ベクター)は、それらが作動可能に連結された遺伝子の発現を指示することができる。

40

【0223】

本明細書で使用される場合、「組換え宿主細胞」(又は単に「宿主細胞」)という用語

50

は、本明細書で使用される場合、外因性核酸及び／又は組換えベクターが導入されている細胞を意味する。「組換え宿主細胞」及び「宿主細胞」は、特定の対象細胞だけでなく、かかる細胞の子孫も意味することが理解されるべきである。変異又は環境の影響のいずれかに起因して、ある特定の修飾が後続する世代で発生し得るため、かかる子孫は、実際には親細胞と同一ではない場合があるが、本明細書で使用されるように、依然として「宿主細胞」という用語の範囲内に含まれる。

【0224】

本明細書で使用される場合、「組換えウイルスゲノム」という用語は、少なくとも1つの外来性発現カセットポリヌクレオチドが天然発生型AAVゲノムに挿入されるAAVゲノムを指す。本開示によるAAVのゲノムは、典型的には、シス作用5'及び3'逆位末端 10 反復配列(ITS)及び発現カセットを含む。

【0225】

本明細書で使用される場合、「発現カセット」という用語は、標的細胞における特定の核酸の転写を可能にする一連の特定の核酸エレメントを有する、組換え又は合成で生成された核酸構築物を指す。本開示によるAAVベクターの組換えウイルスゲノムの発現カセットは、ENPP1若しくはENPP3又はその機能的等価バリエーションをコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結された転写調節領域を含む。

【0226】

本明細書で使用される場合、「転写調節領域」という用語は、1つ以上の遺伝子の発現を調節することができる核酸断片を指す。本開示による転写制御領域は、プロモーター、 20 及び任意選択的にエンハンサーを含む。

【0227】

「プロモーター」という用語は、本明細書で使用される場合、ポリヌクレオチド配列の上流に位置する、1つ以上のポリヌクレオチドの転写を制御する働きをする核酸断片を指し、DNA依存性RNAポリメラーゼの結合部位、転写開始部位、並びにこれらに限定されないが、転写因子結合部位、リプレッサー、及び活性化因子タンパク質結合部位を含む任意の他のDNA配列、並びに当該技術分野で既知のヌクレオチドの任意の他の配列の存在によって構造的に識別され、プロモーターからの転写量を調節するために直接的又は間接的に作用する。誘導性プロモーター、構成的プロモーター、及び組織特異的プロモーターを含む任意の種類のプロモーターを、本開示で使用してもよい。 30

【0228】

本明細書で使用される場合、「エンハンサー」という用語は、転写因子が結合して遺伝子転写を増加させるDNA配列エレメントを指す。エンハンサーの例としては、制限されるものではないが、RSVエンハンサー、CMVエンハンサー、HCRエンハンサーなどが挙げられる。別の実施形態では、エンハンサーは、肝臓特異的エンハンサー、より好ましくは肝臓制御領域エンハンサー(HCR)である。

【0229】

本明細書で使用される場合、「作動可能に連結された」という用語は、目的のポリヌクレオチドに関するプロモーター配列の機能的関係及び位置を指す(例えば、プロモーター又はエンハンサーは、配列の転写に影響を与える場合、コード配列に作動可能に連結される)。概して、作動可能に連結されたプロモーターは、目的の配列に連続している。しかしながら、エンハンサーは、その発現を制御するために、目的の配列に連続する必要はない。別の実施形態では、プロモーター、及びENPP1若しくはENPP3、又はその機能的等価バリエーションをコードするヌクレオチド配列。 40

【0230】

「有効量」という用語は、所望の生物学的結果を提供するのに、非毒性であるが十分な量のENPP1又はENPP3をコードするウイルスベクターを指す。その結果は、疾患の兆候、症状、若しくは原因、又は生物学的系の任意の他の所望の変化の低減及び／又は軽減であり得る。

【0231】

本明細書で使用される場合、「Capタンパク質」という用語は、天然AAV Capタンパク質（例えば、VP1、VP2、VP3）の少なくとも1つの機能的活性を有するポリペプチドを指す。Capタンパク質の機能的活性の例としては、カプシドの形成を誘導する、一本鎖DNAの蓄積を促進する、カプシドへのAAV DNAパッケージングを促進する（すなわち、カプシド形成）、細胞受容体に結合する、及びビリオンの宿主細胞への侵入を促進する能力が挙げられる。原則的に、任意のCapタンパク質を本開示の状況で使用する事ができる。

【0232】

本明細書で使用される場合、「カプシド」という用語は、ウイルスゲノムがパッケージングされる構造を指す。カプシドは、タンパク質から作製されたいくつかのオリゴマー構造サブユニットからなる。例えば、AAVは、3つのカプシドタンパク質：VP1、VP2、及びVP3の相互作用によって形成される正二十面体型カプシドを有する。

【0233】

本明細書で使用される場合、「Repタンパク質」という用語は、天然AAV Repタンパク質（例えば、Rep 40、52、68、78）の少なくとも1つの機能的活性を有するポリペプチドを指す。Repタンパク質の「機能的活性」は、認識、DNA複製のAAV起源の結合及びニッキング、並びにDNAヘリカーゼ活性を介してDNAの複製を促進することを含む、タンパク質の生理学的機能に関連する任意の活性である。

【0234】

本明細書で使用される場合、「アデノ随伴ウイルスITR」又は「AAV ITR」という用語は、アデノ随伴ウイルスのゲノムのDNA鎖の両端に存在する逆位末端反復を指す。ITR配列は、AAVゲノムの効率的な増殖に必要とされる。これらの配列の別の特性は、ヘアピンを形成するそれらの能力である。この特性は、第2のDNA鎖のプライマーゼ非依存性合成を可能にするその自己プライミングに寄与する。これらのITR配列を修飾するための手順は、当該技術分野で既知である（Brown T, “Gene Cloning”, Chapman & Hall, London, GB, 1995、Watson R, et al., “Recombinant DNA”, 2^d Ed. Scientific American Books, New York, N. Y., US, 1992、Alberts B, et al., “Molecular Biology of the Cell”, Garland Publishing Inc., New York, N. Y., US, 2008、Innis M, et al., Eds., “PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications”, Academic Press Inc., San Diego, Calif., US, 1990、及びSchleef M, Ed., “Plasmid for Therapy and Vaccination”, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Del., 2001）。

【0235】

「組織特異的」プロモーターという用語は、特定の種類の分化細胞又は組織でのみ活性である。典型的には、組織特異的プロモーター中の下流遺伝子は、他のどのプロモーターよりも特異的である組織においてはるかに高い程度に活性であるものである。この場合、特異的である組織以外の任意の組織において、プロモーターの活性がほとんど又は実質的にない場合がある。

【0236】

本明細書で使用される場合、「誘導性プロモーター」という用語は、例えば、化学誘導剤の適用によって、生理学的又は発生学的に制御されるプロモーターを指す。例えば、それは、テトラサイクリン誘導性プロモーター、ミフェプリストン（RU-486）誘導性プロモーターなどであり得る。

【0237】

本明細書で使用される場合、「構成的プロモーター」という用語は、その活性が、生物の全ての細胞において、又はほとんどの発達段階の間に、細胞環境条件をほとんど又は全

10

20

30

40

50

く考慮せずに、比較的一定のレベルで維持されるプロモーターを指す。別の実施形態では、転写調節領域は、ENPP1の構成的発現を可能にする。構成的プロモーターの例としては、限定されるものでないが、レトロウイルスのラウス肉腫ウイルス(RSV)LTRプロモーター(任意選択で、RSVエンハンサーを含む)、サイトメガロウイルス(CMV)プロモーター(任意選択で、CMVエンハンサーを含む)、SV40プロモーター、ジヒドロ葉酸レダクターゼプロモーター、 β -アクチンプロモーター、ホスホグリセロールキナーゼ(PGK)プロモーター、及びEF1aプロモーター(Boshart M, et al., Cell 1985; 41: 521-530)。

【0238】

本明細書で使用される場合、「ポリアデニル化シグナル」という用語は、mRNAの3'末端へのポリアデニンストレッチの結合を媒介する核酸配列に関する。好適なポリアデニル化シグナルには、限定されるものではないが、SV40早期ポリアデニル化シグナル、SV40後期ポリアデニル化シグナル、HSVチミジンキナーゼポリアデニル化シグナル、プロタミン遺伝子ポリアデニル化シグナル、アデノウイルス5 E1bポリアデニル化シグナル、ウシ成長ホルモンポリアデニル化シグナル、ヒトバリアント成長ホルモンポリアデニル化シグナルなどが含まれる。

【0239】

本明細書で使用される場合、「シグナルペプチド」という用語は、タンパク質翻訳中に目的の新生タンパク質のアミノ末端で結合されたアミノ酸残基(10~30残基の長さの範囲)の配列を指す。シグナルペプチドは、シグナル認識粒子(SRP)によって認識され、小胞体での輸送後にシグナルペプチダーゼによって切断される。(Lodish et al., 2000, Molecular Cell Biology, 4th edition)。

【0240】

本明細書で使用される場合、「免疫応答」又は「免疫反応」という用語は、侵入(感染)病原性生物における抗原、又は外来性タンパク質の導入若しくは発現に対する宿主の免疫系を指す。免疫応答は、概して、液性かつ局所的であり、B細胞によって産生される抗体は、抗原-抗体複合体中の抗原と組み合わせさせて、抗原を不活化又は中和する。ヒトタンパク質をマウスモデル系に注射すると、免疫反応が観察されることが多い。一般的に、マウスモデル系は、外来抗原の導入前に免疫抑制剤を注射して、より良好な生存率を確実にすることにより、免疫寛容になる。

【0241】

本明細書で使用される場合、「免疫抑制」という用語は、外来タンパク質、骨髄及び組織移植などの外来抗原に対する免疫寛容を促進するために免疫抑制薬を使用する宿主免疫系の活性化又は有効性の意図的な低減である。免疫抑制薬の非限定的な例としては、抗CD4(GK1.5)抗体、シクロホスファミド、アザチオプリン(イムラン)、ミコフェノール酸モフェチル(セルセプト)、シクロスポリン(ネオール、サンディミュン、ゲングラフ)、メトトレキサート(リウマトレックス)、レフルノミド(アラバ)、シクロホスファミド(シトキサン)、及びクロラムブシル(ロイケラン)が挙げられる。

【0242】

範囲：本開示全体を通して、本開示の様々な態様が範囲形式で提示され得る。範囲形式の記載は、単に利便性及び簡潔性のためであり、本開示の範囲に対する非柔軟な制限として解釈されるべきではないことが理解されるべきである。したがって、範囲の説明は、その範囲内の全ての可能な部分範囲並びに個々の数値を具体的に開示しているとみなされるべきである。例えば、1~6などの範囲の記述は、1~3、1~4、1~5、2~4、2~6、3~6など、並びにその範囲内の個々の数、例えば、1、2、2.7、3、4、5、5.3、及び6など、具体的に開示された部分範囲を有するとみなされるべきである。これは、範囲の広さに関係なく適用される。

【0243】

治療方法

10

20

30

40

50

本開示は、対象への s N P P 1 又は s N P P 3 ポリペプチド及びその融合タンパク質を投与することを含む、E N P P 1 又は E N P P 3 薬剤の投与、並びにかかるポリペプチドをコードする核酸の投与に関する。かかるポリペプチドの配列には、限定されるものではないが、以下が含まれる。

【 0 2 4 4 】

配列

配列番号 1 – E N P P 1 アミノ酸配列 – 野生型

【表 1 – 1】

	Met	Glu	Arg	Asp	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Gly	Glu	
Gly	1				5					10					15	10
	Gly	Arg	Ala	Pro	Arg	Glu	Gly	Pro	Ala	Gly	Asn	Gly	Arg	Asp	Arg	
Gly				20					25					30		
	Arg	Ser	His	Ala	Ala	Glu	Ala	Pro	Gly	Asp	Pro	Gln	Ala	Ala	Ala	
Ser				35				40					45			
	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Asp	Val	Gly	Glu	Glu	Pro	Leu	Glu	Lys	Ala	
Ala				50				55				60				
	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asp	Pro	Asn	Thr	Tyr	Lys	Val	Leu	Ser	
Leu																
	65				70					75				80		20
	Val	Leu	Ser	Val	Cys	Val	Leu	Thr	Thr	Ile	Leu	Gly	Cys	Ile	Phe	
Gly																
				85					90					95		
	Leu	Lys	Pro	Ser	Cys	Ala	Lys	Glu	Val	Lys	Ser	Cys	Lys	Gly	Arg	
Cys																
				100					105					110		
	Phe	Glu	Arg	Thr	Phe	Gly	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	Ala	Ala	Cys	Val	
Glu																

30

40

50

【表 1 - 2】

		115				120				125					
	Leu	Gly	Asn	Cys	Cys	Leu	Asp	Tyr	Gln	Glu	Thr	Cys	Ile	Glu	Pro
Glu															
		130					135				140				
	His	Ile	Trp	Thr	Cys	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly	Glu	Lys	Arg	Leu
Thr															
	145					150					155				
160															
	Arg	Ser	Leu	Cys	Ala	Cys	Ser	Asp	Asp	Cys	Lys	Asp	Lys	Gly	Asp
Cys															
				165						170				175	
	Cys	Ile	Asn	Tyr	Ser	Ser	Val	Cys	Gln	Gly	Glu	Lys	Ser	Trp	Val
Glu															10
			180					185					190		
	Glu	Pro	Cys	Glu	Ser	Ile	Asn	Glu	Pro	Gln	Cys	Pro	Ala	Gly	Phe
Glu															
		195					200					205			
	Thr	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu
Tyr															
		210					215					220			
	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	Pro	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Lys
Lys															
	225					230					235				
240															
	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met	Arg	Pro	Val	Tyr	Pro	Thr	Lys
Thr															
				245						250				255	
	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser
His															20
			260					265					270		
	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr	Asp	Pro	Lys	Met	Asn	Ala	Ser
Phe															
		275					280					285			
	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe	Asn	Pro	Glu	Trp	Tyr	Lys	Gly
Glu															
		290					295					300			
	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr
Phe															
	305					310					315				
320															
	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ile	Asn	Gly	Ile	Phe	Pro	Asp
Ile															30
				325						330				335	
	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Leu
Ala															
			340					345					350		
	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	Lys	Asp	Glu	Arg	Pro	His	Phe
Tyr															
		355					360					365			
	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ser	Tyr	Gly
Pro															
		370					375					380			
	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Arg	Val	Asp	Gly	Met
Val															
	385					390					395				
400															40

【表 1 - 3】

Leu	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	Glu	Leu	Asn	Leu	His	Arg	Cys	
				405					410						415	
Lys	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	Gly	Met	Glu	Gln	Gly	Ser	Cys	
			420						425					430		
Lys	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	Leu	Gly	Asp	Val	Lys	Asn	Ile	
			435						440					445		
Asp	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Leu	Arg	Pro	Ser	Asp	Val	Pro	
		450					455					460				10
Cys	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	Gly	Ile	Ala	Arg	Asn	Leu	Ser	
	465					470						475				
480	Arg	Glu	Pro	Asn	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Lys	His	Phe	Leu	
Pro				485						490					495	
Phe	Lys	Arg	Leu	His	Phe	Ala	Lys	Ser	Asp	Arg	Ile	Glu	Pro	Leu	Thr	
			500							505				510		
Lys	Tyr	Leu	Asp	Pro	Gln	Trp	Gln	Leu	Ala	Leu	Asn	Pro	Ser	Glu	Arg	
			515						520					525		
Met	Tyr	Cys	Gly	Ser	Gly	Phe	His	Gly	Ser	Asp	Asn	Val	Phe	Ser	Asn	20
		530						535				540				
Glu	Gln	Ala	Leu	Phe	Val	Gly	Tyr	Gly	Pro	Gly	Phe	Lys	His	Gly	Ile	
	545					550						555				
560	Ala	Asp	Thr	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp	
Leu					565					570				575		
Asn	Leu	Asn	Leu	Thr	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu	
			580							585				590		
Val	His	Leu	Leu	Lys	Asn	Pro	Val	Tyr	Thr	Pro	Lys	His	Pro	Lys	Glu	
			595							600				605		30
Leu	His	Pro	Leu	Val	Gln	Cys	Pro	Phe	Thr	Arg	Asn	Pro	Arg	Asp	Asn	
		610						615				620				
Thr	Gly	Cys	Ser	Cys	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Pro	Ile	Glu	Asp	Phe	Gln	
	625					630						635				
640	Gln	Phe	Asn	Leu	Thr	Val	Ala	Glu	Glu	Lys	Ile	Ile	Lys	His	Glu	
Thr					645					650				655		
	Leu	Pro	Tyr	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys	Glu	Asn	Thr	Ile	
Cys					660					665				670		
	Leu	Leu	Ser	Gln	His	Gln	Phe	Met	Ser	Gly	Tyr	Ser	Gln	Asp	Ile	40
Leu																

【表 1 - 4】

		675					680					685			
Ser	Met	Pro	Leu	Trp	Thr	Ser	Tyr	Thr	Val	Asp	Arg	Asn	Asp	Ser	Phe
		690					695					700			
Leu	Thr	Glu	Asp	Phe	Ser	Asn	Cys	Leu	Tyr	Gln	Asp	Phe	Arg	Ile	Pro
	705					710					715				
720															
Ser	Ser	Pro	Val	His	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Lys	Asn	Asn	Thr	Lys	Val
					725					730				735	
Ile	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Gln	Leu	Asn	Lys	Asn	Ser	Ser	Gly
			740					745					750		
Ser	Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr	Asn	Ile	Val	Pro	Met	Tyr	Gln
		755					760					765			
Tyr	Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe	His	Asp	Thr	Leu	Leu	Arg	Lys
		770				775					780				
Asp	Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Val	Phe
	785				790					795					
800															
Lys	Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu	Glu	Asn	Leu	Arg	Gln
				805					810					815	
Phe	Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu	Ile	Leu	Ile	Pro	Thr	His	Phe
			820					825					830		
Cys	Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp	Thr	Ser	Gln	Thr	Pro	Leu	His
		835					840					845			
Asn	Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe	Ile	Leu	Pro	His	Arg	Thr	Asp
		850				855					860				
Glu	Ser	Glu	Ser	Cys	Val	His	Gly	Lys	His	Asp	Ser	Ser	Trp	Val	Glu
	865				870					875					
880															
Thr	Leu	Leu	Met	Leu	His	Arg	Ala	Arg	Ile	Thr	Asp	Val	Glu	His	Ile
				885				890					895		
Leu	Gly	Leu	Ser	Phe	Tyr	Gln	Gln	Arg	Lys	Glu	Pro	Val	Ser	Asp	Ile
			900				905					910			
	Lys	Leu	Lys	Thr	His	Leu	Pro	Thr	Phe	Ser	Gln	Glu	Asp		
		915					920					925			

【 0 2 4 5 】

配列番号 2 - アズロシジン - E N P P 1 - F C

【表 2】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**APSCAKEVKSCGRCFERTFGNCRCDAAACVELGNCCLDYQETCIEPE
 HIWTCNKFRCEKRLTRSLCACSDDCDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESESINEPQCPAGFETPPT
 LLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMY
 DPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEE
 RILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMMLMDGLKELNLHRCL
 NLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPN
 QHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPOWLALNPSEKCYGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYG
 PGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNP
 RDNLCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDIL
 MPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEA
 LLTNIIVPMYQSFQVIWRYFHDTLRLKYAEERNGVNVVSGPVDFDYDGRCDSENLRQKRRVIRNQE
 ILIPTHFFIVLTSCDKTSQTPHLCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSWVEELLMLHRARITDV
 EHITGLSFYQQRKEPVSILKLTHTLPTFSQEDLINDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDITLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
 NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

単一下線－アズロシジシングナル配列、二重下線－ENPP1配列の始まり及び終わり、
 太字残基－Fc配列、**は、シグナル配列の切断点を示す。

【0246】

配列番号3－アズロシジン－ENPP1－Alb

【表 3】

20

MTRLTVLALLAGLLASSRA**APSCAKEVKSCGRCFERTFGNCRCDAAACVELGNCCLDYQETCIEPE
 HIWTCNKFRCEKRLTRSLCACSDDCDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESESINEPQCPAGFETPPT
 LLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMY
 DPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEE
 RILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMMLMDGLKELNLHRCL
 NLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPN
 QHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPOWLALNPSEKCYGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYG
 PGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNP
 RDNLCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDIL
 MPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEA
 LLTNIIVPMYQSFQVIWRYFHDTLRLKYAEERNGVNVVSGPVDFDYDGRCDSENLRQKRRVIRNQE
 ILIPTHFFIVLTSCDKTSQTPHLCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSWVEELLMLHRARITDV
 EHITGLSFYQQRKEPVSILKLTHTLPTFSQEDLINMKWVTFLLLLFVSGSAFSGVFRREAHKSEIA
 HRYNDLGEQHFGLVLIAFSQYLQKCSYDEHAKLVQEVTDFAKTCVADESAANCDKSLHTLFGDKLCA
 IPNLRENYGELADCCTKQEPERNECFLOHKDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENPTTFMGHYLHEVAR
 RHPYFYAPELLYYAEQYNEILTQCCAEADKESCLTPKLDGVKEKALVSSVRQRMKSSMQKFGERAFAK
 AWAVARLSQTFPNADFAEITKLATDLTKVNKECCHGDLLECADDRAELAKYMCENQATISSKLQTCDD
 KPLLKAHCLSEVEHDTMPADLPAAADFVEDQEVCKNYAEAKDVFLGTFLYEYSRRHPDYSVSLLLR
 LAKKYEATLEKCCAEANPPACYGTVLAEFQPLVEEPKLNKVTNCDLYEKLGEYGFQNAILVRYTQKAP
 QVSTPTLVEAARNLGRVGTCKCTLPEDQRLPCVEDYLSAILNRVCLLHEKTPVSEHVTKCCSGSLVER
 RPCFSALTVDETYVPKEFKAETFTFHSDICTLPEKEKQIKKQTALAELVKHKPKATAEQLKTMDDFA
 QFLDTCKKAADKDTCTFSTEGPNLVTRCKDALARSWSHPQFEK

30

単一下線－アズロシジシングナル配列、二重下線－ENPP1配列の始まり及び終わり、
 太字残基－アルブミン配列、**は、シグナル配列の切断点を示す。

40

【0247】

配列番号4－アズロシジン－ENPP1

50

【表 4】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**APSCAKEVKCKGRCFERTFGNCRCDAAACVELGNCCLDYQETCIEPE
 HIWTCNKFRCEKRLTRSLCACSDDCCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPT
 LLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIIDNKMY
 DPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEE
 RILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMMDGLKELNLHRCL
 NLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPN
 QHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSEKCYGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYG
 PGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNP
 RDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKI IKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDIL
 MPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEA
 LLTNIIVPMYQSFQVIWRYFHDTLRLKYAEERNGVNVVSGPVDFDYDGRCDLENLRQKRRVIRNQE
 ILIPTHFFIVLTSCKDTSQTAPSCAKEVKCKGRCFERTFGNCRCDAAACVELGNCCLDYQETCIEPEH
 IWTCKNKFRCEKRLTRSLCACSDDCCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTL
 LFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIIDNKMYD
 PKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEE
 ILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMMDGLKELNLHRCLN
 LILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPNQ
 HFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSEKCYGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYP
 GFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPR
 DNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKI IKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILM
 PLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEAL
 LLTNIIVPMYQSFQVIWRYFHDTLRLKYAEERNGVNVVSGPVDFDYDGRCDLENLRQKRRVIRNQE
 ILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSWVEELMLHRARITDVE
 HITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED

10

20

単一下線－アズロシジシングナル配列、二重下線－ENPP1配列の始まり及び終わり、
 **は、シングナル配列の切断点を示す。

【0248】

配列番号5－ENPP2アミノ酸配列－野生型

30

40

50

【表 5 - 1】

Met	Ala	Arg	Arg	Ser	Ser	Phe	Gln	Ser	Cys	Gln	Ile	Ile	Ser	Leu	Phe
1				5					10					15	
Thr	Phe	Ala	Val	Gly	Val	Asn	Ile	Cys	Leu	Gly	Phe	Thr	Ala	His	Arg
			20					25					30		
Ile	Lys	Arg	Ala	Glu	Gly	Trp	Glu	Gly	Gly	Pro	Pro	Thr	Val	Leu	Ser
		35					40					45			
Asp	Ser	Pro	Trp	Thr	Asn	Ile	Ser	Gly	Ser	Cys	Lys	Gly	Arg	Cys	Phe
	50				55						60				
Glu	Leu	Gln	Glu	Ala	Gly	Pro	Pro	Asp	Cys	Arg	Cys	Asp	Asn	Leu	Cys
65					70					75					80
Lys	Ser	Tyr	Thr	Ser	Cys	Cys	His	Asp	Phe	Asp	Glu	Leu	Cys	Leu	Lys
				85					90					95	
Thr	Ala	Arg	Gly	Trp	Glu	Cys	Thr	Lys	Asp	Arg	Cys	Gly	Glu	Val	Arg
			100					105					110		
Asn	Glu	Glu	Asn	Ala	Cys	His	Cys	Ser	Glu	Asp	Cys	Leu	Ala	Arg	Gly
		115					120					125			
Asp	Cys	Cys	Thr	Asn	Tyr	Gln	Val	Val	Cys	Lys	Gly	Glu	Ser	His	Trp
	130				135						140				
Val	Asp	Asp	Asp	Cys	Glu	Ile	Lys	Ala	Ala	Glu	Cys	Pro	Ala	Gly	
145					150				155					160	
Phe	Val	Arg	Pro	Pro	Leu	Ile	Ile	Phe	Ser	Val	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala
				165					170					175	
Ser	Tyr	Met	Lys	Lys	Gly	Ser	Lys	Val	Met	Pro	Asn	Ile	Glu	Lys	Leu
			180					185					190		
Arg	Ser	Cys	Gly	Thr	His	Ser	Pro	Tyr	Met	Arg	Pro	Val	Tyr	Pro	Thr
		195					200					205			
Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ala	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu
	210				215						220				
Ser	His	Gly	Ile	Val	Gly	Asn	Ser	Met	Tyr	Asp	Pro	Val	Phe	Asp	Ala
225					230					235				240	
Thr	Phe	His	Leu	Arg	Gly	Arg	Glu	Lys	Phe	Asn	His	Arg	Trp	Trp	Gly
				245					250					255	
Gly	Gln	Pro	Leu	Trp	Ile	Thr	Ala	Thr	Lys	Gln	Gly	Val	Lys	Ala	Gly
			260					265					270		

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

Thr	Phe	Phe	Trp	Ser	Val	Val	Ile	Pro	His	Glu	Arg	Arg	Ile	Leu	Thr	
		275					280					285				
Ile	Leu	Gln	Trp	Leu	Thr	Leu	Pro	Asp	His	Glu	Arg	Pro	Ser	Val	Tyr	
	290					295					300					
Ala	Phe	Tyr	Ser	Glu	Gln	Pro	Asp	Phe	Ser	Gly	His	Lys	Tyr	Gly	Pro	
305					310					315					320	
Phe	Gly	Pro	Glu	Met	Thr	Asn	Pro	Leu	Arg	Glu	Ile	Asp	Lys	Ile	Val	
				325					330					335		
Gly	Gln	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	Gln	Leu	Lys	Leu	His	Arg	Cys	Val	
			340					345					350			
Asn	Val	Ile	Phe	Val	Gly	Asp	His	Gly	Met	Glu	Asp	Val	Thr	Cys	Asp	
		355				360						365				
Arg	Thr	Glu	Phe	Leu	Ser	Asn	Tyr	Leu	Thr	Asn	Val	Asp	Asp	Ile	Thr	
	370					375					380					
Leu	Val	Pro	Gly	Thr	Leu	Gly	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Phe	Ser	Asn	Asn	
385					390					395					400	
Ala	Lys	Tyr	Asp	Pro	Lys	Ala	Ile	Ile	Ala	Asn	Leu	Thr	Cys	Lys	Lys	
				405					410					415		
Pro	Asp	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Lys	Gln	His	Leu	Pro	Lys	Arg	
			420					425					430			
Leu	His	Tyr	Ala	Asn	Asn	Arg	Arg	Ile	Glu	Asp	Ile	His	Leu	Leu	Val	
		435				440						445				
Glu	Arg	Arg	Trp	His	Val	Ala	Arg	Lys	Pro	Leu	Asp	Val	Tyr	Lys	Lys	
	450					455					460					
Pro	Ser	Gly	Lys	Cys	Phe	Gln	Gly	Asp	His	Gly	Phe	Asp	Asn	Lys		
465					470				475					480		
Val	Asn	Ser	Met	Gln	Thr	Val	Phe	Val	Gly	Tyr	Gly	Ser	Thr	Phe	Lys	
				485					490					495		
Tyr	Lys	Thr	Lys	Val	Pro	Pro	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Leu	Tyr	Asn	Val	
		500						505					510			
Met	Cys	Asp	Leu	Leu	Gly	Leu	Lys	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	
		515					520					525				
Gly	Ser	Leu	Asn	His	Leu	Leu	Arg	Thr	Asn	Thr	Phe	Arg	Pro	Thr	Met	
	530					535					540					
Pro	Glu	Glu	Val	Thr	Arg	Pro	Asn	Tyr	Pro	Gly	Ile	Met	Tyr	Leu	Gln	
545					550					555					560	
Ser	Asp	Phe	Asp	Leu	Gly	Cys	Thr	Cys	Asp	Asp	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	
				565					570					575		
Asn	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Asn	Lys	Arg	Leu	His	Thr	Lys	Gly	Ser	Thr	
			580					585					590			
Glu	Ala	Glu	Thr	Arg	Lys	Phe	Arg	Gly	Ser	Arg	Asn	Glu	Asn	Lys	Glu	
		595					600					605				
Asn	Ile	Asn	Gly	Asn	Phe	Glu	Pro	Arg	Lys	Glu	Arg	His	Leu	Leu	Tyr	
	610					615					620					
Gly	Arg	Pro	Ala	Val	Leu	Tyr	Arg	Thr	Arg	Tyr	Asp	Ile	Leu	Tyr	His	
625					630					635					640	
Thr	Asp	Phe	Glu	Ser	Gly	Tyr	Ser	Glu	Ile	Phe	Leu	Met	Pro	Leu	Trp	
				645					650					655		
Thr	Ser	Tyr	Thr	Val	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Val	Ser	Ser	Val	Pro	Asp	
			660					665					670			
His	Leu	Thr	Ser	Cys	Val	Arg	Pro	Asp	Val	Arg	Val	Ser	Pro	Ser	Phe	
		675					680					685				
Ser	Gln	Asn	Cys	Leu	Ala	Tyr	Lys	Asn	Asp	Lys	Gln	Met	Ser	Tyr	Gly	
	690					695					700					
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Tyr	Leu	Ser	Ser	Ser	Pro	Glu	Ala	Lys	Tyr	Asp	
705					710					715					720	

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

Ala	Phe	Leu	Val	Thr	Asn	Met	Val	Pro	Met	Tyr	Pro	Ala	Phe	Lys	Arg
				725					730					735	
Val	Trp	Asn	Tyr	Phe	Gln	Arg	Val	Leu	Val	Lys	Lys	Tyr	Ala	Ser	Glu
			740					745					750		
Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Gly	Pro	Ile	Phe	Asp	Tyr	Asp	Tyr
		755					760					765			
Asp	Gly	Leu	His	Asp	Thr	Glu	Asp	Lys	Ile	Lys	Gln	Tyr	Val	Glu	Gly
	770					775					780				
Ser	Ser	Ile	Pro	Val	Pro	Thr	His	Tyr	Tyr	Ser	Ile	Ile	Thr	Ser	Cys
785					790					795					800
Leu	Asp	Phe	Thr	Gln	Pro	Ala	Asp	Lys	Cys	Asp	Gly	Pro	Leu	Ser	Val
				805					810					815	
Ser	Ser	Phe	Ile	Leu	Pro	His	Arg	Pro	Asp	Asn	Glu	Glu	Ser	Cys	Asn
			820					825					830		
Ser	Ser	Glu	Asp	Glu	Ser	Lys	Trp	Val	Glu	Glu	Leu	Met	Lys	Met	His
		835					840					845			
Thr	Ala	Arg	Val	Arg	Asp	Ile	Glu	His	Leu	Thr	Ser	Leu	Asp	Phe	Phe
	850					855					860				
Arg	Lys	Thr	Ser	Arg	Ser	Tyr	Pro	Glu	Ile	Leu	Thr	Leu	Lys	Thr	Tyr
865					870					875					880
Leu	His	Thr	Tyr	Glu	Ser	Glu	Ile								
				885											

10

20

【 0 2 4 9】

配列番号 6 - E N P P 3 の細胞外ドメイン：

【表 6 - 1】

Glu	Lys	Gln	Gly	Ser	Cys	Arg	Lys	Lys	Cys	Phe	Asp	Ala	Ser	Phe	Arg
1				5					10					15	
Gly	Leu	Glu	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	Val	Ala	Cys	Lys	Asp	Arg	Gly	Asp
			20					25					30		
Cys	Cys	Trp	Asp	Phe	Glu	Asp	Thr	Cys	Val	Glu	Ser	Thr	Arg	Ile	Trp
		35					40					45			
Met	Cys	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly	Glu	Thr	Arg	Leu	Glu	Ala	Ser	Leu
	50					55				60					
Cys	Ser	Cys	Ser	Asp	Asp	Cys	Leu	Gln	Arg	Lys	Asp	Cys	Cys	Ala	Asp
65				70						75					80
Tyr	Lys	Ser	Val	Cys	Gln	Gly	Glu	Thr	Ser	Trp	Leu	Glu	Glu	Asn	Cys
			85						90					95	
Asp	Thr	Ala	Gln	Gln	Ser	Gln	Cys	Pro	Glu	Gly	Phe	Asp	Leu	Pro	Pro
			100					105					110		
Val	Ile	Leu	Phe	Ser	Met	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	Tyr	Thr
	115						120					125			
Trp	Asp	Thr	Leu	Met	Pro	Asn	Ile	Asn	Lys	Leu	Lys	Thr	Cys	Gly	Ile
	130					135					140				
His	Ser	Lys	Tyr	Met	Arg	Ala	Met	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn
145				150						155					160
His	Tyr	Thr	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile
			165						170					175	
Asp	Asn	Asn	Met	Tyr	Asp	Val	Asn	Leu	Asn	Lys	Asn	Phe	Ser	Leu	Ser
			180					185					190		
Ser	Lys	Glu	Gln	Asn	Asn	Pro	Ala	Trp	Trp	His	Gly	Gln	Pro	Met	Trp
		195					200					205			
Leu	Thr	Ala	Met	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ala	Ala	Thr	Tyr	Phe	Trp	Pro
	210					215					220				
Gly	Ser	Glu	Val	Ala	Ile	Asn	Gly	Ser	Phe	Pro	Ser	Ile	Tyr	Met	Pro

30

40

50

【表 6 - 2】

225					230				235					240
Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Ser	Thr	Leu	Lys
				245					250				255	
Trp	Leu	Asp	Leu	Pro	Lys	Ala	Glu	Arg	Pro	Arg	Phe	Tyr	Thr	Tyr
		260					265					270		
Phe	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ala	Gly	Gly	Pro	Val	Ala
		275					280				285			
Arg	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Val	Val	Asp	His	Ala	Phe	Gly	Met
	290					295			300					
Met	Glu	Gly	Leu	Lys	Gln	Arg	Asn	Leu	His	Asn	Cys	Val	Asn	Ile
305					310				315					320
Leu	Leu	Ala	Asp	His	Gly	Met	Asp	Gln	Thr	Tyr	Cys	Asn	Lys	Met
				325					330				335	
Tyr	Met	Thr	Asp	Tyr	Phe	Pro	Arg	Ile	Asn	Phe	Phe	Tyr	Met	Tyr
			340					345					350	Glu
Gly	Pro	Ala	Pro	Arg	Ile	Arg	Ala	His	Asn	Ile	Pro	His	Asp	Phe
		355					360					365		Phe
Ser	Phe	Asn	Ser	Glu	Glu	Ile	Val	Arg	Asn	Leu	Ser	Cys	Arg	Lys
	370					375				380				Pro
Asp	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Thr	Pro	Asp	Leu	Pro	Lys	Arg
385					390				395					400
His	Tyr	Ala	Lys	Asn	Val	Arg	Ile	Asp	Lys	Val	His	Leu	Phe	Val
			405					410						415
Gln	Gln	Trp	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Lys	Ser	Asn	Thr	Asn	Cys	Gly
			420					425					430	Gly
Gly	Asn	His	Gly	Tyr	Asn	Asn	Glu	Phe	Arg	Ser	Met	Glu	Ala	Ile
	435						440					445		Phe
Leu	Ala	His	Gly	Pro	Ser	Phe	Lys	Glu	Lys	Thr	Glu	Val	Glu	Pro
	450					455					460			Phe
Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp	Leu	Leu	Arg	Ile
465					470				475					Gln
Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu	Asn	His	Leu	Lys
			485					490					495	
Val	Pro	Phe	Tyr	Glu	Pro	Ser	His	Ala	Glu	Glu	Val	Ser	Lys	Phe
			500					505					510	Ser
Val	Cys	Gly	Phe	Ala	Asn	Pro	Leu	Pro	Thr	Glu	Ser	Leu	Asp	Cys
		515					520					525		Phe
Cys	Pro	His	Leu	Gln	Asn	Ser	Thr	Gln	Leu	Glu	Gln	Val	Asn	Gln
			530			535					540			Met
Leu	Asn	Leu	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Thr	Ala	Thr	Val	Lys	Val	Asn
545					550				555					Leu
Pro	Phe	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys	Asn	Val	Asp	His	Cys
			565					570					575	Leu
Leu	Tyr	His	Arg	Glu	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	Gly	Lys	Ala	Met	Arg
			580					585					590	Met
Pro	Met	Trp	Ser	Ser	Tyr	Thr	Val	Pro	Gln	Leu	Gly	Asp	Thr	Ser
		595					600					605		Pro
Leu	Pro	Pro	Thr	Val	Pro	Asp	Cys	Leu	Arg	Ala	Asp	Val	Arg	Val
		610				615					620			Pro
Pro	Ser	Glu	Ser	Gln	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Leu	Ala	Asp	Lys	Asn
625					630				635					Ile
Thr	His	Gly	Phe	Leu	Tyr	Pro	Pro	Ala	Ser	Asn	Arg	Thr	Ser	Asp
			645					650					655	Ser
Gln	Tyr	Asp	Ala	Leu	Ile	Thr	Ser	Asn	Leu	Val	Pro	Met	Tyr	Glu
		660						665				670		Glu
Phe	Arg	Lys	Met	Trp	Asp	Tyr	Phe	His	Ser	Val	Leu	Leu	Ile	Lys
														His

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

		675				680					685				
Ala	Thr	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Ile	Phe	Asp
	690					695					700				
Tyr	Asn	Tyr	Asp	Gly	His	Phe	Asp	Ala	Pro	Asp	Glu	Ile	Thr	Lys	His
705				710						715					720
Leu	Ala	Asn	Thr	Asp	Val	Pro	Ile	Pro	Thr	His	Tyr	Phe	Val	Val	Leu
			725						730					735	
Thr	Ser	Cys	Lys	Asn	Lys	Ser	His	Thr	Pro	Glu	Asn	Cys	Pro	Gly	Trp
		740						745				750			
Leu	Asp	Val	Leu	Pro	Phe	Ile	Ile	Pro	His	Arg	Pro	Thr	Asn	Val	Glu
	755					760					765				
Ser	Cys	Pro	Glu	Gly	Lys	Pro	Glu	Ala	Leu	Trp	Val	Glu	Glu	Arg	Phe
	770					775					780				
Thr	Ala	His	Ile	Ala	Arg	Val	Arg	Asp	Val	Glu	Leu	Leu	Thr	Gly	Leu
785					790					795					800
Asp	Phe	Tyr	Gln	Asp	Lys	Val	Gln	Pro	Val	Ser	Glu	Ile	Leu	Gln	Leu
			805						810					815	
Lys	Thr	Tyr	Leu	Pro	Thr	Phe	Glu	Thr	Thr	Ile					
		820					825								

10

【0 2 5 0】

配列番号 7 - N P P 3 アミノ酸配列：

20

【表 7 - 1】

Met	Glu	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ala	Thr	Glu	Gln	Pro	Val	Lys	Lys	Asn
1				5					10					15	
Thr	Leu	Lys	Lys	Tyr	Lys	Ile	Ala	Cys	Ile	Val	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu
			20					25					30		
Val	Ile	Met	Ser	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Arg	Lys	Leu
		35				40						45			
Glu	Lys	Gln	Gly	Ser	Cys	Arg	Lys	Lys	Cys	Phe	Asp	Ala	Ser	Phe	Arg
	50					55					60				
Gly	Leu	Glu	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	Val	Ala	Cys	Lys	Asp	Arg	Gly	Asp
65				70						75					80
Cys	Cys	Trp	Asp	Phe	Glu	Asp	Thr	Cys	Val	Glu	Ser	Thr	Arg	Ile	Trp
			85						90					95	
Met	Cys	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly	Glu	Thr	Arg	Leu	Glu	Ala	Ser	Leu
			100					105					110		
Cys	Ser	Cys	Ser	Asp	Asp	Cys	Leu	Gln	Arg	Lys	Asp	Cys	Cys	Ala	Asp
		115					120					125			
Tyr	Lys	Ser	Val	Cys	Gln	Gly	Glu	Thr	Ser	Trp	Leu	Glu	Glu	Asn	Cys
	130					135					140				
Asp	Thr	Ala	Gln	Gln	Ser	Gln	Cys	Pro	Glu	Gly	Phe	Asp	Leu	Pro	Pro
145					150					155					160
Val	Ile	Leu	Phe	Ser	Met	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	Tyr	Thr
			165						170					175	
Trp	Asp	Thr	Leu	Met	Pro	Asn	Ile	Asn	Lys	Leu	Lys	Thr	Cys	Gly	Ile
		180						185					190		
His	Ser	Lys	Tyr	Met	Arg	Ala	Met	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn
		195					200					205			
His	Tyr	Thr	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile
	210					215					220				
Asp	Asn	Asn	Met	Tyr	Asp	Val	Asn	Leu	Asn	Lys	Asn	Phe	Ser	Leu	Ser
225					230					235					240
Ser	Lys	Glu	Gln	Asn	Asn	Pro	Ala	Trp	Trp	His	Gly	Gln	Pro	Met	Trp
			245						250					255	
Leu	Thr	Ala	Met	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ala	Ala	Thr	Tyr	Phe	Trp	Pro

30

40

50

【表 7 - 2】

260							265							270						
Gly	Ser	Glu	Val	Ala	Ile	Asn	Gly	Ser	Phe	Pro	Ser	Ile	Tyr	Met	Pro					
275							280							285						
Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Ser	Thr	Leu	Leu	Lys					
290							295							300						
Trp	Leu	Asp	Leu	Pro	Lys	Ala	Glu	Arg	Pro	Arg	Phe	Tyr	Thr	Met	Tyr					
305							310							315						
Phe	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ala	Gly	Gly	Pro	Val	Ser	Ala					
325							330							335						
Arg	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Val	Val	Asp	His	Ala	Phe	Gly	Met	Leu					
340							345							350						
Met	Glu	Gly	Leu	Lys	Gln	Arg	Asn	Leu	His	Asn	Cys	Val	Asn	Ile	Ile					
355							360							365						
Leu	Leu	Ala	Asp	His	Gly	Met	Asp	Gln	Thr	Tyr	Cys	Asn	Lys	Met	Glu					
370							375							380						
Tyr	Met	Thr	Asp	Tyr	Phe	Pro	Arg	Ile	Asn	Phe	Phe	Tyr	Met	Tyr	Glu					
385							390							395						
Gly	Pro	Ala	Pro	Arg	Ile	Arg	Ala	His	Asn	Ile	Pro	His	Asp	Phe	Phe					
405							410							415						
Ser	Phe	Asn	Ser	Glu	Glu	Ile	Val	Arg	Asn	Leu	Ser	Cys	Arg	Lys	Pro					
420							425							430						
Asp	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Thr	Pro	Asp	Leu	Pro	Lys	Arg	Leu					
435							440							445						
His	Tyr	Ala	Lys	Asn	Val	Arg	Ile	Asp	Lys	Val	His	Leu	Phe	Val	Asp					
450							455							460						
Gln	Gln	Trp	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Lys	Ser	Asn	Thr	Asn	Cys	Gly	Gly					
465							470							475						
Gly	Asn	His	Gly	Tyr	Asn	Asn	Glu	Phe	Arg	Ser	Met	Glu	Ala	Ile	Phe					
485							490							495						
Leu	Ala	His	Gly	Pro	Ser	Phe	Lys	Glu	Lys	Thr	Glu	Val	Glu	Pro	Phe					
500							505							510						
Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp	Leu	Leu	Arg	Ile	Gln					
515							520							525						
Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu	Asn	His	Leu	Leu	Lys					
530							535							540						
Val	Pro	Phe	Tyr	Glu	Pro	Ser	His	Ala	Glu	Glu	Val	Ser	Lys	Phe	Ser					
545							550							555						
Val	Cys	Gly	Phe	Ala	Asn	Pro	Leu	Pro	Thr	Glu	Ser	Leu	Asp	Cys	Phe					
565							570							575						
Cys	Pro	His	Leu	Gln	Asn	Ser	Thr	Gln	Leu	Glu	Gln	Val	Asn	Gln	Met					
580							585							590						
Leu	Asn	Leu	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Thr	Ala	Thr	Val	Lys	Val	Asn	Leu					
595							600							605						
Pro	Phe	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys	Asn	Val	Asp	His	Cys	Leu					
610							615							620						
Leu	Tyr	His	Arg	Glu	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	Gly	Lys	Ala	Met	Arg	Met					
625							630							635						
Pro	Met	Trp	Ser	Ser	Tyr	Thr	Val	Pro	Gln	Leu	Gly	Asp	Thr	Ser	Pro					
645							650							655						
Leu	Pro	Pro	Thr	Val	Pro	Asp	Cys	Leu	Arg	Ala	Asp	Val	Arg	Val	Pro					
660							665							670						
Pro	Ser	Glu	Ser	Gln	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Leu	Ala	Asp	Lys	Asn	Ile					
675							680							685						
Thr	His	Gly	Phe	Leu	Tyr	Pro	Pro	Ala	Ser	Asn	Arg	Thr	Ser	Asp	Ser					
690							695							700						
Gln	Tyr	Asp	Ala	Leu	Ile	Thr	Ser	Asn	Leu	Val	Pro	Met	Tyr	Glu	Glu					

10

20

30

40

50

【表 7 - 3】

705					710					715					720
Phe	Arg	Lys	Met	Trp	Asp	Tyr	Phe	His	Ser	Val	Leu	Leu	Ile	Lys	His
				725					730					735	
Ala	Thr	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Ile	Phe	Asp
				740					745					750	
Tyr	Asn	Tyr	Asp	Gly	His	Phe	Asp	Ala	Pro	Asp	Glu	Ile	Thr	Lys	His
				755					760					765	
Leu	Ala	Asn	Thr	Asp	Val	Pro	Ile	Pro	Thr	His	Tyr	Phe	Val	Val	Leu
				770					775					780	
Thr	Ser	Cys	Lys	Asn	Lys	Ser	His	Thr	Pro	Glu	Asn	Cys	Pro	Gly	Trp
785					790					795					800
Leu	Asp	Val	Leu	Pro	Phe	Ile	Ile	Pro	His	Arg	Pro	Thr	Asn	Val	Glu
				805					810					815	
Ser	Cys	Pro	Glu	Gly	Lys	Pro	Glu	Ala	Leu	Trp	Val	Glu	Glu	Arg	Phe
				820					825					830	
Thr	Ala	His	Ile	Ala	Arg	Val	Arg	Asp	Val	Glu	Leu	Leu	Thr	Gly	Leu
				835					840					845	
Asp	Phe	Tyr	Gln	Asp	Lys	Val	Gln	Pro	Val	Ser	Glu	Ile	Leu	Gln	Leu
				850					855					860	
Lys	Thr	Tyr	Leu	Pro	Thr	Phe	Glu	Thr	Thr	Ile					
865					870					875					

10

【0 2 5 1】

20

配列番号 8 - アズロシジン - E N P P 3 - F C

【表 8】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**AKQGSCRKKCFDASFRGLENCRCDVACKDRGDCCWDFEDTC
 VESTRIWMCNKFRGCTRLLEASLCSCSDDCLQRKDCADYKSVCQGETSWLEENCDTAQQSQCEGFD
 LPPVILFSMDGFRAEYLYTWDTLMPNINKLKTCGHSKYMRAMYPTKTFPNHYTIVTGLYPESHGIID
 NNMYDVNLNKNFSLSSKEQNNPAWWHGQPMNLTAMYQGLKAATYFWPGSEVAINGSFPSIYMPYNGSV
 PFEERISTLLKWLDPKAERPRFYTMFEEDSSGHAGGPVSARVIKALQVVDHAFGMLMEGLKQRNL
 HNCVNIILLADHGMDQTYCNKMEYMTDYFPRINFFYMYEGPAPRIAHNIPHDFFSFNSEEIVRNLS
 RKPQDQHFQPYLTPDLPKRLHYAKNVRIDKVHLFVDQQLAVRSKSNNTNCGGNGHGYNNEFRSMEAI
 FL AHGPSFKEKTEVEPFENIEVYNLMCDLLRIQPAPNNGTHGSLNHLLKVPFYEP SHAEVSKFSVCGFA
 NPLPTESLDCFCPHLQNSTQLEQVNQMLNLTQEEITATVKVNLFPGRPRVLQKNVDHCLLYHREYVSG
 FGKAMRMPMWSSYTVPLGDTSPLPPTVPDCLRADVRVPPSESQKCSFYLDKNITHGFLYPPASNRT
 SDSQYDALITSNLVPMYEEFRKMWDYFHSVLLIKHATERNGVNVVSGPIFDYNYDGHFDAPDEITKHL
 ANTDPVPIPTHYFVVLTSCKNKSHTPENCPGWLDPVLPFIIPHRPTNVESCEGKPEALWVEERFTAHIA
 RVRDVELLTGLDFYQDKVQPVSEILQLKTYLPTFETTIDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

30

単一下線 - アズロシジンシグナル配列、二重下線 - E N P P 3 配列の始まり及び終わり、
 太字残基 - F c 配列、**は、シグナル配列の切断点を示す。

【0 2 5 2】

配列番号 9 - アズロシジン - E N P P 3 - アルブミン

40

【表 9】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**AKQGSCRKKCFDASFRGLENCRCDVACKDRGDCCWDFEDTC
 VESTRIWMCNKFRCGETRLEASLCSDDCLQRKDCADYKSVQGETSWLEENCDTAQQSQCPGEGFD
 LPPVILFSMDGFRAEYLYTWDTLMPNINKLKTCGIHSGYMRAMYPTKTFPNHYTIVTGLYPESHGIIID
 NNMYDVNLNKNFSLSSKEQNNPAWWHGQPMNLTAMYQGLKAATYFWPGSEVAINGSFPSIYMPYNGSV
 PFEERISTLLKWLDPKAERPRFYTMYPFEEPDSSGHAGGPVSARVIKALQVVDHAFGMLMEGLKQRNL
 HNCVNIILLADHGMDQTYCNKMEYMTDYFPRINFFYMYEGPAPIRAHNIPHDFFSFNSEEIVRNLS
 RKPDPQHFKPYLTPDLPKRLHYAKNVRIDKVHLFVDQQLAVRSKSNNTNCGGGNHGYNNEFRSMEAI
 FL AHGPSFKEKTEVEPFENIEVYNLMCDLLRIQPAPNNGTHGSLNHLKVPFYEP SHAEEVSKFSVCGFA
 NPLPTESLDCFCPHLQNSTQLEQVNQMLNLTQEEITATVKVNLFPGRPRVLQKNVDHCLLYHREYVSG
 FGKAMRMPMWSSYTPVQLGDTSPLPPTVPDCLRADVRVPPSESQKCSFYLDKNITHGFLYPPASNRT
 SDSQYDALITSNLVPMYEEFRKMWDYFHSVLLIKHATERNGVNVVSGPIFDYNDGHFDAPDEITKHL
 ANTDVPIPTHYFVVLTSCKNKSHTPENC PGWLDVLPFIIPHRPTNVESCEPEGKPEALWVEERF
 TAHIA RVRDVELLTGLDFYQDKVQPVSEILQLKTYLPTFETIMKWVTFLLLLFVSGSAFSGVFRREAHKSE
 IAHRYNLDGEQHFGLVLI AFSSQYLQKCSYDEHAKLVQEVTDFAKTCVADESAANCDKSLHTLFGDKL
 CAIPNLRENYGELADCCTKQEPERNECFLOHKDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENPTTFMGHYLHEV
 ARRPYFYAPELLYYAEQYNEILTQCCAEADKESCLTPKLDGVKEKALVSSVRQRMKCSSMQKFGERA
 FKAWAVARLSQTFPNADFAEITKLATDLTKVNKECCHGDLLECADDRAELAKYMCENQATISSKLQTC
 CDKPLLKKAHCLSEVEHDTMPADLPAIAADFVEDQEVCKNYAEAKDVFLGTFLYEYSRRHPDYSVSL
 LLRLAKKYEATLEKCCAEANPPACYGTVLAEFQPLVEEPKKNLVKTNCDLYEKLGEYGFQNAILVRYTQK
 APQVSTPTLVEAARNLGRVGTCKCTLPEQRLPCVEDYLSAILNRVCLLHEKTPVSEHVTKCCSGSLV
 ERRPCFSALTVDETYVPKEFKAETFTFHSIDICTLPEKEKQIKKQTALAEVLKHKPKATAEQKLTVMDD
 FAQFLDTCCKAADKDTCTFSTEGPNLVTRCKDALARSWSHPQFEK

10

単一下線－アズロシジシングナル配列、二重下線－ENPP3配列の始まり及び終わり、
 太字残基－アルブミン配列、**は、シグナル配列の切断点を示す。

20

【0253】

配列番号10－アズロシジン－ENPP3

【表10】

MTRLTVLALLAGLLASSRA**AKQGSCRKKCFDASFRGLENCRCDVACKDRGDCCWDFEDTC
 VESTRIWMCNKFRCGETRLEASLCSDDCLQRKDCADYKSVQGETSWLEENCDTAQQSQCPGEGFD
 LPPVILFSMDGFRAEYLYTWDTLMPNINKLKTCGIHSGYMRAMYPTKTFPNHYTIVTGLYPESHGIIID
 NNMYDVNLNKNFSLSSKEQNNPAWWHGQPMNLTAMYQGLKAATYFWPGSEVAINGSFPSIYMPYNGSV
 PFEERISTLLKWLDPKAERPRFYTMYPFEEPDSSGHAGGPVSARVIKALQVVDHAFGMLMEGLKQRNL
 HNCVNIILLADHGMDQTYCNKMEYMTDYFPRINFFYMYEGPAPIRAHNIPHDFFSFNSEEIVRNLS
 RKPDPQHFKPYLTPDLPKRLHYAKNVRIDKVHLFVDQQLAVRSKSNNTNCGGGNHGYNNEFRSMEAI
 FL AHGPSFKEKTEVEPFENIEVYNLMCDLLRIQPAPNNGTHGSLNHLKVPFYEP SHAEEVSKFSVCGFA
 NPLPTESLDCFCPHLQNSTQLEQVNQMLNLTQEEITATVKVNLFPGRPRVLQKNVDHCLLYHREYVSG
 FGKAMRMPMWSSYTPVQLGDTSPLPPTVPDCLRADVRVPPSESQKCSFYLDKNITHGFLYPPASNRT
 SDSQYDALITSNLVPMYEEFRKMWDYFHSVLLIKHATERNGVNVVSGPIFDYNDGHFDAPDEITKHL
 ANTDVPIPTHYFVVLTSCKNKSHTPENC PGWLDVLPFIIPHRPTNVESCEPEGKPEALWVEERF
 TAHIA RVRDVELLTGLDFYQDKVQPVSEILQLKTYLPTFETI

30

単一下線－アズロシジシングナル配列、二重下線－ENPP3配列の始まり及び終わり、
 **は、シグナル配列の切断点を示す。

【0254】

配列番号11－ENPP4アミノ酸配列－野生型

【表11－1】

40

	Met	Lys	Leu	Leu	Val	Ile	Leu	Leu	Phe	Ser	Gly	Leu	Ile	Thr	Gly
Phe	1				5					10					15
	Arg	Ser	Asp	Ser	Ser	Ser	Ser	Leu	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Leu	Val
Ser					20					25					30
	Phe	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Asp	Tyr	Leu	Lys	Asn	Tyr	Glu	Phe	Pro
His					35					40					45
	Leu	Gln	Asn	Phe	Ile	Lys	Glu	Gly	Val	Leu	Val	Glu	His	Val	Lys
Asn															

50

【表 1 1 - 2】

	50					55				60					
	Val	Phe	Ile	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	Thr
Gly															
	65					70				75					80
	Leu	Tyr	Glu	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Val	Ala	Asn	Ser	Met	Tyr	Asp
Ala															
				85						90				95	
	Val	Thr	Lys	Lys	His	Phe	Ser	Asp	Ser	Asn	Asp	Lys	Asp	Pro	Phe
Trp															
			100						105					110	
	Trp	Asn	Glu	Ala	Val	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Asn	Gln	Leu	Gln	Glu
Asn															
		115						120				125			
	Arg	Ser	Ser	Ala	Ala	Ala	Met	Trp	Pro	Gly	Thr	Asp	Val	Pro	Ile
His															
		130					135				140				
	Asp	Thr	Ile	Ser	Ser	Tyr	Phe	Met	Asn	Tyr	Asn	Ser	Ser	Val	Ser
Phe															
	145					150				155					
160															
	Glu	Glu	Arg	Leu	Asn	Asn	Ile	Thr	Met	Trp	Leu	Asn	Asn	Ser	Asn
Pro															
				165						170				175	
	Pro	Val	Thr	Phe	Ala	Thr	Leu	Tyr	Trp	Glu	Glu	Pro	Asp	Ala	Ser
Gly															
			180						185					190	
	His	Lys	Tyr	Gly	Pro	Glu	Asp	Lys	Glu	Asn	Met	Ser	Arg	Val	Leu
Lys															
			195					200				205			
	Lys	Ile	Asp	Asp	Leu	Ile	Gly	Asp	Leu	Val	Gln	Arg	Leu	Lys	Met
Leu															
		210					215				220				
	Gly	Leu	Trp	Glu	Asn	Leu	Asn	Val	Ile	Ile	Thr	Ser	Asp	His	Gly
Met															
	225					230				235					
240															
	Thr	Gln	Cys	Ser	Gln	Asp	Arg	Leu	Ile	Asn	Leu	Asp	Ser	Cys	Ile
Asp															
				245					250					255	
	His	Ser	Tyr	Tyr	Thr	Leu	Ile	Asp	Leu	Ser	Pro	Val	Ala	Ala	Ile
Leu															
			260					265					270		
	Pro	Lys	Ile	Asn	Arg	Thr	Glu	Val	Tyr	Asn	Lys	Leu	Lys	Asn	Cys
Ser															
		275					280				285				
	Pro	His	Met	Asn	Val	Tyr	Leu	Lys	Glu	Asp	Ile	Pro	Asn	Arg	Phe
Tyr															
		290				295				300					
	Tyr	Gln	His	Asn	Asp	Arg	Ile	Gln	Pro	Ile	Ile	Leu	Val	Ala	Asp
Glu															
	305					310				315					
320															
	Gly	Trp	Thr	Ile	Val	Leu	Asn	Glu	Ser	Ser	Gln	Lys	Leu	Gly	Asp
His															
				325					330					335	

【表 1 1 - 3】

	Gly Tyr Asp Asn Ser Leu Pro Ser Met His Pro Phe Leu Ala Ala	
His		
	340	345
	Gly Pro Ala Phe His Lys Gly Tyr Lys His Ser Thr Ile Asn Ile	350
Val		
	355	360
	Asp Ile Tyr Pro Met Met Cys His Ile Leu Gly Leu Lys Pro His	365
Pro		
	370	375
	Asn Asn Gly Thr Phe Gly His Thr Lys Cys Leu Leu Val Asp Gln	380
Trp		
	385	390
		395
400		
	Cys Ile Asn Leu Pro Glu Ala Ile Ala Ile Val Ile Gly Ser Leu	
Leu		
	405	410
	Val Leu Thr Met Leu Thr Cys Leu Ile Ile Ile Met Gln Asn Arg	415
Leu		
	420	425
		430
	Ser Val Pro Arg Pro Phe Ser Arg Leu Gln Leu Gln Glu Asp Asp	
Asp		
	435	440
	Asp Pro Leu Ile Gly	445
	450	

10

20

【0 2 5 5】

配列番号 1 2 - E N P P 5 1 アミノ酸配列

【表 1 2 - 1】

	Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu	
Ser		
	1	5
	Leu Ser Thr Thr Phe Ser Leu Gln**Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val	10
Lys		15
	20	25
	Ser Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Ser Asn Cys Arg	30
Cys		
	35	40
	Asp Ala Ala Cys Val Ser Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Phe Gln	45
Glu		
	50	55
	Thr Cys Val Glu Pro Thr His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg	60
Cys		
	65	70
	Gly Glu Lys Arg Leu Ser Arg Phe Val Cys Ser Cys Ala Asp Asp	75
Cys		80
	85	90
	Lys Thr His Asn Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln	95
Asp		
	100	105
	Lys Lys Ser Trp Val Glu Glu Thr Cys Glu Ser Ile Asp Thr Pro	110
Glu		
	115	120
	Cys Pro Ala Glu Phe Glu Ser Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Leu	125
Asp		

30

40

50

		130					135					140				
		Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	Pro
Val		145					150					155				
160		Ile	Ser	Lys	Leu	Lys	Asn	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met	Arg
Pro		165					170					175				
		Met	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	Thr
Gly		180					185					190				
		Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr	Asp
Pro		195					200					205				
		Lys	Met	Asn	Ala	Ser	Phe	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe	Asn
Pro		210					215					220				
		Leu	Trp	Tyr	Lys	Gly	Gln	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Asn	His	Gln
Glu		225					230					235				
240		Val	Lys	Ser	Gly	Thr	Tyr	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ile
Asp		245					250					255				
		Gly	Ile	Leu	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Val	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro
Phe		260					265					270				
		Glu	Glu	Arg	Ile	Leu	Ala	Val	Leu	Glu	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	Ser
His		275					280					285				
		Glu	Arg	Pro	His	Phe	Tyr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser
Ser		290					295					300				
		Gly	His	Ser	His	Gly	Pro	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	Leu
Gln		305					310					315				
320		Lys	Val	Asp	Arg	Leu	Val	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	Asp
Leu		325					330					335				
		Gly	Leu	Asp	Lys	Cys	Leu	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	Gly
Met		340					345					350				
		Glu	Gln	Gly	Ser	Cys	Lys	Lys	Tyr	Val	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	Leu
Gly		355					360					365				
		Asp	Val	Asn	Asn	Val	Lys	Val	Val	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Leu
Arg		370					375					380				
		Pro	Thr	Asp	Val	Pro	Glu	Thr	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	Ala
Leu		385					390					395				
400		Ala	Lys	Asn	Leu	Ser	Cys	Arg	Glu	Pro	Asn	Gln	His	Phe	Arg	Pro
Tyr		405					410					415				

30

[illegible]

【表 1 3 - 2】

	65				70				75				80		
Cys	Gly	Glu	Lys	Arg	Leu	Ser	Arg	Phe	Val	Cys	Ser	Cys	Ala	Asp	Asp
					85					90				95	
Asp	Lys	Thr	His	Asn	Asp	Cys	Cys	Ile	Asn	Tyr	Ser	Ser	Val	Cys	Gln
					100				105					110	
Glu	Lys	Lys	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Thr	Cys	Glu	Ser	Ile	Asp	Thr	Pro
					115				120				125		
Asp	Cys	Pro	Ala	Glu	Phe	Glu	Ser	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu
					130				135				140		
Val	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	Pro
					145				150				155		
160															
Pro	Ile	Ser	Lys	Leu	Lys	Asn	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met	Arg
					165				170					175	
Gly	Met	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	Thr
					180				185					190	
Pro	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr	Asp
					195				200				205		
Pro	Lys	Met	Asn	Ala	Ser	Phe	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe	Asn
					210				215				220		
Glu	Leu	Trp	Tyr	Lys	Gly	Gln	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Asn	His	Gln
					225				230				235		
240															
Asp	Val	Lys	Ser	Gly	Thr	Tyr	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ile
					245				250					255	
Phe	Gly	Ile	Leu	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Val	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro
					260				265					270	
His	Glu	Glu	Arg	Ile	Leu	Ala	Val	Leu	Glu	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	Ser
					275				280					285	
Ser	Glu	Arg	Pro	His	Phe	Tyr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser
					290				295				300		
Gln	Gly	His	Ser	His	Gly	Pro	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	Leu
					305				310				315		
320															
Leu	Lys	Val	Asp	Arg	Leu	Val	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	Asp
					325				330					335	
Met	Gly	Leu	Asp	Lys	Cys	Leu	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	Gly
					340				345					350	

【表 1 3 - 3】

Gly	Glu	Gln	Gly	Ser	Cys	Lys	Lys	Tyr	Val	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	Leu
			355					360					365		
Arg	Asp	Val	Asn	Asn	Val	Lys	Val	Val	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Leu
		370					375					380			
Leu	Pro	Thr	Asp	Val	Pro	Glu	Thr	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	Ala
400	385					390					395				
Tyr	Ala	Lys	Asn	Leu	Ser	Cys	Arg	Glu	Pro	Asn	Gln	His	Phe	Arg	Pro
				405						410					415
Arg	Leu	Lys	Pro	Phe	Leu	Pro	Lys	Arg	Leu	His	Phe	Ala	Lys	Ser	Asp
			420					425					430		
Leu	Ile	Glu	Pro	Leu	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asp	Pro	Gln	Trp	Gln	Leu	Ala
			435					440					445		
Asp	Asn	Pro	Ser	Glu	Arg	Lys	Tyr	Cys	Gly	Ser	Gly	Phe	His	Gly	Ser
		450					455					460			
Ala	Asn	Leu	Phe	Ser	Asn	Met	Gln	Ala	Leu	Phe	Ile	Gly	Tyr	Gly	Pro
480	465					470						475			
Tyr	Phe	Lys	His	Gly	Ala	Glu	Val	Asp	Ser	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val
				485						490				495	
Gly	Asn	Leu	Met	Cys	Asp	Leu	Leu	Gly	Leu	Ile	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn
			500						505					510	
Pro	Ser	His	Gly	Ser	Leu	Asn	His	Leu	Leu	Lys	Lys	Pro	Ile	Tyr	Asn
		515						520					525		
Ser	Ser	His	Pro	Lys	Glu	Glu	Gly	Phe	Leu	Ser	Gln	Cys	Pro	Ile	Lys
		530					535					540			
Ile	Thr	Ser	Asn	Asp	Leu	Gly	Cys	Thr	Cys	Asp	Pro	Trp	Ile	Val	Pro
560	545					550						555			
Asp	Lys	Asp	Phe	Glu	Lys	Gln	Leu	Asn	Leu	Thr	Thr	Glu	Asp	Val	Asp
				565						570				575	
Lys	Ile	Tyr	His	Met	Thr	Val	Pro	Tyr	Gly	Arg	Pro	Arg	Ile	Leu	Leu
			580						585				590		
Tyr	Gln	His	Arg	Val	Cys	Leu	Leu	Gln	Gln	Gln	Gln	Phe	Leu	Thr	Gly
		595						600					605		
Ser	Ser	Leu	Asp	Leu	Leu	Met	Pro	Leu	Trp	Ala	Ser	Tyr	Thr	Phe	Leu
		610					615					620			
Asp	Asn	Asp	Gln	Phe	Ser	Arg	Asp	Asp	Phe	Ser	Asn	Cys	Leu	Tyr	Gln

10

20

30

40

50

[illegible]

【表 1 3 - 5】

	Lys	Cys	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	Ala	Lys	Leu	Val	Gln	Glu	Val	Thr
Asp															
		915						920				925			
	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Ala	Asn	Cys	Asp
Lys															
		930						935				940			
	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Ala	Ile	Pro	Asn
Leu															
	945					950					955				
960															
	Arg	Glu	Asn	Tyr	Gly	Glu	Leu	Ala	Asp	Cys	Cys	Thr	Lys	Gln	Glu
Pro															
					965					970				975	
	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Ser
Leu															
					980					985				990	
	Pro	Pro	Phe	Glu	Arg	Pro	Glu	Ala	Glu	Ala	Met	Cys	Thr	Ser	Phe
Lys															
		995						1000				1005			
	Glu	Asn	Pro	Thr	Thr	Phe	Met	Gly	His	Tyr	Leu	His	Glu	Val	Ala
	1010						1015					1020			
	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Ala
	1025						1030					1035			
	Glu	Gln	Tyr	Asn	Glu	Ile	Leu	Thr	Gln	Cys	Cys	Ala	Glu	Ala	Asp
	1040						1045					1050			
	Lys	Glu	Ser	Cys	Leu	Thr	Pro	Lys	Leu	Asp	Gly	Val	Lys	Glu	Lys
	1055						1060					1065			
	Ala	Leu	Val	Ser	Ser	Val	Arg	Gln	Arg	Met	Lys	Cys	Ser	Ser	Met
	1070						1075					1080			
	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg
	1085						1090					1095			
	Leu	Ser	Gln	Thr	Phe	Pro	Asn	Ala	Asp	Phe	Ala	Glu	Ile	Thr	Lys
	1100						1105					1110			
	Leu	Ala	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	Asn	Lys	Glu	Cys	Cys	His	Gly
	1115						1120					1125			
	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys	Tyr
	1130						1135					1140			
	Met	Cys	Glu	Asn	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Gln	Thr	Cys
	1145						1150					1155			
	Cys	Asp	Lys	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Ala	His	Cys	Leu	Ser	Glu	Val
	1160						1165					1170			
	Glu	His	Asp	Thr	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Ala	Asp
	1175						1180					1185			
	Phe	Val	Glu	Asp	Gln	Glu	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys
	1190						1195					1200			
	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Thr	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Arg	Arg	His
	1205						1210					1215			
	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Ser	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Lys	Tyr
	1220						1225					1230			
	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Glu	Ala	Asn	Pro	Pro	Ala
	1235						1240					1245			
	Cys	Tyr	Gly	Thr	Val	Leu	Ala	Glu	Phe	Gln	Pro	Leu	Val	Glu	Glu
	1250						1255					1260			
	Pro	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Thr	Asn	Cys	Asp	Leu	Tyr	Glu	Lys	Leu
	1265						1270					1275			
	Gly	Glu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Ile	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Gln

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 6】

1280	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Ala	Ala	Arg	
1295	Asn	Leu	Gly	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Asp	
1310	Gln	Arg	Leu	Pro	Cys	Val	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ile	Leu	Asn	
1325	Arg	Val	Cys	Leu	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	His	Val	
1340	Thr	Lys	Cys	Cys	Ser	Gly	Ser	Leu	Val	Glu	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	
1355	Ser	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Lys	
1370	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ser	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	
1385	Lys	Glu	Lys	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Ala	Glu	Leu	Val	
1400	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Ala	Glu	Gln	Leu	Lys	Thr	Val	Met	
1415	Asp	Asp	Phe	Ala	Gln	Phe	Leu	Asp	Thr	Cys	Cys	Lys	Ala	Ala	Asp	
1430	Lys	Asp	Thr	Cys	Phe	Ser	Thr	Glu	Gly	Pro	Asn	Leu	Val	Thr	Arg	
1445	Cys	Lys	Asp	Ala	Leu	Ala	Arg	Ser	Trp	Ser	His	Pro	Gln	Phe	Glu	
1460	Lys															
1285																
1300																
1315																
1330																
1345																
1350																
1375																
1390																
1405																
1420																
1435																
1450																
1465																
1290																
1305																
1320																
1335																
1350																
1380																
1395																
1410																
1425																
1440																
1455																
1470																

10

20

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 1 の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【0 2 5 7】

配列番号 1 4 - E N P P 5 - N P P 3 - F c 配列

【表 1 4 - 1】

	Met	Thr	Ser	Lys	Phe	Leu	Leu	Val	Ser	Phe	Ile	Leu	Ala	Ala	Leu	
<u>Ser</u>	1			5				10				15				
	Leu	Ser	Thr	Thr	Phe	Ser	<u>**Lys</u>	<u>Gln</u>	<u>Gly</u>	Ser	Cys	Arg	Lys	Lys	Cys	
Phe				20				25				30				
	Asp	Ala	Ser	Phe	Arg	Gly	Leu	Glu	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	Val	Ala	
Cys				35				40				45				
	Lys	Asp	Arg	Gly	Asp	Cys	Cys	Trp	Asp	Phe	Glu	Asp	Thr	Cys	Val	
Glu				50				55				60				
	Ser	Thr	Arg	Ile	Trp	Met	Cys	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly	Glu	Arg	
Leu				65				70				75			80	
	Glu	Ala	Ser	Leu	Cys	Ser	Cys	Ser	Asp	Asp	Cys	Leu	Gln	Arg	Lys	
Asp				85				90				95				

30

40

50

【表 1 4 - 2】

Leu	Cys	Cys	Ala	Asp	Tyr	Lys	Ser	Val	Cys	Gln	Gly	Glu	Thr	Ser	Trp
			100						105					110	
Phe	Glu	Glu	Asn	Cys	Asp	Thr	Ala	Gln	Gln	Ser	Gln	Cys	Pro	Glu	Gly
			115					120					125		
Glu	Asp	Leu	Pro	Pro	Val	Ile	Leu	Phe	Ser	Met	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala
		130					135					140			
Lys	Tyr	Leu	Tyr	Thr	Trp	Asp	Thr	Leu	Met	Pro	Asn	Ile	Asn	Lys	Leu
	145					150					155				
160															
Lys	Thr	Cys	Gly	Ile	His	Ser	Lys	Tyr	Met	Arg	Ala	Met	Tyr	Pro	Thr
				165						170				175	
Ser	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Thr	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu
				180					185					190	
Asn	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Asn	Met	Tyr	Asp	Val	Asn	Leu	Asn	Lys
		195						200					205		
Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Lys	Glu	Gln	Asn	Asn	Pro	Ala	Trp	Trp	His
		210						215					220		
Thr	Gln	Pro	Met	Trp	Leu	Thr	Ala	Met	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ala	Ala
	225					230					235				
240															
Ser	Tyr	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Glu	Val	Ala	Ile	Asn	Gly	Ser	Phe	Pro
				245						250				255	
Ser	Ile	Tyr	Met	Pro	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile
			260						265					270	
Phe	Thr	Leu	Leu	Lys	Trp	Leu	Asp	Leu	Pro	Lys	Ala	Glu	Arg	Pro	Arg
		275						280					285		
Gly	Tyr	Thr	Met	Tyr	Phe	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ala	Gly
		290						295					300		
Ala	Pro	Val	Ser	Ala	Arg	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Val	Val	Asp	His
	305					310						315			
320															
Cys	Phe	Gly	Met	Leu	Met	Glu	Gly	Leu	Lys	Gln	Arg	Asn	Leu	His	Asn
				325						330				335	
Cys	Val	Asn	Ile	Ile	Leu	Leu	Ala	Asp	His	Gly	Met	Asp	Gln	Thr	Tyr
			340						345					350	
Phe	Asn	Lys	Met	Glu	Tyr	Met	Thr	Asp	Tyr	Phe	Pro	Arg	Ile	Asn	Phe
		355						360					365		
Pro	Tyr	Met	Tyr	Glu	Gly	Pro	Ala	Pro	Arg	Ile	Arg	Ala	His	Asn	Ile

10

20

30

40

50

		370					375					380				
		His	Asp	Phe	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Glu	Glu	Ile	Val	Arg	Asn	Leu
Ser		385					390					395				
400		Cys	Arg	Lys	Pro	Asp	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Thr	Pro	Asp
Leu						405					410					415
		Pro	Lys	Arg	Leu	His	Tyr	Ala	Lys	Asn	Val	Arg	Ile	Asp	Lys	Val
His						420					425					430
		Leu	Phe	Val	Asp	Gln	Gln	Trp	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Lys	Ser	Asn
Thr						435				440				445		
		Asn	Cys	Gly	Gly	Gly	Asn	His	Gly	Tyr	Asn	Asn	Glu	Phe	Arg	Ser
Met						450				455			460			
		Glu	Ala	Ile	Phe	Leu	Ala	His	Gly	Pro	Ser	Phe	Lys	Glu	Lys	Thr
Glu		465					470					475				
480		Val	Glu	Pro	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp
Leu						485					490					495
		Leu	Arg	Ile	Gln	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu
Asn						500					505					510
		His	Leu	Leu	Lys	Val	Pro	Phe	Tyr	Glu	Pro	Ser	His	Ala	Glu	Glu
Val						515				520				525		
		Ser	Lys	Phe	Ser	Val	Cys	Gly	Phe	Ala	Asn	Pro	Leu	Pro	Thr	Glu
Ser						530				535			540			
		Leu	Asp	Cys	Phe	Cys	Pro	His	Leu	Gln	Asn	Ser	Thr	Gln	Leu	Glu
Gln		545					550					555				
560		Val	Asn	Gln	Met	Leu	Asn	Leu	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Thr	Ala	Thr
Val						565					570					575
		Lys	Val	Asn	Leu	Pro	Phe	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys	Asn
Val						580					585					590
		Asp	His	Cys	Leu	Leu	Tyr	His	Arg	Glu	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	Gly
Lys						595				600				605		
		Ala	Met	Arg	Met	Pro	Met	Trp	Ser	Ser	Tyr	Thr	Val	Pro	Gln	Leu
Gly						610				615			620			
		Asp	Thr	Ser	Pro	Leu	Pro	Pro	Thr	Val	Pro	Asp	Cys	Leu	Arg	Ala
Asp		625					630					635				
640		Val	Arg	Val	Pro	Pro	Ser	Glu	Ser	Gln	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Leu
Ala						645					650					655

40

【表 1 4 - 4】

Arg	Asp	Lys	Asn	Ile	Thr	His	Gly	Phe	Leu	Tyr	Pro	Pro	Ala	Ser	Asn
			660						665					670	
Pro	Thr	Ser	Asp	Ser	Gln	Tyr	Asp	Ala	Leu	Ile	Thr	Ser	Asn	Leu	Val
			675					680					685		
Leu	Met	Tyr	Glu	Glu	Phe	Arg	Lys	Met	Trp	Asp	Tyr	Phe	His	Ser	Val
		690					695					700			
Gly	Leu	Ile	Lys	His	Ala	Thr	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser
720	705					710					715				
Glu	Pro	Ile	Phe	Asp	Tyr	Asn	Tyr	Asp	Gly	His	Phe	Asp	Ala	Pro	Asp
				725					730					735	
Tyr	Ile	Thr	Lys	His	Leu	Ala	Asn	Thr	Asp	Val	Pro	Ile	Pro	Thr	His
			740						745				750		
Asn	Phe	Val	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asn	Lys	Ser	His	Thr	Pro	Glu
		755						760				765			
Pro	Cys	Pro	Gly	Trp	Leu	Asp	Val	Leu	Pro	Phe	Ile	Ile	Pro	His	Arg
		770					775				780				
Val	Thr	Asn	Val	Glu	Ser	Cys	Pro	Glu	Gly	Lys	Pro	Glu	Ala	Leu	Trp
800	785					790					795				
Leu	Glu	Glu	Arg	Phe	Thr	Ala	His	Ile	Ala	Arg	Val	Arg	Asp	Val	Glu
				805					810				815		
Glu	Leu	Thr	Gly	Leu	Asp	Phe	Tyr	Gln	Asp	Lys	Val	Gln	Pro	Val	Ser
			820						825			830			
Asp	Ile	Leu	Gln	Leu	Lys	Thr	Tyr	Leu	Pro	Thr	Phe	Glu	<u>Thr</u>	<u>Thr</u>	<u>Ile</u>
		835						840				845			
Gly	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
		850					855				860				
Ile	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
880	865					870					875				
Glu	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
				885					890				895		
His	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
		900						905				910			
Arg	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
		915						920				925			
Lys	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly

10

20

30

40

50

【表 14-5】

[illegible]

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 3 3の始まり及び終わり、**=シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【 0 2 5 8 】

配列番号 15 - E N P P 5 - N P P 3 - アルブミン配列

【表 15-1】

	<u>Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu</u>	
Ser	1 5 10 15	
Phe	<u>Leu Ser Thr Thr Phe Ser**Lys Gln Gly</u> Ser Cys Arg Lys Lys Cys	30
Cys	20 25 30 Asp Ala Ser Phe Arg Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala	
Glu	35 40 45 Lys Asp Arg Gly Asp Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val	
Leu	50 55 60 Ser Thr Arg Ile Trp Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg	
Asp	65 70 75 80 Glu Ala Ser Leu Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys	
Leu	85 90 95 Cys Cys Ala Asp Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp	40
	100 105 110	

【表 15 - 2】

	Glu	Glu	Asn	Cys	Asp	Thr	Ala	Gln	Gln	Ser	Gln	Cys	Pro	Glu	Gly
Phe															
			115					120				125			
	Asp	Leu	Pro	Pro	Val	Ile	Leu	Phe	Ser	Met	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala
Glu															
		130					135				140				
	Tyr	Leu	Tyr	Thr	Trp	Asp	Thr	Leu	Met	Pro	Asn	Ile	Asn	Lys	Leu
Lys															
	145					150					155				
160															
	Thr	Cys	Gly	Ile	His	Ser	Lys	Tyr	Met	Arg	Ala	Met	Tyr	Pro	Thr
Lys															
				165					170					175	
	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Thr	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu
Ser															
			180					185				190			
	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Asn	Met	Tyr	Asp	Val	Asn	Leu	Asn	Lys
Asn															
		195					200				205				
	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Lys	Glu	Gln	Asn	Asn	Pro	Ala	Trp	Trp	His
Gly															
		210					215				220				
	Gln	Pro	Met	Trp	Leu	Thr	Ala	Met	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ala	Ala
Thr															
	225					230					235				
240															
	Tyr	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Glu	Val	Ala	Ile	Asn	Gly	Ser	Phe	Pro
Ser															
				245					250				255		
	Ile	Tyr	Met	Pro	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile
Ser															
			260					265				270			
	Thr	Leu	Leu	Lys	Trp	Leu	Asp	Leu	Pro	Lys	Ala	Glu	Arg	Pro	Arg
Phe															
		275						280				285			
	Tyr	Thr	Met	Tyr	Phe	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ala	Gly
Gly															
		290					295				300				
	Pro	Val	Ser	Ala	Arg	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Val	Val	Asp	His
Ala															
	305					310					315				
320															
	Phe	Gly	Met	Leu	Met	Glu	Gly	Leu	Lys	Gln	Arg	Asn	Leu	His	Asn
Cys															
				325					330				335		
	Val	Asn	Ile	Ile	Leu	Leu	Ala	Asp	His	Gly	Met	Asp	Gln	Thr	Tyr
Cys															
			340					345				350			
	Asn	Lys	Met	Glu	Tyr	Met	Thr	Asp	Tyr	Phe	Pro	Arg	Ile	Asn	Phe
Phe															
		355					360				365				
	Tyr	Met	Tyr	Glu	Gly	Pro	Ala	Pro	Arg	Ile	Arg	Ala	His	Asn	Ile
Pro															
		370					375				380				
	His	Asp	Phe	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Glu	Glu	Ile	Val	Arg	Asn	Leu
Ser															

10

20

30

40

50

[illegible]

【表 1 5 - 4】

Pro	Thr	Ser	Asp	Ser	Gln	Tyr	Asp	Ala	Leu	Ile	Thr	Ser	Asn	Leu	Val
			675					680					685		
Leu	Met	Tyr	Glu	Glu	Phe	Arg	Lys	Met	Trp	Asp	Tyr	Phe	His	Ser	Val
			690					695					700		
Gly	Leu	Ile	Lys	His	Ala	Thr	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser
			705					710					715		
720	Pro	Ile	Phe	Asp	Tyr	Asn	Tyr	Asp	Gly	His	Phe	Asp	Ala	Pro	Asp
Glu					725					730					735
	Ile	Thr	Lys	His	Leu	Ala	Asn	Thr	Asp	Val	Pro	Ile	Pro	Thr	His
Tyr				740					745					750	
	Phe	Val	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asn	Lys	Ser	His	Thr	Pro	Glu
Asn				755					760					765	
	Cys	Pro	Gly	Trp	Leu	Asp	Val	Leu	Pro	Phe	Ile	Ile	Pro	His	Arg
Pro			770					775						780	
	Thr	Asn	Val	Glu	Ser	Cys	Pro	Glu	Gly	Lys	Pro	Glu	Ala	Leu	Trp
Val															
	785					790								795	
800	Glu	Glu	Arg	Phe	Thr	Ala	His	Ile	Ala	Arg	Val	Arg	Asp	Val	Glu
Leu															
				805					810					815	
Glu	Leu	Thr	Gly	Leu	Asp	Phe	Tyr	Gln	Asp	Lys	Val	Gln	Pro	Val	Ser
				820					825					830	
Gly	Ile	Leu	Gln	Leu	Lys	Thr	Tyr	Leu	Pro	Thr	Phe	Glu	<u>Thr</u>	<u>Thr</u>	<u>Ile</u>
				835					840					845	
Trp	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Met	Lys
				850					855					860	
	Val	Thr	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Phe	Val	Ser	Gly	Ser	Ala	Phe	Ser
Arg															
	865					870								875	
880	Gly	Val	Phe	Arg	Arg	Glu	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Ile	Ala	His	Arg
Tyr															
				885					890					895	
	Asn	Asp	Leu	Gly	Glu	Gln	His	Phe	Lys	Gly	Leu	Val	Leu	Ile	Ala
Phe															
				900					905					910	
	Ser	Gln	Tyr	Leu	Gln	Lys	Cys	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	Ala	Lys	Leu
Val															
				915					920					925	
	Gln	Glu	Val	Thr	Asp	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser
Ala															
				930					935					940	
	Ala	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu
Cys															

10

20

30

40

50

945													950													955												
960	Ala Ile Pro Asn Leu Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys																																					
Cys																																						
	965												970												975													
	Thr Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys																																					
Asp																																						
	980												985												990													
	Asp Asn Pro Ser Leu Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala Glu Ala																																					
Met																																						
	995												1000												1005													
Cys	Thr	Ser	Phe	Lys	Glu	Asn	Pro	Thr	Thr	Phe	Met	Gly	His	Tyr																								
	1010					1015					1020																											
Leu	His	Glu	Val	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu																								
	1025					1030					1035																											
Leu	Leu	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Gln	Tyr	Asn	Glu	Ile	Leu	Thr	Gln	Cys																								
	1040					1045					1050																											
Cys	Ala	Glu	Ala	Asp	Lys	Glu	Ser	Cys	Leu	Thr	Pro	Lys	Leu	Asp																								
	1055					1060					1065																											
Gly	Val	Lys	Glu	Lys	Ala	Leu	Val	Ser	Ser	Val	Arg	Gln	Arg	Met																								
	1070					1075					1080																											
Lys	Cys	Ser	Ser	Met	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala																								
	1085					1090					1095																											
Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Thr	Phe	Pro	Asn	Ala	Asp	Phe																								
	1100					1105					1110																											
Ala	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	Ala	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	Asn	Lys																								
	1115					1120					1125																											
Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala																								
	1130					1135					1140																											
Glu	Leu	Ala	Lys	Tyr	Met	Cys	Glu	Asn	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser																								
	1145					1150					1155																											
Lys	Leu	Gln	Thr	Cys	Cys	Asp	Lys	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Ala	His																								
	1160					1165					1170																											
Cys	Leu	Ser	Glu	Val	Glu	His	Asp	Thr	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro																								
	1175					1180					1185																											
Ala	Ile	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Asp	Gln	Glu	Val	Cys	Lys	Asn																								
	1190					1195					1200																											
Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Thr	Phe	Leu	Tyr	Glu																								
	1205					1210					1215																											
Tyr	Ser	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Ser	Leu	Leu	Leu	Arg																								
	1220					1225					1230																											
Leu	Ala	Lys	Lys	Tyr	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Glu																								
	1235					1240					1245																											
Ala	Asn	Pro	Pro	Ala	Cys	Tyr	Gly	Thr	Val	Leu	Ala	Glu	Phe	Gln																								
	1250					1255					1260																											
Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Thr	Asn	Cys	Asp																								
	1265					1270					1275																											
Leu	Tyr	Glu	Lys	Leu	Gly	Glu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Ile	Leu																								
	1280					1285																																

【表 15 - 6】

1340	Val	Ser	Glu	His	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Ser	Gly	Ser	Leu	Val	Glu	1350
1355	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	1365
1370	Pro	Lys	Glu	Phe	Lys	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ser	Asp	Ile	1380
1385	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Lys	Glu	Lys	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	1395
1400	Leu	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Ala	Glu	Gln	1410
1415	Leu	Lys	Thr	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Gln	Phe	Leu	Asp	Thr	Cys	1425
1430	Cys	Lys	Ala	Ala	Asp	Lys	Asp	Thr	Cys	Phe	Ser	Thr	Glu	Gly	Pro	1440
1445	Asn	Leu	Val	Thr	Arg	Cys	Lys	Asp	Ala	Leu	Ala					1455
1460																1465

10

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 3 の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【0259】

配列番号 16 - E N P P 5 タンパク質輸出シグナル配列

20

【表 16】

	Met	Thr	Ser	Lys	Phe	Leu	Leu	Val	Ser	Phe	Ile	Leu	Ala	Ala	Leu
Ser	1			5					10				15		
	Leu	Ser	Thr	Thr	Phe	Ser	Xaa								
				20											

【0260】

配列番号 17 - E N P P 5 1 - F c

30

【表 17 - 1】

	Met	Thr	Ser	Lys	Phe	Leu	Leu	Val	Ser	Phe	Ile	Leu	Ala	Ala	Leu
<u>Ser</u>	1			5					10				15		
	<u>Leu</u>	<u>Ser</u>	<u>Thr</u>	<u>Thr</u>	<u>Phe</u>	<u>Ser</u>	<u>**Gly</u>	<u>Leu</u>	<u>Lys</u>	Pro	Ser	Cys	Ala	Lys	Glu
Val				20				25				30			
	Lys	Ser	Cys	Lys	Gly	Arg	Cys	Phe	Glu	Arg	Thr	Phe	Gly	Asn	Cys
Arg				35			40					45			
	Cys	Asp	Ala	Ala	Cys	Val	Glu	Leu	Gly	Asn	Cys	Cys	Leu	Asp	Tyr
Gln				50			55			60					
	Glu	Thr	Cys	Ile	Glu	Pro	Glu	His	Ile	Trp	Thr	Cys	Asn	Lys	Phe
Arg				65			70			75			80		
	Cys	Gly	Glu	Lys	Arg	Leu	Thr	Arg	Ser	Leu	Cys	Ala	Cys	Ser	Asp
Asp				85				90				95			

40

50

【表 17-2】

Gln	Cys	Lys	Asp	Lys	Gly	Asp	Cys	Cys	Ile	Asn	Tyr	Ser	Ser	Val	Cys	
				100					105					110		
Pro	Gly	Glu	Lys	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Pro	Cys	Glu	Ser	Ile	Asn	Glu	
			115					120					125			
Leu	Gln	Cys	Pro	Ala	Gly	Phe	Glu	Thr	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser	
		130					135					140				
Pro	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	
	145					150					155					
160																10
Arg	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Lys	Lys	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met	
					165					170				175		
Thr	Pro	Val	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	
			180						185				190			
Asp	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr	
		195						200				205				
Asn	Pro	Lys	Met	Asn	Ala	Ser	Phe	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe	
	210					215					220					
Gln	Pro	Glu	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr	20
	225				230					235						
240																
Ile	Gly	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Phe	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	
				245					250				255			
Pro	Asn	Gly	Ile	Phe	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	
		260						265				270				
Lys	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Leu	Ala	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	
		275					280				285					
Ser	Asp	Glu	Arg	Pro	His	Phe	Tyr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	
	290					295				300						
Leu	Ser	Gly	His	Ser	Tyr	Gly	Pro	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	30
	305				310					315						
320																
Glu	Gln	Arg	Val	Asp	Gly	Met	Val	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	
				325					330				335			
Gly	Leu	Asn	Leu	His	Arg	Cys	Leu	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	
		340						345			350					
Leu	Met	Glu	Gln	Gly	Ser	Cys	Lys	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	
		355				360				365						
Leu	Gly	Asp	Val	Lys	Asn	Ile	Lys	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	40

[illegible]

【表 17 - 4】

Leu	Lys	Asn	Asn	Thr	Lys	Val	Ser	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Gln
				660					665					670	
Asn	Asn	Lys	Asn	Ser	Ser	Gly	Ile	Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr
			675					680					685		
His	Ile	Val	Pro	Met	Tyr	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe
		690					695				700				
Val	Asp	Thr	Leu	Leu	Arg	Lys	Tyr	Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn
720	705					710					715				
Ser	Val	Ser	Gly	Pro	Val	Phe	Asp	Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp
				725						730				735	
Ile	Leu	Glu	Asn	Leu	Arg	Gln	Lys	Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu
			740						745					750	
Thr	Leu	Ile	Pro	Thr	His	Phe	Phe	Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp
		755					760					765			
Ile	Ser	Gln	Thr	Pro	Leu	His	Cys	Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe
		770				775					780				
His	Leu	Pro	His	Arg	Thr	Asp	Asn	Ser	Glu	Ser	Cys	Val	His	Gly	Lys
800	785				790						795				
Ile	Asp	Ser	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Leu	Leu	Met	Leu	His	Arg	Ala	Arg
				805					810					815	
Lys	Thr	Asp	Val	Glu	His	Ile	Thr	Gly	Leu	Ser	Phe	Tyr	Gln	Gln	Arg
			820					825					830		
Phe	Glu	Pro	Val	Ser	Asp	Ile	Leu	Lys	Leu	Lys	Thr	His	Leu	Pro	Thr
		835				840					845				
Pro	Ser	<u>Gln</u>	<u>Glu</u>	<u>Asp</u>	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
		850				855					860				
Lys	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
880	865				870						875				
Val	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
				885					890					895	
Asp	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
			900					905					910		
Tyr	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
			915				920					925			

10

20

30

40

50

【表 17-5】

	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln	
Asp	930 935 940	
	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala	
Leu	945 950 955	
960	Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro	
Arg	965 970 975	
	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr	10
Lys	980 985 990	
	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser	
Asp	995 1000 1005	
	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr	
	1010 1015 1020	
	Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu	
	1025 1030 1035	
	Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn	
	1040 1045 1050	
	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr	
	1055 1060 1065	20
	Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	
	1070 1075	

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 3の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、Fc配列を示す

【0261】

配列番号18-E N P P 71-Fcアミノ酸配列

【表18-1】

	Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu	
Leu	1 5 10 15	30
	Ala Pro Gly Ala Gly Ala**Gly Leu Lys Pro Ser Cys Ala Lys Glu	
Val	20 25 30	
	Lys Ser Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys	
Arg	35 40 45	
	Cys Asp Ala Ala Cys Val Glu Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr	
Gln	50 55 60	
	Glu Thr Cys Ile Glu Pro Glu His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe	
Arg	65 70 75 80	40
	Cys Gly Glu Lys Arg Leu Thr Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp	
Asp	85 90 95	

【表 18 - 2】

	Cys	Lys	Asp	Lys	Gly	Asp	Cys	Cys	Ile	Asn	Tyr	Ser	Ser	Val	Cys
Gln															
				100					105					110	
	Gly	Glu	Lys	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Pro	Cys	Glu	Ser	Ile	Asn	Glu
Pro															
			115					120					125		
	Gln	Cys	Pro	Ala	Gly	Phe	Glu	Thr	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser
Leu															
		130					135					140			
	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu
Pro															
	145					150					155				
160															
	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Lys	Lys	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met
Arg															
				165					170					175	
	Pro	Val	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val
Thr															
			180					185					190		
	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr
Asp															
		195						200				205			
	Pro	Lys	Met	Asn	Ala	Ser	Phe	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe
Asn															
		210					215					220			
	Pro	Glu	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr
Gln															
	225					230					235				
240															
	Gly	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Phe	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu
Ile															
			245						250					255	
	Asn	Gly	Ile	Phe	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val
Pro															
		260						265				270			
	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Leu	Ala	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro
Lys															
		275					280				285				
	Asp	Glu	Arg	Pro	His	Phe	Tyr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp
Ser															
		290					295				300				
	Ser	Gly	His	Ser	Tyr	Gly	Pro	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala
Leu															
	305					310					315				
320															
	Gln	Arg	Val	Asp	Gly	Met	Val	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys
Glu															
			325						330					335	
	Leu	Asn	Leu	His	Arg	Cys	Leu	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His
Gly															
		340						345				350			
	Met	Glu	Gln	Gly	Ser	Cys	Lys	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr
Leu															
		355					360				365				
	Gly	Asp	Val	Lys	Asn	Ile	Lys	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg
Leu															

10

20

30

40

50

	Gly	Arg Pro Ser Asp Val	Pro Asp Lys Tyr Tyr Ser Phe Asn Tyr Glu	
370				
385				
390				
395	Ile Ala Arg Asn Leu	Ser Cys Arg Glu Pro Asn Gln His Phe Lys		
400				
405	Tyr Leu Lys His Phe	Leu Pro Lys Arg Leu His Phe Ala Lys Ser		
410				
415				
420	Arg Ile Glu Pro	Leu Thr Phe Tyr Leu Asp Pro Gln Trp Gln Leu		
425				
430				
435	Leu Asn Pro Ser Glu	Arg Lys Tyr Cys Gly Ser Gly Phe His Gly		
440				
445				
450	Asp Asn Val Phe	Ser Asn Met Gln Ala Leu Phe Val Gly Tyr Gly		
455				
460				
465				
470				
475	Gly Phe Lys His Gly	Ile Glu Ala Asp Thr Phe Glu Asn Ile Glu		
480				
485	Tyr Asn Leu Met Cys	Asp Leu Leu Asn Leu Thr Pro Ala Pro Asn		
490				
495				
500	Gly Thr His Gly	Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Asn Pro Val Tyr		
505				
510				
515	Pro Lys His Pro	Lys Glu Val His Pro Leu Val Gln Cys Pro Phe		
520				
525				
530	Arg Asn Pro Arg	Asp Asn Leu Gly Cys Ser Cys Asn Pro Ser Ile		
535				
540				
545				
550				
555	Pro Ile Glu Asp	Phe Gln Thr Gln Phe Asn Leu Thr Val Ala Glu		
560				
565	Lys Ile Ile Lys	His Glu Thr Leu Pro Tyr Gly Arg Pro Arg Val		
570				
575				
580	Gln Lys Glu Asn	Thr Ile Cys Leu Leu Ser Gln His Gln Phe Met		
585				
590				
595	Gly Tyr Ser Gln	Asp Ile Leu Met Pro Leu Trp Thr Ser Tyr Thr		
600				
605				
610	Asp Arg Asn Asp	Ser Phe Ser Thr Glu Asp Phe Ser Asn Cys Leu		
615				
620				
625				
630				
635	Gln Asp Phe Arg	Ile Pro Leu Ser Pro Val His Lys Cys Ser Phe		
640				
645				
650				
655				

【表 18 - 4】

Leu	Lys	Asn	Asn	Thr	Lys	Val	Ser	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Gln
				660					665					670	
Asn	Asn	Lys	Asn	Ser	Ser	Gly	Ile	Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr
			675					680					685		
His	Ile	Val	Pro	Met	Tyr	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe
		690					695					700			
Val	Asp	Thr	Leu	Leu	Arg	Lys	Tyr	Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn
	705					710					715				
720	Val	Ser	Gly	Pro	Val	Phe	Asp	Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp
Ser						725				730				735	
Ile	Leu	Glu	Asn	Leu	Arg	Gln	Lys	Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu
			740						745					750	
Thr	Leu	Ile	Pro	Thr	His	Phe	Phe	Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp
		755						760					765		
Ile	Ser	Gln	Thr	Pro	Leu	His	Cys	Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe
		770					775					780			
His	Leu	Pro	His	Arg	Thr	Asp	Asn	Ser	Glu	Ser	Cys	Val	His	Gly	Lys
	785					790					795				
800	Asp	Ser	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Leu	Leu	Met	Leu	His	Arg	Ala	Arg
Ile						805				810				815	
Lys	Thr	Asp	Val	Glu	His	Ile	Thr	Gly	Leu	Ser	Phe	Tyr	Gln	Gln	Arg
			820						825					830	
Phe	Glu	Pro	Val	Ser	Asp	Ile	Leu	Lys	Leu	Lys	Thr	His	Leu	Pro	Thr
		835						840					845		
Cys	Ser	<u>Gln</u>	<u>Glu</u>	<u>Asp</u>	Leu	Ile	Asn	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro
		850					855					860			
Pro	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro
	865					870					875				
880	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr
Cys						885				890				895	
Trp	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn
		900							905					910	
Glu	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg
		915						920					925		
Leu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val

10

20

30

40

50

【表 18-5】

		930				935					940								
	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser				
Asn																			
	945					950					955								
960																			
	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys				
Gly																			
					965					970					975				
	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu				
Glu																			
				980					985				990						10
	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe				
Tyr																			
			995					1000					1005						
	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu				
	1010						1015					1020							
	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser				
	1025						1030					1035							
	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln				
	1040						1045					1050							
	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His				
	1055						1060					1065							
	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys					20
	1070						1075					1080							

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 1 の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、F c 配列を示す

【 0 2 6 2 】

配列番号 19-E N P P 7 1 (N P P 1 N 末端 G L K を欠く) アミノ酸配列:

【表 19-1】

	<u>Met</u>	<u>Arg</u>	<u>Gly</u>	<u>Pro</u>	<u>Ala</u>	<u>Val</u>	<u>Leu</u>	<u>Leu</u>	<u>Thr</u>	<u>Val</u>	<u>Ala</u>	<u>Leu</u>	<u>Ala</u>	<u>Thr</u>	<u>Leu</u>	
<u>Leu</u>	1				5					10					15	
	<u>Ala</u>	<u>Pro</u>	<u>Gly</u>	<u>Ala</u>	<u>Gly</u>	<u>Ala</u> **	<u>Pro</u>	<u>Ser</u>	<u>Cys</u>	<u>Ala</u>	<u>Lys</u>	<u>Glu</u>	<u>Val</u>	<u>Lys</u>	<u>Ser</u>	
<u>Cys</u>				20					25					30		
	Lys	Gly	Arg	Cys	Phe	Glu	Arg	Thr	Phe	Gly	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	
<u>Ala</u>				35					40					45		
	Ala	Cys	Val	Glu	Leu	Gly	Asn	Cys	Cys	Leu	Asp	Tyr	Gln	Glu	Thr	
<u>Cys</u>																
	50						55					60				
	Ile	Glu	Pro	Glu	His	Ile	Trp	Thr	Cys	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly	
<u>Glu</u>																
	65					70					75				80	
	Lys	Arg	Leu	Thr	Arg	Ser	Leu	Cys	Ala	Cys	Ser	Asp	Asp	Cys	Lys	
<u>Asp</u>																
					85					90					95	
	Lys	Gly	Asp	Cys	Cys	Ile	Asn	Tyr	Ser	Ser	Val	Cys	Gln	Gly	Glu	
<u>Lys</u>																
					100					105					110	

【表 19 - 2】

Pro	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Pro	Cys	Glu	Ser	Ile	Asn	Glu	Pro	Gln	Cys
			115					120					125		
Phe	Ala	Gly	Phe	Glu	Thr	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Asp	Gly
		130					135					140			
Ser	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	Pro	Val	Ile
	145					150					155				
160	Lys	Leu	Lys	Lys	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met	Arg	Pro	Val
Tyr					165					170				175	
	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	Thr	Gly	Leu
Tyr				180					185				190		
Met	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr	Asp	Pro	Lys
		195						200				205			
Trp	Asn	Ala	Ser	Phe	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe	Asn	Pro	Glu
		210					215					220			
Lys	Tyr	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr	Gln	Gly	Leu
	225					230						235			
240	Ser	Gly	Thr	Phe	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ile	Asn	Gly
Ile					245					250				255	
Glu	Phe	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu
		260							265				270		
Arg	Arg	Ile	Leu	Ala	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	Lys	Asp	Glu
		275						280					285		
His	Pro	His	Phe	Tyr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly
		290					295					300			
Val	Ser	Tyr	Gly	Pro	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Arg
	305					310						315			
320	Asp	Gly	Met	Val	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	Glu	Leu	Asn
Leu					325					330				335	
Gln	His	Arg	Cys	Leu	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	Gly	Met	Glu
			340						345				350		
Val	Gly	Ser	Cys	Lys	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	Leu	Gly	Asp
		355						360				365			
Ser	Lys	Asn	Ile	Lys	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Leu	Arg	Pro
		370					375					380			
Arg	Asp	Val	Pro	Asp	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	Gly	Ile	Ala

10

20

30

40

50

【表 19-3】

[illegible]

【表 19 - 4】

Pro	Ser	Ser	Gly	Ile	Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr	Asn	Ile	Val	
			675					680					685			
Leu	Met	Tyr	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe	His	Asp	Thr	
		690					695					700				
Gly	Leu	Arg	Lys	Tyr	Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser	
720	705					710					715					
Asn	Pro	Val	Phe	Asp	Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu	Glu	10
				725					730					735		
Pro	Leu	Arg	Gln	Lys	Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu	Ile	Leu	Ile	
			740					745					750			
Thr	Thr	His	Phe	Phe	Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp	Thr	Ser	Gln	
		755					760					765				
His	Pro	Leu	His	Cys	Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe	Ile	Leu	Pro	
		770					775					780				
Ser	Arg	Thr	Asp	Asn	Ser	Glu	Ser	Cys	Val	His	Gly	Lys	His	Asp	Ser	20
		785				790					795					
800																
Val	Trp	Val	Glu	Glu	Leu	Leu	Met	Leu	His	Arg	Ala	Arg	Ile	Thr	Asp	
				805				810					815			
Val	Glu	His	Ile	Thr	Gly	Leu	Ser	Phe	Tyr	Gln	Gln	Arg	Lys	Glu	Pro	
			820					825				830				
<u>Glu</u>	Ser	Asp	Ile	Leu	Lys	Leu	Lys	Thr	His	Leu	Pro	Thr	Phe	Ser	<u>Gln</u>	
		835					840					845				30
	<u>Asp</u>															

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 3 の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置

【0263】

配列番号 20 - E N P P 7 1 (N P P 1 N 末端 G L K を欠く) F c アミノ酸配列：

【表 20 - 1】

	Met	Arg	Gly	Pro	Ala	Val	Leu	Leu	Thr	Val	Ala	Leu	Ala	Thr	Leu	
<u>Leu</u>																
	1			5					10					15		40
	Ala	Pro	Gly	Ala	Gly	Ala	**Pro	Ser	Cys	Ala	Lys	Glu	Val	Lys	Ser	
Cys																
			20					25					30			
	Lys	Gly	Arg	Cys	Phe	Glu	Arg	Thr	Phe	Gly	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	
Ala																
			35					40					45			

Cys	Ala	Cys	Val	Glu	Leu	Gly	Asn	Cys	Cys	Leu	Asp	Tyr	Gln	Glu	Thr
	50					55				60					
	Ile	Glu	Pro	Glu	His	Ile	Trp	Thr	Cys	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly
Glu	65					70				75					80
	Lys	Arg	Leu	Thr	Arg	Ser	Leu	Cys	Ala	Cys	Ser	Asp	Asp	Cys	Lys
Asp															
				85					90					95	
	Lys	Gly	Asp	Cys	Cys	Ile	Asn	Tyr	Ser	Ser	Val	Cys	Gln	Gly	Glu
Lys															
			100					105					110		
	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Pro	Cys	Glu	Ser	Ile	Asn	Glu	Pro	Gln	Cys
Pro															
			115					120				125			
	Ala	Gly	Phe	Glu	Thr	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Asp	Gly
Phe															
		130					135				140				
	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	Pro	Val	Ile
Ser															
	145					150				155					
160															
	Lys	Leu	Lys	Lys	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met	Arg	Pro	Val
Tyr															
				165					170					175	
	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	Thr	Gly	Leu
Tyr															
			180						185				190		
	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr	Asp	Pro	Lys
Met															
		195						200				205			
	Asn	Ala	Ser	Phe	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe	Asn	Pro	Glu
Trp															
		210						215				220			
	Tyr	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr	Gln	Gly	Leu
Lys															
	225					230				235					
240															
	Ser	Gly	Thr	Phe	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ile	Asn	Gly
Ile															
				245						250				255	
	Phe	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu
Glu															
			260						265				270		
	Arg	Ile	Leu	Ala	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	Lys	Asp	Glu
Arg															
		275						280				285			
	Pro	His	Phe	Tyr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly
His															
		290						295				300			
	Ser	Tyr	Gly	Pro	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile					

【表 20 - 3】

					325					330					335
Gln	His	Arg	Cys	Leu	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	Gly	Met	Glu
				340					345					350	
Val	Gly	Ser	Cys	Lys	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	Leu	Gly	Asp
			355					360					365		
Ser	Lys	Asn	Ile	Lys	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Leu	Arg	Pro
	370					375				380					
Arg	Asp	Val	Pro	Asp	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	Gly	Ile	Ala
400	385				390				395						
Lys	Asn	Leu	Ser	Cys	Arg	Glu	Pro	Asn	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu
				405					410					415	
Glu	His	Phe	Leu	Pro	Lys	Arg	Leu	His	Phe	Ala	Lys	Ser	Asp	Arg	Ile
			420					425					430		
Pro	Pro	Leu	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asp	Pro	Gln	Trp	Gln	Leu	Ala	Leu	Asn
		435					440					445			
Val	Ser	Glu	Arg	Lys	Tyr	Cys	Gly	Ser	Gly	Phe	His	Gly	Ser	Asp	Asn
	450					455				460					
Lys	Phe	Ser	Asn	Met	Gln	Ala	Leu	Phe	Val	Gly	Tyr	Gly	Pro	Gly	Phe
480	465				470				475						
Leu	His	Gly	Ile	Glu	Ala	Asp	Thr	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn
				485					490					495	
His	Met	Cys	Asp	Leu	Leu	Asn	Leu	Thr	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr
			500					505						510	
His	Gly	Ser	Leu	Asn	His	Leu	Leu	Lys	Asn	Pro	Val	Tyr	Thr	Pro	Lys
			515					520				525			
Pro	Pro	Lys	Glu	Val	His	Pro	Leu	Val	Gln	Cys	Pro	Phe	Thr	Arg	Asn
	530					535				540					
Glu	Arg	Asp	Asn	Leu	Gly	Cys	Ser	Cys	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Pro	Ile
560	545				550				555						
Ile	Asp	Phe	Gln	Thr	Gln	Phe	Asn	Leu	Thr	Val	Ala	Glu	Glu	Lys	Ile
				565				570						575	
Glu	Lys	His	Glu	Thr	Leu	Pro	Tyr	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys
			580					585						590	
Ser	Asn	Thr	Ile	Cys	Leu	Leu	Ser	Gln	His	Gln	Phe	Met	Ser	Gly	Tyr
			595					600				605			

10

20

30

40

50

	Gln	Asp	Ile	Leu	Met	Pro	Leu	Trp	Thr	Ser	Tyr	Thr	Val	Asp	Arg
Asn	610					615					620				
	Asp	Ser	Phe	Ser	Thr	Glu	Asp	Phe	Ser	Asn	Cys	Leu	Tyr	Gln	Asp
Phe	625					630					635				
640	Arg	Ile	Pro	Leu	Ser	Pro	Val	His	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Lys	Asn
Asn	645					650					655				
	Thr	Lys	Val	Ser	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Gln	Leu	Asn	Lys
Asn	660					665					670				
	Ser	Ser	Gly	Ile	Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr	Asn	Ile	Val
Pro	675					680					685				
	Met	Tyr	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe	His	Asp	Thr
Leu	690					695					700				
	Leu	Arg	Lys	Tyr	Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser
Gly	705					710					715				
720	Pro	Val	Phe	Asp	Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu	Glu
Asn	725					730					735				
	Leu	Arg	Gln	Lys	Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu	Ile	Leu	Ile
Pro	740					745					750				
	Thr	His	Phe	Phe	Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp	Thr	Ser	Gln
Thr	755					760					765				
	Pro	Leu	His	Cys	Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe	Ile	Leu	Pro
His	770					775					780				
	Arg	Thr	Asp	Asn	Ser	Glu	Ser	Cys	Val	His	Gly	Lys	His	Asp	Ser
Ser	785					790					795				
800	Trp	Val	Glu	Glu	Leu	Leu	Met	Leu	His	Arg	Ala	Arg	Ile	Thr	Asp
Val	805					810					815				
	Glu	His	Ile	Thr	Gly	Leu	Ser	Phe	Tyr	Gln	Gln	Arg	Lys	Glu	Pro
Val	820					825					830				
	Ser	Asp	Ile	Leu	Lys	Leu	Lys	Thr	His	Leu	Pro	Thr	Phe	Ser	<u>Gln</u>
<u>Glu</u>	835					840					845				
	<u>Asp</u>	Leu	Ile	Asn	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
Pro	850					855					860				
	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
Lys	865					870					875				
880															

40

【表 2 0 - 5】

Val	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	
					885					890					895	
Asp	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	
				900				905						910		
Tyr	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	
		915					920						925			
Asp	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	
		930					935					940				
Leu	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	
960	945					950				955						
Arg	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	
					965				970					975		
Lys	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	
			980					985					990			
Asp	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	
		995						1000					1005			
	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	
	1010						1015					1020				
	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
	1025						1030					1035				
	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	
	1040						1045					1050				
	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	
	1055						1060					1065				
	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys					
	1070						1075									

10

20

30

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 1 の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、F c 配列を示す

【0 2 6 4】

配列番号 2 1 - E N P P 7 1 (N P P 1 N 末端 G L K を欠く) - A L B アミノ酸配列

【表 2 1 - 1】

	Met	Arg	Gly	Pro	Ala	Val	Leu	Leu	Thr	Val	Ala	Leu	Ala	Thr	Leu	
Leu																
	1			5					10					15		
	Ala	Pro	Gly	Ala	Gly	Ala	**Pro	Ser	Cys	Ala	Lys	Glu	Val	Lys	Ser	
Cys																
				20					25					30		
	Lys	Gly	Arg	Cys	Phe	Glu	Arg	Thr	Phe	Gly	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	
Ala																
				35					40					45		
	Ala	Cys	Val	Glu	Leu	Gly	Asn	Cys	Cys	Leu	Asp	Tyr	Gln	Glu	Thr	
Cys																
	50						55						60			

40

50

【表 2 1 - 2】

	Ile	Glu	Pro	Glu	His	Ile	Trp	Thr	Cys	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly				
Glu	65					70					75					80			
	Lys	Arg	Leu	Thr	Arg	Ser	Leu	Cys	Ala	Cys	Ser	Asp	Asp	Cys	Lys				
Asp					85					90					95				
	Lys	Gly	Asp	Cys	Cys	Ile	Asn	Tyr	Ser	Ser	Val	Cys	Gln	Gly	Glu				
Lys					100				105					110					
	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Pro	Cys	Glu	Ser	Ile	Asn	Glu	Pro	Gln	Cys				
Pro					115			120					125						10
	Ala	Gly	Phe	Glu	Thr	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Asp	Gly				
Phe					130			135				140							
	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	Pro	Val	Ile				
Ser																			
	145					150					155								
160																			
	Lys	Leu	Lys	Lys	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met	Arg	Pro	Val				
Tyr																			
					165				170				175						
	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	Thr	Gly	Leu				
Tyr																			
					180				185				190						
	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr	Asp	Pro	Lys				20
Met																			
					195			200				205							
	Asn	Ala	Ser	Phe	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe	Asn	Pro	Glu				
Trp																			
					210			215				220							
	Tyr	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr	Gln	Gly	Leu				
Lys																			
	225					230					235								
240																			
	Ser	Gly	Thr	Phe	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ile	Asn	Gly				
Ile																			
					245				250				255						
	Phe	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu				
Glu																			
					260			265				270							
	Arg	Ile	Leu	Ala	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	Lys	Asp	Glu				30
Arg																			
					275			280				285							
	Pro	His	Phe	Tyr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly				
His																			
					290			295				300							
	Ser	Tyr	Gly	Pro	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Arg				
Val																			
	305					310					315								
320																			
	Asp	Gly	Met	Val	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	Glu	Leu	Asn				
Leu																			
					325				330				335						
	His	Arg	Cys	Leu	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	Gly	Met	Glu				
Gln																			40

【表 2 1 - 3】

				340					345					350					
Val	Gly	Ser	Cys	Lys	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	Leu	Gly	Asp				
				355					360					365					
Ser	Lys	Asn	Ile	Lys	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Leu	Arg	Pro				
				370					375					380					
Arg	Asp	Val	Pro	Asp	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	Gly	Ile	Ala				
				385					390					395					
400																			
Lys	Asn	Leu	Ser	Cys	Arg	Glu	Pro	Asn	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu				10
				405										410				415	
Glu	His	Phe	Leu	Pro	Lys	Arg	Leu	His	Phe	Ala	Lys	Ser	Asp	Arg	Ile				
				420										425				430	
Pro	Pro	Leu	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asp	Pro	Gln	Trp	Gln	Leu	Ala	Leu	Asn				
				435										440				445	
Val	Ser	Glu	Arg	Lys	Tyr	Cys	Gly	Ser	Gly	Phe	His	Gly	Ser	Asp	Asn				
				450										455				460	
Lys	Phe	Ser	Asn	Met	Gln	Ala	Leu	Phe	Val	Gly	Tyr	Gly	Pro	Gly	Phe				
480														465				470	
																			20
Leu	His	Gly	Ile	Glu	Ala	Asp	Thr	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn				
				485										490				495	
His	Met	Cys	Asp	Leu	Leu	Asn	Leu	Thr	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr				
				500										505				510	
His	Gly	Ser	Leu	Asn	His	Leu	Leu	Lys	Asn	Pro	Val	Tyr	Thr	Pro	Lys				
				515										520				525	
Pro	Pro	Lys	Glu	Val	His	Pro	Leu	Val	Gln	Cys	Pro	Phe	Thr	Arg	Asn				
				530										535				540	
Glu	Arg	Asp	Asn	Leu	Gly	Cys	Ser	Cys	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Pro	Ile				30
560														545				550	
Ile	Asp	Phe	Gln	Thr	Gln	Phe	Asn	Leu	Thr	Val	Ala	Glu	Glu	Lys	Ile				
				565										570				575	
Glu	Lys	His	Glu	Thr	Leu	Pro	Tyr	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys				
				580										585				590	
Ser	Asn	Thr	Ile	Cys	Leu	Leu	Ser	Gln	His	Gln	Phe	Met	Ser	Gly	Tyr				
				595										600				605	
Asn	Gln	Asp	Ile	Leu	Met	Pro	Leu	Trp	Thr	Ser	Tyr	Thr	Val	Asp	Arg				
				610										615				620	40

【表 2 1 - 4】

	Asp	Ser	Phe	Ser	Thr	Glu	Asp	Phe	Ser	Asn	Cys	Leu	Tyr	Gln	Asp
Phe	625					630					635				
640	Arg	Ile	Pro	Leu	Ser	Pro	Val	His	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Lys	Asn
Asn					645					650				655	
	Thr	Lys	Val	Ser	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Gln	Leu	Asn	Lys
Asn				660					665					670	
	Ser	Ser	Gly	Ile	Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr	Asn	Ile	Val
Pro			675					680					685		
	Met	Tyr	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe	His	Asp	Thr
Leu		690				695					700				
	Leu	Arg	Lys	Tyr	Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser
Gly	705					710					715				
720	Pro	Val	Phe	Asp	Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu	Glu
Asn					725					730				735	
	Leu	Arg	Gln	Lys	Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu	Ile	Leu	Ile
Pro			740						745				750		
	Thr	His	Phe	Phe	Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp	Thr	Ser	Gln
Thr		755						760				765			
	Pro	Leu	His	Cys	Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe	Ile	Leu	Pro
His		770				775					780				
	Arg	Thr	Asp	Asn	Ser	Glu	Ser	Cys	Val	His	Gly	Lys	His	Asp	Ser
Ser	785					790					795				
800	Trp	Val	Glu	Glu	Leu	Leu	Met	Leu	His	Arg	Ala	Arg	Ile	Thr	Asp
Val					805					810				815	
	Glu	His	Ile	Thr	Gly	Leu	Ser	Phe	Tyr	Gln	Gln	Arg	Lys	Glu	Pro
Val			820							825				830	
	Ser	Asp	Ile	Leu	Lys	Leu	Lys	Thr	His	Leu	Pro	Thr	Phe	Ser	Gln
Glu		835						840					845		
	Asp	<u>Arg</u>	<u>Ser</u>	<u>Gly</u>	<u>Ser</u>	<u>Gly</u>	<u>Gly</u>	<u>Ser</u>	Met	Lys	Trp	Val	Thr	Phe	Leu
Leu		850				855					860				
	Leu	Leu	Phe	Val	Ser	Gly	Ser	Ala	Phe	Ser	Arg	Gly	Val	Phe	Arg
Arg	865					870					875				
880	Glu	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Ile	Ala	His	Arg	Tyr	Asn	Asp	Leu	Gly
Glu					885					890				895	

10

20

30

40

50

【表 2 1 - 5】

Gln	Gln	His	Phe	Lys	Gly	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ser	Gln	Tyr	Leu	
				900				905					910			
Asp	Lys	Cys	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	Ala	Lys	Leu	Val	Gln	Glu	Val	Thr	
			915					920					925			
Lys	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Ala	Asn	Cys	Asp	
		930						935					940			
Leu	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Ala	Ile	Pro	Asn	
	945					950						955				
960	Arg	Glu	Asn	Tyr	Gly	Glu	Leu	Ala	Asp	Cys	Cys	Thr	Lys	Gln	Glu	
Pro																
				965				970					975			
Leu	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Ser	
				980				985					990			
Lys	Pro	Pro	Phe	Glu	Arg	Pro	Glu	Ala	Glu	Ala	Met	Cys	Thr	Ser	Phe	
				995				1000					1005			
	Glu	Asn	Pro	Thr	Thr	Phe	Met	Gly	His	Tyr	Leu	His	Glu	Val	Ala	
	1010						1015					1020				
Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Ala		
	1025						1030					1035				
Glu	Gln	Tyr	Asn	Glu	Ile	Leu	Thr	Gln	Cys	Cys	Ala	Glu	Ala	Asp		
	1040						1045					1050				
Lys	Glu	Ser	Cys	Leu	Thr	Pro	Lys	Leu	Asp	Gly	Val	Lys	Glu	Lys		
	1055						1060					1065				
Ala	Leu	Val	Ser	Ser	Val	Arg	Gln	Arg	Met	Lys	Cys	Ser	Ser	Met		
	1070						1075					1080				
Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg		
	1085						1090					1095				
Leu	Ser	Gln	Thr	Phe	Pro	Asn	Ala	Asp	Phe	Ala	Glu	Ile	Thr	Lys		
	1100						1105					1110				
Leu	Ala	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	Asn	Lys	Glu	Cys	Cys	His	Gly		
	1115						1120					1125				
Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys	Tyr		
	1130						1135					1140				
Met	Cys	Glu	Asn	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Gln	Thr	Cys		
	1145						1150					1155				
Cys	Asp	Lys	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Ala	His	Cys	Leu	Ser	Glu	Val		
	1160						1165					1170				
Glu	His	Asp	Thr	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Ala	Asp		
	1175						1180					1185				
Phe	Val	Glu	Asp	Gln	Glu	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys		
	1190						1195					1200				
Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Thr	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Arg	Arg	His		
	1205						1210					1215				
Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Ser	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Lys	Tyr		
	1220						1225					1230				
Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Glu	Ala	Asn	Pro	Pro	Ala		
	1235						1240					1245				
Cys	Tyr	Gly	Thr	Val	Leu	Ala	Glu	Phe	Gln	Pro	Leu	Val	Glu	Glu		
	1250						1255					1260				

10

20

30

40

50

【表 2 1 - 6】

Pro	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Thr	Asn	Cys	Asp	Leu	Tyr	Glu	Lys	Leu
1265						1270					1275			
Gly	Glu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Ile	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Gln
1280						1285					1290			
Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Ala	Ala	Arg
1295						1300					1305			
Asn	Leu	Gly	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Asp
1310						1315					1320			
Gln	Arg	Leu	Pro	Cys	Val	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ile	Leu	Asn
1325						1330					1335			
Arg	Val	Cys	Leu	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	His	Val
1340						1345					1350			
Thr	Lys	Cys	Cys	Ser	Gly	Ser	Leu	Val	Glu	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
1355						1360					1365			
Ser	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Lys
1370						1375					1380			
Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ser	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu
1385						1390					1395			
Lys	Glu	Lys	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Ala	Glu	Leu	Val
1400						1405					1410			
Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Ala	Glu	Gln	Leu	Lys	Thr	Val	Met
1415						1420					1425			
Asp	Asp	Phe	Ala	Gln	Phe	Leu	Asp	Thr	Cys	Cys	Lys	Ala	Ala	Asp
1430						1435					1440			
Lys	Asp	Thr	Cys	Phe	Ser	Thr	Glu	Gly	Pro	Asn	Leu	Val	Thr	Arg
1445						1450					1455			
Cys	Lys	Asp	Ala	Leu	Ala	Arg	Ser	Trp	Ser	His	Pro	Gln	Phe	Glu
1460						1465					1470			
Lys														

10

20

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 1 の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

30

【0 2 6 5】

配列番号 2 2 - E N P P 7 - N P P 3 - F c 配列：

【表 2 2 - 1】

	<u>Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu</u>													
<u>Leu</u>	1			5				10				15		
	<u>Ala Pro Gly Ala**Lys Gln Gly</u> Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp													
Ala				20				25				30		
	Ser Phe Arg Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys													
Asp				35				40				45		
	Arg Gly Asp Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser													
Thr				50				55				60		
	Arg Ile Trp Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg Leu Glu													
Ala				65				70				75		80
	Ser Leu Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys													
Cys														

40

50

【表 2 2 - 2】

					85					90					95
	Ala	Asp	Tyr	Lys	Ser	Val	Cys	Gln	Gly	Glu	Thr	Ser	Trp	Leu	Glu
Glu															
				100					105					110	
	Asn	Cys	Asp	Thr	Ala	Gln	Gln	Ser	Gln	Cys	Pro	Glu	Gly	Phe	Asp
Leu															
			115					120					125		
	Pro	Pro	Val	Ile	Leu	Phe	Ser	Met	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr
Leu															
		130					135				140				
	Tyr	Thr	Trp	Asp	Thr	Leu	Met	Pro	Asn	Ile	Asn	Lys	Leu	Lys	Thr
Cys															
	145					150					155				
160															
	Gly	Ile	His	Ser	Lys	Tyr	Met	Arg	Ala	Met	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr
Phe															
				165					170					175	
	Pro	Asn	His	Tyr	Thr	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	His
Gly															
			180						185				190		
	Ile	Ile	Asp	Asn	Asn	Met	Tyr	Asp	Val	Asn	Leu	Asn	Lys	Asn	Phe
Ser															
		195						200					205		
	Leu	Ser	Ser	Lys	Glu	Gln	Asn	Asn	Pro	Ala	Trp	Trp	His	Gly	Gln
Pro															
		210					215				220				
	Met	Trp	Leu	Thr	Ala	Met	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ala	Ala	Thr	Tyr
Phe															
	225					230					235				
240															
	Trp	Pro	Gly	Ser	Glu	Val	Ala	Ile	Asn	Gly	Ser	Phe	Pro	Ser	Ile
Tyr															
				245					250					255	
	Met	Pro	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Ser	Thr
Leu															
			260						265				270		
	Leu	Lys	Trp	Leu	Asp	Leu	Pro	Lys	Ala	Glu	Arg	Pro	Arg	Phe	Tyr
Thr															
		275						280					285		
	Met	Tyr	Phe	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ala	Gly	Gly	Pro
Val															
		290				295				300					
	Ser	Ala	Arg	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Val	Val	Asp	His	Ala	Phe
Gly															
	305					310				315					
320															
	Met	Leu	Met	Glu	Gly	Leu	Lys	Gln	Arg	Asn	Leu	His	Asn	Cys	Val
Asn															
				325					330					335	
	Ile	Ile	Leu	Leu	Ala	Asp	His	Gly	Met	Asp	Gln	Thr	Tyr	Cys	Asn
Lys															
			340						345				350		
	Met	Glu	Tyr	Met	Thr	Asp	Tyr	Phe	Pro	Arg	Ile	Asn	Phe	Phe	Tyr
Met															
			355					360					365		

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 3】

	Tyr	Glu	Gly	Pro	Ala	Pro	Arg	Ile	Arg	Ala	His	Asn	Ile	Pro	His
Asp															
	370						375					380			
	Phe	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Glu	Glu	Ile	Val	Arg	Asn	Leu	Ser	Cys
Arg															
	385					390					395				
400															
	Lys	Pro	Asp	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Thr	Pro	Asp	Leu	Pro
Lys															
					405					410				415	
	Arg	Leu	His	Tyr	Ala	Lys	Asn	Val	Arg	Ile	Asp	Lys	Val	His	Leu
Phe															
				420					425					430	
	Val	Asp	Gln	Gln	Trp	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Lys	Ser	Asn	Thr	Asn
Cys															
		435					440					445			
	Gly	Gly	Gly	Asn	His	Gly	Tyr	Asn	Asn	Glu	Phe	Arg	Ser	Met	Glu
Ala															
	450					455				460					
	Ile	Phe	Leu	Ala	His	Gly	Pro	Ser	Phe	Lys	Glu	Lys	Thr	Glu	Val
Glu															
	465					470				475					
480															
	Pro	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp	Leu	Leu
Arg															
				485					490					495	
	Ile	Gln	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu	Asn	His
Leu															
			500					505					510		
	Leu	Lys	Val	Pro	Phe	Tyr	Glu	Pro	Ser	His	Ala	Glu	Glu	Val	Ser
Lys															
		515					520					525			
	Phe	Ser	Val	Cys	Gly	Phe	Ala	Asn	Pro	Leu	Pro	Thr	Glu	Ser	Leu
Asp															
	530					535				540					
	Cys	Phe	Cys	Pro	His	Leu	Gln	Asn	Ser	Thr	Gln	Leu	Glu	Gln	Val
Asn															
	545					550				555					
560															
	Gln	Met	Leu	Asn	Leu	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Thr	Ala	Thr	Val	Lys
Val															
				565				570					575		
	Asn	Leu	Pro	Phe	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys	Asn	Val	Asp
His															
			580					585					590		
	Cys	Leu	Leu	Tyr	His	Arg	Glu	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	Gly	Lys	Ala
Met															
		595						600					605		
	Arg	Met	Pro	Met	Trp	Ser	Ser	Tyr	Thr	Val	Pro	Gln	Leu	Gly	Asp
Thr															
	610					615				620					
	Ser	Pro	Leu	Pro	Pro	Thr	Val	Pro	Asp	Cys	Leu	Arg	Ala	Asp	Val
Arg															
	625					630				635					
640															

10

20

30

40

50

Lys	Val	Pro	Pro	Ser	Glu	Ser	Gln	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Leu	Ala	Asp
					645			650				655			
Ser	Asn	Ile	Thr	His	Gly	Phe	Leu	Tyr	Pro	Pro	Ala	Ser	Asn	Arg	Thr
					660			665				670			
Tyr	Asp	Ser	Gln	Tyr	Asp	Ala	Leu	Ile	Thr	Ser	Asn	Leu	Val	Pro	Met
					675			680				685			
Ile	Glu	Glu	Phe	Arg	Lys	Met	Trp	Asp	Tyr	Phe	His	Ser	Val	Leu	Leu
					690			695				700			
Ile	Lys	His	Ala	Thr	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser	Gly	Pro
	705				710				715						
720	Phe	Asp	Tyr	Asn	Tyr	Asp	Gly	His	Phe	Asp	Ala	Pro	Asp	Glu	Ile
					725			730				735			
Val	Lys	His	Leu	Ala	Asn	Thr	Asp	Val	Pro	Ile	Pro	Thr	His	Tyr	Phe
					740			745				750			
Pro	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asn	Lys	Ser	His	Thr	Pro	Glu	Asn	Cys
					755			760				765			
Asn	Gly	Trp	Leu	Asp	Val	Leu	Pro	Phe	Ile	Ile	Pro	His	Arg	Pro	Thr
					770			775				780			
Glu	Val	Glu	Ser	Cys	Pro	Glu	Gly	Lys	Pro	Glu	Ala	Leu	Trp	Val	Glu
	785				790				795						
800	Arg	Phe	Thr	Ala	His	Ile	Ala	Arg	Val	Arg	Asp	Val	Glu	Leu	Leu
					805			810				815			
Leu	Gly	Leu	Asp	Phe	Tyr	Gln	Asp	Lys	Val	Gln	Pro	Val	Ser	Glu	Ile
					820			825				830			
Thr	Gln	Leu	Lys	Thr	Tyr	Leu	Pro	Thr	<u>Phe</u>	<u>Glu</u>	<u>Thr</u>	<u>Thr</u>	<u>Ile</u>	Asp	Lys
					835			840				845			
Ser	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
					850			855				860			
Arg	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
	865				870				875						
880	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
					885			890				895			
Ala	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
					900			905				910			
Val	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val

40

【表 2 2 - 5】

	915	920	925	
Tyr	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
Thr	930	935	940	
	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
960	945	950	955	
Leu	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
	965	970	975	10
Cys	Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
Ser	980	985	990	
	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
	995	1000	1005	
	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
	1010	1015	1020	
	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
	1025	1030	1035	
	Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met			
	1040	1045	1050	20
	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu			
	1055	1060	1065	
	Ser Pro Gly Lys			
	1070			

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 3 の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、F c 配列を示す

【0 2 6 6】

配列番号 2 3 - E N P P 7 1 - アルブミン

【表 2 3 - 1】

	Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu	30
Leu		
	1 5 10 15	
Ser	Ala Pro Gly Ala Gly Leu Lys**Pro Ser Cys Ala Lys Glu Val Lys	
	20 25 30	
Asp	Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Arg Thr Phe Gly Asn Cys Arg Cys	
	35 40 45	
Thr	Ala Ala Cys Val Glu Leu Gly Asn Cys Cys Leu Asp Tyr Gln Glu	
	50 55 60	
Gly	Cys Ile Glu Pro Glu His Ile Trp Thr Cys Asn Lys Phe Arg Cys	40
	65 70 75 80	
Lys	Glu Lys Arg Leu Thr Arg Ser Leu Cys Ala Cys Ser Asp Asp Cys	
	85 90 95	
Glu	Asp Lys Gly Asp Cys Cys Ile Asn Tyr Ser Ser Val Cys Gln Gly	
	100 105 110	

【表 2 3 - 2】

	Lys	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Pro	Cys	Glu	Ser	Ile	Asn	Glu	Pro	Gln
Cys															
			115					120					125		
	Pro	Ala	Gly	Phe	Glu	Thr	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Asp
Gly															
		130						135					140		
	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	Pro	Val
Ile															
	145					150					155				
160															
	Ser	Lys	Leu	Lys	Lys	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met	Arg	Pro
Val															
				165						170					175
	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	Thr	Gly
Leu															
			180						185					190	
	Tyr	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr	Asp	Pro
Lys															
		195						200					205		
	Met	Asn	Ala	Ser	Phe	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe	Asn	Pro
Glu															
		210						215					220		
	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr	Gln	Gly
Leu															
	225					230					235				
240															
	Lys	Ser	Gly	Thr	Phe	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ile	Asn
Gly															
				245						250					255
	Ile	Phe	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe
Glu															
			260						265					270	
	Glu	Arg	Ile	Leu	Ala	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	Lys	Asp
Glu															
		275						280					285		
	Arg	Pro	His	Phe	Tyr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser
Gly															
		290						295					300		
	His	Ser	Tyr	Gly	Pro	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln
Arg															
	305					310					315				
320															
	Val	Asp	Gly	Met	Val	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	Glu	Leu
Asn															
				325						330					335
	Leu	His	Arg	Cys	Leu	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	Gly	Met
Glu															
			340						345					350	
	Gln	Gly	Ser	Cys	Lys	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	Leu	Gly
Asp															
		355						360					365		
	Val	Lys	Asn	Ile	Lys	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Leu	Arg
Pro															
		370						375					380		
	Ser	Asp	Val	Pro	Asp	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	Gly	Ile
Ala															

10

20

30

40

50

[illegible]

【表 2 3 - 4】

Val	Asn	Ser	Ser	Gly	Ile	Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr	Asn	Ile
			675					680					685		
Thr	Pro	Met	Tyr	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe	His	Asp
		690					695				700				
Ser	Leu	Leu	Arg	Lys	Tyr	Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val
	705				710					715					
720	Gly	Pro	Val	Phe	Asp	Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu
Glu					725				730					735	
Ile	Asn	Leu	Arg	Gln	Lys	Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu	Ile	Leu
			740					745				750			
Gln	Pro	Thr	His	Phe	Phe	Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp	Thr	Ser
		755					760				765				
Pro	Thr	Pro	Leu	His	Cys	Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe	Ile	Leu
		770				775				780					
Ser	His	Arg	Thr	Asp	Asn	Ser	Glu	Ser	Cys	Val	His	Gly	Lys	His	Asp
	785				790				795						
800	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Leu	Leu	Met	Leu	His	Arg	Ala	Arg	Ile	Thr
Asp					805				810				815		
	Val	Glu	His	Ile	Thr	Gly	Leu	Ser	Phe	Tyr	Gln	Gln	Arg	Lys	Glu
Pro			820					825				830			
	Val	Ser	Asp	Ile	Leu	Lys	Leu	Lys	Thr	His	Leu	Pro	Thr	Phe	Ser
<u>Gln</u>			835					840				845			
	<u>Glu Asp</u>	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Met	Lys	Trp	Val	Thr	Phe	Leu	
Leu			850				855				860				
	Leu	Leu	Phe	Val	Ser	Gly	Ser	Ala	Phe	Ser	Arg	Gly	Val	Phe	Arg
Arg															
	865				870				875						
880	Glu	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Ile	Ala	His	Arg	Tyr	Asn	Asp	Leu	Gly
Glu					885				890				895		
	Gln	His	Phe	Lys	Gly	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ser	Gln	Tyr	Leu
Gln															
		900					905					910			
Asp	Lys	Cys	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	Ala	Lys	Leu	Val	Gln	Glu	Val	Thr
		915					920				925				
	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Ala	Asn	Cys	Asp
Lys															
		930					935				940				
	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Ala	Ile	Pro	Asn
Leu															

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 5】

[illegible]

【表 23-6】

1340	1345	1350
Thr Lys Cys Cys Ser Gly	Ser Leu Val Glu Arg	Arg Pro Cys Phe
1355	1360	1365
Ser Ala Leu Thr Val Asp	Glu Thr Tyr Val Pro	Lys Glu Phe Lys
1370	1375	1380
Ala Glu Thr Phe Thr Phe	His Ser Asp Ile Cys	Thr Leu
1385	1390	1395

ナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、Fc配列を示す

【0267】

配列番号24-ENPP7-NPP3-アルブミン

【表24-1】

	Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu																	
Leu	1				5				10							15		
	Ala Pro Gly Ala** <u>Lys Gln Gly</u> Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp																	
Ala				20				25								30		
	Ser Phe Arg Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys																	
Asp																		10
			35					40								45		
	Arg Gly Asp Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser																	
Thr																		
	50					55						60						
	Arg Ile Trp Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg Leu Glu																	
Ala																		
	65				70						75						80	
	Ser Leu Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys																	
Cys																		
				85					90								95	
	Ala Asp Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu																	
Glu																		20
			100					105								110		
	Asn Cys Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp																	
Leu																		
			115					120								125		
	Pro Pro Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr																	
Leu																		
			130					135								140		
	Tyr Thr Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr																	
Cys																		
	145					150						155						
160																		
	Gly Ile His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr																	
Phe																		30
				165					170							175		
	Pro Asn His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His																	
Gly																		
				180					185							190		
	Ile Ile Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe																	
Ser																		

【表 2 4 - 2】

		195					200					205						
	Pro	Leu	Ser	Ser	Lys	Glu	Gln	Asn	Asn	Pro	Ala	Trp	Trp	His	Gly	Gln		
		210					215					220						
	Phe	Met	Trp	Leu	Thr	Ala	Met	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ala	Ala	Thr	Tyr		
		225					230					235						
240		Trp	Pro	Gly	Ser	Glu	Val	Ala	Ile	Asn	Gly	Ser	Phe	Pro	Ser	Ile		
	Tyr						245					250					255	
	Leu	Met	Pro	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Ser	Thr		
		260					265					270						
	Thr	Leu	Lys	Trp	Leu	Asp	Leu	Pro	Lys	Ala	Glu	Arg	Pro	Arg	Phe	Tyr		
		275					280					285						
	Val	Met	Tyr	Phe	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ala	Gly	Gly	Pro		
		290					295					300						
	Gly	Ser	Ala	Arg	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Val	Val	Asp	His	Ala	Phe		
		305					310					315						
320		Met	Leu	Met	Glu	Gly	Leu	Lys	Gln	Arg	Asn	Leu	His	Asn	Cys	Val		
	Asn						325					330					335	
	Lys	Ile	Ile	Leu	Leu	Ala	Asp	His	Gly	Met	Asp	Gln	Thr	Tyr	Cys	Asn		
		340					345					350						
	Met	Met	Glu	Tyr	Met	Thr	Asp	Tyr	Phe	Pro	Arg	Ile	Asn	Phe	Phe	Tyr		
		355					360					365						
	Asp	Tyr	Glu	Gly	Pro	Ala	Pro	Arg	Ile	Arg	Ala	His	Asn	Ile	Pro	His		
		370					375					380						
	Arg	Phe	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Glu	Glu	Ile	Val	Arg	Asn	Leu	Ser	Cys		
		385					390					395						
400		Lys	Pro	Asp	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Thr	Pro	Asp	Leu	Pro		
	Lys						405					410					415	
	Phe	Arg	Leu	His	Tyr	Ala	Lys	Asn	Val	Arg	Ile	Asp	Lys	Val	His	Leu		
		420					425					430						
	Cys	Val	Asp	Gln	Gln	Trp	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Lys	Ser	Asn	Thr	Asn		
		435					440					445						
	Ala	Gly	Gly	Gly	Asn	His	Gly	Tyr	Asn	Asn	Glu	Phe	Arg	Ser	Met	Glu		
		450					455					460						
	Glu	Ile	Phe	Leu	Ala	His	Gly	Pro	Ser	Phe	Lys	Glu	Lys	Thr	Glu	Val		
		465					470					475						
480																		

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 3】

Arg	Pro	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp	Leu	Leu		
				485					490						495		
Leu	Ile	Gln	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu	Asn	His		
			500					505					510				
Lys	Leu	Lys	Val	Pro	Phe	Tyr	Glu	Pro	Ser	His	Ala	Glu	Glu	Val	Ser		
		515						520					525				
Asp	Phe	Ser	Val	Cys	Gly	Phe	Ala	Asn	Pro	Leu	Pro	Thr	Glu	Ser	Leu		
	530						535					540					
Asn	Cys	Phe	Cys	Pro	His	Leu	Gln	Asn	Ser	Thr	Gln	Leu	Glu	Gln	Val		10
	545					550				555							
560																	
Val	Gln	Met	Leu	Asn	Leu	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Thr	Ala	Thr	Val	Lys		
				565						570					575		
His	Asn	Leu	Pro	Phe	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys	Asn	Val	Asp		
			580							585				590			
Met	Cys	Leu	Leu	Tyr	His	Arg	Glu	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	Gly	Lys	Ala		
		595							600					605			
Thr	Arg	Met	Pro	Met	Trp	Ser	Ser	Tyr	Thr	Val	Pro	Gln	Leu	Gly	Asp		20
	610						615						620				
Arg	Ser	Pro	Leu	Pro	Pro	Thr	Val	Pro	Asp	Cys	Leu	Arg	Ala	Asp	Val		
	625					630				635							
640																	
Lys	Val	Pro	Pro	Ser	Glu	Ser	Gln	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Leu	Ala	Asp		
				645						650				655			
Ser	Asn	Ile	Thr	His	Gly	Phe	Leu	Tyr	Pro	Pro	Ala	Ser	Asn	Arg	Thr		
			660							665				670			
Tyr	Asp	Ser	Gln	Tyr	Asp	Ala	Leu	Ile	Thr	Ser	Asn	Leu	Val	Pro	Met		
		675								680				685			
Ile	Glu	Glu	Phe	Arg	Lys	Met	Trp	Asp	Tyr	Phe	His	Ser	Val	Leu	Leu		30
		690								695				700			
Ile	Lys	His	Ala	Thr	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser	Gly	Pro		
	705						710						715				
720																	
Thr	Phe	Asp	Tyr	Asn	Tyr	Asp	Gly	His	Phe	Asp	Ala	Pro	Asp	Glu	Ile		
				725						730				735			
Val	Lys	His	Leu	Ala	Asn	Thr	Asp	Val	Pro	Ile	Pro	Thr	His	Tyr	Phe		
			740							745				750			
Pro	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asn	Lys	Ser	His	Thr	Pro	Glu	Asn	Cys		40

【表 2 4 - 4】

	Gly	Trp	Leu	Asp	Val	Leu	Pro	Phe	Ile	Ile	Pro	His	Arg	Pro	Thr
Asn															
		770					775				780				
	Val	Glu	Ser	Cys	Pro	Glu	Gly	Lys	Pro	Glu	Ala	Leu	Trp	Val	Glu
Glu															
	785					790				795					
800															
	Arg	Phe	Thr	Ala	His	Ile	Ala	Arg	Val	Arg	Asp	Val	Glu	Leu	Leu
Thr															
				805						810				815	
	Gly	Leu	Asp	Phe	Tyr	Gln	Asp	Lys	Val	Gln	Pro	Val	Ser	Glu	Ile
Leu															
			820						825					830	
	Gln	Leu	Lys	Thr	Tyr	Leu	<u>Pro</u>	<u>Thr</u>	<u>Phe</u>	<u>Glu</u>	<u>Thr</u>	<u>Thr</u>	<u>Ile</u>	Gly	Gly
Gly															
		835						840				845			
	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Met	Lys	Trp	Val
Thr															
		850					855				860				
	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Phe	Val	Ser	Gly	Ser	Ala	Phe	Ser	Arg	Gly
Val															
	865					870				875					
880															
	Phe	Arg	Arg	Glu	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Ile	Ala	His	Arg	Tyr	Asn
Asp															
			885							890				895	
	Leu	Gly	Glu	Gln	His	Phe	Lys	Gly	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ser
Gln															
			900						905				910		
	Tyr	Leu	Gln	Lys	Cys	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	Ala	Lys	Leu	Val	Gln
Glu															
		915						920				925			
	Val	Thr	Asp	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Ala
Asn															
		930					935				940				
	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Ala
Ile															
	945					950				955					
960															
	Pro	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr	Gly	Glu	Leu	Ala	Asp	Cys	Cys	Thr
Lys															
			965						970				975		
	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp
Asn															
			980						985				990		
	Pro	Ser	Leu	Pro	Pro	Phe	Glu	Arg	Pro	Glu	Ala	Glu	Ala	Met	Cys
Thr															
		995						1000				1005			
	Ser	Phe	Lys	Glu	Asn	Pro	Thr	Thr	Phe	Met	Gly	His	Tyr	Leu	His
	1010							1015				1020			
	Glu	Val	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu
	1025							1030				1035			
	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Gln	Tyr	Asn	Glu	Ile	Leu	Thr	Gln	Cys	Cys	Ala
	1040							1045				1050			
	Glu	Ala	Asp	Lys	Glu	Ser	Cys	Leu	Thr	Pro	Lys	Leu	Asp	Gly	Val

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 5】

1055	Lys Glu	Lys Ala Leu Val	Ser	Ser Val Arg Gln Arg	Met Lys Cys
1070	Ser Ser	Met Gln Lys Phe	Gly	Glu Arg Ala Phe Lys	Ala Trp Ala
1085	Val Ala	Arg Leu Ser Gln Thr	Phe Pro Asn Ala Asp	Phe Ala Glu	
1100	Ile Thr	Lys Leu Ala Thr Asp	Leu Thr Lys Val Asn	Lys Glu Cys	
1115	Cys His	Gly Asp Leu Leu Glu	Cys Ala Asp Asp Arg	Ala Glu Leu	
1130	Ala Lys	Tyr Met Cys Glu Asn	Gln Ala Thr Ile Ser	Ser Lys Leu	
1145	Gln Thr	Cys Cys Asp Lys Pro	Leu Leu Lys Lys Ala	His Cys Leu	
1160	Ser Glu	Val Glu His Asp Thr	Met Pro Ala Asp Leu	Pro Ala Ile	
1175	Ala Ala	Asp Phe Val Glu Asp	Gln Glu Val Cys Lys	Asn Tyr Ala	
1190	Glu Ala	Lys Asp Val Phe Leu	Gly Thr Phe Leu Tyr	Glu Tyr Ser	
1205	Arg Arg	His Pro Asp Tyr Ser	Val Ser Leu Leu Leu	Arg Leu Ala	
1220	Lys Lys	Tyr Glu Ala Thr Leu	Glu Lys Cys Cys Ala	Glu Ala Asn	
1235	Pro Pro	Ala Cys Tyr Gly Thr	Val Leu Ala Glu Phe	Gln Pro Leu	
1250	Val Glu	Glu Pro Lys Asn Leu	Val Lys Thr Asn Cys	Asp Leu Tyr	
1265	Glu Lys	Leu Gly Glu Tyr Gly	Phe Gln Asn Ala Ile	Leu Val Arg	
1280	Tyr Thr	Gln Lys Ala Pro Gln	Val Ser Thr Pro Thr	Leu Val Glu	
1295	Ala Ala	Arg Asn Leu Gly Arg	Val Gly Thr Lys Cys	Cys Thr Leu	
1310	Pro Glu	Asp Gln Arg Leu Pro	Cys Val Glu Asp Tyr	Leu Ser Ala	
1325	Ile Leu	Asn Arg Val Cys Leu	Leu His Glu Lys Thr	Pro Val Ser	
1340	Glu His	Val Thr Lys Cys Cys	Ser Gly Ser Leu Val	Glu Arg Arg	
1355	Pro Cys	Phe Ser Ala Leu Thr	Val Asp Glu Thr Tyr	Val Pro Lys	
1370	Glu Phe	Lys Ala Glu Thr Phe	Thr Phe His Ser Asp	Ile Cys Thr	
1385	Leu Pro	Glu Lys Glu Lys Gln	Ile Lys Lys Gln Thr	Ala Leu Ala	
1400	Glu Leu	Val Lys His Lys Pro	Lys Ala Thr Ala Glu	Gln Leu Lys	
1415	Thr Val	Met Asp Asp Phe Ala	Gln Phe Leu Asp Thr	Cys Cys Lys	
1430	Ala Ala	Asp Lys Asp Thr Cys	Phe Ser Thr Glu Gly	Pro Asn Leu	
1445	Val Thr	Arg Cys Lys Asp Ala	Leu Ala		
1460					

10

20

30

40

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 3の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【0 2 6 8】

配列番号 2 5 - E N P P 7 - E N P P 3 - アルブミン

	<u>Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu</u>																
Leu	1				5				10				15				
	<u>Ala Pro Gly Ala**Lys Gln Gly</u>				Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp												
Ala	20								25				30				
	Ser Phe Arg Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys																
Asp	35							40				45					
	Arg Gly Asp Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser																
Thr	50				55				60								
	Arg Ile Trp Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Arg Leu Glu																
Ala	65				70				75								80
	Ser Leu Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys																
Cys	85								90				95				
	Ala Asp Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu																
Glu	100								105				110				
	Asn Cys Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp																
Leu	115				120				125								
	Pro Pro Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr																
Leu	130				135				140								
	Tyr Thr Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr																
Cys	145								150				155				
160																	
Phe	Gly Ile His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr																
	165								170				175				
Gly	Pro Asn His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His																
	180								185				190				
Ser	Ile Ile Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe																
	195								200				205				
Pro	Leu Ser Ser Lys Glu Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly Gln																
	210				215				220								
Phe	Met Trp Leu Thr Ala Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr Tyr																
	225				230				235								
240																	

40

【表 2 5 - 2】

Tyr	Trp	Pro	Gly	Ser	Glu	Val	Ala	Ile	Asn	Gly	Ser	Phe	Pro	Ser	Ile
					245					250					255
Leu	Met	Pro	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Ser	Thr
					260					265					270
Thr	Leu	Lys	Trp	Leu	Asp	Leu	Pro	Lys	Ala	Glu	Arg	Pro	Arg	Phe	Tyr
					275					280					285
Val	Met	Tyr	Phe	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ala	Gly	Gly	Pro
					290					295					300
Gly	Ser	Ala	Arg	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Val	Val	Asp	His	Ala	Phe
320	305						310					315			
Asn	Met	Leu	Met	Glu	Gly	Leu	Lys	Gln	Arg	Asn	Leu	His	Asn	Cys	Val
					325					330					335
Lys	Ile	Ile	Leu	Leu	Ala	Asp	His	Gly	Met	Asp	Gln	Thr	Tyr	Cys	Asn
					340					345					350
Met	Met	Glu	Tyr	Met	Thr	Asp	Tyr	Phe	Pro	Arg	Ile	Asn	Phe	Phe	Tyr
					355					360					365
Asp	Tyr	Glu	Gly	Pro	Ala	Pro	Arg	Ile	Arg	Ala	His	Asn	Ile	Pro	His
					370					375					380
Arg	Phe	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Glu	Glu	Ile	Val	Arg	Asn	Leu	Ser	Cys
400	385						390					395			
Lys	Lys	Pro	Asp	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Thr	Pro	Asp	Leu	Pro
					405					410					415
Phe	Arg	Leu	His	Tyr	Ala	Lys	Asn	Val	Arg	Ile	Asp	Lys	Val	His	Leu
					420					425					430
Cys	Val	Asp	Gln	Gln	Trp	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Lys	Ser	Asn	Thr	Asn
					435					440					445
Ala	Gly	Gly	Gly	Asn	His	Gly	Tyr	Asn	Asn	Glu	Phe	Arg	Ser	Met	Glu
					450					455					460
Glu	Ile	Phe	Leu	Ala	His	Gly	Pro	Ser	Phe	Lys	Glu	Lys	Thr	Glu	Val
480	465						470					475			
Arg	Pro	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp	Leu	Leu
					485					490					495
Leu	Ile	Gln	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu	Asn	His
					500					505					510
Lys	Leu	Lys	Val	Pro	Phe	Tyr	Glu	Pro	Ser	His	Ala	Glu	Glu	Val	Ser

10

20

30

40

50

【表 2 5 - 3】

				515					520					525		
	Phe	Ser	Val	Cys	Gly	Phe	Ala	Asn	Pro	Leu	Pro	Thr	Glu	Ser	Leu	
Asp																
		530						535				540				
	Cys	Phe	Cys	Pro	His	Leu	Gln	Asn	Ser	Thr	Gln	Leu	Glu	Gln	Val	
Asn																
	545					550					555					
560																
	Gln	Met	Leu	Asn	Leu	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Thr	Ala	Thr	Val	Lys	
Val																
				565						570					575	
	Asn	Leu	Pro	Phe	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys	Asn	Val	Asp	
His																10
			580						585					590		
	Cys	Leu	Leu	Tyr	His	Arg	Glu	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	Gly	Lys	Ala	
Met																
		595						600				605				
	Arg	Met	Pro	Met	Trp	Ser	Ser	Tyr	Thr	Val	Pro	Gln	Leu	Gly	Asp	
Thr																
	610						615				620					
	Ser	Pro	Leu	Pro	Pro	Thr	Val	Pro	Asp	Cys	Leu	Arg	Ala	Asp	Val	
Arg																
	625					630					635					
640																
	Val	Pro	Pro	Ser	Glu	Ser	Gln	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Leu	Ala	Asp	
Lys																
				645						650					655	
	Asn	Ile	Thr	His	Gly	Phe	Leu	Tyr	Pro	Pro	Ala	Ser	Asn	Arg	Thr	
Ser																20
			660						665					670		
	Asp	Ser	Gln	Tyr	Asp	Ala	Leu	Ile	Thr	Ser	Asn	Leu	Val	Pro	Met	
Tyr																
		675							680				685			
	Glu	Glu	Phe	Arg	Lys	Met	Trp	Asp	Tyr	Phe	His	Ser	Val	Leu	Leu	
Ile																
		690							695				700			
	Lys	His	Ala	Thr	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser	Gly	Pro	
Ile																
	705					710					715					
720																
	Phe	Asp	Tyr	Asn	Tyr	Asp	Gly	His	Phe	Asp	Ala	Pro	Asp	Glu	Ile	
Thr																30
					725						730				735	
	Lys	His	Leu	Ala	Asn	Thr	Asp	Val	Pro	Ile	Pro	Thr	His	Tyr	Phe	
Val																
			740							745				750		
	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asn	Lys	Ser	His	Thr	Pro	Glu	Asn	Cys	
Pro																
		755							760				765			
	Gly	Trp	Leu	Asp	Val	Leu	Pro	Phe	Ile	Ile	Pro	His	Arg	Pro	Thr	
Asn																
		770						775				780				
	Val	Glu	Ser	Cys	Pro	Glu	Gly	Lys	Pro	Glu	Ala	Leu	Trp	Val	Glu	
Glu																
	785					790					795					
800																40

	Arg	Phe	Thr	Ala	His	Ile	Ala	Arg	Val	Arg	Asp	Val	Glu	Leu	Leu
Thr															
					805					810					815
	Gly	Leu	Asp	Phe	Tyr	Gln	Asp	Lys	Val	Gln	Pro	Val	Ser	Glu	Ile
Leu															
				820						825					830
	Gln	Leu	Lys	Thr	Tyr	Leu	Pro	Thr	Phe	Glu	Thr	Thr	Ile	Asp	Lys
Thr															
				835					840					845	
	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
Ser															
		850						855					860		
	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
Arg															
	865						870					875			
880															
	Thr	<u>Pro</u>	<u>Glu</u>	<u>Val</u>	<u>Thr</u>	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
Gly															
					885					890					895
	Gly	Gly	Ser	Met	Lys	Trp	Val	Thr	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Phe	Val
Ser															
				900						905				910	
	Gly	Ser	Ala	Phe	Ser	Arg	Gly	Val	Phe	Arg	Arg	Glu	Ala	His	Lys
Ser															
				915					920					925	
	Glu	Ile	Ala	His	Arg	Tyr	Asn	Asp	Leu	Gly	Glu	Gln	His	Phe	Lys
Gly															
		930						935					940		
	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ser	Gln	Tyr	Leu	Gln	Lys	Cys	Ser	Tyr
Asp															
	945						950					955			
960															
	Glu	His	Ala	Lys	Leu	Val	Gln	Glu	Val	Thr	Asp	Phe	Ala	Lys	Thr
Cys															
					965					970					975
	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Ala	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr
Leu															
				980						985				990	
	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Ala	Ile	Pro	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr
Gly															
				995					1000					1005	
	Glu	Leu	Ala	Asp	Cys	Cys	Thr	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu
	1010							1015					1020		
	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Ser	Leu	Pro	Pro	Phe
	1025							1030					1035		
	Glu	Arg	Pro	Glu	Ala	Glu	Ala	Met	Cys	Thr	Ser	Phe	Lys	Glu	Asn
	1040							1045					1050		
	Pro	Thr	Thr	Phe	Met	Gly	His	Tyr							

40

【表 2 5 - 5】

1115	Phe Gly	Glu Arg Ala Phe	1120	Lys Ala Trp Ala Val	1125	Ala Arg Leu Ser
1130	Gln Thr	Phe Pro Asn Ala	1135	Asp Phe Ala Glu Ile	1140	Thr Lys Leu Ala
1145	Thr Asp	Leu Thr Lys Val	1150	Asn Lys Glu Cys Cys	1155	His Gly Asp Leu
1160	Leu Glu	Cys Ala Asp Asp	1165	Arg Ala Glu Leu Ala	1170	Lys Tyr Met Cys
1175	Glu Asn	Gln Ala Thr Ile	1180	Ser Ser Lys Leu Gln	1185	Thr Cys Cys Asp
1190	Lys Pro	Leu Leu Lys Lys	1195	Ala His Cys Leu Ser	1200	Glu Val Glu His
1205	Asp Thr	Met Pro Ala Asp	1210	Leu Pro Ala Ile Ala	1215	Ala Asp Phe Val
1220	Glu Asp	Gln Glu Val Cys	1225	Lys Asn Tyr Ala Glu	1230	Ala Lys Asp Val
1235	Phe Leu	Gly Thr Phe Leu	1240	Tyr Glu Tyr Ser Arg	1245	Arg His Pro Asp
1250	Tyr Ser	Val Ser Leu Leu	1255	Leu Arg Leu Ala Lys	1260	Lys Tyr Glu Ala
1265	Thr Leu	Glu Lys Cys Cys	1270	Ala Glu Ala Asn Pro	1275	Pro Ala Cys Tyr
1280	Gly Thr	Val Leu Ala Glu	1285	Phe Gln Pro Leu Val	1290	Glu Glu Pro Lys
1295	Asn Leu	Val Lys Thr Asn	1300	Cys Asp Leu Tyr Glu	1305	Lys Leu Gly Glu
1310	Tyr Gly	Phe Gln Asn Ala	1315	Ile Leu Val Arg Tyr	1320	Thr Gln Lys Ala
1325	Pro Gln	Val Ser Thr Pro	1330	Thr Leu Val Glu Ala	1335	Ala Arg Asn Leu
1340	Gly Arg	Val Gly Thr Lys	1345	Cys Cys Thr Leu Pro	1350	Glu Asp Gln Arg
1355	Leu Pro	Cys Val Glu Asp	1360	Tyr Leu Ser Ala Ile	1365	Leu Asn Arg Val
1370	Cys Leu	Leu His Glu Lys	1375	Thr Pro Val Ser Glu	1380	His Val Thr Lys
1385	Cys Cys	Ser Gly Ser Leu	1390	Val Glu Arg Arg Pro	1395	Cys Phe Ser Ala
1400	Leu Thr	Val Asp Glu Thr	1405	Tyr Val Pro Lys Glu	1410	Phe Lys Ala Glu
1415	Thr Phe	Thr Phe His Ser	1420	Asp Ile Cys Thr Leu	1425	Pro Glu Lys Glu
1430	Lys Gln	Ile Lys Lys Gln	1435	Thr Ala Leu Ala Glu	1440	Leu Val Lys His
1445	Lys Pro	Lys Ala Thr Ala	1450	Glu Gln Leu Lys Thr	1455	Val Met Asp Asp
1460	Phe Ala	Gln Phe Leu Asp	1465	Thr Cys Cys Lys Ala	1470	Ala Asp Lys Asp
1475	Thr Cys	Phe Ser Thr Glu	1480	Gly Pro Asn Leu Val	1485	Thr Arg Cys Lys
1490	Asp Ala	Leu Ala	1495		1500	
1505						

10

20

30

40

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 3の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【0 2 6 9】

配列番号 2 6 - E N P P 7 1 アミノ酸配列

【表 2 6 - 1】

	Met	Arg	Gly	Pro	Ala	Val	Leu	Leu	Thr	Val	Ala	Leu	Ala	Thr	Leu
Leu	1				5				10					15	
Val	Ala	Pro	Gly	Ala	Gly	Ala	<u>Gly</u>	<u>Leu</u>	<u>Lys</u>	Pro	Ser	Cys	Ala	Lys	Glu
Arg				20					25					30	
Gln	Lys	Ser	Cys	Lys	Gly	Arg	Cys	Phe	Glu	Arg	Thr	Phe	Gly	Asn	Cys
Arg				35				40					45		
Gln	Cys	Asp	Ala	Ala	Cys	Val	Glu	Leu	Gly	Asn	Cys	Cys	Leu	Asp	Tyr
Arg				50			55					60			
Asp	Glu	Thr	Cys	Ile	Glu	Pro	Glu	His	Ile	Trp	Thr	Cys	Asn	Lys	Phe
Gln				65			70				75			80	
Pro	Cys	Gly	Glu	Lys	Arg	Leu	Thr	Arg	Ser	Leu	Cys	Ala	Cys	Ser	Asp
Leu					85					90				95	
Arg	Cys	Lys	Asp	Lys	Gly	Asp	Cys	Cys	Ile	Asn	Tyr	Ser	Ser	Val	Cys
Gln					100				105					110	
Pro	Gly	Glu	Lys	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Pro	Cys	Glu	Ser	Ile	Asn	Glu
Leu					115				120				125		
Arg	Gln	Cys	Pro	Ala	Gly	Phe	Glu	Thr	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser
Gln					130				135				140		
Pro	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu
Asp					145			150			155				
Pro															
160	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Lys	Lys	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met
Arg					165					170				175	
Thr	Pro	Val	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val
Gln					180					185				190	
Asp	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr
Asn					195				200				205		
Gln	Pro	Lys	Met	Asn	Ala	Ser	Phe	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe
240					210				215				220		
	Pro	Glu	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr
					225			230			235				

10

20

30

40

50

【表 2 6 - 2】

Ile	Gly	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Phe	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	
					245					250					255	
Pro	Asn	Gly	Ile	Phe	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	
					260					265					270	
Lys	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Leu	Ala	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	
					275					280					285	
Ser	Asp	Glu	Arg	Pro	His	Phe	Tyr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	
					290					295					300	
Leu	Ser	Gly	His	Ser	Tyr	Gly	Pro	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	
					305					310					315	
320																
Glu	Gln	Arg	Val	Asp	Gly	Met	Val	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	
					325					330					335	
Gly	Leu	Asn	Leu	His	Arg	Cys	Leu	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	
					340					345					350	
Leu	Met	Glu	Gln	Gly	Ser	Cys	Lys	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	
					355					360					365	
Leu	Gly	Asp	Val	Lys	Asn	Ile	Lys	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	
					370					375					380	
Gly	Arg	Pro	Ser	Asp	Val	Pro	Asp	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	
					385					390					395	
400																
Pro	Ile	Ala	Arg	Asn	Leu	Ser	Cys	Arg	Glu	Pro	Asn	Gln	His	Phe	Lys	
					405					410					415	
Asp	Tyr	Leu	Lys	His	Phe	Leu	Pro	Lys	Arg	Leu	His	Phe	Ala	Lys	Ser	
					420					425					430	
Ala	Arg	Ile	Glu	Pro	Leu	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asp	Pro	Gln	Trp	Gln	Leu	
					435					440					445	
Ser	Leu	Asn	Pro	Ser	Glu	Arg	Lys	Tyr	Cys	Gly	Ser	Gly	Phe	His	Gly	
					450					455					460	
Pro	Asp	Asn	Val	Phe	Ser	Asn	Met	Gln	Ala	Leu	Phe	Val	Gly	Tyr	Gly	
					465					470					475	
480																
Val	Gly	Phe	Lys	His	Gly	Ile	Glu	Ala	Asp	Thr	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	
					485					490					495	
Asn	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp	Leu	Leu	Asn	Leu	Thr	Pro	Ala	Pro	Asn	
					500					505					510	
Thr	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu	Asn	His	Leu	Leu	Lys	Asn	Pro	Val	Tyr	

10

20

30

40

50

【表 2 6 - 3】

			515					520					525		
	Pro	Lys	His	Pro	Lys	Glu	Val	His	Pro	Leu	Val	Gln	Cys	Pro	Phe
Thr															
		530					535				540				
	Arg	Asn	Pro	Arg	Asp	Asn	Leu	Gly	Cys	Ser	Cys	Asn	Pro	Ser	Ile
Leu															
	545					550				555					
560															
	Pro	Ile	Glu	Asp	Phe	Gln	Thr	Gln	Phe	Asn	Leu	Thr	Val	Ala	Glu
Glu															
				565					570					575	
	Lys	Ile	Ile	Lys	His	Glu	Thr	Leu	Pro	Tyr	Gly	Arg	Pro	Arg	Val
Leu															10
			580					585					590		
	Gln	Lys	Glu	Asn	Thr	Ile	Cys	Leu	Leu	Ser	Gln	His	Gln	Phe	Met
Ser															
		595					600				605				
	Gly	Tyr	Ser	Gln	Asp	Ile	Leu	Met	Pro	Leu	Trp	Thr	Ser	Tyr	Thr
Val															
		610					615				620				
	Asp	Arg	Asn	Asp	Ser	Phe	Ser	Thr	Glu	Asp	Phe	Ser	Asn	Cys	Leu
Tyr															
	625					630				635					
640															
	Gln	Asp	Phe	Arg	Ile	Pro	Leu	Ser	Pro	Val	His	Lys	Cys	Ser	Phe
Tyr															
				645					650					655	
	Lys	Asn	Asn	Thr	Lys	Val	Ser	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Gln
Leu															
			660					665					670		
	Asn	Lys	Asn	Ser	Ser	Gly	Ile	Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr
Asn															
		675					680				685				
	Ile	Val	Pro	Met	Tyr	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe
His															
		690					695				700				
	Asp	Thr	Leu	Leu	Arg	Lys	Tyr	Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn
Val															
	705					710				715					
720															
	Val	Ser	Gly	Pro	Val	Phe	Asp	Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp
Ser															30
				725					730					735	
	Leu	Glu	Asn	Leu	Arg	Gln	Lys	Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu
Ile															
			740					745					750		
	Leu	Ile	Pro	Thr	His	Phe	Phe	Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp
Thr															
		755					760				765				
	Ser	Gln	Thr	Pro	Leu	His	Cys	Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe
Ile															
		770				775				780					
	Leu	Pro	His	Arg	Thr	Asp	Asn	Ser	Glu	Ser	Cys	Val	His	Gly	Lys
His															
	785					790				795					
800															40

10

20

30

40

50

【表 2 6 - 4】

Ile	Asp	Ser	Ser	Trp	Val	Glu	Glu	Leu	Leu	Met	Leu	His	Arg	Ala	Arg
						805				810					815
Lys	Thr	Asp	Val	Glu	His	Ile	Thr	Gly	Leu	Ser	Phe	Tyr	Gln	Gln	Arg
						820				825					830
Phe	Glu	Pro	Val	Ser	Asp	Ile	Leu	Lys	Leu	Lys	Thr	His	Leu	Pro	Thr
						835				840					845
	Ser	<u>Gln</u>	<u>Glu</u>	<u>Asp</u>											
						850									

10

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 1 の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置

【0 2 7 0】

配列番号 2 7 - E N P P 1 2 1 アミノ酸配列

【表 2 7 - 1】

Gly	Met	Glu	Arg	Asp	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Gly	Glu
	1				5					10				15	
Gly	Gly	Arg	Ala	Pro	Arg	Glu	Gly	Pro	Ala	Gly	Asn	Gly	Arg	Asp	Arg
					20					25				30	
Ser	Arg	Ser	His	Ala	Ala	Glu	Ala	Pro	Gly	Asp	Pro	Gln	Ala	Ala	Ala
					35					40				45	
Ala	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Asp	Val	Gly	Glu	Glu	Pro	Leu	Glu	Lys	Ala
					50					55				60	
Leu	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asp	Pro	Asn	Thr	Tyr	Lys	Ile	Ile	Ser
					65					70				75	
<u>Gly</u>	<u>Phe</u>	<u>Thr</u>	<u>Phe</u>	<u>Ala</u>	<u>Val</u>	<u>Gly</u>	<u>Val</u>	<u>Asn</u>	<u>Ile</u>	<u>Cys</u>	<u>Leu</u>	<u>Gly**</u>	<u>Phe</u>	<u>Thr</u>	<u>Ala</u>
Cys	<u>Leu</u>	<u>Lys</u>	Pro	Ser	Cys	Ala	Lys	Glu	Val	Lys	Ser	Cys	Lys	Gly	Arg
Glu	Phe	Glu	Arg	Thr	Phe	Gly	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	Ala	Ala	Cys	Val
Glu	Leu	Gly	Asn	Cys	Cys	Leu	Asp	Tyr	Gln	Glu	Thr	Cys	Ile	Glu	Pro
Thr	His	Ile	Trp	Thr	Cys	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly	Glu	Lys	Arg	Leu
160	145					150					155				
Cys	Arg	Ser	Leu	Cys	Ala	Cys	Ser	Asp	Asp	Cys	Lys	Asp	Lys	Gly	Asp
						165				170				175	

40

50

【表 27-2】

	Cys	Ile	Asn	Tyr	Ser	Ser	Val	Cys	Gln	Gly	Glu	Lys	Ser	Trp	Val
Glu															
			180					185						190	
Glu	Glu	Pro	Cys	Glu	Ser	Ile	Asn	Glu	Pro	Gln	Cys	Pro	Ala	Gly	Phe
			195					200					205		
Tyr	Thr	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu
			210				215					220			
Lys	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	Pro	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Lys
	225					230					235				
240															
Thr	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met	Arg	Pro	Val	Tyr	Pro	Thr	Lys
					245					250				255	
His	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser
			260						265				270		
Phe	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr	Asp	Pro	Lys	Met	Asn	Ala	Ser
		275					280				285				
Glu	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe	Asn	Pro	Glu	Trp	Tyr	Lys	Gly
		290					295				300				
Phe	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr
	305					310					315				
320															
Ile	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ile	Asn	Gly	Ile	Phe	Pro	Asp
				325					330					335	
Ala	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Leu
			340						345				350		
Tyr	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	Lys	Asp	Glu	Arg	Pro	His	Phe
		355					360				365				
Pro	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ser	Tyr	Gly
		370					375				380				
Val	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Arg	Val	Asp	Gly	Met
	385					390					395				
400															
Leu	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	Glu	Leu	Asn	Leu	His	Arg	Cys
			405						410					415	
Lys	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	Gly	Met	Glu	Gln	Gly	Ser	Cys
		420							425				430		
Lys	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	Leu	Gly	Asp	Val	Lys	Asn	Ile
		435					440				445				
Asp	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Leu	Arg	Pro	Ser	Asp	Val	Pro

10

20

30

40

50

	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	Gly	Ile	Ala	Arg	Asn	Leu	Ser		
Cys	465					470					475						
480	Arg	Glu	Pro	Asn	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Lys	His	Phe	Leu		
Pro					485					490					495		
	Lys	Arg	Leu	His	Phe	Ala	Lys	Ser	Asp	Arg	Ile	Glu	Pro	Leu	Thr		
Phe				500					505					510			
	Tyr	Leu	Asp	Pro	Gln	Trp	Gln	Leu	Ala	Leu	Asn	Pro	Ser	Glu	Arg		10
Lys				515				520					525				
	Tyr	Cys	Gly	Ser	Gly	Phe	His	Gly	Ser	Asp	Asn	Val	Phe	Ser	Asn		
Met				530				535				540					
	Gln	Ala	Leu	Phe	Val	Gly	Tyr	Gly	Pro	Gly	Phe	Lys	His	Gly	Ile		
Glu	545					550					555						
560	Ala	Asp	Thr	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp		
Leu					565					570				575			
	Leu	Asn	Leu	Thr	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu		
Asn				580						585				590			20
	His	Leu	Leu	Lys	Asn	Pro	Val	Tyr	Thr	Pro	Lys	His	Pro	Lys	Glu		
Val				595						600				605			
	His	Pro	Leu	Val	Gln	Cys	Pro	Phe	Thr	Arg	Asn	Pro	Arg	Asp	Asn		
Leu				610						615				620			
	Gly	Cys	Ser	Cys	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Pro	Ile	Glu	Asp	Phe	Gln		
Thr	625					630						635					
640	Gln	Phe	Asn	Leu	Thr	Val	Ala	Glu	Glu	Lys	Ile	Ile	Lys	His	Glu		
Thr					645					650				655			
	Leu	Pro	Tyr	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys	Glu	Asn	Thr	Ile		30
Cys				660						665				670			
	Leu	Leu	Ser	Gln	His	Gln	Phe	Met	Ser	Gly	Tyr	Ser	Gln	Asp	Ile		
Leu				675						680				685			
	Met	Pro	Leu	Trp	Thr	Ser	Tyr	Thr	Val	Asp	Arg	Asn	Asp	Ser	Phe		
Ser				690						695				700			
	Thr	Glu	Asp	Phe	Ser	Asn	Cys	Leu	Tyr	Gln	Asp	Phe	Arg	Ile	Pro		
Leu	705					710											
720	Ser	Pro	Val	His	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Lys	Asn	Asn	Thr	Lys	Val		
Ser					725					730				735			40

【表 2 7 - 4】

Ile	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Gln	Leu	Asn	Lys	Asn	Ser	Ser	Gly	
				740					745						750	
Ser	Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr	Asn	Ile	Val	Pro	Met	Tyr	Gln	
				755					760						765	
Tyr	Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe	His	Asp	Thr	Leu	Leu	Arg	Lys	
				770					775						780	
Asp	Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Val	Phe	10
800	785						790					795				
Lys	Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu	Glu	Asn	Leu	Arg	Gln	
					805						810				815	
Phe	Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu	Ile	Leu	Ile	Pro	Thr	His	Phe	
				820							825				830	
Cys	Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp	Thr	Ser	Gln	Thr	Pro	Leu	His	
				835							840				845	20
Asn	Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe	Ile	Leu	Pro	His	Arg	Thr	Asp	
				850											860	
Glu	Ser	Glu	Ser	Cys	Val	His	Gly	Lys	His	Asp	Ser	Ser	Trp	Val	Glu	
880	865						870						875			
Thr	Leu	Leu	Met	Leu	His	Arg	Ala	Arg	Ile	Thr	Asp	Val	Glu	His	Ile	
					885						890				895	
Leu	Gly	Leu	Ser	Phe	Tyr	Gln	Gln	Arg	Lys	Glu	Pro	Val	Ser	Asp	Ile	
				900							905				910	30
	Lys	Leu	Lys	Thr	His	Leu	Pro	Thr	Phe	Ser	<u>Gln</u>	<u>Glu</u>	<u>Asp</u>			
			915					920					925			

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 1 の始まり及び終わり、* * = シグナルペプチド配列での切断位置

【0 2 7 1】

配列番号 2 8 - E N P P 1 2 1 - F c アミノ酸配列

【表 2 8 - 1】

Gly	Met	Glu	Arg	Asp	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Gly	Glu	40
	1				5					10					15	
Gly	Gly	Arg	Ala	Pro	Arg	Glu	Gly	Pro	Ala	Gly	Asn	Gly	Arg	Asp	Arg	
				20						25				30		
Ser	Arg	Ser	His	Ala	Ala	Glu	Ala	Pro	Gly	Asp	Pro	Gln	Ala	Ala	Ala	
				35				40					45			

【表 28-2】

Ala	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Asp	Val	Gly	Glu	Glu	Pro	Leu	Glu	Lys	Ala	
	50					55					60					
<u>Leu</u>	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asp	Pro	Asn	Thr	Tyr	Lys	Ile	Ile	Ser	
	65				70				75					80		
<u>Gly</u>	Phe	Thr	Phe	Ala	Val	Gly	Val	Asn	Ile	Cys	Leu	Gly**	Phe	Thr	Ala	
				85				90					95			
Cys	<u>Leu</u>	<u>Lys</u>	Pro	Ser	Cys	Ala	Lys	Glu	Val	Lys	Ser	Cys	Lys	Gly	Arg	
			100					105					110			10
Glu	Phe	Glu	Arg	Thr	Phe	Gly	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	Ala	Ala	Cys	Val	
			115					120					125			
Glu	Leu	Gly	Asn	Cys	Cys	Leu	Asp	Tyr	Gln	Glu	Thr	Cys	Ile	Glu	Pro	
		130					135					140				
Thr	His	Ile	Trp	Thr	Cys	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly	Glu	Lys	Arg	Leu	
	145				150					155						
160	Arg	Ser	Leu	Cys	Ala	Cys	Ser	Asp	Asp	Cys	Lys	Asp	Lys	Gly	Asp	
Cys				165					170					175		
Glu	Cys	Ile	Asn	Tyr	Ser	Ser	Val	Cys	Gln	Gly	Glu	Lys	Ser	Trp	Val	20
			180						185				190			
Glu	Glu	Pro	Cys	Glu	Ser	Ile	Asn	Glu	Pro	Gln	Cys	Pro	Ala	Gly	Phe	
		195						200					205			
Tyr	Thr	Pro	Pro	Thr	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	
		210					215					220				
Lys	Leu	His	Thr	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	Pro	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Lys	
	225				230					235						
240	Cys	Gly	Thr	Tyr	Thr	Lys	Asn	Met	Arg	Pro	Val	Tyr	Pro	Thr	Lys	
Thr					245				250				255			30
His	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	Ser	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	
		260						265					270			
Phe	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	Lys	Met	Tyr	Asp	Pro	Lys	Met	Asn	Ala	Ser	
		275						280					285			
Glu	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Glu	Lys	Phe	Asn	Pro	Glu	Trp	Tyr	Lys	Gly	
		290					295					300				
Phe	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	
	305				310					315						
320	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ile	Asn	Gly	Ile	Phe	Pro	Asp	
Ile																40

【表 28-3】

					325					330					335
	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Leu
Ala															
				340					345					350	
	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	Lys	Asp	Glu	Arg	Pro	His	Phe
Tyr															
			355					360					365		
	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ser	Tyr	Gly
Pro															
		370					375				380				
	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Arg	Val	Asp	Gly	Met
Val															
400	385					390				395					
Leu	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	Glu	Leu	Asn	Leu	His	Arg	Cys
				405					410					415	
	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	Gly	Met	Glu	Gln	Gly	Ser	Cys
Lys															
			420						425					430	
	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	Leu	Gly	Asp	Val	Lys	Asn	Ile
Lys															
		435						440					445		
	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Leu	Arg	Pro	Ser	Asp	Val	Pro
Asp															
		450					455				460				
	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	Gly	Ile	Ala	Arg	Asn	Leu	Ser
Cys															
480	465					470				475					
Pro	Arg	Glu	Pro	Asn	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Lys	His	Phe	Leu
				485					490					495	
	Lys	Arg	Leu	His	Phe	Ala	Lys	Ser	Asp	Arg	Ile	Glu	Pro	Leu	Thr
Phe															
			500						505					510	
	Tyr	Leu	Asp	Pro	Gln	Trp	Gln	Leu	Ala	Leu	Asn	Pro	Ser	Glu	Arg
Lys															
		515						520					525		
	Tyr	Cys	Gly	Ser	Gly	Phe	His	Gly	Ser	Asp	Asn	Val	Phe	Ser	Asn
Met															
		530					535				540				
	Gln	Ala	Leu	Phe	Val	Gly	Tyr	Gly	Pro	Gly	Phe	Lys	His	Gly	Ile
Glu															
560	545					550				555					
Leu	Ala	Asp	Thr	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp
				565					570					575	
	Leu	Asn	Leu	Thr	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu
Asn															
			580						585					590	
	His	Leu	Leu	Lys	Asn	Pro	Val	Tyr	Thr	Pro	Lys	His	Pro	Lys	Glu
Val															
		595					600				605				

10

20

30

40

50

【表 28-4】

His	Pro	Leu	Val	Gln	Cys	Pro	Phe	Thr	Arg	Asn	Pro	Arg	Asp	Asn
Leu														
	610					615					620			
Gly	Cys	Ser	Cys	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Pro	Ile	Glu	Asp	Phe	Gln
Thr														
625					630					635				
640														
Gln	Phe	Asn	Leu	Thr	Val	Ala	Glu	Glu	Lys	Ile	Ile	Lys	His	Glu
Thr														
				645						650				655
Leu	Pro	Tyr	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys	Glu	Asn	Thr	Ile
Cys														
			660						665				670	
Leu	Leu	Ser	Gln	His	Gln	Phe	Met	Ser	Gly	Tyr	Ser	Gln	Asp	Ile
	675							680				685		
Met	Pro	Leu	Trp	Thr	Ser	Tyr	Thr	Val	Asp	Arg	Asn	Asp	Ser	Phe
Ser														
	690					695					700			
Thr	Glu	Asp	Phe	Ser	Asn	Cys	Leu	Tyr	Gln	Asp	Phe	Arg	Ile	Pro
Leu														
705					710					715				
720														
Ser	Pro	Val	His	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Lys	Asn	Asn	Thr	Lys	Val
Ser														
				725						730				735
Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Gln	Leu	Asn	Lys	Asn	Ser	Ser	Gly
Ile														
			740						745				750	
Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr	Asn	Ile	Val	Pro	Met	Tyr	Gln
Ser														
		755						760				765		
Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe	His	Asp	Thr	Leu	Leu	Arg	Lys
Tyr														
	770					775					780			
Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Val	Phe
Asp														
785					790					795				
800														
Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu	Glu	Asn	Leu	Arg	Gln
Lys														
				805						810				815
Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu	Ile	Leu	Ile	Pro	Thr	His	Phe
Phe														
			820						825				830	
Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp	Thr	Ser	Gln	Thr	Pro	Leu	His
Cys														
		835						840				845		
Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe	Ile	Leu	Pro	His	Arg	Thr	Asp
Asn														
	850					855					860			
Ser	Glu	Ser	Cys	Val	His	Gly	Lys	His	Asp	Ser	Ser	Trp	Val	Glu
Glu														
865					870					875				
880														

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 5】

Thr	Leu	Leu	Met	Leu	His	Arg	Ala	Arg	Ile	Thr	Asp	Val	Glu	His	Ile	
				885						890					895	
Leu	Gly	Leu	Ser	Phe	Tyr	Gln	Gln	Arg	Lys	Glu	Pro	Val	Ser	Asp	Ile	
			900						905					910		
Asn	Lys	Leu	Lys	Thr	His	Leu	Pro	Thr	Phe	Ser	<u>Gln</u>	<u>Glu</u>	<u>Asp</u>	Leu	Ile	
			915					920					925			
Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	
		930				935					940					
Met	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	
	945				950					955						
960																
His	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	
				965				970					975			
Val	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	
			980					985				990				
Tyr	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	
		995					1000					1005				
	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	
	1010						1015					1020				
	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	
	1025						1030					1035				
	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	
	1040						1045					1050				
	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	
	1055						1060					1065				
	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	
	1070						1075					1080				
	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
	1085						1090					1095				
	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	
	1100						1105					1110				
	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	
	1115						1120					1125				
	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	
	1130						1135					1140				
	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
	1145						1150					1155				

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 1 の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、F c 配列を示す

【0 2 7 2】

配列番号 2 9 - E N P P 1 2 1 - A L B アミノ酸配列：

【表 2 9 - 1】

Gly	Met	Glu	Arg	Asp	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Gly	Glu
	1				5					10				15	

10

20

【表 29-3】

Phe	Pro	Ile	Trp	Val	Thr	Ala	Lys	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr
305						310					315				
320	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ile	Asn	Gly	Ile	Phe	Pro	Asp
Ile					325					330				335	
Ala	Tyr	Lys	Met	Tyr	Asn	Gly	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Leu
				340						345				350	
Tyr	Val	Leu	Gln	Trp	Leu	Gln	Leu	Pro	Lys	Asp	Glu	Arg	Pro	His	Phe
		355						360					365		
Pro	Thr	Leu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ser	Tyr	Gly
		370					375					380			
Val	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Arg	Val	Asp	Gly	Met
400	385					390						395			
Leu	Gly	Met	Leu	Met	Asp	Gly	Leu	Lys	Glu	Leu	Asn	Leu	His	Arg	Cys
				405						410				415	
Lys	Asn	Leu	Ile	Leu	Ile	Ser	Asp	His	Gly	Met	Glu	Gln	Gly	Ser	Cys
			420						425					430	
Lys	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Leu	Asn	Lys	Tyr	Leu	Gly	Asp	Val	Lys	Asn	Ile
		435							440					445	
Asp	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Leu	Arg	Pro	Ser	Asp	Val	Pro
		450					455					460			
Cys	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Asn	Tyr	Glu	Gly	Ile	Ala	Arg	Asn	Leu	Ser
480	465					470						475			
Pro	Arg	Glu	Pro	Asn	Gln	His	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Lys	His	Phe	Leu
				485						490				495	
Phe	Lys	Arg	Leu	His	Phe	Ala	Lys	Ser	Asp	Arg	Ile	Glu	Pro	Leu	Thr
			500							505				510	
Lys	Tyr	Leu	Asp	Pro	Gln	Trp	Gln	Leu	Ala	Leu	Asn	Pro	Ser	Glu	Arg
		515						520					525		
Met	Tyr	Cys	Gly	Ser	Gly	Phe	His	Gly	Ser	Asp	Asn	Val	Phe	Ser	Asn
		530					535					540			
Glu	Gln	Ala	Leu	Phe	Val	Gly	Tyr	Gly	Pro	Gly	Phe	Lys	His	Gly	Ile
560	545					550						555			
Leu	Ala	Asp	Thr	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Cys	Asp
					565					570				575	

10

20

30

40

50

【表 29 - 4】

Asn	Leu	Asn	Leu	Thr	Pro	Ala	Pro	Asn	Asn	Gly	Thr	His	Gly	Ser	Leu	
			580						585					590		
Val	His	Leu	Leu	Lys	Asn	Pro	Val	Tyr	Thr	Pro	Lys	His	Pro	Lys	Glu	
			595						600					605		
Leu	His	Pro	Leu	Val	Gln	Cys	Pro	Phe	Thr	Arg	Asn	Pro	Arg	Asp	Asn	
			610						615					620		
Thr	Gly	Cys	Ser	Cys	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Pro	Ile	Glu	Asp	Phe	Gln	
640							630					635				10
Thr	Gln	Phe	Asn	Leu	Thr	Val	Ala	Glu	Glu	Lys	Ile	Ile	Lys	His	Glu	
							645					650			655	
Cys	Leu	Pro	Tyr	Gly	Arg	Pro	Arg	Val	Leu	Gln	Lys	Glu	Asn	Thr	Ile	
Leu	Leu	Leu	Ser	Gln	His	Gln	Phe	Met	Ser	Gly	Tyr	Ser	Gln	Asp	Ile	
Ser	Met	Pro	Leu	Trp	Thr	Ser	Tyr	Thr	Val	Asp	Arg	Asn	Asp	Ser	Phe	
Leu	Thr	Glu	Asp	Phe	Ser	Asn	Cys	Leu	Tyr	Gln	Asp	Phe	Arg	Ile	Pro	20
720																
Ser	Ser	Pro	Val	His	Lys	Cys	Ser	Phe	Tyr	Lys	Asn	Asn	Thr	Lys	Val	
Ile	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Gln	Leu	Asn	Lys	Asn	Ser	Ser	Gly	
Ser	Tyr	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Thr	Asn	Ile	Val	Pro	Met	Tyr	Gln	
Tyr	Phe	Gln	Val	Ile	Trp	Arg	Tyr	Phe	His	Asp	Thr	Leu	Leu	Arg	Lys	
Asp	Ala	Glu	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Asn	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Val	Phe	30
800																
Lys	Phe	Asp	Tyr	Asp	Gly	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu	Glu	Asn	Leu	Arg	Gln	
Phe	Arg	Arg	Val	Ile	Arg	Asn	Gln	Glu	Ile	Leu	Ile	Pro	Thr	His	Phe	
Cys	Ile	Val	Leu	Thr	Ser	Cys	Lys	Asp	Thr	Ser	Gln	Thr	Pro	Leu	His	
Asn	Glu	Asn	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Phe	Ile	Leu	Pro	His	Arg	Thr	Asp	40

[illegible]

【表 2 9 - 6】

Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys
1205						1210					1215			
Tyr	Met	Cys	Glu	Asn	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Gln	Thr
1220						1225					1230			
Cys	Cys	Asp	Lys	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Ala	His	Cys	Leu	Ser	Glu
1235						1240					1245			
Val	Glu	His	Asp	Thr	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Ala
1250						1255					1260			
Asp	Phe	Val	Glu	Asp	Gln	Glu	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala
1265						1270					1275			
Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Thr	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Arg	Arg
1280						1285					1290			
His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Ser	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Lys
1295						1300					1305			
Tyr	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Glu	Ala	Asn	Pro	Pro
1310						1315					1320			
Ala	Cys	Tyr	Gly	Thr	Val	Leu	Ala	Glu	Phe	Gln	Pro	Leu	Val	Glu
1325						1330					1335			
Glu	Pro	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Thr	Asn	Cys	Asp	Leu	Tyr	Glu	Lys
1340						1345					1350			
Leu	Gly	Glu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Ile	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr
1355						1360					1365			
Gln	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Ala	Ala
1370						1375					1380			
Arg	Asn	Leu	Gly	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu
1385						1390					1395			
Asp	Gln	Arg	Leu	Pro	Cys	Val	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ile	Leu
1400						1405					1410			
Asn	Arg	Val	Cys	Leu	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	His
1415						1420					1425			
Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Ser	Gly	Ser	Leu	Val	Glu	Arg	Arg	Pro	Cys
1430						1435					1440			
Phe	Ser	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe
1445						1450					1455			
Lys	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ser	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Pro
1460						1465					1470			
Glu	Lys	Glu	Lys	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Ala	Glu	Leu
1475						1480					1485			
Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Ala	Glu	Gln	Leu	Lys	Thr	Val
1490						1495					1500			
Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Gln	Phe	Leu	Asp	Thr	Cys	Cys	Lys	Ala	Ala
1505						1510					1515			
Asp	Lys	Asp	Thr	Cys	Phe	Ser	Thr	Glu	Gly	Pro	Asn	Leu	Val	Thr
1520						1525					1530			
Arg	Cys	Lys	Asp	Ala	Leu	Ala	Arg	Ser	Trp	Ser	His	Pro	Gln	Phe
1535						1540					1545			
Glu	Lys													
1550														

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 1 の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【 0 2 7 3 】

配列番号 3 0 - E N P P 1 2 1 - N P P 3 - F c 配列

【表 3 0 - 1】

	Met	Glu	Arg	Asp	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Gly	Glu	
Gly	1				5					10					15	
	Gly	Arg	Ala	Pro	Arg	Glu	Gly	Pro	Ala	Gly	Asn	Gly	Arg	Asp	Arg	
Gly				20					25				30			
	Arg	Ser	His	Ala	Ala	Glu	Ala	Pro	Gly	Asp	Pro	Gln	Ala	Ala	Ala	
Ser				35				40				45				
	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Asp	Val	Gly	Glu	Glu	Pro	Leu	Glu	Lys	Ala	
Ala				50				55				60				10
	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asp	Pro	Asn	Thr	Tyr	Lys	Ile	Ile	Ser	
<u>Leu</u>																
	65				70				75						80	
<u>Ala</u> * <u>Lys</u>	Phe	Thr	Phe	Ala	Val	Gly	Val	Asn	Ile	Cys	Leu	Gly	Phe	Thr		
					85				90					95		
	<u>Gln</u>	<u>Gly</u>	Ser	Cys	Arg	Lys	Lys	Cys	Phe	Asp	Ala	Ser	Phe	Arg	Gly	
Leu				100				105				110				
	Glu	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	Val	Ala	Cys	Lys	Asp	Arg	Gly	Asp	Cys	
Cys				115				120				125				
	Trp	Asp	Phe	Glu	Asp	Thr	Cys	Val	Glu	Ser	Thr	Arg	Ile	Trp	Met	20
Cys				130				135				140				
	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly	Glu	Arg	Leu	Glu	Ala	Ser	Leu	Cys	Ser	
Cys																
	145				150				155							
160																
	Ser	Asp	Asp	Cys	Leu	Gln	Arg	Lys	Asp	Cys	Cys	Ala	Asp	Tyr	Lys	
Ser																
				165					170				175			
	Val	Cys	Gln	Gly	Glu	Thr	Ser	Trp	Leu	Glu	Glu	Asn	Cys	Asp	Thr	
Ala																
			180					185				190				
	Gln	Gln	Ser	Gln	Cys	Pro	Glu	Gly	Phe	Asp	Leu	Pro	Pro	Val	Ile	
Leu																30
		195						200				205				
	Phe	Ser	Met	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	Tyr	Thr	Trp	Asp	
Thr																
		210						215				220				
	Leu	Met	Pro	Asn	Ile	Asn	Lys	Leu	Lys	Thr	Cys	Gly	Ile	His	Ser	
Lys																
	225				230				235							
240																
	Tyr	Met	Arg	Ala	Met	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	
Thr																
				245					250				255			
	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	
Asn																
				260				265				270				40

【表 30 - 2】

	Met	Tyr	Asp	Val	Asn	Leu	Asn	Lys	Asn	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Lys
Glu															
			275					280				285			
	Gln	Asn	Asn	Pro	Ala	Trp	Trp	His	Gly	Gln	Pro	Met	Trp	Leu	Thr
Ala															
		290					295				300				
	Met	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ala	Ala	Thr	Tyr	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser
Glu															
	305					310					315				
320															
	Val	Ala	Ile	Asn	Gly	Ser	Phe	Pro	Ser	Ile	Tyr	Met	Pro	Tyr	Asn
Gly															
				325						330				335	
	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Ser	Thr	Leu	Leu	Lys	Trp	Leu
Asp															
			340						345				350		
	Leu	Pro	Lys	Ala	Glu	Arg	Pro	Arg	Phe	Tyr	Thr	Met	Tyr	Phe	Glu
Glu															
		355						360				365			
	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ala	Gly	Gly	Pro	Val	Ser	Ala	Arg	Val
Ile															
		370					375				380				
	Lys	Ala	Leu	Gln	Val	Val	Asp	His	Ala	Phe	Gly	Met	Leu	Met	Glu
Gly															
	385					390					395				
400															
	Leu	Lys	Gln	Arg	Asn	Leu	His	Asn	Cys	Val	Asn	Ile	Ile	Leu	Leu
Ala															
				405						410				415	
	Asp	His	Gly	Met	Asp	Gln	Thr	Tyr	Cys	Asn	Lys	Met	Glu	Tyr	Met
Thr															
			420						425				430		
	Asp	Tyr	Phe	Pro	Arg	Ile	Asn	Phe	Phe	Tyr	Met	Tyr	Glu	Gly	Pro
Ala															
		435						440				445			
	Pro	Arg	Ile	Arg	Ala	His	Asn	Ile	Pro	His	Asp	Phe	Phe	Ser	Phe
Asn															
		450					455				460				
	Ser	Glu	Glu	Ile	Val	Arg	Asn	Leu	Ser	Cys	Arg	Lys	Pro	Asp	Gln
His															
	465					470					475				
480															
	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Thr	Pro	Asp	Leu	Pro	Lys	Arg	Leu	His	Tyr
Ala															
				485						490				495	
	Lys	Asn	Val	Arg	Ile	Asp	Lys	Val	His	Leu	Phe	Val	Asp	Gln	Gln
Trp															
			500						505				510		
	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Lys	Ser	Asn	Thr	Asn	Cys	Gly	Gly	Gly	Asn
His															
		515						520				525			
	Gly	Tyr	Asn	Asn	Glu	Phe	Arg	Ser	Met	Glu	Ala	Ile	Phe	Leu	Ala
His															
		530					535				540				
	Gly	Pro	Ser	Phe	Lys	Glu	Lys	Thr	Glu	Val	Glu	Pro	Phe	Glu	Asn
Ile															

10

20

30

40

50

【表 30 - 3】

545	550	555	
560	Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Arg Ile Gln Pro Ala		
Pro			
	565	570	575
Phe	Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys Val Pro		
	580	585	590
Gly	Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val Ser Lys Phe Ser Val Cys		
	595	600	605
His	Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser Leu Asp Cys Phe Cys Pro		10
	610	615	620
Leu	Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln Val Asn Gln Met Leu Asn		
	625	630	635
640	Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val Lys Val Asn Leu Pro Phe		
Gly			
	645	650	655
His	Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val Asp His Cys Leu Leu Tyr		
	660	665	670
Trp	Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys Ala Met Arg Met Pro Met		
	675	680	685
Pro	Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly Asp Thr Ser Pro Leu Pro		20
	690	695	700
Glu	Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp Val Arg Val Pro Pro Ser		
	705	710	715
720	Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala Asp Lys Asn Ile Thr His		
Gly			
	725	730	735
Asp	Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg Thr Ser Asp Ser Gln Tyr		
	740	745	750
Lys	Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro Met Tyr Glu Glu Phe Arg		30
	755	760	765
Glu	Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu Leu Ile Lys His Ala Thr		
	770	775	780
Tyr	Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Ile Phe Asp Tyr Asn		
	785	790	795
800	Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr Lys His Leu Ala		
Asn			
	805	810	815
Cys	Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val Val Leu Thr Ser		
	820	825	830
			40

【表 3 0 - 4】

	Lys	Asn	Lys	Ser	His	Thr	Pro	Glu	Asn	Cys	Pro	Gly	Trp	Leu	Asp
Val															
		835						840					845		
	Leu	Pro	Phe	Ile	Ile	Pro	His	Arg	Pro	Thr	Asn	Val	Glu	Ser	Cys
Pro															
		850						855					860		
	Glu	Gly	Lys	Pro	Glu	Ala	Leu	Trp	Val	Glu	Glu	Arg	Phe	Thr	Ala
His															
	865					870						875			
880															
	Ile	Ala	Arg	Val	Arg	Asp	Val	Glu	Leu	Leu	Thr	Gly	Leu	Asp	Phe
Tyr															
			885						890					895	
	Gln	Asp	Lys	Val	Gln	Pro	Val	Ser	Glu	Ile	Leu	Gln	Leu	Lys	Thr
Tyr															
			900						905					910	
	<u>Leu</u>	<u>Pro</u>	<u>Thr</u>	<u>Phe</u>	<u>Glu</u>	<u>Thr</u>	<u>Thr</u>	<u>Ile</u>	<u>Asp</u>	<u>Lys</u>	<u>Thr</u>	<u>His</u>	<u>Thr</u>	<u>Cys</u>	<u>Pro</u>
Pro															
		915						920					925		
	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
Pro															
		930						935					940		
	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
Thr															
	945					950						955			
960															
	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe
Asn															
			965						970					975	
	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
Arg															
			980						985					990	
	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
Val															
		995						1000					1005		
	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
	1010						1015					1020			
	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
	1025						1030					1035			
	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
	1040						1045					1050			
	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
	1055						1060					1065			
	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
	1070						1075					1080			
	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu
	1085						1090					1095			
	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp
	1100						1105					1110			
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
	1115						1120					1125			
	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu
	1130						1135					1140			
	Ser	Pro	Gly	Lys											
	1145														

10

20

30

40

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 1の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、F c 配列を示す

【0 2 7 4】

配列番号 3 1 - E N P P 1 2 1 - N P P 3 - アルブミン配列

【表 3 1 - 1】

	Met	Glu	Arg	Asp	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Gly	Glu	
Gly	1				5					10					15	
	Gly	Arg	Ala	Pro	Arg	Glu	Gly	Pro	Ala	Gly	Asn	Gly	Arg	Asp	Arg	
Gly					20					25					30	
	Arg	Ser	His	Ala	Ala	Glu	Ala	Pro	Gly	Asp	Pro	Gln	Ala	Ala	Ala	
Ser					35					40					45	
	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Asp	Val	Gly	Glu	Glu	Pro	Leu	Glu	Lys	Ala	
Ala					50					55					60	
	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asp	Pro	Asn	Thr	Tyr	Lys	Ile	Ile	Ser	
Leu					65					70					75	
	<u>Phe</u>	<u>Thr</u>	<u>Phe</u>	<u>Ala</u>	<u>Val</u>	<u>Gly</u>	<u>Val</u>	<u>Asn</u>	<u>Ile</u>	<u>Cys</u>	<u>Leu</u>	<u>Gly</u>	<u>Phe</u>	<u>Thr</u>		80
Ala**	<u>Lys</u>															
					85					90					95	
	<u>Gln</u>	<u>Gly</u>	Ser	Cys	Arg	Lys	Lys	Cys	Phe	Asp	Ala	Ser	Phe	Arg	Gly	
Leu					100					105					110	
	Glu	Asn	Cys	Arg	Cys	Asp	Val	Ala	Cys	Lys	Asp	Arg	Gly	Asp	Cys	
Cys					115					120					125	
	Trp	Asp	Phe	Glu	Asp	Thr	Cys	Val	Glu	Ser	Thr	Arg	Ile	Trp	Met	
Cys					130					135					140	
	Asn	Lys	Phe	Arg	Cys	Gly	Glu	Arg	Leu	Glu	Ala	Ser	Leu	Cys	Ser	
Cys					145					150					155	
160																
	Ser	Asp	Asp	Cys	Leu	Gln	Arg	Lys	Asp	Cys	Cys	Ala	Asp	Tyr	Lys	
Ser					165					170					175	
	Val	Cys	Gln	Gly	Glu	Thr	Ser	Trp	Leu	Glu	Glu	Asn	Cys	Asp	Thr	
Ala					180					185					190	
	Gln	Gln	Ser	Gln	Cys	Pro	Glu	Gly	Phe	Asp	Leu	Pro	Pro	Val	Ile	
Leu					195					200					205	
	Phe	Ser	Met	Asp	Gly	Phe	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	Tyr	Thr	Trp	Asp	
Thr					210					215					220	
	Leu	Met	Pro	Asn	Ile	Asn	Lys	Leu	Lys	Thr	Cys	Gly	Ile	His	Ser	
Lys					225					230					235	
240																

40

50

【表 3 1 - 2】

Thr	Tyr	Met	Arg	Ala	Met	Tyr	Pro	Thr	Lys	Thr	Phe	Pro	Asn	His	Tyr	
					245					250					255	
Asn	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Tyr	Pro	Glu	Ser	His	Gly	Ile	Ile	Asp	Asn	
					260				265					270		
Glu	Met	Tyr	Asp	Val	Asn	Leu	Asn	Lys	Asn	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Lys	
					275				280					285		
Ala	Gln	Asn	Asn	Pro	Ala	Trp	Trp	His	Gly	Gln	Pro	Met	Trp	Leu	Thr	
		290					295				300					
Glu	Met	Tyr	Gln	Gly	Leu	Lys	Ala	Ala	Thr	Tyr	Phe	Trp	Pro	Gly	Ser	10
	305				310					315						
320																
Gly	Val	Ala	Ile	Asn	Gly	Ser	Phe	Pro	Ser	Ile	Tyr	Met	Pro	Tyr	Asn	
					325					330				335		
Asp	Ser	Val	Pro	Phe	Glu	Glu	Arg	Ile	Ser	Thr	Leu	Leu	Lys	Trp	Leu	
					340				345					350		
Glu	Leu	Pro	Lys	Ala	Glu	Arg	Pro	Arg	Phe	Tyr	Thr	Met	Tyr	Phe	Glu	
					355				360					365		
Ile	Pro	Asp	Ser	Ser	Gly	His	Ala	Gly	Gly	Pro	Val	Ser	Ala	Arg	Val	20
		370					375						380			
Gly	Lys	Ala	Leu	Gln	Val	Val	Asp	His	Ala	Phe	Gly	Met	Leu	Met	Glu	
	385				390					395						
400																
Ala	Leu	Lys	Gln	Arg	Asn	Leu	His	Asn	Cys	Val	Asn	Ile	Ile	Leu	Leu	
					405					410				415		
Thr	Asp	His	Gly	Met	Asp	Gln	Thr	Tyr	Cys	Asn	Lys	Met	Glu	Tyr	Met	
					420				425					430		
Ala	Asp	Tyr	Phe	Pro	Arg	Ile	Asn	Phe	Phe	Tyr	Met	Tyr	Glu	Gly	Pro	
					435				440					445		
Asn	Pro	Arg	Ile	Arg	Ala	His	Asn	Ile	Pro	His	Asp	Phe	Phe	Ser	Phe	30
					450				455					460		
His	Ser	Glu	Glu	Ile	Val	Arg	Asn	Leu	Ser	Cys	Arg	Lys	Pro	Asp	Gln	
	465				470					475						
480																
Ala	Phe	Lys	Pro	Tyr	Leu	Thr	Pro	Asp	Leu	Pro	Lys	Arg	Leu	His	Tyr	
					485				490					495		
Trp	Lys	Asn	Val	Arg	Ile	Asp	Lys	Val	His	Leu	Phe	Val	Asp	Gln	Gln	
					500				505					510		
His	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Lys	Ser	Asn	Thr	Asn	Cys	Gly	Gly	Gly	Asn	40

【表 3 1 - 3】

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4】

Asn	Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr Lys His Leu Ala	
	805 810 815	
Cys	Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val Val Leu Thr Ser	
	820 825 830	
Val	Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn Cys Pro Gly Trp Leu Asp	
	835 840 845	
Pro	Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro Thr Asn Val Glu Ser Cys	
	850 855 860	10
His	Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val Glu Glu Arg Phe Thr Ala	
	865 870 875	
880	Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu Leu Thr Gly Leu Asp Phe	
Tyr		
	885 890 895	
Tyr	Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu Ile Leu Gln Leu Lys Thr	
	900 905 910	
Gly	Leu <u>Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile</u> Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly	
	915 920 925	
Leu	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Lys Trp Val Thr Phe Leu Leu Leu	20
	930 935 940	
Ala	Phe Val Ser Gly Ser Ala Phe Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Glu	
	945 950 955	
960	His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu Gln	
His		
	965 970 975	
Cys	Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Lys	
	980 985 990	
Ala	Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys Leu Val Gln Glu Val Thr Asp Phe	
	995 1000 1005	30
Lys Thr	Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys Ser	
1010	1015 1020	
Leu His	Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Ala Ile Pro Asn Leu	
1025	1030 1035	
Arg Glu	Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys Cys Thr Lys Gln Glu	
1040	1045 1050	
Pro Glu	Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro	
1055	1060 1065	
Ser Leu	Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala Glu Ala Met Cys Thr	
1070	1075 1080	
Ser Phe	Lys Glu Asn Pro Thr Thr Phe Met Gly His Tyr Leu His	
1085	1090 1095	
Glu Val	Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu	
1100	1105 1110	
Tyr Tyr	Ala Glu Gln Tyr Asn Glu Ile Leu Thr Gln Cys Cys Ala	40

【表 3 1 - 5】

1115	Glu	Ala	Asp	Lys	Glu	Ser	Cys	Leu	Thr	Pro	Lys	Leu	Asp	Gly	Val
1130	Lys	Glu	Lys	Ala	Leu	Val	Ser	Ser	Val	Arg	Gln	Arg	Met	Lys	Cys
1145	Ser	Ser	Met	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala
1160	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Thr	Phe	Pro	Asn	Ala	Asp	Phe	Ala	Glu
1175	Ile	Thr	Lys	Leu	Ala	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	Asn	Lys	Glu	Cys
1190	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Glu	Leu
1205	Ala	Lys	Tyr	Met	Cys	Glu	Asn	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu
1220	Gln	Thr	Cys	Cys	Asp	Lys	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Ala	His	Cys	Leu
1235	Ser	Glu	Val	Glu	His	Asp	Thr	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile
1250	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Asp	Gln	Glu	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala
1265	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Thr	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ser
1280	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Ser	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala
1295	Lys	Lys	Tyr	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Glu	Ala	Asn
1310	Pro	Pro	Ala	Cys	Tyr	Gly	Thr	Val	Leu	Ala	Glu	Phe	Gln	Pro	Leu
1325	Val	Glu	Glu	Pro	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Thr	Asn	Cys	Asp	Leu	Tyr
1340	Glu	Lys	Leu	Gly	Glu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Ile	Leu	Val	Arg
1355	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu
1370	Ala	Ala	Arg	Asn	Leu	Gly	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Leu
1385	Pro	Glu	Asp	Gln	Arg	Leu	Pro	Cys	Val	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala
1400	Ile	Leu	Asn	Arg	Val	Cys	Leu	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser
1415	Glu	His	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Ser	Gly	Ser	Leu	Val	Glu	Arg	Arg
1430	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys
1445	Glu	Phe	Lys	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ser	Asp	Ile	Cys	Thr
1460	Leu	Pro	Glu	Lys	Glu	Lys	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Ala
1475	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Ala	Glu	Gln	Leu	Lys
1490	Thr	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Gln	Phe	Leu	Asp	Thr	Cys	Cys	Lys
1505	Ala	Ala	Asp	Lys	Asp	Thr	Cys	Phe	Ser	Thr	Glu	Gly	Pro	Asn	Leu
1520	Val	Thr	Arg	Cys	Lys	Asp	Ala	Leu	Ala						
1535															

10

20

30

40

単一下線：シグナルペプチド配列、二重下線：N P P 3の始まり及び終わり、** = シグナルペプチド配列での切断位置、太字残基は、アルブミン配列を示す

【0 2 7 5】

配列番号 3 2 - E N P P 1 2 1 G L K タンパク質輸出シグナル配列

【表 3 2】

	Met	Glu	Arg	Asp	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Gly	Glu
Gly	1				5					10					15
	Gly	Arg	Ala	Pro	Arg	Glu	Gly	Pro	Ala	Gly	Asn	Gly	Arg	Asp	Arg
Gly					20					25					30
	Arg	Ser	His	Ala	Ala	Glu	Ala	Pro	Gly	Asp	Pro	Gln	Ala	Ala	Ala
Ser					35					40					45
	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Asp	Val	Gly	Glu	Glu	Pro	Leu	Glu	Lys	Ala
Ala					50					55					60
	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asp	Pro	Asn	Thr	Tyr	Lys	Ile	Ile	Ser
Leu															
	65				70					75					80
<u>Gly</u>	<u>Phe</u>	<u>Thr</u>	<u>Phe</u>	<u>Ala</u>	<u>Val</u>	<u>Gly</u>	<u>Val</u>	<u>Asn</u>	<u>Ile</u>	<u>Cys</u>	<u>Leu</u>	<u>Gly</u>	<u>Phe</u>	<u>Thr</u>	<u>Ala</u>
					85					90					95
	<u>Leu</u>	<u>Lys</u>													

10

【0 2 7 6】

配列番号 3 3 - アルブミン配列

20

【表 3 3 - 1】

	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
Met	1				5					10					15
	Lys	Trp	Val	Thr	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Phe	Val	Ser	Gly	Ser	Ala
Phe					20					25					30
	Ser	Arg	Gly	Val	Phe	Arg	Arg	Glu	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Ile	Ala
His					35					40					45
	Arg	Tyr	Asn	Asp	Leu	Gly	Glu	Gln	His	Phe	Lys	Gly	Leu	Val	Leu
Ile					50					55					60
	Ala	Phe	Ser	Gln	Tyr	Leu	Gln	Lys	Cys	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	Ala
Lys															
	65				70					75					80
	Leu	Val	Gln	Glu	Val	Thr	Asp	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp
Glu															
					85					90					95
	Ser	Ala	Ala	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp
Lys															

30

40

50

【表 3 3 - 2】

				100					105				110				
Asp	Leu	Cys	Ala	Ile	Pro	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr	Gly	Glu	Leu	Ala		
				115					120				125				
His	Cys	Cys	Thr	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln		
				130				135				140					
Glu	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Ser	Leu	Pro	Pro	Phe	Glu	Arg	Pro	Glu	Ala		
160	145						150					155					
His	Ala	Met	Cys	Thr	Ser	Phe	Lys	Glu	Asn	Pro	Thr	Thr	Phe	Met	Gly		10
				165						170				175			
Glu	Tyr	Leu	His	Glu	Val	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro		
				180				185				190					
Cys	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Gln	Tyr	Asn	Glu	Ile	Leu	Thr	Gln	Cys		
				195				200				205					
Val	Ala	Glu	Ala	Asp	Lys	Glu	Ser	Cys	Leu	Thr	Pro	Lys	Leu	Asp	Gly		
				210				215				220					
Ser	Lys	Glu	Lys	Ala	Leu	Val	Ser	Ser	Val	Arg	Gln	Arg	Met	Lys	Cys		
240	225						230				235						20
Ala	Ser	Met	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val		
				245				250				255					
Lys	Arg	Leu	Ser	Gln	Thr	Phe	Pro	Asn	Ala	Asp	Phe	Ala	Glu	Ile	Thr		
				260				265				270					
Asp	Leu	Ala	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	Asn	Lys	Glu	Cys	Cys	His	Gly		
				275				280				285					
Cys	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys	Tyr	Met		
				290				295				300					
Lys	Glu	Asn	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Gln	Thr	Cys	Cys	Asp		30
320	305						310				315						
Thr	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Ala	His	Cys	Leu	Ser	Glu	Val	Glu	His	Asp		
				325				330				335					
Gln	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Asp		
				340				345				350					
Thr	Glu	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly		
				355				360				365					
Leu	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Ser		
				370				375				380					40

【表 3 3 - 3】

	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Lys	Tyr	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	
Cys	385					390					395					
400	Ala	Glu	Ala	Asn	Pro	Pro	Ala	Cys	Tyr	Gly	Thr	Val	Leu	Ala	Glu	
Phe					405					410					415	
Asp	Gln	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Thr	Asn	Cys	
			420						425					430		
Val	Leu	Tyr	Glu	Lys	Leu	Gly	Glu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Ile	Leu	10
			435						440					445		
Glu	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	
		450						455					460			
Pro	Ala	Ala	Arg	Asn	Leu	Gly	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Leu	
	465					470					475					
480	Glu	Asp	Gln	Arg	Leu	Pro	Cys	Val	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ile	
Leu					485					490					495	20
Val	Asn	Arg	Val	Cys	Leu	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	His	
				500						505				510		
Ser	Thr	Lys	Cys	Cys	Ser	Gly	Ser	Leu	Val	Glu	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	
			515						520				525			
Glu	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Lys	Ala	
		530						535				540				
Lys	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ser	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Lys	Glu	
	545					550					555					30
560	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	
Pro					565					570				575		
Gln	Lys	Ala	Thr	Ala	Glu	Gln	Leu	Lys	Thr	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	
			580							585				590		
Ser	Phe	Leu	Asp	Thr	Cys	Cys	Lys	Ala	Ala	Asp	Lys	Asp	Thr	Cys	Phe	
		595							600				605			
	Thr	Glu	Gly	Pro	Asn	Leu	Val	Thr	Arg	Cys	Lys	Asp	Ala	Leu	Ala	
	610					615						620				40

【0 2 7 7】

配列番号 3 4 - ヒト Ig G F c ドメイン、F c

【表 3 4 - 1】

	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	
Gly	1				5					10				15		
Met	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	

【表 3 4 - 2】

[illegible]

【 0 2 7 8 】

配列番号 35 - アルブミン配列

【表 3 5 - 1】

	Met	Lys	Trp	Val	Thr	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Phe	Val	Ser	Gly	Ser	
Ala	1				5					10					15	
	Phe	Ser	Arg	Gly	Val	Phe	Arg	Arg	Glu	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Ile	40
Ala																
				20					25					30		
	His	Arg	Tyr	Asn	Asp	Leu	Gly	Glu	Gln	His	Phe	Lys	Gly	Leu	Val	
Leu																
			35					40					45			
	Ile	Ala	Phe	Ser	Gln	Tyr	Leu	Gln	Lys	Cys	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	
Ala																
		50					55					60				

	Lys	Leu	Val	Gln	Glu	Val	Thr	Asp	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	
Asp	65					70				75					80	
	Glu	Ser	Ala	Ala	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	
Asp					85				90						95	
	Lys	Leu	Cys	Ala	Ile	Pro	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr	Gly	Glu	Leu	
Ala																
			100						105					110		
	Asp	Cys	Cys	Thr	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	
Gln																
		115						120				125				
	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Ser	Leu	Pro	Pro	Phe	Glu	Arg	Pro	Glu	10
Ala																
		130						135				140				
	Glu	Ala	Met	Cys	Thr	Ser	Phe	Lys	Glu	Asn	Pro	Thr	Thr	Phe	Met	
Gly																
	145					150				155						
160																
	His	Tyr	Leu	His	Glu	Val	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	
Pro																
				165					170					175		
	Glu	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Gln	Tyr	Asn	Glu	Ile	Leu	Thr	Gln	
Cys																
			180						185				190			
	Cys	Ala	Glu	Ala	Asp	Lys	Glu	Ser	Cys	Leu	Thr	Pro	Lys	Leu	Asp	
Gly																20
		195						200				205				
	Val	Lys	Glu	Lys	Ala	Leu	Val	Ser	Ser	Val	Arg	Gln	Arg	Met	Lys	
Cys																
		210						215			220					
	Ser	Ser	Met	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	
Val																
	225					230				235						
240																
	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Thr	Phe	Pro	Asn	Ala	Asp	Phe	Ala	Glu	Ile	
Thr																
				245					250					255		
	Lys	Leu	Ala	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	Asn	Lys	Glu	Cys	Cys	His	
Gly																
			260						265				270			
	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys	Tyr	30
Met																
			275						280				285			
	Cys	Glu	Asn	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Gln	Thr	Cys	Cys	
Asp																
		290						295				300				
	Lys	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Ala	His	Cys	Leu	Ser	Glu	Val	Glu	His	

【表 3 5 - 3】

				340					345				350				
Ser	Thr	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val		
			355						360				365				
Cys	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Lys	Tyr	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Lys		
		370						375				380					
Glu	Cys	Ala	Glu	Ala	Asn	Pro	Pro	Ala	Cys	Tyr	Gly	Thr	Val	Leu	Ala		
400	385					390					395						
Cys	Phe	Gln	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Thr	Asn		10
				405					410				415				
Leu	Asp	Leu	Tyr	Glu	Lys	Leu	Gly	Glu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Ile		
			420					425				430					
Val	Val	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu		
		435					440				445						
Leu	Glu	Ala	Ala	Arg	Asn	Leu	Gly	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr		
	450					455			460								
Ile	Pro	Glu	Asp	Gln	Arg	Leu	Pro	Cys	Val	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala		
480	465				470				475								20
His	Leu	Asn	Arg	Val	Cys	Leu	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Glu		
			485					490				495					
Phe	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Ser	Gly	Ser	Leu	Val	Glu	Arg	Arg	Pro	Cys		
		500					505			510							
Ala	Ser	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Lys		
		515				520			525								
Glu	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ser	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Lys		
	530					535			540								
Lys	Lys	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	His		30
	545				550			555									
Ala	Pro	Lys	Ala	Thr	Ala	Glu	Gln	Leu	Lys	Thr	Val	Met	Asp	Asp	Phe		
			565				570			575							
Phe	Gln	Phe	Leu	Asp	Thr	Cys	Cys	Lys	Ala	Ala	Asp	Lys	Asp	Thr	Cys		
		580				585			590								
Ala	Ser	Thr	Glu	Gly	Pro	Asn	Leu	Val	Thr	Arg	Cys	Lys	Asp	Ala	Leu		
		595				600			605								
	Arg	Ser	Trp	Ser	His	Pro	Gln	Phe	Glu	Lys							
	610				615												40

【0 2 7 9】

配列番号 3 6 - E N P P 2 シグナルペプチド

【表 3 6】

Leu	Phe	Thr	Phe	Ala	Val	Gly	Val	Asn	Ile	Cys	Leu	Gly
1				5				10			15	
Phe	Thr	Ala										

【0 2 8 0】

配列番号 3 7 - シグナル配列 E N P P 7

【表 3 7】

Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu
 Leu
 1 5 10 15
 Ala Pro Gly Ala
 20

【0 2 8 1】

配列番号 3 8 - シグナル配列 E N P P 7

【表 3 8】

10

Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu
 Leu
 1 5 10 15
 Ala Pro Gly Ala Gly Ala
 20

【0 2 8 2】

配列番号 3 9 - シグナル配列 E N P P 1 - 2 - 1

【表 3 9】

20

Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu
 Gly
 1 5 10 15
 Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg
 Gly
 20 25 30
 Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala
 Ser
 35 40 45
 Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala
 Ala
 50 55 60
 Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Ile Ile Ser
 Leu
 65 70 75 80
Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly Phe Thr Ala
 85 90 95

30

【0 2 8 3】

配列番号 4 0 - e x E N P P 3

【表 4 0】

Leu Leu Val Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu
 Arg
 1 5 10 15
 Lys

40

【0 2 8 4】

配列番号 4 1 - シグナル配列 E N P P 5 :

【表 4 1】

Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu
 Ser
 1 5 10 15
 Leu Ser Thr Thr Phe Ser
 20

50

【 0 2 8 5 】

配列番号 4 2 - シグナル配列 - アズロシジン

【表 4 2】

Met Thr Arg Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu Ala Gly Leu Leu Ala
Ser

Ser Arg Ala

【 0 2 8 6 】

配列番号 4 3 - リンカー

【表 4 3】

Asp Ser Ser

【 0 2 8 7 】

配列番号 4 4 - リンカー

【表 4 4】

Glu Ser Ser

【 0 2 8 8 】

配列番号 4 5 - リンカー

【表 4 5】

Arg Gln Gln

【 0 2 8 9 】

配列番号 4 6 - リンカー

【表 4 6】

Lys Arg

【 0 2 9 0 】

配列番号 4 7 - リンカー

【表 4 7】

(Arg)_m ; m=0-15

【 0 2 9 1 】

配列番号 4 8 - リンカー

【表 4 8】

Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe
Gly

【 0 2 9 2 】

配列番号 4 9 - リンカー

10

20

30

40

50

【表 4 9】

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Pro Arg Gly Asp Thr
 1 5 10

【0 2 9 3】

配列番号 5 0 - リンカー

【表 5 0】

Ala Pro Trp His Leu Ser Ser Gln Tyr Ser Arg Thr
 1 5 10

10

【0 2 9 4】

配列番号 5 1 - リンカー

【表 5 1】

Ser Thr Leu Pro Ile Pro His Glu Phe Ser Arg Glu
 1 5 10

【0 2 9 5】

配列番号 5 2 - リンカー

【表 5 2】

Val Thr Lys His Leu Asn Gln Ile Ser Gln Ser Tyr
 1 5 10

20

【0 2 9 6】

配列番号 5 3 - リンカー

【表 5 3】

(Glu)_m; m=1-15

30

【0 2 9 7】

配列番号 5 4 - リンカー

【表 5 4】

Leu Ile Asn

【0 2 9 8】

配列番号 5 5 - リンカー

【表 5 5】

Gly Gly Ser Gly Gly Ser
 1 5

40

【0 2 9 9】

配列番号 5 6 - リンカー

50

【表 5 6】

Arg Ser Gly Ser Gly Gly Ser

1

5

【0 3 0 0】

配列番号 5 7 - リンカー

【表 5 7】

 $(\text{Asp})_m$; $m=1-15$

10

1

【0 3 0 1】

配列番号 5 8 - リンカー

【表 5 8】

Leu Val Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg
Lys

1

5

10

15

20

【0 3 0 2】

配列番号 5 9 - リンカー

【表 5 9】

Val Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1

5

10

15

【0 3 0 3】

配列番号 6 0 - リンカー

【表 6 0】

30

Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1

5

10

【0 3 0 4】

配列番号 6 1 - リンカー

【表 6 1】

Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1

5

10

40

【0 3 0 5】

配列番号 6 2 - リンカー

【表 6 2】

Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys

1

5

10

【0 3 0 6】

配列番号 6 3 - リンカー

50

【表 6 3】

Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys
1 5 10

【0 3 0 7】

配列番号 6 4－リンカー

【表 6 4】

Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys
1 5 10

10

【0 3 0 8】

配列番号 6 5－リンカー

【表 6 5】

Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys
1 5

【0 3 0 9】

配列番号 6 6－リンカー

【表 6 6】

Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys
1 5

20

【0 3 1 0】

配列番号 6 7－リンカー

【表 6 7】

Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys
1 5

30

【0 3 1 1】

配列番号 6 8－リンカー

【表 6 8】

Gly Leu Gly Leu Arg Lys
1 5

40

【0 3 1 2】

配列番号 6 9－リンカー

【表 6 9】

Leu Gly Leu Arg Lys
1 5

【0 3 1 3】

配列番号 7 0－リンカー

50

【表 7 0】

Gly Leu Arg Lys

1

【0 3 1 4】

配列番号 7 1－リンカー

【表 7 1】

Leu Arg Lys

1

10

【0 3 1 5】

配列番号 7 2－リンカー

【表 7 2】

Arg Lys

1

【0 3 1 6】

配列番号 7 3－リンカー

【表 7 3】

 $(\text{Lys})_m; m=0-15$

1

20

【0 3 1 7】

配列番号 7 4－リンカー

【表 7 4】

 $D_m; m=1-15$

30

【0 3 1 8】

配列番号 7 5－リンカー

【表 7 5】

 $(\text{GGGS})_n; n=1-10$

【0 3 1 9】

配列番号 7 6－E N P P 3ヌクレオチド配列

40

【表 7 6 - 1】

atggaatcta cgttgacttt agcaacggaa caacctgtta agaagaacac tcttaagaaa	60
tataaaatag cttgcattgt tcttcttgct ttgctggtga tcatgtcact tggattaggc	120
ctggggcttg gactcaggaa actggaaaag caaggcagct gcaggaagaa gtgctttgat	180
gcatcattta gaggactgga gaactgccgg tgtgatgtgg catgtaaaga ccgaggtgat	240
tgctgctggg attttgaaga caoctgtgtg gaatcaactc gaatatggat gtgcaataaa	300
tttcgttggtg gagagaccag attagaggcc agcctttgct cttgttcaga tgactgtttg	360
cagaggaaag attgctgtgc tgactataag agtggttgcc aaggagaaac ctcattggctg	420
gaagaaaact gtgacacagc ccagcagtct cagtgcccg aagggtttga cctgccacca	480
gttatcttgt tttctatgga tggatttaga gctgaatatt tatacacatg ggatacttta	540
atgccaaata tcaataaact gaaaacatgt ggaattcatt caaaatacat gagagctatg	600
tatcctacca aaaccttccc aaatcattac accattgtca cgggcttgta tccagagtca	660
catggcatca ttgacaataa tatgtatgat gttaaattca acaagaattt ttcactttct	720
tcaaaggaac aaaataatcc agcctggtgg catgggcaac caatgtggct gacagcaatg	780
tatcaagggt taaaagccgc tacctacttt tggcccggat cagaagtggc tataaatggc	840
tcctttcctt ccatatacat gccttacaac ggaagtgtcc cttttgaaga gaggatttct	900
acactgttaa aatggctgga cctgcccaaa gctgaaagac ccaggtttta taccatgtat	960

10

20

30

40

50

【表 7 6 - 2】

tttgaagaac ctgattcctc tggacatgca ggtggaccag tcagtgccag agtaattaaa	1020
gccttacagg tagtagatca tgcttttggg atgttgatgg aaggcctgaa gcagcggaa	1080
ttgcacaact gtgtcaatat catccttctg gctgaccatg gaatggacca gacttattgt	1140
aacaagatgg aatacatgac tgattatttt cccagaataa acttcttcta catgtacgaa	1200
gggcctgccc cccgcatccg agctcataat atacctcatg acttttttag ttttaattct	1260
gaggaaattg ttagaaacct cagttgccga aaacctgatc agcatttcaa gccctatttg	1320
actcctgatt tgccaaagcg actgcactat gccagaacg tcagaatcga caaagttcat	1380
ctcttttggtg atcaacagtg gctggctgtt aggagtaaata caaatacaaa ttgtggagga	1440
ggcaaccatg gttataacaa tgagttagg agcatggagg ctatcttctt gccacatgga	1500
cccagtttta aagagaagac tgaagttgaa ccatttgaaa atattgaagt ctataaccta	1560
atgtgtgatc ttctacgcat tcaaccagca ccaacaatg gaacccatgg tagtttaaac	1620
catcttctga aggtgccttt ttatgagcca tcccatgcag aggaggtgtc aaagtttct	1680
gtttgtggct ttgctaatac attgccaca gagtctcttg actgttcttg ccctcaccta	1740
caaaatagta ctacgtgga acaagtgaat cagatgctaa atctcaccca agaagaaata	1800
acagcaacag tgaaagtaaa tttgccattt gggaggccta ggtactgca gaagaacgtg	1860
gaccactgtc tctttacca cagggaatat gtcagtggat ttggaagagc tatgaggatg	1920
cccatgtgga gttcatacac agtccccag ttgggagaca catcgctct gcctccact	1980
gtccagact gtctcgggc tgatgtcagg gtctctctt ctgagagcca aaaatgttcc	2040
ttctatttag cagacaagaa tatcacccac ggcttctct atcctctctg cagcaataga	2100
acatcagata gccaatatga tgctttaatt actagcaatt tggtagctat gtatgaagaa	2160
ttcagaaaaa tgtgggacta cttccacagt gttcttctta taaaacatgc cacagaaaga	2220
aatggagtaa atgtggtag tggaccaata ttgtattata attatgatgg ccattttgat	2280
gtccagatg aaattaccaa acatttagcc aacctgatg ttcccatccc aacacactac	2340
tttgtggtgc tgaccagtgt taaaaacaag agccacacac cggaaaactg ccctgggtgg	2400
ctggatgtcc taccctttat catccctcac cgacctacca acgtggagag ctgtctgaa	2460
ggtaaaccag aagctctttg ggtgaagaa agatttacag ctacattgc ccgggtccgt	2520
gatgtagaac ttctcactgg gcttgacttc tatcaggata aagtgcagcc tgtctctgaa	2580
attttgcaac taaagacata ttaccaaca ttgaaacca ctatt	2625

10

20

30

【0 3 2 0】

配列番号 7 7 - E N P P 1 ヌクレオチド配列：

【表 7 7 - 1】

atggaacggg acggctgtgc cggcggagga tcaagaggcg gagaaggcgg cagagccct	60
agagaaggac ctgccggcaa cggcagagac agaggcagat ctcatgccgc cgaagccct	120
ggcgatcctc aggtgtgtgc ttctctgtgc gccccatgg atgtgggcga ggaacctctg	180
gaaaaggccg ccagagccag aaccgccaag gacccaaca cctacaaggt gctgagcctg	240

40

50

【表 7 7 - 2】

gtgctgtccg tgtgctgtgt gaccaccatc ctgggctgca tcttcggcct gaagcccagc	300
tgcgccaaag aagtgaagtc ctgcaagggc cgggtgcttcg agcggacctt cggcaactgc	360
agatgctgacg ccgcctgtgt ggaactgggc aactgctgcc tggactacca ggaaacctgc	420
atcgagcccc agcacatctg gacctgcaac aagttcagat gcggcgagaa gcggctgacc	480
agatccctgt gtgctgcag cgacgactgc aaggacaagg gcgactgtct catcaactac	540
agcagcgtgt gccagggcga gaagtcctgg gtggaagaac cctgcgagag catcaacgag	600
ccccagtgcc ctgccggctt cgagacacct cctaccctgc tgttcagcct ggacggcttt	660
cgggccgagt acctgcacac atggggaggc ctgctgcccg tgatcagcaa gctgaagaag	720
tgcggcacct acaccaagaa catgcgcccc gtgtacccca ccaagacctt ccccaaccac	780
tactccatcg tgaccggcct gtaccccgag agccacggca tcatcgacaa caagatgtac	840
gaccccaaga tgaacgccag cttcagcctg aagtccaaag agaagttcaa ccccgagtgg	900
tataagggcg agcccactct ggtcacccgc aagtaccagg gcctgaaaag cggcacattc	960
ttttggcccc gcagcgacgt ggaatcaac ggcatcttcc ccgacatcta taagatgtac	1020
aacggcagcg tgcccttcga ggaacgcatc ctggctgtgc tgcagtggct gcagctgccc	1080
aaggatgagc ggccccactt ctacacctg tacctggaag aacctgacag cagcggccac	1140
agctacggcc ctgtgtccag cgaagtgatc aaggccctgc agcgggtgga cggcatggtg	1200
ggaatgctga tggacggcct gaaagagctg aacctgcaca gatgcctgaa cctgatcctg	1260
atcagcgacc acggcatgga acagggatcc tgcaagaagt acatctacct gaacaagtac	1320
ctgggctgacg tgaagaacat caaagtgatc tacggcccag ccgccagact gaggcctagc	1380
gacgtgcccc acaagtacta cagcttcaac tacgagggaa tcgcccgaa cctgagctgc	1440
agagagccca accagcactt caagccctac ctgaagcact tctgcccga gcggctgcac	1500
ttcgccaaga gcgacagaat cgagcccctg accttctacc tggaccccca gtggcagctg	1560
gcctgaatc ccagcgagag aaagtactgc ggcagcggct tccacggctc cgacaacgtg	1620
ttcagcaaca tgcaggccct gttcgtgggc tacggaccgg gctttaagca cggcatcgag	1680
gccgacacct tcgagaacat cgagggtgtac aatctgatgt gcgacctgct gaatctgacc	1740
cctgccccca acaatggcac ccacggcagc ctgaaccatc tgctgaagaa ccccggtgtac	1800
accctaagc accccaagaa ggtgcacccc ctggtgcagt gcccttcac cagaaacccc	1860
agagacaacc tgggctgtag ctgcaacccc agcatcctgc ccatcgagga cttccagacc	1920
cagttcaacc tgaccgtggc cgaggaaaag atcatcaagc acgagacact gccctacggc	1980
agaccccggtg tgctgcagaa agagaacacc atctgcctgc tgagccagca ccagttcatg	2040
agcggctact ccagggacat cctgatgccc ctgtggacca gctacaccgt ggaccggaac	2100
gacagcttct ccaccgagga tttcagcaac tgctgtacc aggatttccg gatccccctg	2160
agccccgtgc acaagtgcag cttctacaag aacaacacca aggtgtccta cggcttcctg	2220
agccctcccc agctgaacaa gaacagctcc ggcatctaca gcgaggccct gctgactacc	2280

10

20

30

40

50

【表 7 7 - 3】

aacatcgtgc ccatgtacca gagcttccaa gtgatctggc ggtacttcca cgacaccctg 2340
 ctgcggaagt acgccgaaga acggaacggc gtgaacgtgg tgtccggccc agtgttcgac 2400
 ttcgactacg acggcagatg tgacagcctg gaaaatctgc ggcagaaaag aagagtgatc 2460
 cggaaccagg aaattctgat ccctaccac ttctttatcg tgctgacaag ctgcaaggat 2520
 accagccaga ccccccctga ctgcgagaac ctggataccc tggccttcat cctgcctcac 2580
 cggaccgaca acagcgagag ctgtgtgcac ggcaagcacg acagctcttg ggtggaagaa 2640
 ctgctgatgc tgcaccgggc cagaatcacc gatgtggaac acatcaccgg cctgagcttt 2700
 taccagcagc ggaagaacc cgtgtccgat atcctgaagc tgaaaaccca tctgcccacc 2760
 ttcagccagg aagat 2775

10

【0 3 2 1】

配列番号 7 8 - アズロシジン - E N P P 1 - F Cヌクレオチド配列

【表 7 8 - 1】

ggtaccgccaccatgacaagactgacagtgtgtggctctgtgtggccgactgttggcctcttctagagc
tgtccttctctgcgccaagaagtgaagtctgtgcaagggcagatgtctcgagcggaccttcggcaact
 gtagatgtgacgcccgttgcgtggaactgggcaactgctgcctggactaccaagagacatgcatcgag
 cccgagcacatctggacctgcaacaagttcagatgcccgcgagaagcggctgaccagatctctgtgcgc
 ctgctctgacgactgcaaggacaagggcgactgctgcatcaactactcctctgtgtgccagggcgaga
 agtccctgggttgaagaaccctgagagtcacacgagcctcagtgtcctgcccgttcgagacacct
 cctactctgtgttctccctggatggcttcagagccgagtagctgcatacttggggaggcctgctgcc
 agtgatctccaagctgaagaagtgcggcacctacaccaagaacatgaggcctgtgtaccctaccaaga
 cattcccccaaccactactccatcgtgaccggcctgtatcctgagagccacggcatcatcgacaacaag
 atgtacgacccccaatgaacgcctccttcagcctgaagtccaaagagaagtccaaccccgagtggta
 taagggcgagcctatctgggtcaccgctaagtaccagggactgaagtctggcaccttcttttggcctg
 gctccgacgtggaatcaacggcatcttccccgacatctataagatgtacaacggctccgtgcctttc
 gaggaacgcattctggctgttctgcagtggctgcagctgcctaaggatgagaggcctcacttctacac
 cctgtacctggaagaacctgactcctccggccactcttatggcctgtgtcctctgaagtgatcaagg
 ccctgcagcgagtggacggaatggctcggaatgctgatggacggcctgaaagagctgaacctgcacaga
 tgctgaacctgatcctgatctccgaccacggcatggaacaggggagctgcaagaagtacatctacct
 gaacaagtacctggcgacgtgaagaacatcaaagtgtatctacggcccagccgagactgaggcctt
 ctgatgtgctgacaagtaactactccttcaactacgagggaaatcgcccggaaacctgtcctgcagagag
 cctaaccagcacttcaagccctacctgaagcacttctgcctaagcggctgcacttcgccagtctga
 cagaatcgagcccctgaccttctatctggaccctcagtggcagctggcctgaatcctagcgagagaa
 agtatcgtgctccggctcccgactccacggctccgacaacgtgttctctaataatgcaggccctgttcgctgc
 tacggccctggctttaaacacggcatcgaggccgacaccttcgagaacatcgaggtgtacaatctgat
 gtgtgacctgtgaatctgacctgtccttaacaacggcacccacggatctctgaacctctgtctga
 agaatcccgtgtacaccttaagcaccccaagaggttcacctctgtgtccagtgtcctttcaccaga
 aatcctcgggacaacctgggctgtccttgcaaccttctatcctgcctatcgaggactttcagacca
 gttcaacctgacctggccgaggaagatcatcaagcacgagacactgccctacggcagacctagag
 tgctgcagaaagagaacacctctgctgtgtcccagcaccagttcatgtccggctactcccaggac
 atcctgatgcctctgtggacctcctacacgtggaccggaacgatagcttctccaccgaggacttcag
 caactgcctgtaccaggatttcagaatccctctgagccccgtgcacaagtgcagcttctacaagaaca
 acaccaaggtgtcctacggcttctgtctcctccacagctgaacaagaactccagcggcatctactct
 gagggcctgtgaccaccaacatcgtgcccatgtaccagtcttccaagtgtctggcggtacttcca
 cgacacctgtgaggaagtacgccgaagaaagaaacggcgtgaacgtgggtgtctggccccgtgttcg
 acttcgactacgacggcagatgcgactctctggaaaacctgcggcagaaaagacgagtgtccggaat
 caagagatcctgatctctacacacttctttatcgtgtgaccagctgcaaggatacctctcagacccc
 tctgcactgcgagaatctggacacctggccttattctgcctcacagaaccgacaactccgagtcct
 gtgtgcacggcaagcacgactcctcttgggtcgaagaactgctgatgctgcaccgggcccagaatcacc
 gatgtggaacacatcaccggcctgagcttctaccagcagcgaaagaaacctgtgtccgatatcctgaa
 gctgaaaacccatctgccaccttcagccaagaggacctgatcaacgacaagaccacacctgtcctc

20

30

40

50

【表 7 8 - 2】

catgtcctgctccagaactgctcggaggccccctctgtgttctgtttccacctaagccaaaggacaca
 ctgatgatctctcggacccctgaagtgacctgctggtggtggtgatgtgtctcacgaagatcccgaagt
 caagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagt
 acaactccacctacagagtgggtgtccgtgctgactgtgtgctgcaccaggattggctgaacggcacaagag
 tacaagtgc aaagtgtccaacaaggctctgccgctcctatcgaaaagaccatctccaaggctaaggg
 ccagcctcgggaacctcaggtttacacctgcctccatctcgggaagagatgaccaagaaccaggtgt
 ccctgacctgacctggtcaagggttctaccttccgatatcgccgtggaatgggagtccaatggccag
 cctgagaacaactacaagacaacccctcctgtgctggacagcgacggctcattcttctgtactctaa
 gctgacagtggacaagtcccgggtggcagcaaggcaatgtgttttctgtctgtgatgcacgaggccc
 tccacaatcactacaccagaagtccctgtctctgtccccctggcaaatgatagctcgag

10

凡例－太字＝開始／終止コドン、下線＝シグナルペプチドのヌクレオチド配列。

【0 3 2 2】

配列番号 7 9－アズロシジン－E N P P 3－F Cヌクレオチド配列

【表 7 9 - 1】

atgaccagactgacctgtgctggccctgctggccgctgctggccagcagcagagccgcca
 gcagggcagctgcagaaagaagtgtctcgacgcccagcttcagaggcctggagaactgcagatgcgacg
 tggcctgcaaggacagaggcgactgctgctgggacttcgaggacacctgctgagagcaccagaatc
 tggatgtgcaacaagttcagatgcggcgagaccagactggaggccagcctgtgcagctgcagcgacga
 ctgcctgcagagaaaggactgtgctgcggcactacaagagcgtgtgccaggcgagaccagctggctgg
 aggagaactgcgacaccgcccagcagagccagtgtcccgagggttcgacctgcccccgctgatcctg
 ttcagcatggacggcttcagagccgagtacctgtacacctgggacacctgatgccaacatcaacaa
 gctgaagacctgctggcatccacagcaagtacatgagagccatgtacccacccaagaccttccccaacc
 actacacctcgtgacctgctgtaccccgagagccacggcatcatcgacaacaacatgtacgacgtg
 aacctgaacaagaacttcagcctgagcagcaaggagcagaacaaccccgctggtggcacggccagcc
 catgaacctgacctgcatgtaccagggtcgaaggccgcccactacttctggcccgagcagaggtgg
 ccatcaacggcagcttccccagcatctacatgcctacaacggcagcgtgccttcgaggagagaatc
 agcacctgtgaagtggctggacctgccaaggccgagagaccagattctacacctgtacttcga
 ggagcccgcagcagcggccacgcccggcgccccgtgagcgccagagtgtcaaggccctgcaggtgg
 tggaccacgccttcggcatgctgatggaggccctgaagcagagaaacctgcacaactgcgtgaacatc
 atcctgctggccgaccacggcatggaccagacctactgcaacaagatggagtacatgacctgactactt
 cccagaatcaacttcttctacatgtacgagggtccccgcccccagaatcagagcccacaacatcccc
 acgacttcttcagcttcaacagcgaggagatcgtgagaaacctgagctgcagaaagcccagaccagcac
 ttcaagccctacctgacccccgacctgccaagagactgcactacgccaagaacctgagaatcgacaa
 ggtgcacctgttcgtggaccagcagtggtggtggcgtgagaagcaagagcaacaccaactgcggcgccg
 gcaaccacggctacaacaacgagttcagaagcatggaggccatcttctggtggccacggccccagcttc
 aaggagaagaccgaggtggagcccttcgagaacatcgagggtgtacaacctgatgtgcgacctgctgag
 aatccagcccgcacccaacacggcaccacggcagcctgaaccacctgctgaagggtgccccctctacg
 agcccagccacgcccaggaggtgagcaagttcagcgtgtgcggcttcgccaacccccctgcccaccgag
 agcctggactgcttctgccccacctgcagaacagcaccagctggagcaggtgaaccagatgctgaa
 cctgaccagaggagatcacccgccacctggaaggtgaacctgcccttcggcagaccagagtgctgc
 agaagaacctggaccactgcctgctgtaccacagagagtacgtgagcggcttcggcaaggccatgaga
 atgcccctgtggagcagctacacctgccccagctgggacgacaccagccccctgccccccacctgccc
 cgactgctgagagccgacgtgagagtgccccccagcgagagccagaagtgcagcttctacctggccg
 acaagaacatcacccacggcttctgtacccccccgacgcaacagaaccagcgacagccagctacgac
 gccctgatcacccagcaacctggtgcccctgtacgaggagttcagaaagatgtgggactacttccacag
 cgtgctgctgatcaagcagccaccgagagaaacggcgtgaacgtggtgagcggccccatcttcgact
 acaactacgacggccacttcgacgccccgacgagatcaccaagcacctggccaacaccgacgtgccc
 atccccaccactacttctgtggtgctgaccagctgcaagaacaagagccacacccccgagaactgccc
 cggctggctggacgtgctgcccctcatcatccccacagaccaccaacgtggagagctgccccgagg
 gcaagcccagggccctgtgggtggaggagagattcacccgcccacatcgccagagtgcagagcgtggag
 ctgctgacctgacctgacttctaccaggacaaggtgcagcccgtgagcgagatcctgcagctgaagac
 ctacctgcccaccttcgagaccacctcgacaagaccacacctgccccccctgccccgccccgagc

20

30

40

50

【表 7 9 - 2】

tgctgggcgccccagcgtgttctgttcccccccaagcccaaggacaccctgatgatcagcagaacc
 cccgaggtgacctgctggtggtggacgtgagccacgaggacccccgaggtgaagttcaactggtacgt
 ggacggcgtggaggtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggagcagtacaacagcacctacagag
 tggtagcgtgctgacctgctgcaccaggactggctgaacggcgaaggagtacaagtgcaaggtgagc
 aacaaggccctgccccccccatcgagaagaccatcagcaaggccaaggccagcccagagagcccca
 ggtgtacaccctgccccccagcagagaggagatgaccaagaaccaggtgagcctgacctggtgga
 agggcttctaccccagcgcacatcgccgtggagtgaggagagcaacggccagcccagagaacaactacaag
 accaccccccccgctgctggacagcgcagggcagcttcttctctgtacagcaagctgacctggacaagag
 cagatggcagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacc
 agaagagcctgagcctgagccccggcaag

10

【0 3 2 3】

E N P P 1 及び E N P P 3 融合ポリペプチドのクローニング及び発現

E N P P 1、又は E N P P 1 ポリペプチドは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、US 2 0 1 5 / 0 3 5 9 8 5 8 A 1 に記載されるように調製される。E N P P 1 は、別個の膜内ドメインを有する細胞表面に局在化された膜貫通タンパク質である。E N P P 1 を可溶性細胞外タンパク質として発現させるために、E N P P 1 の膜貫通ドメインを、E N P P 2 の膜貫通ドメイン、又はアズロシジンなどのシグナルペプチド配列と交換してもよく、それはバキュロウイルス培養物の細胞外液中に可溶性の組換え E N P P 1 の蓄積をもたらす。イムノグロブリンカップ及びラムダ軽鎖タンパク質のシグナル配列などであるがこれに限定されない、分泌のために E N P P 1 の細胞外ドメインを標的とするための任意の他の既知のタンパク質のシグナル配列が使用され得る。更に、本開示は、本明細書に記載されるポリペプチドに限定されると解釈されるべきではないが、E N P P 1 細胞外ドメインの任意の酵素的に活性な切断を含むポリペプチドも含む。

20

【0 3 2 4】

E N P P 1 は、膜貫通ドメインを省略することによって可溶性にされる。ヒト E N P P 1 (配列番号 1) は、その膜貫通領域 (例えば、残基 7 7 ~ 9 8) を、ヒト E N P P 2 (N C B I アクセション NP 0 0 1 1 2 4 3 3 5、例えば、残基 1 2 ~ 3 0) 又はアズロシジンシグナル配列 (配列番号 4 2) の対応するサブドメインで置き換えることによって、可溶性の組換えタンパク質を発現するように修飾された。

30

【0 3 2 5】

修飾された E N P P 1 配列は、T E V プロテアーゼ切断部位、続いて、C 末端 9 - H i s タグを有する修飾 p F a s t b a c F I T ベクターにクローニングされ、昆虫細胞においてクローニング及び発現され、両方のタンパク質は、以前に記載されるようにバキュロウイルス系で発現され (A l b r i g h t, e t a l., 2 0 1 2, B l o o d 1 2 0 : 4 4 3 2 - 4 4 4 0, S a u n d e r s, e t a l., 2 0 1 1, J. B i o l. C h e m. 1 8 : 9 9 4 - 1 0 0 4, S a u n d e r s, e t a l., 2 0 0 8, M o l. C a n c e r T h e r. 7 : 3 3 5 2 - 3 3 6 2)、細胞外液中に可溶性の組換えタンパク質の蓄積をもたらす。

【0 3 2 6】

E N P P 3 は、細胞表面へ乏しく輸出される。可溶性 E N P P 3 ポリペプチドは、E N P P 3 のシグナル配列を、他の E N P P 若しくはアズロシジンの天然シグナル配列又は好適なシグナル配列と置き換えることによって構築される。E N P P 3 融合構築物のいくつかの例は、WO 2 0 1 7 / 0 8 7 9 3 6 に開示されている。可溶性 E N P P 3 構築物は、これらに限定されないが、E N P P 7 及び / 又は E N P P 5 などの他の E N P P 酵素のシグナル輸出シグナル配列を使用することによって調製される。可溶性 E N P P 3 構築物は、E N P P 1 及び E N P P 2 のシグナル配列の組み合わせ (以下、「E N P P 1 - 2 - 1」又は「E N P P 1 2 1」) からなるシグナル配列を使用して調製される。イムノグロブリンカップ及びラムダ軽鎖タンパク質のシグナル配列などであるがこれに限定されない、分泌のために E N P P 3 の細胞外ドメインを標的とするための任意の他の既知のタンパク

40

50

質のシグナル配列が使用され得る。更に、本開示は、本明細書に記載される構築物に限定されると解釈されるべきではないが、ENPP3細胞外ドメインの任意の酵素的に活性化切断を含む構築物も含む。

【0327】

ある特定の実施形態では、ENPP3ポリペプチドは、可溶性である。いくつかの実施形態では、本開示のポリペプチドは、ENPP3膜貫通ドメインを欠くENPP3ポリペプチドを含む。別の実施形態では、本開示のポリペプチドは、ENPP3ポリペプチドを含み、ENPP3膜貫通ドメインは除去され、非限定的な例としてENPP2、ENPP5、若しくはENPP7又はアズロシジシグナル配列などの別のポリペプチドの膜貫通ドメインで置き換えられている。

10

【0328】

いくつかの実施形態では、本開示のポリペプチドは、IgGFcドメインを含む。ある特定の実施形態では、本開示のポリペプチドは、アルブミンドメインを含む。他の実施形態では、アルブミンドメインは、ENPP3ポリペプチドのC末端領域に位置する。更に他の実施形態では、IgGFcドメインは、ENPP3ポリペプチドのC末端領域に位置する。更に他の実施形態では、IgGFcドメイン又はアルブミンドメインの存在は、半減期、可溶性を改善し、免疫原性を低減し、ENPP3ポリペプチドの活性を増加させる。

【0329】

ある特定の実施形態では、本開示のポリペプチドは、ENPP3ポリペプチドの前駆体の分泌をもたらすシグナルペプチドを含み、これは、ENPP3ポリペプチドをもたらすタンパク質分解プロセッシングを経る。他の実施形態では、シグナルペプチドは、ENPP2、ENPP5、及びENPP7のシグナルペプチドからなる群から選択される。更に他の実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号36～42からなる群から選択される。

20

【0330】

ある特定の実施形態では、IgGFcドメイン又はアルブミンドメインは、リンカー領域によってENPP3ポリペプチドのC末端領域に接続される。他の実施形態では、リンカーは、配列番号43～75から選択され、nは、1～20の範囲の整数である。

【0331】

ENPP1及びENPP3融合ポリペプチドの産生及び精製

30

インビトロ使用のための可溶性の組換えENPP1ポリペプチドを産生するために、ENPP1（ヒトNPP1（NCBIアクセッションNP_006199））をコードするポリヌクレオチドは、IgGFcドメインに融合され（「ENPP1-Fc」と称される）、安定したCHO細胞株で発現された。いくつかの実施形態では、NCBIアクセッションNP_006199の残基96～925をコードするENPP1ポリヌクレオチドは、Fcドメインに融合され、ENPP1ポリペプチドを生成した。

【0332】

あるいは、ENPP1ポリペプチドはまた、好適なベクターを使用して、HEK293細胞、バキュロウイルス昆虫細胞系、又はCHO細胞若しくは酵母ピキア発現系から発現され得る。ENPP1ポリペプチドは、接着又は懸濁細胞のいずれかで産生され得る。好ましくは、ENPP1ポリペプチドは、CHO細胞で発現される。安定した細胞株を確立するために、ENPP1構築物をコードする核酸配列は、大規模なタンパク質産生のための適切なベクターにクローニングされる。

40

【0333】

ENPP3は、CHO又はHEK293哺乳動物細胞のいずれかに安定したトランスフェクションを確立することによって産生される。ENPP3をコードするENPP3ポリヌクレオチド（ヒトNPP3（UniProtKB/Swiss-Prot: O14638.2））は、IgGFcドメインに融合され（「ENPP3-Fc」と称される）、安定したCHO細胞株で発現された。いくつかの実施形態では、UniProtKB/Swiss-Prot: O14638.2の残基49～875をコードするENPP3ポリ

50

ヌクレオチドは、Fcドメインに融合されて、ENPP3ポリペプチドを生成した。ENPP3ポリペプチドは、接着又は懸濁細胞のいずれかで産生され得る。安定した細胞株を確立するために、大規模なタンパク質産生のための適切なベクターへの本開示のENPP3融合ポリペプチドをコードする核酸配列。市販の供給源から入手可能な様々なこれらのベクターがあり、それらのいずれかを使用することができる。ENPP3ポリペプチドは、WO2017/087936で確立されたプロトコルに従って産生され、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。ENPP1ポリペプチドは、Albright, et al, 2015, Nat Commun. 6:10006で確立されたプロトコルに従って産生され、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0334】

ENPP1又はENPP3の所望のポリペプチド構築物を含む好適なプラスミドは、エレクトロポレーション又はリポフェクタミンなどの確立された技術を使用して、発現プラスミドに安定的にトランスフェクトされ得、細胞は、抗生物質選択下で増殖されて、安定的にトランスフェクトされた細胞に対して強化することができる。次いで、単一の安定的にトランスフェクトされた細胞のクローンが確立され、所望の融合タンパク質の高発現クローンについてスクリーニングされる。ENPP1又はENPP3ポリペプチド発現のための単一細胞クローンのスクリーニングは、以前に記載される合成酵素基質pNP-TMPを使用して、96ウェルプレートでハイスループット様式で達成され得る(Saunders, et al, 2008, Mol. Cancer Therap. 7(10):3352-62, Albright, et al, 2015, Nat Commun. 6:10006)。

【0335】

スクリーニングを介してENPP3又はENPP1ポリペプチドの高発現クローンが同定されると、ENPP1について以前に記載される振盪フラスコ又はバイオリアクターにおいてタンパク質産生を達成することができる(Albright, et al, 2015, Nat Commun. 6:10006)。ENPP3又はENPP1ポリペプチドの精製は、当該技術分野で既知の標準的な精製技術の組み合わせを使用して達成することができる。これらの技術は当該技術分野で周知であり、カラムクロマトグラフィー、超遠心分離、濾過、及び沈殿などの技術から選択される。カラムクロマトグラフィー精製は、プロテインA及びプロテインG樹脂などのアフィニティクロマトグラフィー、ニッケル又は銅などの金属アフィニティ樹脂、疎水性交換クロマトグラフィー、並びにC8-C14樹脂を使用する逆相高圧クロマトグラフィー(HPLC)を使用して達成される。Qセファロース(アニオン交換)及びSPセファロース(カチオン交換)などの市販の樹脂、青色セファロース樹脂及び青色セファデックス樹脂、並びにヒドロキシアパタイト樹脂を使用するアニオン及びカチオン交換クロマトグラフィーなど、イオン交換もまた用いられ得る。当該技術分野で既知であるように、市販のS-75及びS200 Superdex樹脂を使用するサイズ排除クロマトグラフィーも用いられ得る。タンパク質を可溶化して、上述のクロマトグラフィーステップ用の選択培地を提供するために使用される緩衝液は、当該技術分野の実践者及びタンパク質化学の科学に既知の標準的な生物学的緩衝液である。

【0336】

調製に使用される緩衝液のいくつかの例としては、クエン酸塩、リン酸塩、酢酸塩、トリス(ヒドロキシメシル)アミノメタン、生理食塩水緩衝液、グリシン-HCL緩衝液、カコジル酸緩衝液、及びバルビタールナトリウム緩衝液が挙げられ、これらは当該技術分野で周知である。単一の精製ステップの後、単一の技術、又は組み合わせの一連の技術、及び適切な緩衝系を用いて、クマシー染色されたポリアクリルアミドゲル上で、ENPP3及び粗出発物質を並行して精製した。次いで、ENPP3タンパク質は、上述の追加の技術及び／又はクロマトグラフィーステップを使用して更に精製され、適切なpHに調整された約99%の純度などの実質的に高い純度に到達することができ、記載されるENPP1又はENPP3ポリペプチドを、粗物質から99%を超える純度まで精製するこ

とができる。

【0337】

精製後、ENPP1-Fc又はENPP3-Fcを、5～7mg/mlに濃縮されたZn²⁺及びMg²⁺（PBSPlus）を補充したPBSに透析し、-80℃で200～500μlのアリコート中で凍結した。アリコートを、使用直前に解凍し、溶液の比活性を、PBSPlus中で希釈することによって31.25au/ml（又は調製物に応じて約0.7mg/ml）に調整した。

【0338】

投与量及び投与方法

別の実施形態では、hsNPP1又はhsNPP3は、それぞれ約1.0mg/kg～約5.0mg/kgのNPP1又は約1.0mg/kg～約5.0mg/kgのNPP3を含む1つ以上の用量で投与される。別の実施形態では、hsNPP1又はhsNPP3は、約1.0mg/kg～約10.0mg/kgのNPP1又は約1.0mg/kg～約10.0mg/kgのNPP3を含む1つ以上の用量で投与される。

10

【0339】

hsNPP1又はhsNPP3の用量間の期間は、少なくとも2日であり、例えば、少なくとも3日、少なくとも1週間、2週間、又は1ヵ月とより長くてもよい。一実施形態では、投与は、毎週、隔週、又は毎月である。

【0340】

組換えhsNPP1又はhsNPP3は、静脈内、皮下、又は腹腔内など、任意の好適な方法で投与され得る。

20

【0341】

組換えhsNPP1又はhsNPP3は、1つ以上の追加の治療剤と組み合わせて投与され得る。例示的な治療剤としては、これらに限定されないが、ビスホスホネート、スタチン、フィブレート、ナイアシン、アスピリン、クロピドグレル、及びワーファリンが挙げられる。

【0342】

いくつかの実施形態では、組換えhsNPP1又はhsNPP3及び追加の治療剤は、別々に投与され、同時に又は逐次的に投与される。いくつかの実施形態では、組換えhsNPP1又はhsNPP3は、追加の治療剤の投与の前に投与される。いくつかの実施形態では、組換えhsNPP1又はhsNPP3は、追加の治療剤の投与の後に投与される。他の実施形態では、組換えhsNPP1又はhsNPP3及び追加の治療剤は、一緒に投与される。

30

【0343】

核酸投与及び療法

ENPP1及びENPP3のインビボ発現のためのウイルスベクター

本開示内で有用なポリペプチドをコードする核酸は、本明細書で企図される疾患又は障害の治療のための遺伝子療法プロトコルで使用され得る。ポリペプチドをコードする改善された構築物は、目的の疾患又は障害を治療又は予防するために、適切な遺伝子療法ベクターに挿入され、患者に投与され得る。

40

【0344】

ウイルスベクターなどのベクターは、先行技術において、多種多様な異なる標的細胞に遺伝子を導入するために使用されてきた。典型的には、ベクターは、所望のポリペプチド（例えば、受容体）の発現から有用な治療又は予防効果を提供するのに十分な割合の細胞で形質転換が行われ得るように、標的細胞に曝露される。トランスフェクトされた核酸は、標的細胞の各々のゲノムに永久的に組み込まれてもよく、長期にわたる効果を提供するか、又は代替的に、治療を周期的に繰り返さなければならない場合がある。ある特定の実施形態では、（ウイルス）ベクターは、本開示のポリペプチドをコードする遺伝物質をインビボで肝細胞にトランスフェクトする。

【0345】

50

様々なベクター、ウイルスベクター及びプラスミドベクターの両方が当該技術分野で既知である（例えば、米国特許第5,252,479号及びWO93/07282を参照されたい）。特に、SV40、ワクシニアウイルス、HSV及びEBVを含むヘルペスウイルス、並びにレトロウイルスなどのパポウイルスを含む、遺伝子導入ベクターとしていくつかのウイルスが使用されてきた。先行技術における多くの遺伝子療法プロトコルは、無効化されたネズミレトロウイルスを採用してきた。最近発行されたいくつかの特許は、遺伝子療法を行うための方法及び組成物を対象とする（例えば、米国特許第6,168,916号、同第6,135,976号、同第5,965,541号、及び同第6,129,705号を参照されたい）。前述の特許の各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。したがって、NPP1又はNPP3配列を含むポリヌクレオチドなどの遺伝物質は、VSMC増殖を治療するために哺乳動物に導入され得る。

10

【0346】

ある特定の修飾ウイルスは、哺乳動物への投与後、ウイルスが細胞に感染し、コードされたタンパク質を発現するため、コード配列を担持するためのベクターとしてしばしば使用される。本開示による有用な修飾ウイルスは、例えば、以下：パルボウイルス、ピコルナウイルス、仮性狂犬病ウイルス、A型、B型、又はC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、パポウイルス（ポリオーマ及びSV40など）又はヘルペスウイルス（エプスタインバーウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス、带状疱疹及び単純ヘルペスウイルス1型及び2型）、RNAウイルス、又はモロニーマウス白血病ウイルス若しくはレンチウイルスなどのレトロウイルス（すなわち、ヒト免疫不全ウイルス、ネコ免疫不全ウイルス、ウマ感染性貧血ウイルスなど）を含むウイルスに由来する。本開示による有用なDNAウイルスには、以下がある：アデノ随伴ウイルスアデノウイルス、アルファウイルス、及びレンチウイルス。

20

【0347】

ウイルスベクターは、一般的に注射により投与され、最も頻繁には、静脈内（IV）で体に直接、又は特定の組織に直接投与され、そこでは個々の細胞によって取り込まれる。あるいは、ウイルスベクターは、エキスピボでウイルスベクターを患者の細胞の試料と接触させることによって投与されてもよく、それによってウイルスベクターが細胞を感染させることを可能にし、次いでベクターを含む細胞が患者に戻される。ウイルスベクターが送達されると、コード配列が発現され、機能性タンパク質がもたらされる。概して、ウイルスベクターによる細胞の感染及び形質導入は、ウイルスカプシドの標的細胞表面上の受容体との相互作用、エンドサイトーシスによる内在化、エンドサイトーシス／プロテアソーム区画を通じた細胞内輸送、エンドソーム脱出、核輸入、ビリオン脱殻、並びに組換えコード配列対象の転写及び発現につながるウイルスDNA二重鎖変換という一連の連続的な事象によって生じる。（Colella et al., Mol Ther Methods Clin Dev. 2017 Dec 1; 8: 87-104.）。

30

【0348】

本開示によるアデノ随伴ウイルスベクター

AAVは、パルボウイルス科のデパノウイルス属に属するウイルスを指す。AAVゲノムは約4.7キロベースの長さであり、ポジティブ又はネガティブセンスのいずれかであり得る直鎖一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）からなる。ゲノムは、DNA鎖の両端に逆位末端反復（ITR）、並びに2つのオープンリーディングフレーム（ORF）：rep及びcapを含む。repフレームは、AAVライフサイクルに必要な非構造複製（Rep）タンパク質をコードする4つの重複遺伝子からできている。capフレームは、構造VPカプシドタンパク質：VP1、VP2、及びVP3の重複ヌクレオチド配列を含み、それらは一緒に相互作用して、正二十面体型カプシドを形成する。

40

【0349】

末端145ヌクレオチドは、自己相補的であり、T字形状のヘアピンを形成する、エネルギー的に安定した分子内二本鎖が形成され得るように組織化される。これらのヘアピン構造は、ウイルスDNA複製の起源として機能し、細胞DNAポリメラーゼ複合体のプラ

50

イマーとしての役目を果たす。哺乳動物細胞における野生型 A A V 感染に続いて、*rep* 遺伝子（すなわち、*Rep 78* 及び *Rep 52*）は、それぞれ *P 5* プロモーター及び *P 19* プロモーターから発現され、両方の *Rep* タンパク質は、ウイルスゲノムの複製において機能を有する。*rep ORF* におけるスプライシング事象は、実際には 4 つの *Rep* タンパク質（すなわち、*Rep 78*、*Rep 68*、*Rep 52*、及び *Rep 40*）の発現をもたらす。しかしながら、哺乳動物細胞における *Rep 78* 及び *Rep 52* タンパク質をコードする非スプライシング mRNA は、A A V ベクター産生に十分であることが示されている。また、昆虫細胞では、*Rep 78* 及び *Rep 52* タンパク質は A A V ベクター産生に十分である。

【0350】

A A V は、ヘルパー依存性ウイルスであり、すなわち、機能的に完全な A A V ビリオンを形成するために、ヘルパーウイルス（例えば、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、又はワクシニアウイルス）との同時感染を必要とする。ヘルパーウイルスとの同時感染がない場合、A A V は、ウイルスゲノムが宿主細胞染色体に挿入されるか、又はエピソーム形態で存在するが、感染性ビリオンは産生されない潜伏状態を確立する。ヘルパーウイルスによるその後の感染は、統合されたゲノムを「救済する」ものであり、ウイルスカプシドに複製及びパッケージングされることを可能にし、それによって感染性ビリオンを再構成する。A A V は、異なる種由来の細胞に感染し得るが、ヘルパーウイルスは、宿主細胞と同じ種でなければならない。したがって、例えば、ヒト A A V は、イヌアデノウイルスに同時感染したイヌ細胞において複製される。

【0351】

異種核酸配列を含む感染性組換え A A V (*r A A V*) を産生するために、好適な宿主細胞株は、異種核酸配列を含むが A A V ヘルパー機能遺伝子である *rep* 及び *cap* を欠いている A A V ベクターでトランスフェクトされ得る。次いで、A A V ヘルパー機能遺伝子は、別個のベクター上に提供され得る。また、複製コンピテントヘルパーウイルス（アデノウイルス、ヘルペスウイルス、又はワクシニアなど）を提供するのではなく、A A V 産生に必要なヘルパーウイルス遺伝子（すなわち、アクセサリー機能遺伝子）のみがベクター上に提供され得る。

【0352】

集合的に、A A V ヘルパー機能遺伝子（すなわち、*rep* 及び *cap*）及びアクセサリー機能遺伝子は、1 つ以上のベクター上に提供され得る。ヘルパー及びアクセサリー機能遺伝子産物は、次いで、宿主細胞中で発現され、そこで異種核酸配列を含む *r A A V* ベクター上でトランスに作用する。次いで、異種核酸配列を含む *r A A V* ベクターは、野生型 (*wt*) A A V ゲノムであるかのように複製及びパッケージングされ、組換えビリオンを形成する。患者の細胞が、得られた *r A A V* ビリオンに感染すると、異種核酸配列が患者の細胞に侵入し、発現される。

【0353】

患者の細胞は、*rep* 及び *cap* 遺伝子、並びにアクセサリー機能遺伝子を欠いているため、*r A A V* は、それらのゲノムを更に複製及びパッケージングすることができない。更に、5 つの *rep* 及び *cap* 遺伝子源がなければ、*wt A A V* は、患者の細胞内に形成されることができない。

【0354】

A A V ベクターは、典型的には *rep* 及び *cap* フレームを欠いている。かかる A A V ベクターは、*rep* 及び *cap* 遺伝子産物（すなわち、A A V *Rep* 及び *Cap* タンパク質）をコード及び発現するベクターでトランスフェクトされている宿主細胞中に存在する場合、複製及び感染性ウイルス粒子中にパッケージングされてもよく、宿主細胞は、アデノウイルスオープンリーディングフレーム *E 4 or f 6* からタンパク質をコード及び発現するベクターでトランスフェクトされている。

【0355】

哺乳動物の細胞への目的のタンパク質の送達は、まず、目的のタンパク質をコードする

10

20

30

40

50

DNAを含むAAVベクターを生成し、次いで、ベクターを哺乳動物に投与することによって達成される。したがって、本開示は、目的のポリペプチドをコードするDNAを含むAAVベクターを含むと解釈されるべきである。本開示を持ち合わせると、この／これらのポリペプチドをコードするDNAを含むAAVベクターの生成は、当業者に明らかとなるであろう。

【0356】

一実施形態では、本開示は、哺乳動物ENPP1又は哺乳動物ENPP3をコードする配列を含むアデノ随伴ウイルス(AAV)発現ベクターに関し、哺乳動物に投与すると、ベクターは、細胞内のENPP1又はENPP3前駆体を発現し、前駆体は、そのカルボキシ末端でENPP1又はENPP3のアミノ末端に融合されたアズロシジニングシグナルペプチドを含む。ENPP1又はENPP3前駆体は、IgGFc領域又はヒトアルブミンなどの安定化ドメインを含み得る。細胞から前駆体が分泌されると、シグナルペプチドは切断され、酵素的に活性な可溶性哺乳動物ENPP1又はENPP3は細胞外に提供される。

10

【0357】

AAV発現ベクターは、アズロシジニングシグナルペプチド配列及びエクトヌクレオチドピロホスファターゼ／ホスホジエステラーゼ(ENPP1)ポリペプチド配列を含むポリペプチドをコードする組換え核酸配列に作動可能に連結された転写調節領域を含むヌクレオチド配列に作動可能に連結された転写調節領域を含む発現カセットを含み得る。

【0358】

20

いくつかの実施形態では、発現カセットは、プロモーター及びエンハンサー、コザック配列GCCACCATGG、哺乳動物NPP1タンパク質をコードするヌクレオチド配列又は哺乳動物NPP3タンパク質をコードするヌクレオチド配列、他の好適な調節エレメント、並びにポリアデニル化シグナルを含む。

【0359】

いくつかの実施形態では、本開示によるAAVベクターのAAV組換えゲノムは、repオープンリーディングフレーム及び／又はcapオープンリーディングフレームを欠く。

【0360】

本開示によるAAVベクターは、任意の血清型に由来するカプシドを含む。一般に、AAV血清型は、アミノ酸及び核酸レベルで顕著な相同性のゲノム配列を有し、同一の遺伝的機能のセットを提供し、実質的に同一の機序を介して複製及びアセンブリする。特に、本開示のAAVは、AAV(AAV1)、AAV2、AAV3(タイプ3A及び3Bを含む)、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAVrh10、AAV11、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、又はヒツジAAVの血清型1に属し得る。

30

【0361】

異なるAAV血清型のゲノムの配列の例は、文献又はGenBankなどの公開データベースで見出され得る。例えば、GenBankアクセッション番号NC_001401.2(AAV2)、NC_001829.1(AAV4)、NC_006152.1(AAV5)、AF028704.1(AAV6)、NC_006260.1(AAV7)、NC_006261.1(AAV8)、AX753250.1(AAV9)、及びAX753362.1(AAV10)。

40

【0362】

いくつかの実施形態では、本開示によるアデノ関連ウイルスベクターは、AAV2、AAV5、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、及びAAVrh10血清型からなる群から選択される血清型に由来するカプシドを含む。別の実施形態では、AAVの血清型は、AAV8である。ウイルスベクターがカプシドタンパク質をコードする配列を含む場合、これらは、AAVを特定の細胞型に配向するために、又は標的ベクターの細胞への送達の効率を増加させるために、又はAAVの精製若しくは検出を促進するために、又は

50

宿主応答を低減するために、外因性配列を含むように修飾されてもよい。

【0363】

ある特定の実施形態では、本開示の rAAV ベクターは、いくつかの必須 DNA エlement を含む。ある特定の実施形態では、これらの DNA エlement は、AAV ITR 配列の少なくとも 2 つのコピー、プロモーター／エンハンサー Element、転写終結シグナル、目的のタンパク質をコードする DNA に隣接する任意の必要な 5' 若しくは 3' 非翻訳領域、又はその生物学的に活性な断片を含む。本開示の rAAV ベクターはまた、目的のタンパク質のイントロンの一部を含み得る。また任意選択で、本開示の rAAV ベクターは、目的の変異ポリペプチドをコードする DNA を含む。

【0364】

ある特定の実施形態では、ベクターは、多くの異なる細胞型において異種遺伝子の発現を高レベルに駆動することができる無差別的なプロモーターを含むプロモーター／調節配列を含む。かかるプロモーターには、これらに限定されないが、サイトメガロウイルス (CMV) 即時早期プロモーター／エンハンサー配列、ラウス肉腫ウイルスプロモーター／エンハンサー配列などが含まれる。ある特定の実施形態では、本開示の rAAV ベクター中のプロモーター／調節配列は、CMV 即時早期プロモーター／エンハンサーである。しかしながら、異種遺伝子の発現を駆動するために使用されるプロモーター配列は、例えば、これらに限定されないが、ステロイド誘導性プロモーターを含む誘導性プロモーターであってもよく、又はこれらに限定されないが、筋組織特異的である骨格 α-アクチンプロモーター及び筋クレアチンキナーゼプロモーター／エンハンサーなどの組織特異的プロモーターであってもよい。

【0365】

ある特定の実施形態では、本開示の rAAV ベクターは、転写終結シグナルを含む。任意の転写終結シグナルが本開示のベクターに含まれ得る一方で、ある特定の実施形態では、転写終結シグナルは、SV40 転写終結シグナルである。

【0366】

ある特定の実施形態では、本開示の rAAV ベクターは、目的のポリペプチドをコードする単離された DNA 5'、又は目的のポリペプチドの生物学的に活性な断片を含む。本開示は、既知又は未知のいずれかの目的のポリペプチドの任意の哺乳動物配列を含むと解釈されるべきである。したがって、本開示は、ポリペプチドがヒトポリペプチドと実質的に同様の様式で機能する、ヒト以外の哺乳動物由来の遺伝子を含むと解釈されるべきである。好ましくは、目的のポリペプチドをコードする遺伝子を含むヌクレオチド配列は、目的のポリペプチドをコードする遺伝子に対して、約 50% 相同、より好ましくは約 70% 相同、更により好ましくは約 80% 相同、及び最も好ましくは約 90% 相同である。

【0367】

更に、本開示は、野生型タンパク質配列の天然発生型バリエーション又は組換え由来変異体を含むと解釈されるべきであり、そのバリエーション又は変異体は、それによりコードされるポリペプチドを、本開示の遺伝子療法方法において完全長ポリペプチドとして治療的に有効であるか、又は完全長ポリペプチドよりも更に治療的に有効であるようにさせる。

【0368】

本開示はまた、ポリペプチドの生物活性を保持するバリエーションをコードする DNA を含むと解釈されるべきである。かかるバリエーションには、組換え DNA 技術を使用して修飾された、又は修飾され得るタンパク質又はポリペプチドが含まれ、その結果、タンパク質又はポリペプチドは、本明細書に記載される方法における使用のためのその適合性を強化する追加の特性、例えば、これらに限定されないが、血漿中のタンパク質に対する安定性の強化及びタンパク質の比活性の強化をもたらすバリエーションを有する。類似体は、保存的アミノ酸配列の違いによって、又は配列に影響を与えない修飾によって、又はその両方によって、天然発生型タンパク質又はペプチドとは異なり得る。例えば、保存的アミノ酸変化がなされてもよく、それらはタンパク質又はペプチドの一次配列を変化させるが、その機能は通常変化させない。

【0369】

本開示は、実験的实施例に例示される特定の rAAV ベクターに限定されないが、むしろ、本開示は、AAV-1、AAV-3、AAV-4、及び AAV-6 などに基づくベクターを含むがこれに限定されない、任意の好適な AAV ベクターを含むと解釈されるべきである。また、本開示には、治療効果を提供するのに有効な量で、疾患又は障害を有する哺乳動物を治療する方法も含まれる。

【0370】

方法は、目的のポリペプチドをコードする rAAV ベクターを哺乳動物に投与することを含む。好ましくは、哺乳動物は、ヒトである。典型的には、単回注射で投与されるウイルスベクターゲノム／哺乳動物の数は、約 1×10^8 ～約 5×10^{16} の範囲である。好ましくは、単回注射で投与されるウイルスベクターゲノム／哺乳動物の数は、約 1×10^{10} ～約 1×10^{15} であり、より好ましくは、単回注射で投与されるウイルスベクターゲノム／哺乳動物の数は、約 5×10^{10} ～約 5×10^{15} であり、最も好ましくは、単回注射で哺乳動物に投与されるウイルスベクターゲノムの数は、約 5×10^{10} ～約 5×10^{14} である。

【0371】

本開示の方法が、複数回部位同時注射、又は数時間（例えば、約 1 時間未満～約 2 時間又は約 3 時間）の期間にわたる異なる部位への注射を含むいくつかの複数回部位注射を含む場合、投与されるウイルスベクターゲノムの総数は、同一であってもよく、又はその分数若しくはその倍数、15～単回部位注射法に列挙されるものであってもよい。

【0372】

単回部位注射における本開示の rAAV ベクターの投与について、ある特定の実施形態では、ウイルスを含む組成物は、対象の器官（これらに限定されないが、対象の肝臓など）に直接注射される。

【0373】

哺乳動物への投与について、rAAV ベクターは、薬学的に許容される担体、例えば、HEPES 緩衝生理食塩水に約 7.8 の pH で懸濁されてもよい。他の有用な薬学的に許容される担体には、これらに限定されないが、グリセロール、水、生理食塩水、エタノール、並びに有機酸のリン酸塩及び塩などの他の薬学的に許容される塩溶液が含まれる。これら及び他の薬学的に許容される担体の例は、Remington's Pharmaceutical Sciences (1991, Mack Publication Co., New Jersey) に記載されている。本開示の rAAV ベクターはまた、キットの形態で提供されてもよく、キットには、例えば、乾燥塩製剤中のベクターの凍結乾燥調製物、ベクター／塩組成物の懸濁液用の滅菌水、並びにベクターの懸濁液及び哺乳動物へのその投与の説明書が含まれる。

【0374】

その内容が参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、公開された出願、US 2017/0290926-Smith et al. は、AAV ベクターが生成、送達、及び投与されるプロセスを詳細に説明している。

【0375】

ENPP1 及び ENPP3 ポリペプチドの RNA ベースのインビボ発現

本開示は、本明細書に記載される組換え二本鎖 RNA 分子（ENPP1 又は ENPP3 ポリペプチドをコードする dsRNA の産生及び送達のための組成物及び方法を提供する。二本鎖 RNA 粒子（dsRP）は、カプシド又はコートタンパク質に封入された dsRNA 分子を含み得る。dsRNA 分子は、ウイルスゲノム、又は野生型ウイルスゲノムに由来し得るゲノムの一部であり得る。RNA 分子は、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ（RDRP）及びカプシド又はコートタンパク質の少なくとも一部を形成するポリタンパク質をコードし得る。RNA 分子はまた、宿主細胞の細胞構成成分によって翻訳される ENPP1 又は ENPP3 ポリペプチドをコードする RNA サブ配列を含み得る。dsRP が宿主細胞にトランスフェクトされると、サブ配列は、宿主細胞の細胞機構によって翻訳さ

れて、ENPP1又はENPP3ポリペプチドを産生することができる。

【0376】

別の態様では、本開示は、宿主細胞中でタンパク質産物を産生する方法を提供する。方法は、組換え二本鎖RNA分子(dsRNA)及びカプシド又はコートタンパク質を有するdsRPで宿主細胞をトランスフェクトすることを含む。RNA分子は、カプシド又はコートタンパク質の少なくとも一部を形成するRNA依存性RNAポリメラーゼ及びポリタンパク質をコードすることができ、dsRPは、宿主細胞内で複製することができる。RNA分子は、宿主細胞の細胞構成成分によって翻訳されるENPP1又はENPP3ポリペプチドをコードする少なくとも1つのRNAサブ配列を有する。

【0377】

別の態様では、本開示は、宿主細胞によって翻訳可能なRNA分子を提供する。RNA分子は、本明細書に記載されるENPP1又はENPP3ポリペプチドをコードする任意のRNA分子であり得る。一実施形態では、RNA分子は、dsRPのカプシド又はコートタンパク質の少なくとも一部を形成するRNA依存性RNAポリメラーゼ及びポリタンパク質をコードし、任意選択で、追加のタンパク質産物をコードするRNAの少なくとも1つのサブ配列を有し得る。

【0378】

dsRPの産生

本開示のdsRPはまた、本開示のdsRPをコードするか、又はdsRPの遺伝子をコードするプラスミド又は他のDNA分子を宿主細胞に提示することによっても産生され得る。次いで、ENPP1又はENPP3ポリペプチドなどの所望のタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含むプラスミド又はDNA分子は、宿主細胞にトランスフェクトされ、宿主細胞は、本開示のdsRPの産生を開始する。dsRPはまた、dsRPの遺伝子をコードするRNA分子を宿主細胞に提示することによって、宿主細胞中で産生され得る。RNA分子は、(+)鎖RNAであり得る。

【0379】

本開示のdsRPが宿主細胞(又は本開示のdsRPの遺伝子をコードするプラスミド、又はdsRPの遺伝子をコードするRNA分子)に提示されると、dsRPは、宿主細胞の細胞構成成分を使用して宿主細胞内で産生される。したがって、本開示のdsRPは、宿主細胞内で自立しており、宿主細胞内で増殖する。宿主細胞は、例えば、真核細胞、哺乳動物細胞、真菌細胞、細菌細胞、昆虫細胞、又は酵母細胞などの任意の好適な宿主細胞であり得る。宿主細胞は、本開示の組換えdsRNA分子、又は本開示のdsRPをコードするDNA分子が宿主細胞に提示され、宿主細胞によって取り込まれた後、組換えdsRPを増殖させることができる。

【0380】

dsRNAウイルス又はdsRPを産生する方法

本開示はまた、本開示のdsRPを産生する方法を提供する。二本鎖又は一本鎖RNA分子又はDNA分子は、宿主細胞に提示され得る。宿主細胞中のdsRNA分子の増幅は、多くの種類の宿主細胞(例えば、酵母)に既に存在する天然の産生及びアセンブリプロセスを利用する。したがって、本開示は、宿主細胞に、本開示の一本鎖又は二本鎖RNA又はDNA分子を提示することによって適用することができ、これは宿主細胞によって取り込まれ、宿主細胞の細胞構成成分を使用して、RNAサブ配列によってコードされる組換えdsRP及びタンパク質又はペプチドを産生するために利用される。本開示はまた、RNA依存性RNAポリメラーゼをコードする1つ以上の配列、dsRPのカプシド又はコートタンパク質の少なくとも一部を形成するポリタンパク質、及び本明細書に開示されるようなENPP1又はENPP3ポリペプチドなどの目的のタンパク質をコードするサブ配列を含む、直鎖又は円形のDNA分子(例えば、プラスミド又はベクター)を宿主細胞に提供することによって適用することができる。

【0381】

本開示のdsRNA又はssRNA分子の提示は、例えば、本開示のRNA分子を、宿

10

20

30

40

50

主細胞に、例えば、「ネイキッド」又は非修飾一本鎖若しくは二本鎖RNAとして直接提示することによって、任意の好適な方法で行われ得る。RNA分子は、例えば、エレクトロポレーション、リン酸カルシウムへの宿主細胞の曝露、又は細胞膜と融合し、内部にウイルス配列を堆積させるリポソームの産生など、任意の好適な方法によって、酵母、細菌、又は哺乳動物宿主細胞にトランスフェクト（又は形質転換）され得る。それは、キラーウイルス又は異種dsRNAからの宿主細胞へのdsRNAの直接導入の特定の機序によっても行われ得る。このステップは、赤色蛍光タンパク質（RFP）などのレポーター系を使用して、又は宿主細胞ゲノム内の特定の構成的遺伝子転写物を標的化することによって最適化され得る。これは、明白な表現型を有する標的を使用することによって、又は定量的逆転写酵素PCR（RT-PCR）によってモニタリングすることによって行われ得る。

10

【0382】

いくつかの実施形態では、本開示のRNA分子をコードするDNA分子（例えば、プラスミド又は他のベクター）は、宿主細胞に導入される。DNA分子は、本開示のdsRPのRNA分子をコードする配列を含み得る。DNA分子は、dsRPのゲノム全体、又はその一部をコードすることができる。DNA分子は、追加の（異種）タンパク質産物を産生するRNAの少なくとも1つのサブ配列を更にコードすることができる。DNA配列はまた、gagタンパク質又はgag-polタンパク質、並びに任意の必要な若しくは望ましいプロモーター、又は分子の発現及び目的を支持する他の配列をコードすることができる。DNA分子は、直鎖DNA、円形DNA、プラスミド、酵母人工染色体であり得るか、又は特定の用途に好都合な別の形態を取ってもよい。

20

【0383】

一実施形態では、DNA分子は、コンカタマー及びヘアピン構造を産生するためのT7末端を更に含むことができ、したがって宿主細胞中のウイルス又はdsRP配列の増殖を可能にする。DNA分子は、宿主細胞にトランスフェクト又は形質転換され、次いで、宿主細胞機構を使用して転写され、したがって少なくとも1つのRNAのサブ配列を有するdsRNA分子を宿主細胞に提供することができる。次いで、宿主細胞は、コードされた所望のENPP1又はENPP3ポリペプチドを産生することができる。dsRNAは、宿主細胞の代謝プロセス及び機構を使用して、野生型ウイルスと同じ様式でパッケージングされ得る。ENPP1又はENPP3ポリペプチドはまた、宿主細胞の代謝プロセス及び細胞構成成分を使用して産生される。

30

【0384】

その内容が参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Brown et al. による特許US10266834は、ポリペプチドをコードするdsRNA粒子が生成、送達、及び投与されるプロセスを詳細に説明している。

【0385】

ENPP1でコーティングされたステント及びENPP3でコーティングされたステント

ステントは、典型的には、内腔を含む体の部分が適切に機能し得るように、体の様々な部分に見出される開いた内腔（例えば、体の開口部）を維持するために使用される細長い構造である。ステントは、動脈が部分的に、及び時には完全に、脂質、コレステロール、カルシウム、並びに平滑筋細胞及び血小板などの様々な種類の細胞を含み得る物質で閉塞される血管系の疾患であるアテローム性動脈硬化症の治療にしばしば使用される。

40

【0386】

体内の任意の内腔内に配置されるステントは、必ずしも部分的又は完全な再狭窄を予防するとは限らない場合がある。特に、ステントは、経皮的血管形成術（PTA）後の動脈の再狭小化を必ずしも予防するわけではない。いくつかの場合では、動脈又は静脈におけるステント自体の導入及び存在は、例えば、ステント留置後の更なる手術を必要とする内皮と呼ばれる、動脈の内部の亀裂などの外傷又は組織損傷の領域を作り出し得る。

【0387】

50

かかる外傷又は組織損傷は、内皮によって通常動脈内腔から分離される血管平滑筋細胞の動脈内腔への移動を誘発し、そこでそれらは増殖して、数日又は数週間で動脈を閉塞し得る細胞の塊を作り出すと考えられる。P T A後に時に見られるかかる再閉塞は、再狭窄の一例である。E N P P 1 薬剤又はE N P P 3 薬剤などの治療剤でステントをコーティングすることは、血管平滑筋細胞増殖を予防及び／又は低減し、それに応じて再狭窄の発生を低減するか、又は再狭窄を治療することが予期される。

【0388】

いくつかの実施形態では、患者は、以前の埋め込まれた非溶出性ステントの存在に起因して、手術を必要とし、かつ／又は組織損傷を有する。

【0389】

いくつかの実施形態では、患者は、E N P P 1 薬剤又はE N P P 3 薬剤以外の治療剤を溶出する、以前に埋め込まれた溶出性ステントの存在に起因して、手術を必要とし、かつ／又は組織損傷を有する。

【0390】

いくつかの実施形態では、組織損傷を引き起こした以前のステントは除去され、E N P P 1 薬剤でコーティングされたステントで置き換えられる。

【0391】

いくつかの実施形態では、組織損傷を引き起こした以前のステントは除去され、E N P P 3 薬剤でコーティングされたステントで置き換えられる。

【0392】

いくつかの実施形態では、組織損傷を引き起こした以前のステントは除去されず、E N P P 1 薬剤でコーティングされたステントは、以前のステントに隣接して埋め込まれる。

【0393】

いくつかの実施形態では、組織損傷を引き起こした以前のステントは除去されず、E N P P 3 薬剤でコーティングされたステントは、以前のステントに隣接して埋め込まれる。

【0394】

E N P P 1 又はE N P P 3 でコーティングされたステントは、典型的には、ストラット又は相互接続されたフィラメントから作製された中空の円筒形構造である。通常、ステントは、カテーテルに圧縮状態でそれらを取り付けて、ステントの使用部位に体を通して誘導することによって、体内でのそれらの使用部位に埋め込まれる。血管ステントは、血管を開通し、血流の改善を提供するために、血管において頻繁に使用される。ステントは、所望の部位に位置付けられると、内腔の壁を支持することによって、内腔を開いたままにすることができるサイズに拡張され得る。血管ステントは、収縮されてそれらの直径を縮小させることができ、その結果、ステントを患者の動脈又は静脈を通して誘導して、展開部位に到達することができる。ステントは、典型的には、拡張バルーンによって拡張するためにバルーンの外側に連結されるか、又はステントを収縮状態に維持するワイヤー若しくはスリーブなどの拘束具の除去時に自己拡張する。

【0395】

血管ステントは、閉塞した動脈壁を支持するために必要な強度を提供するために、しばしば金属で作製される。好ましい金属の2つは、ニッケル及びチタンのニチノール合金、並びにステンレス鋼である。ステントの製造に使用され得る他の材料は、セラミック、ポリマー、及びプラスチックである。ポリマーは、官能基を有さないポリマーであってもよい。あるいは、ポリマーは、官能基を有するものであってもよいが、E N P P 1 薬剤又はE N P P 3 薬剤と反応性のものは存在しない。ポリマーは、生分解性ポリマーを含んでもよい。例えば、ポリマーは、ポリヒドロキシ酸、ポリ無水物、ポリホスファゼン、ポリアルキレンオキサレート、生分解性ポリアミド、ポリオルトエステル、ポリホスホエステル、ポリオルトカーボネート、及びそれらのブレンド又はコポリマーからなる群から選択されるポリマーを含み得る。ポリマーはまた、単独で、又は生分解性ポリマーと組み合わせて、生体安定性ポリマーを含み得る。例えば、ポリマーは、ポリウレタン、シリコン、ポリアクリレート、ポリエステル、ポリアルキレンオキシド、ポリアルコール、ポリオレフ

10

20

30

40

50

イン、ポリ塩化ビニル、セルロース及びその誘導体、フッ素化ポリマー、生体安定性ポリアミド、並びにそのブレンド又はコポリマーからなる群から選択されるポリマーを含み得る。

【0396】

薬剤分布パターンに対する異なるステント設計の効果は、実験的研究で精査されており、また臨床試験でも試験されている (Hwang CW, Wu D, Edelman ER. 2001. Physiological transport forces govern drug distribution for stent-based delivery. *Circulation*, 104:600-5、及び Takebayashi H, Mintz GS, Carlier SG, et al. 2004. Non uniform strut distribution correlates with more neointimal hyperplasia after Sirolimus-eluting stent implantation. *Circulation*, 110:3430-4)。これまで多数のステント設計が開発されてきたが、多細胞設計のみが現在最も一般的に使用されており、それらは「クローズドセル」及び「オープンセル」構造に分類され得る (Rogers CDK. 2002. Drug-eluting stents: role of stent design, delivery vehicle, and drug selection. *Rev Cardiovasc Med*, 3 (Suppl 5): S10-15.)。クローズドセルステントは、湾曲した血管セグメント内に展開された場合、均一なセル拡張及び一定のセル間隔を有し、それはより均一な薬物分布をもたらす (Rogers 2002)。オープンセルステントは、湾曲したセグメントにおける内湾曲と外湾曲との間の表面カバレッジのより大きな変化を有するが、より均一でない薬物分布という対価を払って、湾曲した表面により良好な適合をもたらす (Rogers 2002)。現在のステントの大多数は、クローズドセル設計を使用している。薬剤送達のための最適なステント設計は、適合性、放射状の支持、及び複雑な冠動脈病変に到達するための柔軟性を維持しながら、大きなステント表面積、小さなセルギャップ、及び展開後の最小限のストラットの変形を有する。異なる幾何学的ステント構造のいくつかの例は、Paisal et al. (Muhammad Sufyan Amir Paisal et al 2017 IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 165 012003) に記載されている。

【0397】

ENPP1でコーティングされたステント又はENPP3でコーティングされたステントは、それぞれ有効量のENPP1薬剤又はENPP3薬剤を含むコーティング組成物を塗布することによって調製される。コーティング組成物は、好ましくは、プラークの再増殖を阻害するか、又は再狭窄を阻害するか、又は血管平滑細胞増殖を予防するために治療的に有効であるのに十分な量のENPP1薬剤又はENPP3薬剤を含む。

【0398】

一実施形態では、コーティング組成物は、コーティング組成物の総重量に基づいて、約1重量%～約50重量%のENPP1ポリペプチドを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約5重量%～約30重量%のENPP1ポリペプチドを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約10重量%～約20重量%のENPP1ポリペプチドを含む。

【0399】

一実施形態では、コーティング組成物は、コーティング組成物の総重量に基づいて、約1重量%～約50重量%のENPP3ポリペプチドを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約5重量%～約30重量%のENPP3ポリペプチドを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約10重量%～約20重量%のENPP3ポリペプチドを含む。

【0400】

一実施形態では、コーティング組成物は、約 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ～ 約 $10 \text{mg}/\text{ml}$ の ENPP1 ポリペプチドを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ ～ $5 \text{mg}/\text{ml}$ の ENPP1 ポリペプチドを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ ～ 約 $2 \text{mg}/\text{ml}$ の ENPP1 ポリペプチドを含む。

【0401】

関連する実施形態では、コーティング組成物の ENPP1 ポリペプチドは、ENPP1-Fc である。

【0402】

関連する実施形態では、コーティング組成物の ENPP1 ポリペプチドは、ENPP1-アルブミンである。

【0403】

一実施形態では、コーティング組成物は、約 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ～ 約 $10 \text{mg}/\text{ml}$ の ENPP3 ポリペプチドを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ ～ $5 \text{mg}/\text{ml}$ の ENPP3 ポリペプチドを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ ～ 約 $2 \text{mg}/\text{ml}$ の ENPP3 ポリペプチドを含む。

【0404】

関連する実施形態では、コーティング組成物の ENPP3 ポリペプチドは、ENPP3-Fc である。

【0405】

関連する実施形態では、コーティング組成物の ENPP3 ポリペプチドは、ENPP3-アルブミンである。

【0406】

一実施形態では、コーティング組成物は、約 $1 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ 約 $1000 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP1 mRNA を含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $100 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ $10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP1 mRNA を含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $50 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ 約 $5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP1 mRNA を含む。

【0407】

一実施形態では、コーティング組成物は、約 $1 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ 約 $1000 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP1-Fc mRNA を含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $100 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ $10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP1-Fc mRNA を含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $50 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ 約 $5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP1-Fc mRNA を含む。

【0408】

一実施形態では、コーティング組成物は、約 $1 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ 約 $1000 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP1-アルブミン mRNA を含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $100 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ $10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP1-アルブミン mRNA を含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $50 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ 約 $5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP1-アルブミン mRNA を含む。

【0409】

一実施形態では、コーティング組成物は、約 $1 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ 約 $1000 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP3 mRNA を含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $100 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ $5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP3 mRNA を含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $500 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ 約 $2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP3 mRNA を含む。

【0410】

一実施形態では、コーティング組成物は、約 $1 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ 約 $1000 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP3-Fc mRNA を含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $100 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ $5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP3-Fc mRNA を含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $500 \text{ng}/\mu\text{l}$ ～ 約 $2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ の ENPP3-Fc mRNA を含む。

【0411】

10

20

30

40

50

一実施形態では、コーティング組成物は、約 $1 \text{ ng} / \mu\text{l}$ ~ 約 $1000 \mu\text{g} / \mu\text{l}$ の ENPP3-アルブミンmRNAを含む。別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $100 \text{ ng} / \mu\text{l}$ ~ $5 \mu\text{g} / \mu\text{l}$ の ENPP3-アルブミンmRNAを含む。更に別の実施形態では、コーティング組成物は、約 $500 \text{ ng} / \mu\text{l}$ ~ 約 $2 \mu\text{g} / \mu\text{l}$ の ENPP3-アルブミンmRNAを含む。

【0412】

ステントは、生分解性又は生体安定性ポリマーなどの物質でコーティングされて、ステントの生体適合性を改善し、患者におけるアレルギー性又は他の免疫応答を引き起こす可能性を低くすることができる。コーティング物質はまた、ステントの強度に付加し得る。いくつかの既知のコーティング物質には、有機酸、それらの誘導体、及び生分解性又は生体安定性のいずれかである合成ポリマーが含まれる。生体安定性コーティング物質は、体内で分解せず、生分解性コーティング物質は、体内で分解し得る。

【0413】

コーティング組成物は、コーティングプロセスにおいて、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤などの治療用分子がステント表面に接着することを確実にし、また、ステント留置部位で治療剤を体内に溶出することを容易にすることを助ける有効量の担体を含む。担体は、液体担体又は固体担体であり得る。コーティング組成物は、代替的に、固体担体中に2つ以上の固体化合物を含み得る。コーティング組成物は、液体担体及び固体担体の両方を更に含み得る。また更なる態様では、コーティング組成物は、担体中に2つ以上の種類の非ポリマー又はポリマー化合物を含んでもよく、固体又は液体担体中にポリマー材料及び非ポリマー材料の両方を更に含んでもよい。

【0414】

別の実施形態では、2つ以上の種類の生分解性化合物（ポリマー又は非ポリマー）は、一緒にブレンドされ、コーティング組成物で使用するための液体担体を得ることができる。生分解性化合物は、それらが一緒に混合されて、例えば、均質な溶液、混合物、又は懸濁液を形成する前に、液体であり得る。あるいは、生分解性化合物のいくつかは、それらが他の液体生分解性化合物と混合される前に、固体であり得る。固体生分解性化合物は、好ましくは、それらが液体生分解性化合物と混合されると溶解し、異なる生分解性化合物を含む液体担体組成物をもたらす。

【0415】

別の実施形態では、コーティング組成物の生分解性担体構成成分は固体であり、これは、生物学的に活性な構成成分及びコーティング組成物に含まれる任意の他の構成成分と混合されると溶解する。

【0416】

担体は、ポリマー担体であり得る。いくつかのポリマー担体は、合成ポリマーである。リザーバマトリックスとして機能する合成ポリマーの例としては、これらに限定されないが、ポリ-n-ブチルメタクリレート、ポリエチレン-ビニルアセテート、ポリ（ラクチド-コ-ε-カプロラクトン）コポリマー、フィブリン、セルロース、ホスホリルコリンが挙げられる。いくつかの溶出性ステントは、治療用分子を担持したナノ空洞を含む、 $300 \mu\text{m}$ の多孔質セラミック層を含む。薬物溶出性ステント、ステント構造、及びステント設計の例は、Drug-Eluting Stent: A Review and Update, Vasc Health Risk Manag. 2005 Dec; 1(4): 263-276及びModern Stents: Where Are We Going?, Rambam Maimonides Med J. 2020 Apr; 11(2): e0017に見出され得る。

【0417】

コーティング組成物中の担体は、生分解性又は生体安定性のいずれかであってもよい。生分解性ポリマーは、合成生分解性縫合糸にしばしば使用される。これらのポリマーには、ポリヒドロキシ酸が含まれる。本発明での使用に好適なポリヒドロキシ酸には、ポリ-L-乳酸、ポリ-D-L-乳酸、ポリグリコール酸、ラクチドのホモポリマー及びコポリマ

ーを含むポリラクチド（D-、L-乳酸及びメソ乳酸など、乳酸の全ての立体異性体から作製されたラクチドを含む）、ポリラクトン、ポリカプロラクトン、ポリグリコリド、ポリパラジオキサノン、ポリ1,4-ジオキセパン-2-オン、ポリ1,5-ジオキセパン-2-オン、ポリ6,6-ジメチル-1,4-ジオキサン-2-オン、ポリヒドロキシバレレート、ポリヒドロキシブチレート、ポリトリメチレンカーボネートポリマー、並びに前述のブレンドが含まれる。

【0418】

本発明での使用に好適なポリラクトンには、ポリ（ε-カプロラクトン）などのポリカプロラクトン、ポリ（δ-バレロラクトン）などのポリバレロラクトン、及びポリ（ブチロラクトン）などのポリブチロラクトンが含まれる。使用され得る他の生分解性ポリマーは、ポリ無水物、ポリホスファゼン、生分解性ポリアミド、例えばポリリジン及びポリアスパラギン酸などの合成ポリペプチド、ポリアルキレンオキサレート、ポリオルトエステル、ポリホスホエステル、並びにポリオルトカーボネートである。列挙されたポリマーのうちのいずれかのコポリマー及びブレンドを使用してもよい。括弧の存在又は不在を除いて同一であるポリマーの名前は、同じポリマーを表す。

【0419】

本発明での使用に好適な生体安定性ポリマーには、これらに限定されないが、ポリウレタン、シリコン、例えばポリジメチルシロキサン及びポリブチルメタクリレートなどのポリアルキルシロキサン、ポリ（エチレンテレフタレート）などのポリエステル、ポリエチレンオキシド又はポリエチレングリコールなどのポリアルキレンオキシド、ポリビニルアルコール及びポリエチレングリコールなどのポリアルコール、ポリ-5エチレンなどのポリオレフィン、ポリプロピレン、ポリ（エチレン-プロピレン）ゴム及び天然ゴム、ポリ塩化ビニル、セルロース及びレーヨンなどの修飾セルロース誘導体、レーヨントリアセテート、セルロースアセテート、セルロースアセテートブチレート、セロファン、ニトロセルロース、セルロースプロピオネート、カルボキシメチルセルロース及びヒドロキシアルキルセルロースなどのセルロースエーテル、ポリテトラフルオロエチレン（テフロン）などのフッ素化ポリマー、並びにナイロン66及びポリカプロラクタムなどの生体安定性ポリアミドが含まれる。グルタルアルデヒド固定ウシ心膜などの固定動物組織も使用され得る。ポリエステル及びポリアミドは、生分解性又は生体安定性のいずれかであり得る。エステル及びアミド結合は、加水分解の影響を受けやすく、これは生分解に寄与し得る。

【0420】

いくつかの場合では、コーティング組成物は、有効量の非ポリマー担体を更に含む。非ポリマー担体は、脂肪酸、生体適合性オイル、又はワックスのうちの1つ以上を含み得る。非ポリマー生分解性担体の例としては、液体オレイン酸、ビタミンE、ピーナッツ油、及び綿実油が挙げられるが、これらは疎水性及び生体適合性の両方である液体である。いくつかの場合では、非ポリマー又はポリマー担体は、室温及び体温で液体であり得る。いくつかの場合では、非ポリマー又はポリマー担体は、室温及び体温で固体、又は室温で固体及び体温で液体であり得る。

【0421】

別の実施形態では、ポリマー溶液は、フィルムに形成され、フィルムは次いでステントに塗布される。フィルムを形成する様々な従来的な方法のいずれかを使用することができる。例えば、ポリマー、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤、及び溶媒は、好ましくは、溶液中に混合され、次いで、溶液が乾燥されて溶媒を除去した後にコーティングフィルムが形成されるように、滑らかで平坦な表面に注がれる。次いで、フィルムは、その上で使用されるステントに適合するように切断され得る。次いで、フィルムは、ラッピングなどによって、ステントの外面上に取り付けられてもよい。

【0422】

別の実施形態では、コーティングされたステントは、ステントのストラット上に均一な厚さのコーティングをもたらす、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤などの治療剤を含む

液体担体でステントを噴霧することによって調製される。別の実施形態では、ステントは、溶液がステントのストラットを完全にコーティングするように、担体及び治療剤を含むコーティング溶液中でディップコーティング又は浸漬され得る。あるいは、ステントは、塗料ブラシなど、担体及び治療剤を含むコーティング溶液で塗装され得る。これらのコーティング用途の各々では、ステントの外表面及び内面の両方の全体がコーティングされることが好ましいが、いくつかの実施形態では、いずれか又は両方の表面の一部分のみがコーティングされ得る。

【0423】

上で議論されるように、コーティング組成物は、生物活性構成成分及び生分解性担体構成成分を含む。好ましくは、コーティング組成物は、0.1重量%～100重量%の生物学的に活性な構成成分、及び1重量%～99重量%の生分解性担体構成成分を含む。より好ましくは、コーティング組成物は、0.1重量%～50重量%の生物学的に活性な構成成分、及び50重量%～99.9重量%の生分解性担体構成成分を含む。コーティング組成物は、単に生物活性構成成分及び担体構成成分と一緒に混合して、混合物、例えば、溶液又は懸濁液を形成することを含む、様々な方法で調製することができる。あるいは、生物活性構成成分及び担体構成成分と一緒に好適な溶媒中で混合され、コーティングはステントに塗布され、溶媒は除去される。好ましくは、コーティング組成物は、その拡張状態でステントに塗布される。

【0424】

ステントに加えて、本明細書に開示される本発明の態様に従ってコーティングされ得る他の医療機器の例には、カテーテル、心臓弁、ペースメーカーリード、弁形成リング、及び他の医療移植片が挙げられる。他の特定の実施形態では、コーティングされた血管形成バルーン及び他のコーティングされた医療機器はまた、本明細書に開示されるコーティング組成物のうちの1つを含み得る。しかしながら、ステントが好ましい。コーティング組成物は、例えば、コーティング組成物をステントに噴霧することによって、コーティング組成物中にステントを浸漬することによって、又はコーティング組成物でステントを塗布することによって、任意の数の方法で、ステント（又は他の医療機器）に塗布され得る。好ましくは、ステントは、十分な量のコーティング組成物が塗布されて、拡張されたステントの表面全体をコーティングするように、その拡張された（すなわち、拡大された直径）形態でコーティングされる。ステントがコーティング組成物中に浸漬されると、過剰なコーティング組成物を塗料ブラシで払い落とすことによってなど、ステントの表面上の過剰なコーティング組成物は除去され得る。これらのコーティング用途の各々において、好ましくは、ステントの外表面及び内面の両方がコーティングされる。

【0425】

本明細書に記載されるコーティング組成物は、好ましくは、ステントが体に導入された後、少なくとも数日間、数週間、及びより好ましくは数ヵ月間、部分的又は実質的部分的に、ステント上に留まり、それによって、ENPP1薬剤又はENPP3薬剤などの治療剤を血流中にゆっくりと放出する。

【0426】

薬学的組成物及び製剤

本開示は、本明細書に記載される方法内の本開示のポリペプチドを含む薬学的組成物を提供する。かかる薬学的組成物は、対象への投与に好適な形態であるか、又は薬学的組成物は、1つ以上の薬学的に許容される担体、1つ以上の追加の成分、若しくはこれらのいくつかの組み合わせを更に含み得る。薬学的組成物の様々な構成成分は、当該技術分野で周知であるように、生理学的に許容されるカチオン又はアニオンとの組み合わせなど、生理学的に許容される塩の形態で存在し得る。

【0427】

一実施形態では、本開示の方法を実施するのに有用な薬学的組成物は、1 ng/kg/日～100 mg/kg/日の用量を送達するために投与され得る。他の実施形態では、本開示を実施するのに有用な薬学的組成物は、1 ng/kg/日～500 mg/kg/日の

用量を送達するために投与され得る。

【0428】

本開示の薬学的組成物中の活性成分、薬学的に許容される担体、及び任意の追加の成分の相対量は、治療される対象の同一性、サイズ、及び状態に応じて、及び更に組成物が投与される経路に応じて異なる。一例として、組成物は、約0.1%～約100% (w/w) の活性成分を含み得る。

【0429】

本開示の方法に有用な薬学的組成物は、吸入、経口、直腸、膣、非経口、局所、経皮、肺、鼻腔内、頬側、眼、髄腔内、静脈内、又は別の投与経路に対して好適に開発され得る。他の企図される製剤には、投影されたナノ粒子、リポソーム調製物、活性成分を含む再封鎖赤血球、及び免疫学的に基づく製剤が含まれる。投与経路は、当業者にとって容易に明らかであり、治療されている疾患の種類及び重症度、獣医又は治療されているヒト患者の種類及び年齢などを含む、任意の数の要因に依存する。

【0430】

本明細書に記載される薬学的組成物の製剤は、薬理学の分野で既知であるか又は今後開発される任意の方法によって調製され得る。概して、かかる調製方法は、活性成分を担体又は1つ以上の他の副成分と組み合わせ、次いで、必要であるか又は望ましい場合、所望の単回又は複数回用量ユニットに生成物を成形又はパッケージングするステップを含む。

【0431】

本明細書で使用される場合、「単位用量」は、所定量の活性成分を含む薬学的組成物の個別の量である。活性成分の量は、概して、対象に投与される活性成分の投与量、又は例えば、かかる投与量の2分の1若しくは3分の1などのかかる投与量の好都合な分数と等しい。単位剤形は、単回1日用量又は複数回1日用量（例えば、1日当たり約1～4回又はそれ以上）のうちの1つのためのものであり得る。複数回1日用量を使用する場合、単位剤形は、各用量に対して同一であっても異なってもよい。

【0432】

投与レジメンは、有効量を構成するものに影響を与え得る。例えば、いくつかの分割された投与量、並びに時差投与量は、毎日又は逐次的に投与されてもよく、又は用量は、連続的に注入されてもよく、又はボラス注射であってもよい。更に、治療製剤の投与量は、治療的又は予防的状況の緊急性によって示されるように、比例的に増加又は減少され得る。ある特定の実施形態では、対象への本開示の化合物の投与は、対象の血漿 P P i を、哺乳動物における正常レベルの P P i が 1～3 μ M である正常に近いレベルまで上昇させる。「正常に近い」とは、0～1.2 μ M 又は正常より 0～40% 下回る若しくは上回る、30 nM～0.9 μ M 又は正常より 1～30% 15 下回る若しくは上回る、0～0.6 μ M 又は正常より 0～20% 下回る若しくは上回る、あるいは 0～0.3 μ M 又は正常より 0～10% 下回る若しくは上回ることを意味する。

【0433】

ヒトなどの哺乳動物などの患者への本開示の組成物の投与は、既知の手順を使用して、患者の疾患又は障害を治療するために有効な用量で、及び期間にわたって実施され得る。治療効果を達成するために必要な有効量の治療用化合物は、用いられる特定の化合物の活性；投与時間；化合物の排泄速度；治療期間；化合物と組み合わせて使用される他の薬物、化合物、及び材料；治療されている患者の疾患又は障害の状態、年齢、性別、体重、状態、一般健康、及び既往歴、並びに医学分野で周知の同様の要因などに従って変化し得る。投与量レジメンは、最適な治療応答を提供するように調整されてもよい。投与量は、治療用化合物の生物学的活性に基づいて決定され、これは次に、治療用化合物曲線の半減期及び血漿時間下面積に依存する。本開示によるポリペプチドは、正常（1～3 μ M）レベルに近い、又は正常レベルより上回る（30～50% より高い）の P P i のいずれかである、連続的なレベルの血漿 P P i を達成するために、2日毎、又は4日毎、又は毎週、又は毎月の適切な時間間隔で投与される。本開示のポリペプチドの治療投与量はまた、半減期又は治療用ポリペプチドが体外に排出される速度に基づいて決定されてもよい。本開

10

20

30

40

50

示によるポリペプチドは、ENPP1又はENPP3ポリペプチドの酵素活性の一定レベルを達成するために、2日毎、又は4日毎、毎週、又は毎月のいずれかの適切な時間間隔で投与される。

【0434】

例えば、いくつかの分割された用量は、毎日投与されてもよく、又は用量は、治療状況の緊急性によって示されるように比例的に低減されてもよい。本開示の治療用化合物の有効用量範囲の非限定的な例は、1日当たり約0.01及び50mg/kgの体重である。ある特定の実施形態では、本開示の治療用化合物の有効用量範囲は、約50ng~500ng/kg、好ましくは100ng~300ng/kgの体重である。当業者であれば、関連する要因を研究し、過度の実験をすることなく、治療用化合物の有効量に関する決定を行うことができるであろう。

10

【0435】

化合物は、1日数回の頻度で患者に投与されることができ、又は1日1回、1週間に1回、2週間に1回、1ヵ月に1回、若しくは更にはより少ない頻度など、例えば数ヵ月に1回又は1年に1回以下など、より少ない頻度で投与され得る。非限定的な例では、1日当たりに投与される化合物の量は、毎日、隔日、2日毎、3日毎、4日毎、又は5日毎に投与され得る。例えば、隔日投与では、1日当たり5mgの用量を月曜日に開始し、水曜日に最初の後続の1日当たり5mgの用量、金曜日に2つ目の後続の1日当たり5mgの用量、などとしてもよい。用量の頻度は、当業者にとって容易に明らかであり、これらに限定されないが、治療されている疾患の種類及び重症度、並びに患者の種類及び年齢などの任意の数の要因に依存する。本開示の薬学的組成物中の活性成分の実際の投与量レベルは、患者に毒性であることなく、特定の患者、組成物、及び投与様式について望ましい治療応答を達成するために有効な活性成分の量を得るために変化させられてもよい。

20

【0436】

当該技術分野における通常の技術を有する医師、例えば、内科医は、必要とされる薬学的組成物の有効量を容易に決定し、処方してもよい。例えば、内科医又は獣医は、所望の治療効果を達成するために必要とされるレベルよりも低いレベルで、薬学的組成物に用いられる本開示の化合物の用量を開始し、所望の効果が達成されるまで投与量を徐々に増加させることができる。

【0437】

ある特定の実施形態では、本開示の組成物は、1日当たり1回~5回又はそれ以上の範囲の投与量で患者に投与される。他の実施形態では、本開示の組成物は、これらに限定されないが、1日1回、2日毎に1回、3日毎に1回~週に1回、及び2週間毎に1回を含む投与量の範囲で患者に投与される。本開示の様々な併用組成物の投与頻度は、これらに限定されないが、年齢、治療される疾患又は障害、性別、全体的な健康、及び他の要因を含む多くの要因に応じて、対象によって変化する。したがって、本開示は、任意の特定の投与量レジームに限定されると解釈されるべきではなく、任意の患者に投与される正確な投与量及び組成物は、患者に関する他の全ての要因を考慮して、主治医によって決定される。

30

【0438】

ある特定の実施形態では、本開示は、単独で、又は第2の薬学的剤と組み合わせて、本開示の化合物の治療有効量の化合物を保持する容器、並びに患者の疾患又は障害の1つ以上の症状を治療、予防、又は低減するために化合物を使用するための説明書を含む、パッケージングされた薬学的組成物を対象とする。

40

【0439】

投与経路

本開示の組成物のうちのいずれかの投与経路には、吸入、経口、鼻腔、直腸、非経口、舌下、経皮、経粘膜（例えば、舌下、舌、（経）頬側、（経）尿道、膻（例えば、経膻及び膻周囲）、（経）鼻、及び（経）直腸）、膀胱内、肺内、十二指腸内、胃内、髄腔内、皮下、筋肉内、皮内、動脈内、静脈内、気管支内、吸入、及び局所投与が含まれる。

50

【0440】

好適な組成物及び剤形としては、例えば、錠剤、カプセル、カプレット、ピル、ゲルキャップ、トローチ、分散液、懸濁液、溶液、シロップ、顆粒、ビーズ、経皮パッチ、ゲル、粉末、ペレット、泥膏、ロゼンジ、クリーム、ペースト、膏薬、ローション、ディスク、坐剤、鼻又は経口投与のための液体スプレー、吸入のための乾燥粉末又はエアロゾル製剤、及び膀胱内投与のための製剤などが挙げられる。本開示で有用となる製剤及び組成物は、本明細書に記載される特定の製剤及び組成物に限定されない。

【0441】

薬学的組成物の「非経口投与」は、対象の組織の物理的侵害によって特徴付けられる投与及び組織における侵害を通じた薬学的組成物の投与の任意の投与経路を含む。したがって、非経口投与は、これらに限定されないが、組成物の注射による、外科手術切開を通じた組成物の適用による、組織膜透過型非外科的創傷を通じた組成物の適用などによる、薬学的組成物の投与を含む。特に、非経口投与は、これらに限定されないが、皮下、静脈内、腹腔内、筋肉内、胸骨内注射、及び腎透析注入技術を含むことが企図される。

【実施例】

【0442】

本開示は、以下の実施例によって更に例示される。実施例は、例示のみを目的としており、いかなる様式でも本開示を制限するものとして意図されず、また解釈されるべきでもない。

【0443】

マウス

つま先歩行 (t t w / t t w) マウス及びWTマウスを、以下の実験で使用した。t t w / t t w マウスを、C 5 7 B L / 6 J バックグラウンドに10世代を上回って交配し、t t w / t t w マウス及び野生型 (W T) 同腹仔対照 (雄及び雌) 動物を、ヘテロ接合交配により生み出した。

【0444】

血漿収集

t t w / t t w マウス及びWTマウスからの全血 (心臓穿刺による) を、三ナトリウムエチレンジアミン四酢酸 (E D T A) を含むシリンジに収集し、遠心分離 (1000 × g、4℃、20分) による血漿及び赤血球の分離が行われるまで氷上で維持した。次いで、血漿は、300,000 k D a 質量カットオフフィルターを通した濾過 (2200 × g、4℃、20分) により血小板を枯渇させ、更なる処理まで-20℃で保存した。

【0445】

実施例1-WT及びt t w / t t w マウスへのENPP1-Fc投与の治療効果

血管の損傷は、炎症応答及び内皮活性化を誘導し、平滑筋細胞増殖及び血管の内腔の狭小化をもたらすことが知られている。(Exp Mol Med. 2018 Oct 29; 50(10): 1-12)。WTマウス及びt t w / t t w マウスにおける頸動脈ライゲーションを行い、力学的損傷のモデルを作製し、次いで、損傷部位における平滑筋細胞増殖に対するENPP1-Fcの効果を研究するために使用した。したがって、実験の主な目的は、WTマウス及びホモ接合性t t w / t t w マウスにおける筋内膜過形成に対するENPP1-Fcの治療効果を決定することであった。

【0446】

t t w / t t w 及び野生型 (W T) 同腹仔対照 (雄及び雌) 動物を、ヘテロ接合交配によって生み出した。3~4週齢で仔を離乳させ、次いで、通常の飼料で維持した。動物は、離乳中に、遺伝子型と無関係に盲目的に番号付けされた。次いで、Okawa et al. (Okawa A, Nakamura I, Goto S, Moriya H, Nakamura Y, Ikegawa S. Mutation in Npps in a mouse model of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. Nature genetics. 1998; 19(3): 271-3) に記載される

以下のプロトコルに従うことによって、テールDNAのポリメラーゼ連鎖反応分析によってENPP1遺伝子型判定を行った

【0447】

左頸動脈ライゲーション手術は、若いマウス、例えば、6～8週齢のマウスに行われ得る。左頸動脈ライゲーション手術は、7週齢のWTマウス（ $n=5$ ）及び ttw/ttw マウス（ $n=5$ ）で行った。1 l/分の酸素から3体積%のイソフルランの初期濃度で、0.6 l/分の酸素から1～1.5体積%のイソフルランの濃度で維持する、イソフルラン吸入（Forene（登録商標）、Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden）によってマウスを麻酔した。カルプロフェンを、鎮痛剤（皮下注射により5 mg/kgの体重；Rimadyl（登録商標）、Pfizer, Berlin, Germany）に使用した。左頸動脈は、首の小さな正中線切開を通して露出され、頸動脈分岐部から約2 mm近位の5-0ナイロンシルク縫合糸でライゲーションした。全ての動物は処置から良好に回復し、脳卒中の兆候を示さなかった。

10

【0448】

頸動脈ライゲーションの7日後、ENPP1-Fc又はビヒクルを、モデルマウス、例えば、 ttw/ttw マウスに投与する。頸動脈ライゲーションの7日後、 ttw/ttw マウスの内膜過形成は血管に存在するが、I/M比は、ライゲーションから14日後の ttw/ttw マウスと比較して、7日後でより低い（内膜面積及びI/M比について $p<0.001$ 、それぞれ図6B及び6C）。したがって、ライゲーションから14日後、対照マウスにおいて動脈閉塞（動脈内腔の遮断）が重大である。

20

【0449】

頸動脈ライゲーション後に投与された場合にENPP1-Fcが治療効果を有するかどうかを判定するために、7週齢のWT及び ttw/ttw マウスに頸動脈ライゲーションを施し、回復させた。次いで、両方のマウスを、10 mg/kgの体重でビヒクル（トリス緩衝生理食塩水、pH 7.4/対照コホート）又はENPP1-Fc（実験コホート）のいずれかで、隔日で皮下注射により処置した。ENPP1-Fc処置（10 mg/kgの体重を隔日で皮下注射）を、頸動脈ライゲーションから7日後に開始して、ライゲーションから14日後に頸動脈が採取されるまで7日間継続した。形態学的分析のために、頸動脈をPBS中の4%パラホルムアルデヒドで固定した。

【0450】

連続切片（各5 μ mの切片）を収集した。ライゲーションされた頸動脈の形態計測測定のために、ライゲーション部位のすぐ近位の切片を採取した。5つ目毎の切片を使用することにより、動物当たり合計12の切片（25 μ m毎）を、約250 μ mの距離にわたって、ライゲーション部位から近位に分析した。エラスチカ・ワンギーソン染色（Roth, Karlsruhe, Germany）を使用することによって形態計測分析を行った。（切片の概略図については図2を参照されたい）。ImageJソフトウェアを使用して、外弾性板、内弾性板、及び内腔の境界の周囲を測定した。中膜面積、内膜面積、及び内膜/中膜比（I/M比）を計算した。全てのマウスからのライゲーションされていない右頸動脈は、測定可能な新生内膜を有しておらず、頸動脈ライゲーションが、VSMC増殖を引き起こす血管系への力学的損傷を模倣することを示している。

30

40

【0451】

統計分析は、スチューデントのt検定（平均については対応のない2標本検定）を使用して行った。複数の群の比較では、GraphPad Prismソフトウェアバージョン7で行われる、一元配置分散分析、続いてボンフェローニの事後検定を使用した。 $p<0.05$ の確率値は有意であるとみなした。

【0452】

ENPP1欠損症は、 ttw/ttw マウスにおいて、頸動脈ライゲーション損傷後に新生内膜病変形成をもたらし、それゆえ、 ttw/ttw マウスは、WTマウスと比較した場合、より高いレベルのVSMC増殖を有した。 ttw/ttw マウス及びWTマウスにおけるライゲーションから100又は200 μ m尾側のいずれかからの代表的な染色切

50

片は、頸動脈ライゲーションが内膜過形成を引き起こし、内腔の狭小化をもたらし、内腔が狭くなりより結紮に近づくほどより重度に狭く（ $100\text{ }\mu\text{m}$ ）、より離れるほどそれほど重度な閉塞ではない（ $200\text{ }\mu\text{m}$ ）ことが示された（図3及び5Dを参照されたい）。

【0453】

ttw/ttwマウスでは、ライゲーションから $200\text{ }\mu\text{m}$ 尾側にある内腔がほぼ完全に閉塞されたため、内膜過形成の程度が増加した。ライゲーションされた総頸動脈の連続切片の定量解析では、ttw/ttwマウスは、ライゲーションにより誘導された14日間の血管リモデリング後、WTマウスと比較して、有意に増加された新内膜増殖を有したが（図5A～Cを参照されたい）、中膜面積は厚くならなかったことが示された。対応するように、ttw/ttwマウスのI/M比は、WTマウスと比較して顕著に増加した。マウス自体がENPP1タンパク質を欠損しているため、ENPP1-Fcの投与時に、VSMC増殖が、ttw/ttwマウスにおいて減少することが予期された。WTマウスがENPP1タンパク質を欠損していないという事実にもかかわらず、WTマウスにおけるVSMC増殖がENPP1-Fc投与時にも低減されたことはむしろ驚くべきことであった。したがって、実験は、通常の生理学的レベルよりもENPP1タンパク質レベルを上昇させることが、力学的損傷によって引き起こされた血管系におけるVSMC増殖を減少させる治療効果を有したという決定的な証拠を示した。

【0454】

結果は、組換えENPP1-Fc融合タンパク質の皮下投与が、ENPP1欠損（ttw/ttw）マウス及びENPP1非欠損（WT）マウスの両方における血管損傷のマウスモデルにおける内膜過形成を治療することを示した。この驚くべき所見は、ENPP1が、外科的組織損傷、心筋梗塞、脳卒中、及び更には非外科的組織損傷に起因して、VSMC増殖に患う患者における内膜過形成を治療する治療可能性を有することを示唆している。

【0455】

実施例2-WT及びttw/ttwマウスへのENPP1-Fc投与の予防効果

実験の主な目的は、WTマウス及びホモ接合性ttw/ttwマウスにおける内膜過形成に対するENPP1-Fcの予防効果を決定することである。ENPP1-Fcを使用する予防的処置のスキームを図1に示す。

【0456】

この予防アプローチでは、両方のマウス（WT及びttw/ttwマウス）を、頸動脈ライゲーション前に7日間処置し、治療を手術又は頸動脈ライゲーション後に14日間継続した。左頸動脈ライゲーション手術は、実施例Iに概説される手順に従って、7週齢のWT及びttw/ttwマウスで行った。次いで、実施例Iと同じプロトコルに従って、頸動脈ライゲーションの14日後にCO₂吸入を使用してマウスを安楽死させた。

【0457】

内膜過形成に対するENPP1の予防効果を決定するために、両方のマウス（WT及びttw/ttwマウス）を、頸動脈ライゲーション前の7日間、ビヒクル（対照コホート）又はENPP1-Fc（実験コホート）のいずれかで処置し、処置を手術後の14日間継続した。

【0458】

手術の14日後、ENPP1-Fcで処置されたWT及びttw/ttwマウスは、ビヒクルで処置されたマウスと比較して、大幅に低減された中膜面積（図4A、それぞれ、 $p<0.05$ 及び $p<0.01$ ）、内膜面積（図4B、両方 $p<0.001$ ）、及びI/M比（図4C、それぞれ、 $p<0.01$ 及び $p<0.001$ ）を示した。ENPP1-Fcで処置されたttw/ttwマウスの内膜面積及び中膜面積並びにI/M比は、ENPP1-Fcで処置されたWTマウスと同レベルに近づいたが（ $p>0.05$ ）、しかしながら、ビヒクルで処置されたttw/ttwマウスは、ビヒクルで処置されたWTマウスと比較して、有意に増加された内膜面積及びI/M比を発現した（それぞれ、 $p<0.01$ 及び $p<0.05$ ）。

【0459】

WTマウス及びttw/ttwマウスからの頸動脈のアポトーシスの更なる調査のために、ビヒクルのみで処置されたサブコホートを21日間ライゲーションしたままにし、TUNEL染色を、製造業者の指示に従ってインサイツ細胞死検出キット（TMRレッド、Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany）を使用して行った。陰性対照については、TUNEL酵素を用いずに染色を行い、陽性対照については、DNase IグレードIにより試料DNAを室温で10分間分解した。

【0460】

ENPP1-Fcで処置されたWTマウスは、ビヒクルで処置されたWTマウスと比較して、大幅に低減された内膜過形成を示した。同様に、ENPP1-Fcで処置されたttw/ttwマウスは、ビヒクルで処置されたttw/ttwマウスと比較して、大幅に低減された内膜過形成を示した。14日間ライゲーションされたマウスの組織学的エラスチカ・ワンギーソン染色は、ENPP1-Fcで処置されたWTマウス及びttw/ttwマウスにおいて、ビヒクルで治療されたマウスよりもはるかに少ない内膜過形成を示し、ENPP1-Fcで処置されたttw/ttwマウスはENPP1-Fcで処置されたWT動物で見られた程度に近づいていた（図4Gを参照されたい）。

10

【0461】

WTマウス及びttw/ttwマウスを21日間ライゲーションし、ENPP1-Fcで28日間予防的に処置したマウスもまた、媒体で処置したものと比較して、内膜領域（それぞれ、図4E、 $p < 0.001$ 及び $p < 0.01$ ）及びI/M比（それぞれ、図4F、 $p < 0.001$ 及び $p < 0.05$ ）が大幅に減少した内側領域（図4D、 $p < 0.01$ の両方）を示した。ENPP1-Fcで処置されたWTマウス及びttw/ttwマウスは、同レベルの新生内膜過形成に近づくが、しかしながら、14日間ライゲーションされ、21日間処置されたWTマウス及びttw/ttwマウスと比較して、内膜増殖は停止されなかったが、更に進行した（I/M比：それぞれ、 $p < 0.01$ 及び $p < 0.05$ ）。

20

【0462】

興味深いことに、21日間ライゲーションされたビヒクルで処置されたttw/ttwマウスの頸動脈は、ビヒクルで処置されたWTマウスよりも小さな内膜面積を有していた（図4E）。21日間ライゲーションされたビヒクルで処置されたttw/ttwマウスの頸動脈の組織学的染色は、弾性線維の分解に伴う内膜面積での分解された組織を明らかにし（図7A）、より小さな内膜面積につながった。21日間ライゲーションされたttw/ttwマウスの内膜面積において、TUNEL染色は、WTマウスと比較して増加された陽性染色を示し（図7B）、ビヒクルで処置されたttw/ttwマウスのライゲーションされた動脈における増加されたアポトーシスを示した。

30

【0463】

ビヒクルで処置されたWTマウスで得られたライゲーションされた総頸動脈の新生内膜面積及び中膜面積、並びにI/M比の定量解析の結果は、処置なしのWTマウスのものと類似していることを示した。同様に、ビヒクルで処置されたttw/ttwマウスで得られたライゲーションされた総頸動脈の新生内膜面積及び中膜面積、並びにI/M比は、処置なしのttw/ttwマウスと類似していることを示した。

40

【0464】

皮下ENPP1-Fcを受けているWTマウスの内膜面積は、ビヒクルで処置されたWTマウスと比較して有意に低減され、一方で外版と内板との間の中膜面積は一定のままであった。I/M比は、ビヒクルで処置されたWTマウスと比較して、ENPP1-Fcで処置されたWTマウスにおいて統計的に有意な減少を示し（図4を参照されたい）、頸動脈ライゲーション前のENPP1-Fcの予防的処置が、VSMC増殖のレベルを低下させることによって保護効果を有することを示す。

【0465】

更に、頸動脈ライゲーションされたttw/ttwマウスの予防的処置は、治療的処置

50

と比較して、更に減少された内膜面積及びI/M比をもたらした（図8B及びCを参照されたい、両方 $p < 0.001$ ）。したがって、ENPP1欠損症の状況において、ENPP1-Fcによる治療は、頸動脈損傷の発症前に開始されたとき、すなわち、可能な限り早期に、より効果的であると結論付けることができる。一方で、頸動脈ライゲーションされたWTマウスは、予防的処置群と治療的処置群との間で内膜及びI/M比の差を示さなかった（図8B及びC）。これは、野生型マウスにおいて、頸動脈損傷の前又は後に開始したときに、内膜増殖を停止するためのENPP1-Fcによる治療が同様に効果的であることを示唆している。

【0466】

実施例3-WT及びttw/ttwマウスへのENPP3-Fc投与の治療効果

10

実験の主な目的は、WTマウス及びホモ接合性ttw/ttwマウスにおける内膜過形成に対するENPP3-Fcの治療的効果を決定することである。ENPP3-Fcは、他の箇所に記載される、以前に確立されたプロトコルを使用して調製する。左頸動脈ライゲーション手術は、実施例1に記載されるプロトコルに従って、6週齢のWT及びttw/ttwマウスで行う。

【0467】

頸動脈ライゲーション後に投与された場合にENPP3-Fcが治療効果を有し得るかどうかを判定するために、6週齢のWT及びttw/ttwマウスに頸動脈ライゲーションを施し、回復させる。次いで、両方のマウスを、10mg/kgの体重でビヒクル（トリス緩衝生理食塩水、pH7.4/対照コホート）又はENPP3-Fc（実験コホート）のいずれかで、隔日で皮下注射により処置する。ENPP3-Fc処置（10mg/kgの体重を隔日で皮下注射）を、頸動脈ライゲーションから7日後に開始して、ライゲーションから14日後に頸動脈が採取されるまで7日間継続する。形態学的分析のために、頸動脈をPBS中の4%パラホルムアルデヒドで固定する。

20

【0468】

連続切片（各5µmの切片）を、実施例1に記載されるプロトコルに従って収集及び分析する。統計分析は、実施例Iに記載されるように行う。ENPP1欠損症は、ttw/ttwマウスにおいて、頸動脈ライゲーション損傷後に新生内膜病変形成をもたらす、それゆえ、ttw/ttwマウスは、実施例Iで見られたように、WTマウスと比較した場合、より高いレベルのVSMC増殖を有した。

30

【0469】

ttw/ttwマウスでは、ライゲーションから200µm尾側にある内腔がほぼ閉塞されたため、内膜過形成の程度が増加した。ライゲーションされた総頸動脈の連続切片の定量解析では、ttw/ttwマウスは、ライゲーションにより誘導された14日間の血管リモデリング後、WTマウスと比較して、有意に増加された新内膜増殖を有したことを示す。

【0470】

これらの変異体マウスはENPP1タンパク質が欠損しているため、ENPP3-Fcの投与時に、VSMC増殖が、ttw/ttwマウスにおいて減少することが予想される。WTマウスにおけるVSMC増殖は、ENPP3-Fc投与時に低減されることが予想される。かかる結果は、力学的損傷によって引き起こされる血管系におけるVSMC増殖を減少させることによって、ENPP3-Fcタンパク質が治療効果を有するという証拠となるであろう。

40

【0471】

結果は、組換えENPP3-Fc融合タンパク質の皮下投与が、ENPP1欠損（ttw/ttw）マウス及びENPP1非欠損（WT）マウスの両方における血管損傷のマウスモデルにおける内膜過形成を治療し得ることを示すことが予想される。したがって、ENPP3-Fcは、外科的組織損傷、心筋梗塞、脳卒中、及び更には非外科的組織損傷に起因して引き起こされるVSMC増殖に患う患者における内膜過形成を治療する治療薬として作用し得る。

50

【0472】

実施例4-WT及びttw/ttwマウスへのENPP3-Fc投与の予防効果

実験の主な目的は、WTマウス及びホモ接合性ttw/ttwマウスにおける内膜過形成に対するENPP3-Fcの予防効果を決定することである。ENPP3-Fcを使用する予防的処置のスキームは、図1に示される概略図と類似している。

【0473】

この予防アプローチでは、両方のマウス(WT及びttw/ttwマウス)を、頸動脈ライゲーション前に7日間処置し、治療を手術又は頸動脈ライゲーション後に14日間継続する。左頸動脈ライゲーション手術は、実施例Iに概説される手順に従って、6週齢のWT及びttw/ttwマウスで行う。次いで、実施例Iと同じプロトコルに従って、頸動脈ライゲーションの14日後にCO₂吸入を使用してマウスを安楽死させる。

【0474】

内膜過形成に対するENPP3の予防効果を決定するために、両方のマウス(WT及びttw/ttwマウス)を、頸動脈ライゲーション前の7日間、ビヒクル(対照コホート)又はENPP3-Fc(実験コホート)のいずれかで処置し、処置を手術後の14日間継続する。ENPP3-Fcで処置されたWTマウスは、ビヒクルで処置されたWTマウスと比較して、大幅に低減された内膜過形成を示すことが予期される。同様に、ENPP3-Fcで処置されたttw/ttwマウスは、ビヒクルで処置されたttw/ttwマウスと比較して、大幅に低減された内膜過形成を示すことが予期される。

【0475】

ビヒクルで処置されたWTマウスで得られたライゲーションされた総頸動脈の新生内膜面積及び中膜面積、並びにI/M比の定量解析の結果は、処置なしのWTマウスのものと類似していることを示すことが予期される。同様に、ビヒクルで処置されたttw/ttwマウスで得られたライゲーションされた総頸動脈の新生内膜面積及び中膜面積、並びにI/M比は、処置なしのttw/ttwマウスのものと類似していることが予期される。

【0476】

皮下ENPP3-Fcを受けているWTマウスの内膜面積は、ビヒクルで処置されたWTマウスと比較して有意に低減されることが予期され、一方で外版と内板との間の中膜面積は一定であることが予期される。I/M比は、ビヒクルで処置されたWTマウスと比較して、ENPP3-Fcで処置されたWTマウスにおいて統計的に有意な減少を示すことが予期され、頸動脈ライゲーション前のENPP3-Fcの予防的処置が、VSMC増殖のレベルを低下させることによって保護効果を有することを示す。したがって、ENPP3-Fc投与は、頸動脈ライゲーションされたttw/ttwマウスに加えて、頸動脈ライゲーションされたWTマウスにおける筋内膜増殖及び狭窄を予防し、効果的に治療することが予期される。実験は、頸動脈ライゲーションの前後のENPP3の投与が、WTマウスにおいてさえも内膜過形成から保護することを示すことが予期される。

【0477】

実施例5-アテローム性動脈硬化性血管の治療のためのENPP1溶出性コーティングスtent。

アテローム性動脈硬化は、動脈血管の最も一般的な炎症性疾患であり、それは、生命を脅かす心筋梗塞又は虚血性脳卒中につながり得る。実験の主な目的は、新生内膜形成及び炎症を阻害することによって、心臓手術後の出血性合併症のリスクを増加させる血栓及び/又は血管閉塞を低減させる、ENPP1又はENPP1-Fc溶出性s tentの能力を決定することである。

【0478】

任意の1つの理論に拘束されるものではないが、埋め込まれたs tentの部位でENPP1又はENPP1-Fcの過剰発現を誘導すると、s tent埋め込み後に、(i)血小板活性化の減少、(ii)再狭窄及び炎症応答の低減、並びに(iii)VSMC増殖の減少の1つ以上がもたらされることが予期される。この療法は、内皮細胞へのENPP1 mRNA(又はENPP1-Fc mRNA又はENPP1-アルブミンmRNA)の送

10

20

30

40

50

達に基づいており、その後、内皮細胞はmRNA翻訳後にステント埋め込み部位でENPP1タンパク質を発現する。

【0479】

ENPP1 mRNAの産生

ENPP1 DNAテンプレートを含むpcDNA 3.3プラスミド (Eurofins Genomics GmbH, Ebersberg, Germany) は、製造業者の指示に従ってHotStar HiFidelityポリメラーゼキット (Qiagen, Hilden, Germany) を使用して増幅する。PCR産物 (PCRサイクラー: Eppendorf, Wesseling, Germany) を、Qiaquick PCR精製キット (Qiagen) で精製する。インビトロ転写mRNAを、製造業者の指示に従って、MEGAscript1 T7キット (Ambion, Glasgow, Scotland) を用いて生成する。

10

【0480】

mRNAを修飾するために、それぞれ、UTP及びCTPに置換される、3'-O-Mem7 G (5') ppp (5') G RNAキャップ構造類似体 (New England Biolabs, Frankfurt, Germany)、並びにシュドウリジン-5'-三リン酸及び5-メチルシチジン-5'-三リン酸 (Trilink Biotech, San Diego, CA, USA) を反応物に添加する。RNase阻害については、1 μ lのRNase阻害剤 (Thermo Scientific, Waltham) を反応物毎に添加する。次いで、インビトロ転写mRNAを、RNeasyキット (Qiagen) で精製する。精製されたmRNAを、南極ホスファターゼキット (New England Biolabs) を使用して脱リン酸化し、RNeasyキット (Qiagen) で再び精製する。同じ手順を繰り返し、eGFP DNAを使用して、強化緑色蛍光タンパク質 (eGFP) mRNAを生成する。(Avci-Adali M, Behring A, Keller T, Krajewski S, Schlensak C, Wendel HP (2014), Optimized conditions for successful transfection of human endothelial cells with in vitro synthesized and modified mRNA for induction of protein expression. J Biol Eng 8:8)。

20

30

【0481】

生成されたENPP1 mRNAの機能性は、トランスフェクトされたHEK293細胞によるATPの加水分解後の遊離ホスフェートを測定することによって検証される。ENPP1 mRNAでトランスフェクトされたHEK293細胞を、振盪プラットフォーム (Polymax 1040, Heidolph, Schwabach, Germany) 上で、37°Cで10分間、20 μ MのATP (molab, Langenfeld, Germany) 又は対照としてPBSとともにインキュベートする。ATP基質は、ENPP1の存在下で経時的に分解し、酵素産物AMPの蓄積を伴う。ATP基質の様々な濃度を使用して、ENPP1の初期速度の速度は、ATPの存在下で導出され、データは、酵素速度定数を導出するために曲線に適合される。

40

【0482】

ステントコーティング

インビボでENPP1 mRNAの局所送達及び内皮細胞のトランスフェクションを可能にする、生物活性ステントコーティングを開発するために、生成されたENPP1 mRNAを、最初にサーマノックスプラスチックスライド上にコーティングする。したがって、ステントコーティングは、サーマノックスプラスチックスライド (Nunc, Thermo scientific, USA) を使用してシミュレートする。まず、ウェル当たり100,000個のHEK293細胞を、12ウェルプレート上に播種する。

【0483】

24時間後、2 μ lのリポフェクタミン並びに10 μ gのENPP1 mRNAを、5

50

0 μ l の Opt i - M E M と混合し、室温で 2 0 分間インキュベートする。一方、ポリ乳酸-コグリコール酸 (P L G A) (E v o n i k s 、 D a r m s t a d t) ストック溶液 (2 0 m g / m l) から 1 0 μ l を、9 9 0 μ l の酢酸エチル (最終濃度 2 0 0 μ g / m l) 中に希釈する。次いで、2 0 0 μ l の P L G A 溶液を、トランスフェクション複合体と混合する。

【 0 4 8 4 】

サーモノックススライドを、室温で、段階的なアプローチで、溶液でコーティングする。e G F P m R N A 及び滅菌水を対照として使用する。乾燥スライドが細胞に下に伏せて播種される前に、H E K 2 9 3 細胞に新しい培地を供給する。細胞を、スライドとともに 3 7 $^{\circ}$ C 及び 5 % C O ₂ で 2 4 時間、4 8 時間、及び 7 2 時間インキュベートし、次いで、F A C S c a n サイトメーターを使用して分析する。

10

【 0 4 8 5 】

H E K 2 9 3 細胞の E N P P 1 の発現を、フローサイトメトリーを使用して測定した。E N P P 1 でコーティングされたサーモノックススライドに曝露された細胞及び対照細胞を、抗 E N P P 1 - フルオレセインイソチオシアネート (F I T C) 抗体で染色する。E N P P 1 m R N A / P L G A でカバーされたサーモノックススライドとのインキュベーション後の H E K 2 9 3 細胞のフローサイトメトリー分析は、E N P P 1 m R N A が P L G A コーティングから放出されることを示すことが予期され、それによって E N P P 1 発現の増加が、スライドへの曝露の 2 4 時間後、4 8 時間後、及び 7 2 時間後に検出可能であると予期される。

20

【 0 4 8 6 】

対照 H E K 2 9 3 細胞 (リポフェクタミンのみでコーティングされたサーモノックススライドに曝露した) と比較して、0 . 5 ~ 1 μ g の E N P P 1 m R N A は、曝露の 2 4 時間後であっても、E N P P 1 m R N A でコーティングされたサーモノックススライドに曝露された H E K 細胞において、E N P P 1 タンパク質発現の増加を誘導するのに十分であると予期される。

【 0 4 8 7 】

任意の 1 つの理論に拘束されるものではないが、本明細書では、ステント埋め込み部位で発現される E N P P 1 は、内膜の増殖を予防し、血小板閉塞を低減し、それによって、実施例 1 及び 2 の結果から見られるように、心臓手術後の出血性合併症のリスクを低減することが予期される。

30

【 0 4 8 8 】

実施例 5 - アテローム性動脈硬化性血管の治療のための E N P P 1 溶出性コーティングステントの調製及び埋め込み

E N P P 1 薬剤でコーティングされたステントを調製し、次いで、冠動脈に埋め込む。この実施例では、若齢ブタ動物モデルを、E N P P 1 でコーティングされたステントを埋め込むために使用し、新生内膜形成、再狭窄、及び炎症を阻害するための E N P P 1 でコーティングされたステントの有効性を決定する。

【 0 4 8 9 】

E N P P 1 でコーティングされたステントの調製

40

いずれのステントも、E N P P 1 薬剤でコーティングすることができる。使用のためのステントを販売する市販の供給源の一般的な例としては、A b b o t 、B o s t o n S c i e n t i f i c 、M e d t r o n i c 、A l v i m e d i c a 、L e p u M e d i c a l T e c h n o l o g y 、C o r d i s 、B a l t o n 、又は B i o t r o n i k が挙げられる。

【 0 4 9 0 】

例えば、ベアメタルステントなどのプレーンステントは、E N P P 1 m R N A を含むポリマーフィルムをステント内部に配置することによって、又は E N P P 1 m R N A 若しくは E N P P 1 ポリペプチドを含むポリマー又は非ポリマー溶液をステント表面に噴霧することによって、E N P P 1 でコーティングされた溶出性ステントに変換することがで

50

きる。

【0491】

ENPP1ポリマーフィルムのいくつかの例を以下に示し、ENPP1ポリマーフィルムをステント内部に留置して、ENPP1でコーティングされた溶出性ステントを作製することができる。任意選択で、ビタミンE、ビタミンEアセテート、ビタミンEスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油などの非ポリマー担体を溶液に添加することができ、ポリマーフィルム中のENPP1薬剤の安定性を改善する

【0492】

(a) ENPP1薬剤コーティング組成物(A) - 10mgのPCL(ポリカプロラクトン)ポリマー及び100µgのENPP1 mRNA(又はENPP1-Fc mRNA又はENPP1-アルブミンmRNA)を、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解する。溶液をガラスプレート上に注ぎ、溶媒を12~24時間蒸発させる。溶媒のほぼ完全な除去の後、ENPP1を充填したPCLフィルムをガラスプレートから除去し、1.5cm×1.5cmのサイズに切断する。次いで、ポリマーフィルムを含むENPP1 mRNA(又はENPP1-Fc mRNA又はENPP1-アルブミンmRNA)を、ステンレスステントに取り付ける。50µgのベクターDNAを使用することによって、ENPP1ポリペプチド(ENPP1又はENPP1-Fc又はENPP1-アルブミン)を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

10

【0493】

(b) ENPP1薬剤コーティング組成物(B) - 10mgのEVA(エチレン-酢酸ビニル)ポリマー及び100µgのENPP1 mRNA(又はENPP1-Fc mRNA又はENPP1-アルブミンmRNA)を、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解する。溶液をガラスプレート上に注ぎ、溶媒を12~24時間蒸発させる。溶媒のほぼ完全な除去の後、ENPP1-mRNA(又はENPP1-Fc mRNA又はENPP1-アルブミンmRNA)を充填したEVAフィルムをガラスプレートから除去し、1.5cm×1.5cmのサイズに切断する。次いで、ポリマーフィルムを含むENPP1 mRNA(又はENPP1-Fc mRNA又はENPP1-アルブミンmRNA)を、ステンレスステントに取り付ける。50µgのベクターDNAを使用することによって、ENPP1ポリペプチド(ENPP1又はENPP1-Fc又はENPP1-アルブミン)を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

20

30

【0494】

噴霧溶液を含むENPP1のいくつかの例を以下に示し、噴霧溶液をステントに塗布して、ENPP1でコーティングされた溶出性ステントを作製することができる。任意選択で、ビタミンE、ビタミンEアセテート、ビタミンEスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油などの非ポリマー担体を噴霧溶液に添加することができ、ENPP1薬剤の安定性を改善する。

【0495】

(c) ENPP1薬剤コーティング組成物(C) - 10mgのPCL(ポリカプロラクトン)ポリマー及び100µgのENPP1 mRNAを、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解する。ENPP1 mRNA(又はENPP1-Fc mRNA又はENPP1-アルブミンmRNA)を含む100µlのポリマーPCL溶液を、半自動ネブライザー装置を使用してステント(6mm×20mm)に噴霧する。ネブライザー噴霧システムは、制御された速度でステントの長さを回転及び横断する手段を提供する。装置の横断コンポーネントは、霧状化ポリカプロラクトン溶液を1分当たり3mlの速度でステントに塗布するガラスネブライザーシステムを含んでいた。塗布されると、ポリマーコーティングは、60℃の加熱空気を約5秒間塗布することによって「再流動」される。ポリマーの再流動プロセスは、ステント表面へのより良好な接着を提供する。50µgのベクターDNAを使用することによって、ENPP1ポリペプチド(ENPP1又はENPP1-Fc又はE

40

50

ENPP1-アルブミン)を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

【0496】

(d) ENPP1薬剤コーティング組成物(D) - 未硬化2部シリコンゴムの1%溶液を、トリクロロエチレン中に溶解し、次いで、(C)で上に記載されるようにネブライザーシステムを使用してステントに噴霧する。コーティングされたステントを室温で15分間乾燥させ、トリクロロエチレンを蒸発させる。シリコンを含むコーティングされたステントを、シリコンコーティングを架橋するために、真空オーブンで4時間に期間加熱する。コーティングされたステントをオーブンから取り出し、1時間の期間冷却させる。100 μ gのENPP1 mRNAを、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解する。噴霧溶液を含む100 μ lのENPP1の体積を、各ステントのシリコンコーティングに滴下方法で適用する。架橋シリコンは溶液を吸収し、溶媒はその後室温で蒸発し、シリコン内に閉じ込められたENPP1 mRNA (又はENPP1-Fc mRNA又はENPP1-アルブミンmRNA)が残る。50 μ gのベクターDNAを使用することによって、ENPP1ポリペプチド(ENPP1又はENPP1-Fc又はENPP1-アルブミン)を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。溶媒はその後、室温で蒸発し、シリコン内に閉じ込められたENPP1コードベクターが残る。

10

【0497】

(e) ENPP1薬剤コーティング組成物(E) - 10mgのPCL(ポリカプロラクトン)ポリマー及びENPP1ポリペプチド(ENPP1又はENPP1-Fc又はENPP1-アルブミンのうちのいずれか1つ)を、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解し、10mg/mlのENPP1ポリペプチド濃度に到達する。ENPP1ポリペプチド(10mg/ml)を含む100 μ lのポリマーPCL溶液を、(C)に記載されるようにステントに噴霧する。

20

【0498】

(f) ENPP1薬剤コーティング組成物(F) - (d)で議論されるように、シリコンを含むコーティングされたステントを調製する。コーティングされたステントをオーブンから取り出し、1時間の期間冷却させる。ENPP1ポリペプチド(ENPP1又はENPP1-Fc又はENPP1-アルブミン)を、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解し、10mg/mlのENPP1ポリペプチド濃度に到達する。噴霧溶液(10mg/ml)を含む100 μ lのENPP1の体積を、各ステントのシリコンコーティングに滴下方法で適用する。架橋シリコンは溶液を吸収し、溶媒はその後室温で蒸発し、シリコン内に閉じ込められたENPP1 mRNAが残る。

30

【0499】

動物モデル

25から35kgの重量の、30匹の4~5ヵ月齢の若齢ブタを、商業的供給源から調達する。30個のステンレス鋼通気孔を、Abbott、Boston Scientific、Medtronic、Alvimedica、Lepu Medical Technology、Cordis、Balton、又はBiotronikなどの1つ以上の商業的供給源から得る。こうして得られた30のステンレス鋼ステントを、コーティングについて上に示されるプロトコルに従って、ENPP1 mRNAでコーティングする。対照セットとして使用するために、Abbottから30のベアメタルステント(BMS)を得る。次いで、ENPP1でコーティングされたステントを、エチレンオキシドを使用して滅菌し、圧縮し、バルーン血管形成術カテーテル上に取り付ける。次いで、標準的なバルーン血管形成術技術を使用して、動脈内の部位に展開する。

40

【0500】

ステントはランダムに割り当てられ、30匹のブタの左前下行枝、回旋枝、又は右冠動脈(動脈当たり1つのステント)に留置され、ブタ1匹当たり1つのコーティングされたステントである。次いで、ブタを、1日当たり75mgのクロピドグレル及び100mg

50

のアスピリンで維持し、それぞれ、7日後及び14日後に 殺する。

【0501】

ステント埋め込みの7日後又は14日後、ペントバルビタール安楽死溶液（100mg/kg）の静脈内注射を使用して動物を安楽死させ、ステント留置された冠動脈を採取した。動脈を、ステントの近位、中間、及び遠位部分から3～5mmのセグメントに切片化し、4%ホルマリン中で48時間固定し、パラフィン中に埋め込む。切片を、実施例1に記載されるプロトコルに従って、内膜、中膜面積、及びI/M比を決定するために、組織学及び形態計測測定に供する。ENPP1でコーティングされたステントを受けているブタから得られた動脈切片の内膜面積は、非溶出性ステンレス鋼ベアメッシュステントを有するブタからの動脈切片と比較して、有意に低減されることが予期される。I/M比は、ENPP1でコーティングされたステントを有するブタの動脈切片において、非溶出性ステンレス鋼ステントを有するブタと比較して、統計的に有意な減少を示すと予期される。したがって、ENPP1でコーティングされたステントを使用することによるENPP1薬剤のインサイツ投与は、損傷部位での筋内膜増殖及び／又は再狭窄を防止及び効果的に治療することが予期される。

10

【0502】

実施例6－アテローム性動脈硬化性血管の治療のためのENPP3溶出性コーティングステントの調製及び埋め込み

ENPP3薬剤でコーティングされたステントを調製し、次いで、冠動脈に埋め込む。この実施例では、若齢ブタ動物モデルを、ENPP3でコーティングされたステントを埋め込むために使用し、新生内膜形成、再狭窄、及び炎症を阻害するためのENPP3でコーティングされたステントの有効性を決定する。

20

【0503】

ENPP3でコーティングされたステントの調製

いずれのステントも、ENPP3薬剤でコーティングすることができる。使用のためのステントを販売する市販の供給源の一般的な例としては、Abbott、Boston Scientific、Medtronic、Alvimedica、Lepu Medical Technology、Cordis、Balton、又はBiotronikが挙げられる。

30

【0504】

例えば、ベアメタルステントなどのプレーンステントは、ENPP3 mRNAを含むポリマーフィルムをステント内部に配置することによって、又はENPP3 mRNA若しくはENPP3ポリペプチドを含むポリマー又は非ポリマー溶液をステント表面に噴霧することによって、ENPP3でコーティングされたステントに変換することができる。

【0505】

ENPP3ポリマーフィルムのいくつかの例を以下に示し、ENPP3ポリマーフィルムをステント内部に留置して、ENPP3でコーティングされた溶出性ステントを作製することができる。任意選択で、ビタミンE、ビタミンEアセテート、ビタミンEスクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油などの非ポリマー担体を溶液に添加することができ、ポリマーフィルム中のENPP3薬剤の安定性を改善する

40

【0506】

(a) ENPP3薬剤コーティング組成物(A)－10mgのPCL（ポリカプロラクトン）ポリマー及び100µgのENPP3 mRNA（又はENPP3-Fc mRNA又はENPP3-アルブミンmRNA）を、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解する。溶液をガラスプレート上に注ぎ、溶媒を12～24時間蒸発させる。溶媒のほぼ完全な除去の後、ENPP3を充填したPCLフィルムをガラスプレートから除去し、1.5cm×1.5cmのサイズに切断する。次いで、ポリマーフィルムを含むENPP3 mRNA（又はENPP3-Fc mRNA又はENPP3-アルブミンmRNA）を、ステンレスステントに取り付ける。50µgのベクターDNAを使用することによって、ENPP3ポリペプチド（ENPP3又はENPP3-Fc又はENPP3-アルブミン）を発現す

50

るベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

【0507】

(b) ENPP3 薬剤コーティング組成物 (B) - 10 mg の EVA (エチレン-酢酸ビニル) ポリマー及び 100 µg の ENPP3 mRNA (又は ENPP3-Fc mRNA 又は ENPP3-アルブミン mRNA) を、滅菌二重蒸留水中に室温で溶解する。溶液をガラスプレート上に注ぎ、溶媒を 12~24 時間蒸発させる。溶媒のほぼ完全な除去の後、ENPP3-mRNA (又は ENPP3-Fc mRNA 又は ENPP3-アルブミン mRNA) を充填した EVA フィルムをガラスプレートから除去し、1.5 cm × 1.5 cm のサイズに切断する。次いで、ポリマーフィルムを含む ENPP3 mRNA (又は ENPP3-Fc mRNA 又は ENPP3-アルブミン mRNA) を、ステンレスステントに取り付ける。50 µg のベクター DNA を使用することによって、ENPP3 ポリペプチド (ENPP3 又は ENPP3-Fc 又は ENPP3-アルブミン) を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

10

【0508】

噴霧溶液を含む ENPP3 のいくつかの例を以下に示し、噴霧溶液をステントに塗布して、ENPP3 でコーティングされた溶出性ステントを作製することができる。任意選択で、ビタミン E、ビタミン E アセテート、ビタミン E スクシナート、オレイン酸、ピーナッツ油、及び綿実油などの非ポリマー担体を噴霧溶液に添加することができ、ENPP3 薬剤の安定性を改善する。

20

【0509】

(c) ENPP3 薬剤コーティング組成物 (C) - 10 mg の PCL (ポリカプロラクトン) ポリマー及び 100 µg の ENPP3 mRNA (又は ENPP3-Fc mRNA 又は ENPP3-アルブミン mRNA) を、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解する。ENPP3 mRNA (又は ENPP3-Fc mRNA 又は ENPP3-アルブミン mRNA) を含む 100 µl のポリマー PCL 溶液を、上の実施例 5 に記載されるように、半自動ネブライザー装置を使用してステント (6 mm × 20 mm) に噴霧する。50 µg のベクター DNA を使用することによって、ENPP3 ポリペプチド (ENPP3 又は ENPP3-Fc 又は ENPP3-アルブミン) を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。

30

【0510】

(d) ENPP3 薬剤コーティング組成物 (D) - 未硬化 2 部シリコンゴムの 1% 溶液を、トリクロロエチレン中に溶解し、次いで、実施例 5 で上に記載されるようにネブライザースプレースシステムを使用してステントに噴霧する。コーティングされたステントをオーブンから取り出し、1 時間の期間冷却させる。100 µg の ENPP3 mRNA (又は ENPP3-Fc mRNA 又は ENPP3-アルブミン mRNA) を、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解する。噴霧溶液を含む 100 µl の ENPP3 mRNA (又は ENPP3-Fc mRNA 又は ENPP3-アルブミン mRNA) の体積を、各ステントのシリコンコーティングに滴下方法で適用する。架橋シリコンは溶液を吸収し、溶媒はその後室温で蒸発し、シリコン内に閉じ込められた ENPP3 mRNA (又は ENPP3-Fc mRNA 又は ENPP3-アルブミン mRNA) が残る。50 µg のベクター DNA を使用することによって、ENPP3 ポリペプチド (ENPP3 又は ENPP3-Fc 又は ENPP3-アルブミン) を発現するベクターでコーティングされたステントを調製するために、同じプロセスを繰り返すことができる。溶媒はその後、室温で蒸発し、シリコン内に閉じ込められた ENPP3 コードベクターが残る。

40

【0511】

(e) ENPP3 薬剤コーティング組成物 (E) - 10 mg の PCL (ポリカプロラクトン) ポリマー及び ENPP3 ポリペプチド (ENPP3 又は ENPP3-Fc 又は ENPP3-アルブミンのうちのいずれか 1 つ) を、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解し、10

50

mg/mlのENPP3ポリペプチド濃度に到達する。ENPP3ポリペプチド(10 mg/ml)を含む100 µlのポリマーPCL溶液を、実施例5に記載されるようにステントに噴霧する。

【0512】

(f) ENPP3薬剤コーティング組成物(F)ーシリコンを含むコーティングされたステントを、実施例5に記載されるように調製する。コーティングされたステントを、オープンから除去し、1時間の期間にわたって冷却させる。ENPP3ポリペプチド(ENPP3、ENPP3-Fc、ENPP3-アルブミンのうちのいずれか1つ)を、室温で滅菌二重蒸留水中に溶解し、10 mg/mlのENPP3ポリペプチド濃度に到達する。噴霧溶液(10 mg/ml)を含む100 µlのENPP3の体積を、各ステントのシリコンコーティングに滴下方法で適用する。架橋シリコンは溶液を吸収し、溶媒はその後室温で蒸発し、シリコン内に閉じ込められたENPP3ポリペプチドが残る。

10

【0513】

動物モデル

25から35 kgの重量の、30匹の4～5ヵ月齢の若齢ブタを、実施例5に記載されるように、商業的供給源から調達する。30個のステンレス鋼通気孔を、商業的供給源から得る。こうして得られた30のステンレス鋼ステントを、コーティングについて上に示されるプロトコルに従って、ENPP3 mRNAでコーティングする。対照セットとして使用するために、Abbottから30のベアメタルステント(BMS)を得る。次いで、ENPP3でコーティングされたステントを、エチレンオキッドを使用して滅菌し、圧縮し、バルーン血管形成術カテーテル上に取り付ける。次いで、標準的なバルーン血管形成術技術を使用して、動脈内の部位に展開する。

20

【0514】

ステントはランダムに割り当てられ、30匹のブタの左前下行枝、回旋枝、又は右冠動脈(動脈当たり1つのステント)に留置され、ブタ1匹当たり1つのコーティングされたステントである。次いで、ブタを、1日当たり75 mgのクロピドグレル及び100 mgのアスピリンで維持し、それぞれ、7日後及び14日後に殺する。ステント埋め込みの7日後又は14日後、ペントバルビタール安楽死溶液(100 mg/kg)の静脈内注射を使用して動物を安楽死させ、ステント留置された冠動脈を採取した。動脈を、ステントの近位、中間、及び遠位部分から3～5 mmのセグメントに切片化し、4%ホルマリン中で48時間固定し、パラフィン中に埋め込む。

30

【0515】

切片を、実施例1に記載されるプロトコルに従って、内膜、中膜面積、及びI/M比を決定するために、組織学及び形態計測測定に供する。ENPP3でコーティングされたステントを受けているブタから得られた動脈切片の内膜面積は、非溶出性ステンレス鋼ベアメッシュステントを有するブタからの動脈切片と比較して、有意に低減されることが予想される。I/M比は、ENPP3溶出性ステントを有するブタの動脈切片において、非溶出性ステンレス鋼ステントを有するブタと比較して、統計的に有意な減少を示すと予想される。したがって、ENPP3でコーティングされた溶出性ステントを使用することによるENPP3薬剤のインサイツ投与は、損傷部位での筋内膜増殖及び/又は再狭窄を防止及び効果的に治療することが予想される。

40

【0516】

参照による組み込み

本明細書で参照される米国特許及び外国特許並びに係属中の特許出願及び刊行物の各々及び全ての開示は、配列表及び図の内容と同様に、その全体が参照により本明細書に具体的に組み込まれる。

【0517】

等価物

当業者は、日常的な実験のみを使用して、本明細書に記載される特定の実施形態の多くの等価物を認識するか、又は確認することができるであろう。かかる等価物は、以下の特

50

許請求の範囲に包含されることが意図される。任意の複数の従属請求項又は実施例に開示される実施形態の任意の組み合わせは、本開示の範囲内であることが企図される。

【0518】

他の実施形態

前述の説明から、本開示に従う範囲内である病理学的石灰化又は骨化の存在によって特徴付けられるあらゆる疾患を治療するための、当該技術分野で既知の異なるプロモーター若しくはエンハンサー、又は異なる細胞型を有する異なるウイルスベクターにおける、ENPP1若しくはENPP3又はそれらの組み合わせの機能的バリエーションを発現する異なるシグナル配列の使用を含む、様々な使用及び条件にそれを採用するために、本明細書に記載される開示に変形及び修正がなされ得ることは明らかであろう。本開示による他の実施形態は、以下の請求項の範囲内である。

10

【0519】

本明細書の変数の任意の定義における要素の一覧の列挙は、任意の単一の要素又は列挙された要素の組み合わせ（又は部分的組み合わせ）としてのその変数の定義を含む。本明細書の実施形態の列挙は、任意の単一の実施形態として、又は任意の他の実施形態若しくはその一部と組み合わせたその実施形態を含む。

【0520】

本明細書で言及される全ての刊行物及び特許出願は、本開示が関連する当業者の技術レベルを示すものである。全ての刊行物及び特許出願は、各個々の刊行物又は特許出願が、参照により組み込まれることを具体的かつ個別に示唆された場合と同じ程度で、参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0521】

他の実施形態は、以下の請求項の範囲内である。

【図面】

【図1】

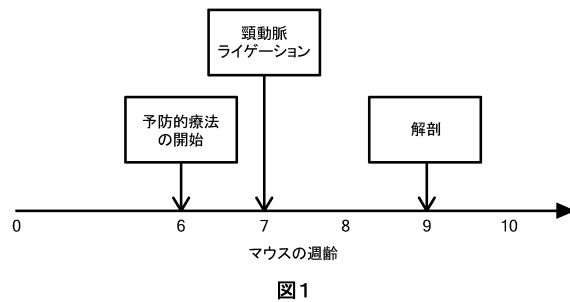


図1

【図2-1】

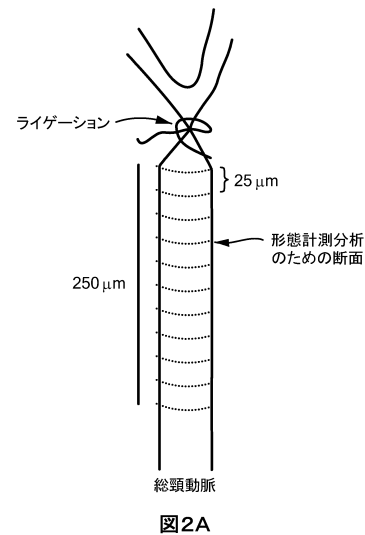


図2A

30

40

50

【図 2 - 2】

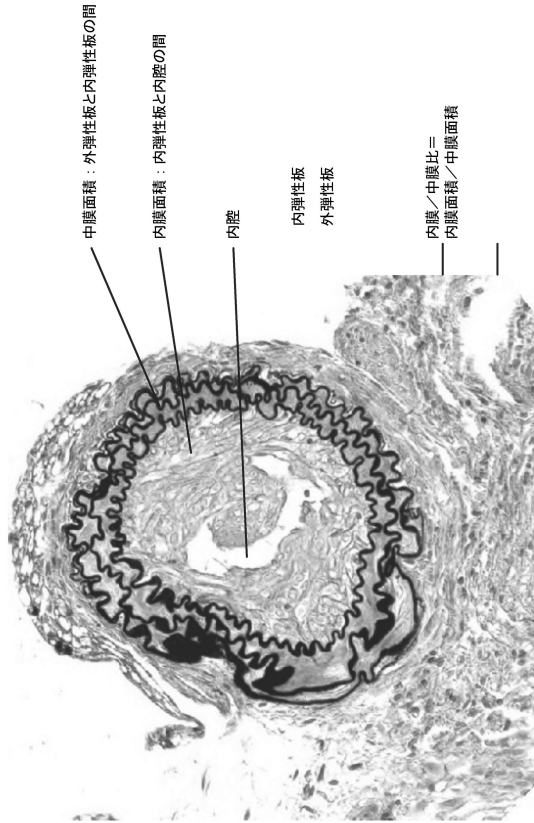


図 2B

エラスチン・ワンギンソン染色

【図 3】

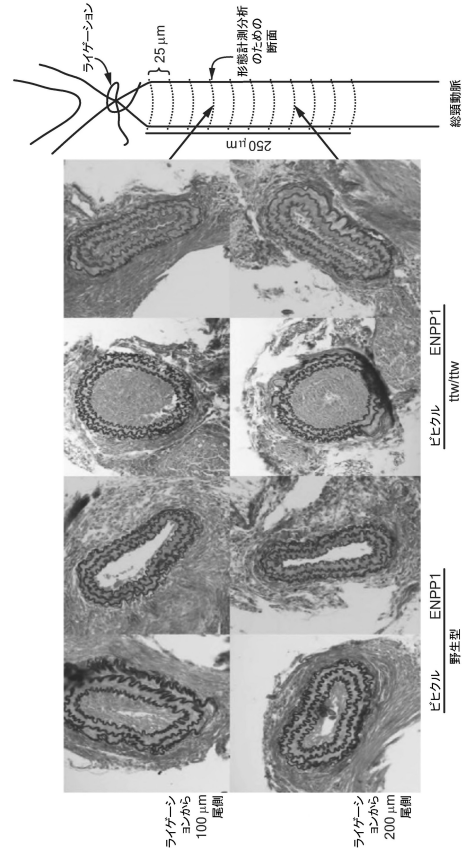
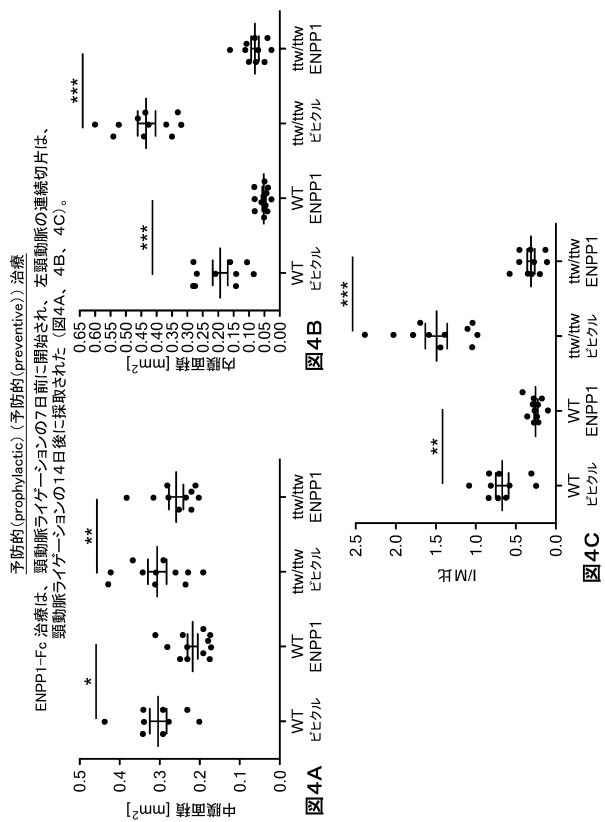
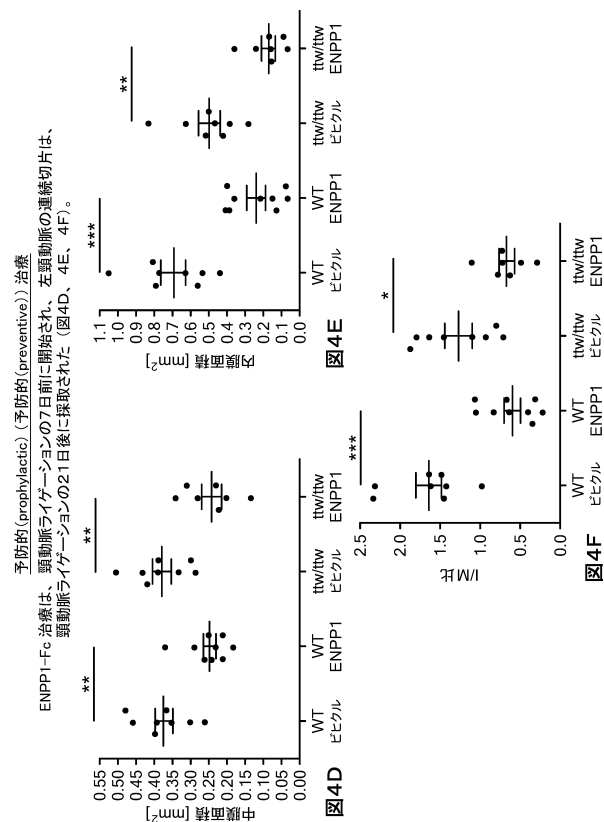


図 3

【図 4 - 1】



【図 4 - 2】



10

20

30

40

50

【図 4 - 3】

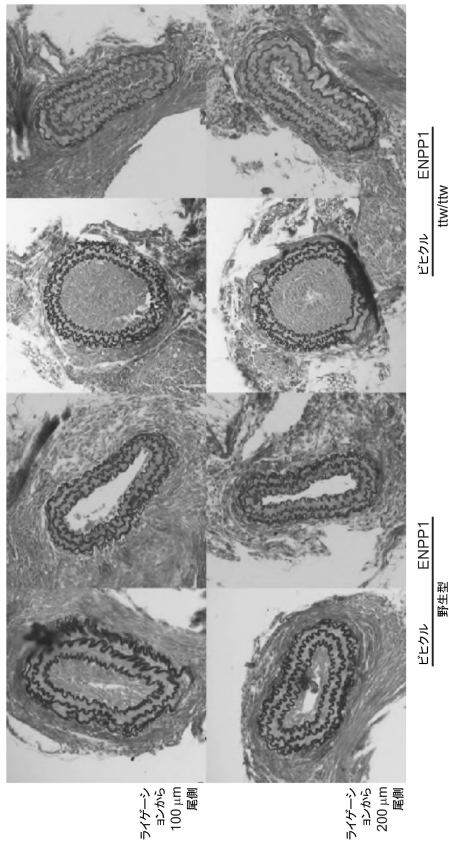


図4G

【図 5 - 1】

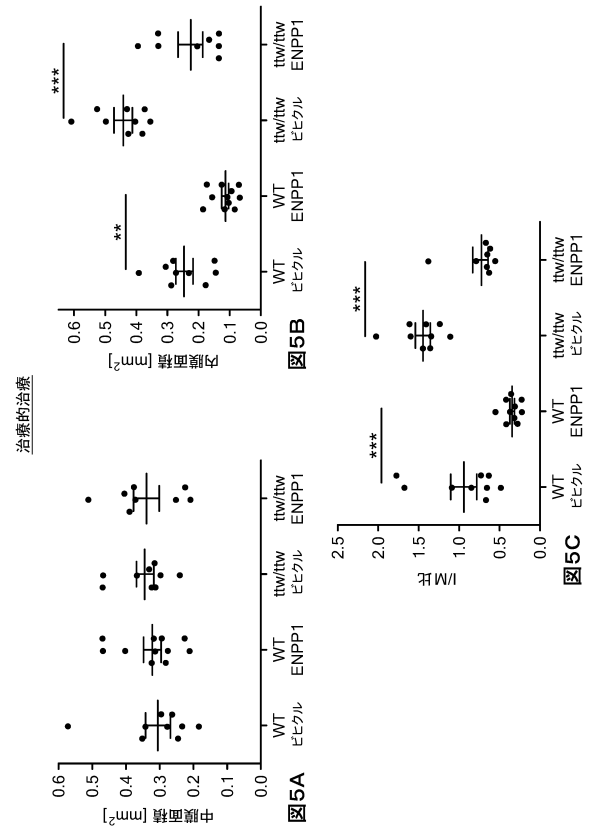


図5B

図5A

図5C

【図 5 - 2】

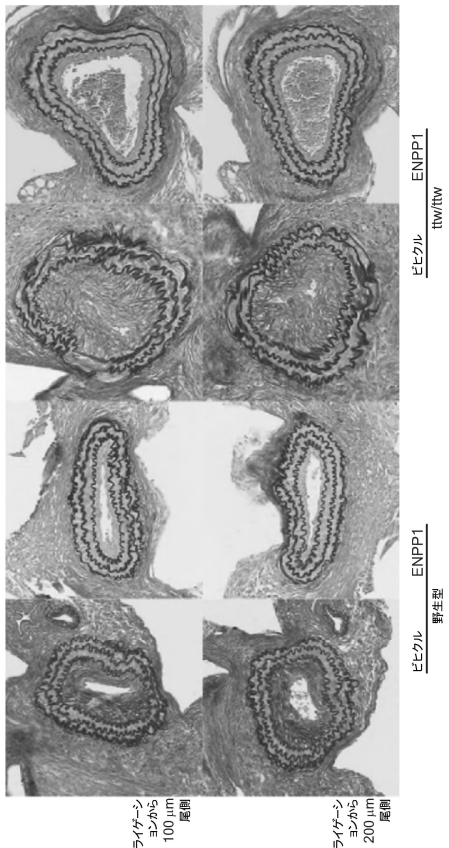


図5D

【図 6】

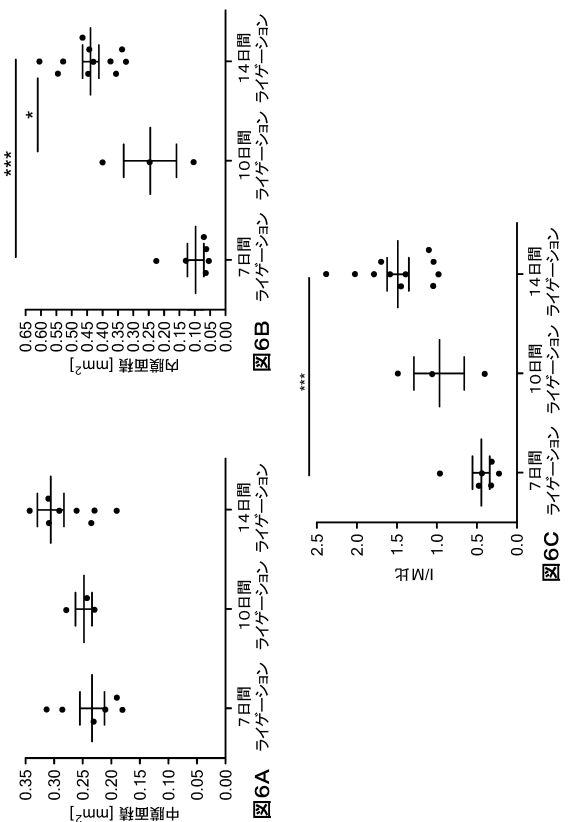


図6A

図6B

図6C

10

20

30

40

50

【図 7 - 1】

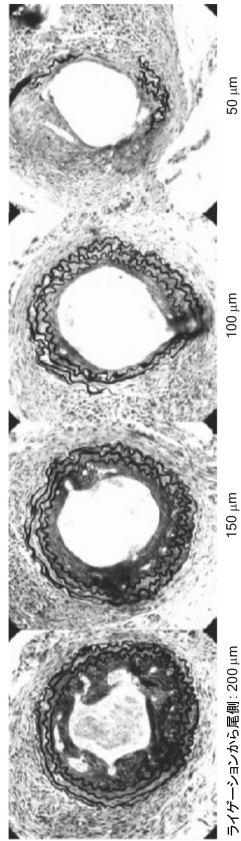


図7A

【図 7 - 2】

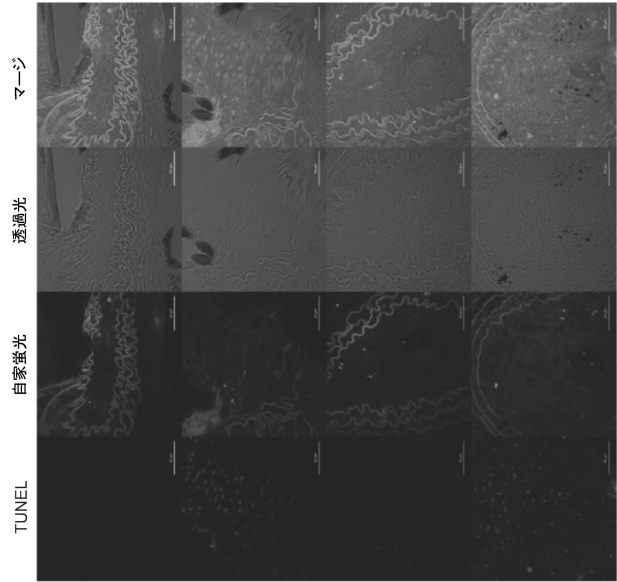
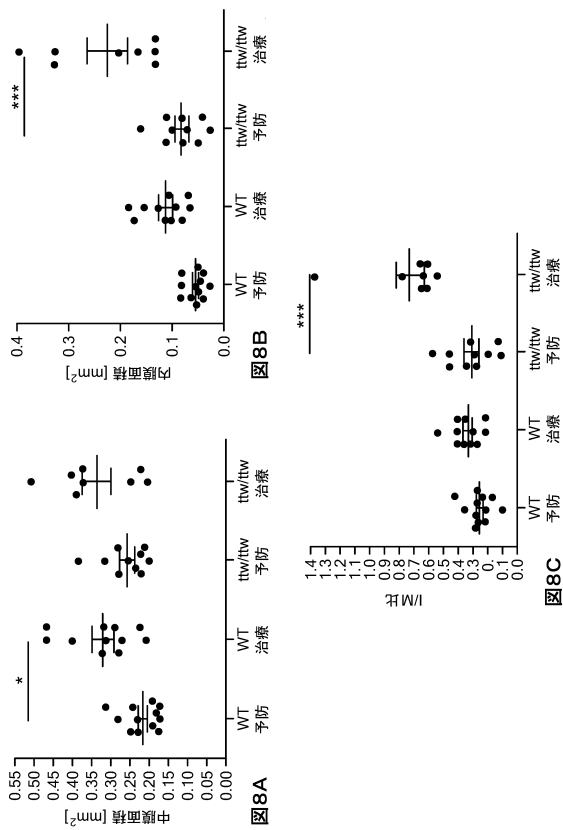


図7B

【図 8】



【図 9 A】

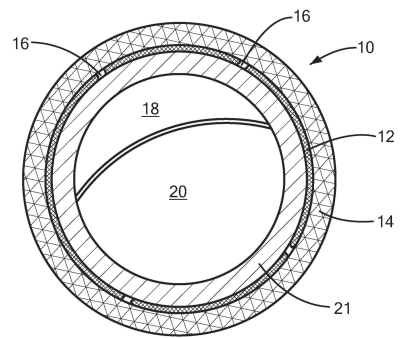


図9A

【図 9 B】

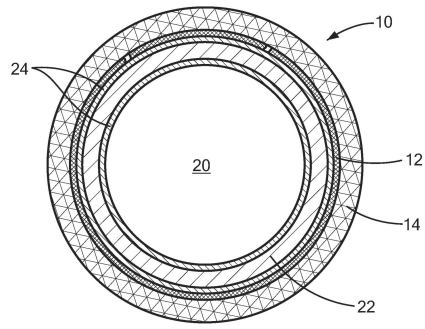


図9B

10

【配列表】

202352736500001.app

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/34576

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - A61K 38/46; C12N 9/16; A61F 2/07; A61P 9/10 (2021.01) CPC - A61K 38/46; C12N 9/16; C12Y 301/0401; A61F 2/07; A61L 31/16; A61L 31/03; A01K 2267/03; A61P 9/10														
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC														
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document														
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X --- Y</td> <td>WO 2017/218786 A1 (Alexion Pharmaceuticals, Inc.) 21 December 2017 (21.12.2017). Especially pg 40 ln 5-8, pg 40 ln 27-28, pg 42 ln 3-6</td> <td>1, 2 ----- 3, 7-9, 14, 15/14, 76-78, 80-82, 84, 85</td> </tr> <tr> <td>X --- Y</td> <td>WO 2019/067502 A1 (Alexion Pharmaceuticals, Inc.) 04 April 2019 (04.04.2019). Especially pg 6 ln 20-21, pg 12 ln 27-31, pg 27 ln 23-27</td> <td>13, 15/13 ----- 14, 15/14, 87-89</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2018/0042738 A1 (Sino Medical Sciences Technology, Inc.) 15 February 2018 (15.02.2018). Especially para [0009], [0012], [0030], [0227], [0229]</td> <td>3, 7-9, 76-78, 80-82, 84, 85, 87-89</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X --- Y	WO 2017/218786 A1 (Alexion Pharmaceuticals, Inc.) 21 December 2017 (21.12.2017). Especially pg 40 ln 5-8, pg 40 ln 27-28, pg 42 ln 3-6	1, 2 ----- 3, 7-9, 14, 15/14, 76-78, 80-82, 84, 85	X --- Y	WO 2019/067502 A1 (Alexion Pharmaceuticals, Inc.) 04 April 2019 (04.04.2019). Especially pg 6 ln 20-21, pg 12 ln 27-31, pg 27 ln 23-27	13, 15/13 ----- 14, 15/14, 87-89	Y	US 2018/0042738 A1 (Sino Medical Sciences Technology, Inc.) 15 February 2018 (15.02.2018). Especially para [0009], [0012], [0030], [0227], [0229]	3, 7-9, 76-78, 80-82, 84, 85, 87-89
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
X --- Y	WO 2017/218786 A1 (Alexion Pharmaceuticals, Inc.) 21 December 2017 (21.12.2017). Especially pg 40 ln 5-8, pg 40 ln 27-28, pg 42 ln 3-6	1, 2 ----- 3, 7-9, 14, 15/14, 76-78, 80-82, 84, 85												
X --- Y	WO 2019/067502 A1 (Alexion Pharmaceuticals, Inc.) 04 April 2019 (04.04.2019). Especially pg 6 ln 20-21, pg 12 ln 27-31, pg 27 ln 23-27	13, 15/13 ----- 14, 15/14, 87-89												
Y	US 2018/0042738 A1 (Sino Medical Sciences Technology, Inc.) 15 February 2018 (15.02.2018). Especially para [0009], [0012], [0030], [0227], [0229]	3, 7-9, 76-78, 80-82, 84, 85, 87-89												
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.														
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family														
Date of the actual completion of the international search 19 October 2021		Date of mailing of the international search report NOV 10 2021												
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Keri Rodriguez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300												

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/34576

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/34576

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 4-6, 10-12, 16-32, 36-38, 42-44, 47-64, 79, 83, 86, 90-104, 108, 112, 115, 118-134, 146,
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
—continued on Extra Sheet—

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-3, 7-9, 13-15, 76-78, 80-82, 84, 85, 87-89

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/34576

Continuation of Box III: Observations where Unity of Invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I: Claims 1-3, 7-9, 13-15, 76-78, 80-82, 84, 85, 87-89, drawn to a method involving administering an amount of ENPP1 agent.

Group II: Claims 33-35, 39-41, 45-46, 105-107, 109-111, 113-114, 116-117, drawn to a method involving administering an amount on ENPP3 agent.

Group III: Claims 65-75, 148, drawn to a coated stent comprising an ENPP1 coating on the stent.

Group IV: Claims 135-145, drawn to a coated stent comprising an ENPP3 coating on the stent.

The inventions listed as Groups I-IV do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I has the special technical feature of a method involving administering an amount of ENPP1 agent, not required by Groups II-IV.

Group II has the special technical feature of a method involving administering an amount on ENPP3 agent, not required by Groups I, III, IV.

Group III has the special technical feature of a coated stent comprising an ENPP1 coating on the stent, not required by Groups I, II, IV.

Group IV has the special technical feature of a coated stent comprising an ENPP3 coating on the stent, not required by Groups I-III.

Common Technical Features:

1. Groups I and III have the common technical feature of an ENPP1 agent.

2. Groups II and IV have the common technical feature of an ENPP3 agent.

3. Groups I and II have the common technical feature of administering a drug agent to prevent vascular smooth muscle proliferation.

4. Groups I-IV have the common technical feature of a stent coated with a therapeutic agent.

However, said common technical features do not represent a contribution over the prior art, and are disclosed by WO 2017/218786 A1 to Alexion Pharmaceuticals, Inc. (hereinafter "Alexion"), in view of WO 2019/217373 A1 to Yale University (hereinafter "Yale") and US 2004/0213826 A1 to Marx et al. (hereinafter "Marx").

As to common technical feature #1, Alexion discloses an ENPP1 agent (pg 7 In 23-24; "For clarity, "NPP1" and "ENPP1" refer to the same protein and are used interchangeably herein"; claim 1; "A method for treating a human patient having detected myointimal proliferation, the method comprising administering to the patient one or more doses of a recombinant human soluble ectonucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase (hsNPP1), active fragment or fusion protein thereof").

As to common technical feature #2, Yale discloses an ENPP3 agent (claim 10; "administering a therapeutically effective amount of a soluble ENPP3 polypeptide to the subject").

As to common technical feature #3, Alexion discloses administering a drug agent to prevent vascular smooth muscle proliferation (claim 1; "A method for treating a human patient having detected myointimal proliferation, the method comprising administering to the patient one or more doses of a recombinant human soluble ectonucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase (hsNPP1), active fragment or fusion protein thereof"; pg 1 In 13-14; "Myointimal proliferation (also known as myointimal hyperplasia) is an arterial wall smooth muscle cell (SMC) proliferative disorder").

As to common technical feature #4, Marx discloses a stent coated with a therapeutic agent (claims 1 "A medical device for use in inhibiting proliferation and/or migration of smooth muscle cells, wherein the medical device has a coating comprising an HDAC inhibitor"; claim 4 "The medical device of claim 1, wherein the medical device is a stent for implantation in a blood vessel").

As the common technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered common special technical features that would otherwise unify the groups. The inventions lack unity with one another.

Therefore, Groups I-IV lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Item 4 (continued): 4-6, 10-12, 16-32, 36-38, 42-44, 47-64, 79, 83, 86, 90-104, 108, 112, 115, 118-134, 146, 147, 149 are multiple dependent claims and are not drafted according to the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I	テーマコード (参考)	
A 6 1 L	31/12 (2006.01)	A 6 1 L	31/16	4 C 0 8 7
A 6 1 L	31/04 (2006.01)	A 6 1 L	31/12	4 H 0 4 5
A 6 1 L	33/12 (2006.01)	A 6 1 L	31/04	1 2 0
A 6 1 L	33/06 (2006.01)	A 6 1 L	33/12	
A 6 1 L	31/06 (2006.01)	A 6 1 L	33/06	3 0 0
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 L	31/06	
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	47/62 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	47/65 (2017.01)	A 6 1 K	47/62	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	47/65	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	W
A 6 1 L	31/02 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	Y
C 1 2 N	15/55 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 1 2 N	15/86 (2006.01)	A 6 1 L	31/02	
C 1 2 N	9/16 (2006.01)	C 1 2 N	15/55	
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 1 2 N	15/86	Z
C 0 7 K	16/00 (2006.01)	C 1 2 N	9/16	
C 0 7 K	14/76 (2006.01)	C 0 7 K	19/00	
		C 0 7 K	16/00	
		C 0 7 K	14/76	

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. テフロン

e l m s - U n i v e r s i t a e t M u e n s t e r

ドイツ連邦共和国 4 8 1 4 9 ミュンスター シュロスプラッツ 2

S c h l o s s p l a t z 2 , 4 8 1 4 9 M u e n s t e r , G e r m a n y

(74)代理人 100114890

弁理士 アインゼル・フェリックス＝ラインハルト

(74)代理人 100098501

弁理士 森田 拓

(74)代理人 100116403

弁理士 前川 純一

(74)代理人 100134315

弁理士 永島 秀郎

(74)代理人 100162880

弁理士 上島 類

(72)発明者 フランク ルツチュ

ドイツ連邦共和国 4 8 1 4 9 ミュンスター アルバート＝シュヴァイツァー＝キャンパス 1 ゲ
ボイデ ディー5 ユニヴァーシティ オブ ミュンスター

(72)発明者 デイヴィッド トンプソン

アメリカ合衆国 0 2 2 1 0 マサチューセッツ ボストン サマー ストリート 3 2 1 スイート 4 0 0

(72)発明者 イヴォンヌ ニチュケ

ドイツ連邦共和国 4 8 1 4 9 ミュンスター アルバート＝シュヴァイツァー＝キャンパス 1 ゲ
ボイデ ディー5 ユニヴァーシティ オブ ミュンスター

(72)発明者 ロバート ターケルトーブ

アメリカ合衆国 0 2 2 1 0 マサチューセッツ ボストン サマー ストリート 3 2 1 スイート 4 0 0

F ターム (参考) 4B050 CC05 LL01
4C076 AA94 BB13 BB16 BB32 CC11 CC29 CC41 EE59 EE59M
4C081 AC09 BA05 BA16 CA172 CD112 CD35 CE11 CG05 DC03
4C084 AA02 AA03 AA13 BA01 BA08 BA22 BA23 BA41 BA42 BA44
CA53 DC22 MA66 MA67 NA12 NA14 ZA361 ZA451 ZC191
4C085 AA35 BB42 CC05 CC31 DD62 EE01 GG02 GG04 GG10
4C087 AA01 AA02 AA03 BC83 CA12 MA66 MA67 NA12 NA14 ZA36
ZA45 ZC19
4H045 AA10 AA11 AA30 BA41 DA76 DA89 EA28 FA72 FA74