

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2012-80899

(P2012-80899A)

(43) 公開日 平成24年4月26日(2012.4.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/29 (2006.01)	A 2 3 L 1/29	4 B 0 2 4
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	4 C 0 8 4
A 6 1 K 35/14 (2006.01)	A 6 1 K 35/14 Z	4 C 0 8 7
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53 D	4 H 0 4 5

審査請求 有 請求項の数 1 O L 外国語出願 (全 178 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2011-289829 (P2011-289829)	(71) 出願人	506361100 ノバルティス ヴァクシNZ アンド ダ イアグノスティクス, インコーポレイテ ッド アメリカ合衆国 カリフォルニア 946 08-2916, エミリービル, ホー トン ストリート 4560
(22) 出願日	平成23年12月28日(2011.12.28)		
(62) 分割の表示	特願2007-555399 (P2007-555399) の分割	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
原出願日	平成18年2月7日(2006.2.7)	(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
(31) 優先権主張番号	11/056, 950	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(32) 優先日	平成17年2月11日(2005.2.11)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 プリオン特異的なペプチド試薬

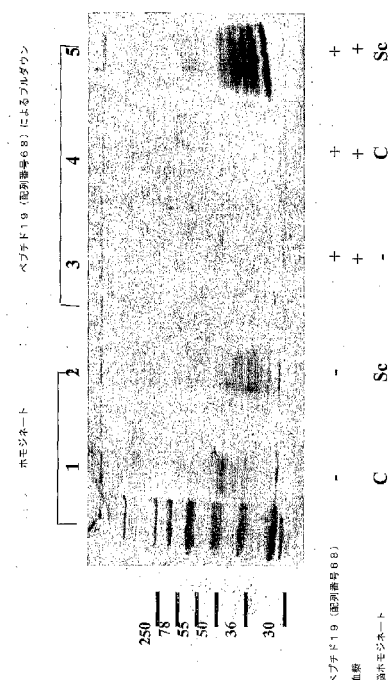
(57) 【要約】

【課題】プリオンタンパク質の PrP^{Sc} 型と優先的に相互作用するペプチド試薬の提供。

【解決手段】プリオンおよびプリオン関連疾患についての検出、診断、精製、治療および予防のために試薬またはこの試薬に対する抗体を使用する方法も記載される。これらのペプチド試薬は、病原性プリオンを単離するためか、またはサンプル中の病原性プリオンの存在を検出するためのツールとして、治療的組成物または予防的組成物の成分として、および/またはプリオン特異的抗体を作製するためなどの幅広い用途において使用することができる。例えば、PrP^Cと比較して、PrP^{Sc}と優先的に相互作用するペプチド試薬は、生存被験体から得られたサンプル中の病原性の直接的な検出、例えば、疾患の診断または献血サンプルのスクリーニングまたは臓器提供用の臓器のスクリーニングに有用である。

【選択図】図4

FIGURE 4: ヒト血漿およびマウス脳における PrP^{Sc} に対するペプチド特異性



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

本願明細書に記載された発明。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、プリオンタンパク質と相互作用するペプチド試薬、これらのペプチド試薬をコードするポリヌクレオチド、このようなペプチド試薬およびポリヌクレオチドを使用して抗体を作製する方法ならびにこれらの方法を使用して作製された抗体に関する。本発明は、さらに、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するためにこれらのペプチド試薬を使用する方法および治療的組成物または予防的組成物中の成分としてこれらのペプチド試薬を使用する方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

(背景)

タンパク質コンホメーション病は、伝達性海綿状脳症を含む種々の無関係な疾患を含み、それらの疾患は、後に異常タンパク質型の自己会合をもたらすタンパク質（コンホメーション病タンパク質）の異常なコンホメーション遷移に起因し、結果的に組織沈着および損傷が起きる。これらの疾患はまた、臨床像において顕著な類似点、代表的には、診断から種々の長さの潜伏期を経て死を迎えるという進行の速さを共有する。

20

【0003】

コンホメーション病の1つの群は、「プリオン病」または「伝達性海綿状脳症(TSE)」と呼ばれる。ヒトにおけるこれらの疾患としては、クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー症候群(GSS)、致死性家族性不眠症およびクールーが挙げられる(例えば、非特許文献1および非特許文献2を参照のこと)。動物におけるTSEとしては、ヒツジスクレイビー、ウシ海綿状脳症(BSE)、伝達性ミンク脳症および捕獲されたミュールジカおよびヘラジカの慢性消耗病が挙げられる(Gajdusek, (1990) Subacute Spongiform Encephalopathies: Transmissible Cerebral Amyloidoses Caused by Unconventional Viruses. Pp. 2289-2324 In: Virology, Fields, ed. New York: Raven Press, Ltd.)。伝達性海綿状脳症は、同じ特徴：霊長類、げっ歯類およびトランスジェニックマウスを含む実験動物に実験的に接種されるとき、疾患を伝染させるプリオンタンパク質の異常な(ベータリッチ、プロテイナーゼK耐性)コンホメーションの存在によって特徴付けられる。

30

【0004】

近年、ウシ海綿状脳症の急速な蔓延とヒトにおける海綿状脳症の高発症率との相関が、非ヒト哺乳動物における伝達性海綿状脳症の検出についての関心を顕著に高めている。これらの疾患の偶発的な伝染の悲劇的な結果(例えば、Gajdusek, Infectious Amyloids, and Prusiner Prions In Fields Virology. Fields, et al., eds. Lippincott-Ravin, Pub. Philadelphia (1996); Brownら、(1992) Lancet, 340: 24-27を参照のこと)、汚染除去の困難性(Asheerら、(1986) pages 59-71 In: Laboratory Safety: Principles and Practices, Miller ed. Am. Soc. Microb.)およびウシ海綿状脳症についての近年の関心(British Med. J. (1995) 311: 1415-1421)から、伝達性海綿状脳症に罹患したヒトおよび動物を同定する診断テストおよび感染した被験体に対する治療法の両方が切迫して求められている。

40

50

【 0 0 0 5 】

プリオンは、海綿状脳症（プリオン病）を引き起こす伝染性病原体である。プリオンは、細菌、ウイルスおよびウイロイドとはかなり異なる。有力な仮説は、他のすべての伝染性病原体とは異なり、感染は、プリオンタンパク質の異常なコンホメーションによって引き起こされ、その異常なコンホメーションは、鑄型として作用し、そして正常なプリオンコンホメーションを異常なコンホメーションに変換するというものである。プリオンタンパク質は、1980年代初頭に初めて特徴付けられた（例えば、非特許文献3；非特許文献4；非特許文献5を参照のこと）。その後、完全なプリオンタンパク質をコードする遺伝子がクローニングされ、塩基配列の決定がなされ、そしてトランスジェニック動物において発現された。例えば、非特許文献6を参照のこと。

10

【 0 0 0 6 】

プリオン病の重要な特徴は、プリオンタンパク質の正常な（細胞性または非病原性）型（PrP^C）からスクレイピータンパク質とも呼ばれる異常な形態のタンパク質（PrP^{Sc}）が形成されることである。例えば、非特許文献7；非特許文献8；非特許文献9；非特許文献10を参照のこと。光学分光学および結晶学の研究から、疾患に関連したプリオンの形態は、主にアルファヘリックスに折りたたまれた非疾患型と比較して、実質的にベータシート構造に富んでいることが明らかになった。例えば、非特許文献11；非特許文献12；非特許文献13）を参照のこと。この構造変化は、生化学的特性の変化後に起きるとされている：PrP^Cは、非変性界面活性剤に可溶性であり、PrP^{Sc}は、不溶性である；PrP^Cは、プロテアーゼによって容易に消化される一方で、PrP^{Sc}は、部分的に耐性であり、「PrPres」型（Baldwinら、（1995）；Cohen & Prusiner（1995））、「PrP27-30」型（27～30kDa）または「PK耐性」（プロテイナーゼK耐性）型として知られるN末端で切断されたフラグメントを形成する。さらに、PrP^{Sc}は、PrP^Cを病原性のコンホメーションに変換し得る。例えば、非特許文献14；非特許文献15を参照のこと。

20

【 0 0 0 7 】

生存被験体および生存被験体から得られるサンプルにおけるコンホメーション病タンパク質の病原性アイソフォームを検出することは、困難であると証明されている。従って、被験体が死に至る前の、これらの伝染性状態およびアミロイド含有状態についての最終的な診断および姑息的処置は、実質的に未だ対処されていない難題として残されている。脳バイオプシーの組織病理学検査は、被験体にとって危険であり、バイオプシーサンプルが採取される場所によっては、病変およびアミロイド沈着を見逃す可能性がある。しかしながら、動物、患者および医療関係者にとってバイオプシーに関する危険性は未だ存在する。さらに、動物における脳テストの結果は、その動物が食料供給に供されるまでは、通常得られない。さらに、プリオンペプチドに対して作製される抗体は、変性したPrP^{Sc}およびPrP^Cの両方を認識するが、伝染性（未変性）PrP^{Sc}を選択的に認識することはできない。（例えば、非特許文献16を参照のこと）

30

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

【 0 0 0 8 】

【非特許文献1】Harrison's Principles of Internal Medicine, Isselbacherら、編、McGraw-Hill, Inc. New York（1994）

【非特許文献2】Medoriら、N. Engl. J. Med.（1992）326：444-9

【非特許文献3】Bolton, McKinleyら、Science（1982）218：1309-1311

【非特許文献4】Prusiner, Boltonら、Biochemistry（1982）21：6942-6950

【非特許文献5】McKinley, Boltonら、Cell（1983）35：57

40

50

- 6 2

【非特許文献6】Basler, Oeschle, Cell (1986) 46: 417 - 428

【非特許文献7】Zhang, Biochem. (1997) 36(12): 3543 - 3553

【非特許文献8】Cohen & Prusiner, Ann Rev. Biochem. (1998) 67: 793 - 819

【非特許文献9】Pan, Proc Natl Acad Sci USA (1993) 90: 10962 - 10966

【非特許文献10】Safar, J Biol Chem (1993) 268: 20276 - 20284 10

【非特許文献11】Wille, Proc. Natl Acad. Sci. USA (2001) 99: 3563 - 3568

【非特許文献12】Peretz, J. Mol Biol. (1997) 273: 614 - 622

【非特許文献13】Cohen & Prusiner, Chapter 5: Structural Studies of Prion Proteins in PRION BIOLOGY AND DISEASES, ed. S. Prusiner, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999, pp: 191 - 228 20

【非特許文献14】Kaneko, Proc. Natl Acad. Sci. USA (1995) 92: 11160 - 11164

【非特許文献15】Caughey, Br Med Bull. (2003) 66: 109 - 20

【非特許文献16】Matsunaga, PROTEINS: Structure, Function and Genetics (2001) 44: 110 - 118

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

従って、様々なサンプル、例えば、生存被験体から得られたサンプル、輸血用血液、家畜動物ならびに他のヒト用および動物用の食品供給物における病原性プリオンタンパク質の存在を検出するための組成物および方法が必要である。さらに、プリオン関連疾患を診断し、そして処置するための方法および組成物も必要とされている。 30

【課題を解決するための手段】

【0010】

(発明の要旨)

本発明は、プリオンタンパク質と相互作用するペプチド試薬に部分的に関する。より具体的には、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、プリオンタンパク質の病原性アイソフォームと優先的に相互作用する。これらのペプチド試薬は、病原性プリオンを単離するためか、またはサンプル中の病原性プリオンの存在を検出するためのツールとして、治療的組成物または予防的組成物の成分として、および/またはプリオン特異的抗体を作製するためなどの幅広い用途において使用することができる。例えば、PrP^Cと比較して、PrP^{Sc}と優先的に相互作用するペプチド試薬は、生存被験体から得られたサンプル中の病原型の直接的な検出、例えば、疾患の診断または献血サンプルのスクリーニングまたは臓器提供用の臓器のスクリーニングに有用である。 40

【0011】

より広い局面において、本発明は、コンホメーション病タンパク質の病原型と優先的に相互作用するペプチド試薬を含む。特定の実施形態において、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、非病原型のプリオンタンパク質と比較して、病原型のプリオンタンパク質と優先的に相互作用する。本明細書中において記載されるペプチド試薬は、部分的または完全に 50

合成され得、例えば、１個以上の以下の部分：環化された残基もしくはペプチド、ペプチドの多量体、標識および／または他の化学部分を含み得る。適当なペプチド試薬の例としては、配列番号１２～２６０のペプチドから誘導されるもの、例えば、配列番号１３３～２６０に示されるものなどのペプチドならびにそれらのアナログおよび誘導体が挙げられる。本明細書中に記載されるペプチド試薬は、任意のコンホメーション病タンパク質、例えば、プリオンタンパク質（例えば、病原性タンパク質 Pr P^S^C および非病原型 Pr P^C）と相互作用し得る。特定の実施形態において、ペプチド試薬は、Pr P^Cと比較して、Pr P^S^Cと優先的に相互作用する。ペプチド試薬は、一般に、２種以上に由来する Pr P^S^Cに特異的であるが、１種に由来する Pr P^S^Cに特異的であってもよい。

【００１２】

別の実施形態において、本明細書中に記載される配列のいずれかに示されるペプチドから誘導されるペプチド試薬が提供される。特定の実施形態において、ペプチド試薬は、プリオンタンパク質の領域から誘導され、例えば、残基２３～４３または８５～１５６（例えば、配列番号２に示されるマウスプリオン配列に従って付番された２３～３０、８６～１１１、８９～１１２、９７～１０７、１１３～１３５および１３６～１５６）に対応するそれらの領域が使用される。便宜上、上で列挙されたアミノ酸残基番号は、配列番号２におけるマウスプリオンタンパク質配列に対応する番号である；当業者は、当該分野で公知の配列および本明細書中に提供される教示に基づいて他の種のプリオンタンパク質において対応する領域を容易に同定することができる。例示的なペプチド試薬としては、配列番号

【００１３】

【化５】

66, 67, 68, 72, 81, 96,

97, 98, 107, 108, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 133, 134, 135 133, 134,
135, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153,
154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171,
172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255,
もしくは256

を有するペプチド；または配列番号

【００１４】

【化６】

14, 35, 36, 37, 40, 50, 51, 77, 89, 100, 101,

109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 129, 130, 131, 132, 128, 183, 184, 185,
186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203,
204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221,
222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239,
240, 241, 242, 243, 244, 245, 247, 257, 258, 259, もしくは260

を有するペプチド；または配列番号５６、５７、６５、８２、８４または１３６を有するペプチドから誘導されるものが挙げられる。

【００１５】

別の局面において、本発明は、本明細書中において記載されるペプチド試薬の１個以上およびプリオンタンパク質を含む複合体を含む。

【００１６】

別の局面において、プリオンタンパク質を認識する抗体の作製方法が提供され、その方法は、本明細書中において記載されるペプチド試薬（またはそれらのペプチド試薬をコードするポリヌクレオチド）のいずれかを被験体（例えば、動物）に投与する工程を含む。

特定の実施形態において、その方法は、さらに、その動物から抗体を単離する工程を含む。本発明の関連する局面は、その方法によって作製される抗体を含む。好ましい抗体は、病原型に特異的である。

【0017】

さらに別の局面において、本発明は、本明細書中において記載される抗体のいずれかおよびプリオンタンパク質を含む複合体を含む。特定の実施形態において、プリオンタンパク質は、非病原性アイソフォームであるが、他の実施形態において、プリオンタンパク質は、病原性アイソフォームである。

【0018】

本明細書中において記載されるペプチド試薬および/または抗体のいずれかは、全体的または部分的に、1個以上のポリヌクレオチドによってコードされ得、それらはまた、本発明の一部を形成する。

【0019】

さらに別の局面において、プリオンタンパク質の存在を検出するための方法が提供される。その検出方法は、とりわけ、(例えば、ヒト被験体または非ヒト動物被験体における)プリオン関連疾患を診断するため、実質的にPrP^{Sc}を含まない血液供給物、血液供給物供給物または食品供給物を保証するため、移植のための器官および組織サンプルを分析するため、手術道具および手術機器の汚染除去をモニターするため、ならびに病原性プリオンの存在の有無の知見が重要である他の任意の状況のための方法と組み合わせて使用され得る。

【0020】

検出方法は、病原性プリオンアイソフォームとの本発明のペプチド試薬の優先的な相互作用に依存する。特定の実施形態において、生物学的サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法が提供される。

【0021】

1つの実施形態において、この方法は、病原性プリオンが存在する場合、ペプチド試薬と病原性プリオンとが相互作用し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと、本明細書中において記載される1個以上のペプチド試薬とを接触させる工程;および病原性プリオンをペプチド試薬に結合することによってサンプル中の病原性プリオンの存在の有無を検出する工程を含む。ペプチド試薬と病原性プリオンとの相互作用は、溶液中において実施され得るか、または1個以上の反応物が固相内または固相上に提供され得る。本発明のペプチド試薬が、捕捉試薬、検出試薬またはその両方として使用され得るサンドイッチタイプのアッセイが、実施され得る。他のプリオン結合試薬(例えば、変性プリオンタンパク質に結合する抗体および他の結合分子)が、この局面において、本発明のペプチド試薬と組み合わせて使用され得る。

【0022】

この実施形態の1つの局面において、本発明の1個以上のペプチド試薬は、固体支持体上に提供され、そして病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンがペプチド試薬に結合し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと接触させる。任意の非病原性プリオンを含む未結合サンプル物質は、除去され得、そしてペプチド試薬に結合したままの状態か、またはペプチド試薬からの解離後のいずれかで、病原性プリオンが検出され得る。病原性プリオンは、検出可能に標識されたペプチド試薬(病原性プリオンを「捕捉する」ために使用される同じペプチド試薬または本発明の第2のペプチド試薬のいずれか)または検出可能に標識された抗プリオン抗体もしくは他のプリオン結合試薬を使用して検出され得る。この抗体またはプリオン結合試薬は、プリオンの病原型に特異的である必要はない。

【0023】

この実施形態の別の局面において、プリオン結合試薬が、固体支持体上に提供され、そして病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンがプリオン結合試薬に結合し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと接触させる。未結合サンプル物質が

10

20

30

40

50

除去され得、そして病原性プリオンがペプチド試薬に結合したままの状態か、またはペプチド試薬からの解離後のいずれかで検出され得る。病原性プリオンは、本発明の１個以上の検出可能に標識されたペプチド試薬を使用して検出され得る。

【００２４】

この実施形態の別の局面において、サンプル中の病原性プリオンは、固体支持体（例えば、ＥＬＩＳＡプレート）に非特異的に結合し得、そして病原性プリオンアイソフォームと優先的に相互作用する本発明の１個以上の検出可能に標識されたペプチド試薬を結合することによって検出され得る。

【００２５】

さらなる実施形態において、この方法は、病原性プリオンが存在する場合、ペプチド試薬が病原性プリオンに結合し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと、配列番号１２～２６０の配列を有するペプチドならびにそれらのアナログおよび誘導体からなる群から選択される１個以上のペプチド試薬とを接触させる工程；および病原性プリオンをペプチド試薬に結合することによってサンプル中の病原性プリオンの存在の有無を検出する工程を含む。好ましい実施形態において、サンプルは、配列番号１３３～２６０の配列を有するペプチドすべてならびにそれらのアナログおよび誘導体からなる群から選択される１個以上のペプチド試薬と接触される。

10

【００２６】

なおも他の実施形態において、サンプル中の病原性プリオンを検出するための方法が提供され、その方法は、以下の工程：第１のペプチドを含む固体支持体を提供する工程、ここで、第１のペプチドは、 PrP^{Sc} と優先的に相互作用する本明細書中で記載されるような１個以上のペプチド試薬を含み；サンプル中に病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンが第１のペプチドに結合し得る条件下で、固体支持体とサンプルとを接触させる工程；第２のペプチドが第１のペプチドによって結合された病原性プリオンに結合し得る条件下で固体支持体と検出可能に標識された第２のペプチドとを接触させる工程、ここで、第２のペプチドは、 PrP^{Sc} タンパク質と優先的に相互作用する、本明細書中において記載される１個以上のペプチド試薬を含み；および第１のペプチドと、サンプル由来の病原性プリオンと、第２のペプチドとの間に形成される複合体を検出することによって、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出する工程を含む。

20

【００２７】

なおも他の実施形態において、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法が本明細書中に提供され、その方法は、以下の工程：プリオン結合試薬を含む固体支持体を提供する工程、ここで、プリオン結合試薬は、プリオンタンパク質と結合し；サンプル中にプリオンタンパク質が存在する場合、プリオンタンパク質がプリオン結合試薬に結合し得る条件下で、固体支持体とサンプルとを接触させる工程；固体支持体と本発明の検出可能に標識されたペプチド試薬とを接触させる工程、ここで、ペプチド試薬は、病原性プリオンタンパク質と優先的に相互作用し；およびプリオン結合試薬と、サンプル由来の病原性プリオンと、ペプチド試薬との間で形成される複合体を検出する工程を含む。

30

【００２８】

別の実施形態において、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法が提供され、その方法は、以下の工程：本明細書中において記載されるような第１のペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程、ここで、第１のペプチド試薬は、病原型と優先的に相互作用し；検出可能に標識されたペプチド試薬 - リガンド複合体の形成を可能にする条件下で、固体支持体と検出可能に標識された第１のリガンド（例えば、プラスミノゲン、ラミニンレセプターおよびヘパラン硫酸）とを接触させる工程、ここで、検出可能に標識された第１のリガンドに対する第１のペプチド試薬の結合親和性は、病原性プリオンに対する第１のペプチド試薬の結合親和性よりも弱く；サンプル中に病原性プリオンが存在するとき、病原性プリオンが第１のペプチド試薬に結合し得、そして第１のリガンドを置換し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと、固体支持体とを接触させる工程；および固体支持体上の検出可能に標識されたりガンドの減少によってサンプル

40

50

中の病原性プリオンの存在を検出する工程を含む。

【0029】

病原性プリオンの検出の上記の方法のいずれかは、プリオン関連疾患を診断するための方法において使用することができる。

【0030】

本発明はまた、病原性プリオンを単離するための方法を提供し、この方法は、以下の工程：本発明の1個以上のペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程、病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンがペプチド試薬に結合し得る条件下で、固体支持体と、病原性プリオンを含むことが知られているサンプルまたは病原性プリオンを含むと疑われるサンプルとを接触させる工程；および任意の未結合サンプル物質を除去する工程を含む。さらなる実施形態は、結合した病原性プリオンをペプチド試薬から解離する工程および必要に応じて、解離された病原性プリオンを回収する工程をさらに含む。

10

【0031】

本発明はまた、サンプルから病原性プリオンを除去するための方法を提供し、その方法は、以下の工程：本発明の1個以上のペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程、病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンがペプチド試薬に結合し得る条件下で、固体支持体と、病原性プリオンを含むことが知られているサンプルまたは病原性プリオンを含むと疑われるサンプルとを接触させる工程；および未結合サンプル物質を回収する工程を含む。

20

【0032】

本発明の1個以上のペプチド試薬を含む固体支持体を提供する前述のすべての実施形態において、ペプチド試薬が固体支持体に結合する前にペプチド試薬がサンプルと接触されるという代替の実施形態が、企図される。これらの実施形態において、ペプチド試薬は、結合対の1つのメンバーを含み、そして固体支持体は、結合対の第2のメンバーを含む。例えば、本発明のペプチド試薬は、ビオチンを含み得るか、またはビオチンを含むように改変され得る。ビオチン化ペプチド試薬は、ペプチド試薬が病原性プリオンに結合し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと接触される。次いで、アビジンまたはストレプトアビジンを含む固体支持体は、ビオチン化ペプチド試薬と接触される。他の適当な結合対は、本明細書中において記載される。

30

【0033】

本明細書中において記載される固体支持体を使用する方法のいずれかにおいて、固体支持体は、例えば、ニトロセルロース、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックス、ポリビニルフルオライド、ジアゾ化ペーパー、ナイロン膜、活性化ビーズおよび/または磁気的反応性ビーズ、ポリ塩化ビニル；ポリプロピレン、ポリスチレンラテックス、ポリカーボネート、ナイロン、デキストラン、キチン、砂、シリカ、軽石、アガロース、セルロース、ガラス、金属、ポリアクリルアミド、ケイ素、ゴム、多糖類；ジアゾ化ペーパー；活性化ビーズ、磁気的反応性ビーズならびに固相合成、アフィニティー分離、精製、ハイブリダイゼーション反応、イムノアッセイおよび他のこのような適用に通常使用される任意の物質であり得る。支持体は、粒子状であり得るか、または連続的な表面の形態であり得、それらとしては、膜、メッシュ、プレート、小球、スライド、円板、毛細管、中空糸、針、ピン、チップ、固体繊維、ゲル（例えば、シリカゲル）およびビーズ（例えば、孔-ガラスビーズ、シリカゲル、必要に応じてジビニルベンゼンで架橋されたポリスチレンビーズ、グラフト化された共重合ビーズ、ポリアクリルアミドビーズ、ラテックスビーズ、必要に応じてN - N' - ビス - アクリロイルエチレンジアミンで架橋されたジメチルアクリルアミドビーズ、酸化鉄磁気ビーズおよび疎水性ポリマーでコートされたガラス粒子が挙げられる。

40

【0034】

さらに、本明細書中において記載される方法のいずれかの方法において、サンプルは、生物学的サンプル、すなわち、生存生物体またはかつて生存していた生物体、例えば、器官、全血、血液画分、血液成分、血漿、血小板、血清、脳脊髄液（CSF）、脳組織、神

50

経系組織、筋組織、骨髄、尿、涙、非神経系組織、器官および／またはバイオブシーもしくはネクロブシーから得られたサンプルまたはそれらから誘導されるサンプルであり得る。好ましい実施形態において、生物学的サンプルは、血液、血液画分または血液成分を含む。サンプルは、非生物学的サンプルであってもよい。

【0035】

別の局面において、本発明は、本明細書中において記載される検出方法のいずれかによって、被験体由来の生物学的サンプル中の病原性プリオンの存在を検出することによって前記被験体におけるプリオン関連疾患を診断する方法を提供する。

【0036】

別の局面において、本発明は、実質的に病原性プリオンを含まない血液供給物を調製する方法を含み、この方法は、以下の工程；本明細書中において記載される方法のいずれかによって、回収された血液サンプルから血液（例えば、全血、血漿、血小板または血清）のアリコートを手スクリーニングする工程；病原性プリオンが検出された任意のサンプルを排除する工程；および病原性プリオンが検出されなかったサンプルを混合することにより、実質的に病原性プリオンを含まない血液供給物を提供する工程を含む。

10

【0037】

さらに別の局面において、本発明は、実質的に病原性プリオンを含まない食品供給物、特に、食肉供給物（例えば、ヒトまたは動物の消費用に使用される牛肉、子羊肉、成羊肉または豚肉）を調製する方法を含み、この方法は、本明細書中において記載される検出の方法のいずれかを使用して、食品供給物に入る生存生物体もしくは死亡生物体から回収されたサンプルまたは食品供給物に投入すると意図される食物から回収されたサンプルを手スクリーニングする工程；病原性プリオンが検出されるサンプルを同定する工程；および病原性プリオンが検出されたサンプル中の、任意の生存生物体もしくは死亡生物体または食品供給物に投入すると意図される食物を食品供給物から除去する工程；それによって、実質的に病原性プリオンを含まない食品供給物を提供する工程を含む。

20

【0038】

別の局面において、本発明は、本明細書中において記載されるような１個以上のペプチド試薬を含む固体支持体を含む。固体支持体は、とりわけ、サンプル中の病原性プリオンタンパク質を検出するため、サンプルからプリオンタンパク質を単離するため、およびサンプルから病原性プリオンタンパク質を排除するための本発明の方法において使用される。固体支持体は、上で記載したとおりであり得る。

30

【0039】

別の局面において、本発明は、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するため、サンプルから病原性プリオンを単離するため、サンプルから病原性プリオンを排除するための様々なキットを含み、このキットは、本明細書中において記載されるペプチド試薬の１個以上；および／または本明細書中において記載されるペプチド試薬の１個以上を含む固体支持体のいずれかならびに他に必要な試薬および必要であれば、ポジティブコントロールおよびネガティブコントロールを備える。ペプチド試薬は、検出可能に標識され得る。

【0040】

他の局面において、本明細書中において記載される、ペプチド試薬、ポリヌクレオチドおよび／または抗体の１個以上を含む組成物が、本明細書中に提供される。

40

【0041】

さらなる局面において、プリオン病を処置するか、または予防する方法が提供され、その方法は、例えば、本明細書中において記載される１個以上の組成物を動物（例えば、非ヒト哺乳動物またはヒト哺乳動物）に投与する工程を含む。他の実施形態において、その方法は、初回刺激工程において、本明細書中において記載される組成物のいずれかを含む第１の組成物を投与する工程および本明細書中において記載される組成物のいずれかを含む第２の組成物を追加免疫として、例えば、被験体において免疫応答を誘発するのに十分な量で投与する工程を含む。その組成物は、筋肉内、粘膜内、鼻腔内、皮下、皮内、経皮的、腔内、直腸内、経口的および／または静脈内に投与され得る。

50

【 0 0 4 2 】

本発明のこれらの実施形態および他の実施形態は、本明細書中の開示に照らして、当業者に容易に想到され得る。

本願発明は以下の項目を提供する。

(項目 1)

P r P^cと比較して、優先的に P r P^{s c}と相互作用する単離されたペプチド試薬であって、該ペプチド試薬は、配列番号

【 化 1 】

12, 13, 14, 15,

16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39,
40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64,
65, 66, 67, 68, 72, 74, 76, 77, 78, 81, 82, 84, 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104,
105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122,
123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140,
141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158,
159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176,
177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194,
195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212,
213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230,
231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248,
249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, または 260

10

20

を有するペプチドから誘導される、ペプチド試薬。

(項目 2)

P r P^cと比較して、優先的に P r P^{s c}と相互作用する単離されたペプチド試薬であって、該ペプチド試薬は、配列番号

【 化 2 】

133, 134, 135,

136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153,
154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171,
172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189,
190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207,
208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225,
226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243,
244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, および 260

40

を有するペプチドから誘導される、ペプチド試薬。

(項目 3)

配列番号

【化 3】

133, 134, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145,
 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163,
 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181,
 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199,
 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217,
 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235,
 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253,
 254, 255, 256, 257, 258, 259, または 260

10

を有するペプチドから誘導される、項目 2 に記載のペプチド試薬。

(項目 4)

項目 3 に記載のペプチド試薬であって、該ペプチド試薬は、N 末端および / または C 末
 端に、 $n = 1、2、3$ または 4 であるアミノ酸配列 $(G)_n$ を含む、ペプチド試薬。

(項目 5)

ビオチン化されている、項目 3 または 4 に記載のペプチド試薬。

20

(項目 6)

配列番号

【化 4】

183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194,
 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212,
 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230,
 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248,
 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, および 260

30

を有するペプチドから誘導される、項目 2 に記載のペプチド試薬。

(項目 7)

N 末端および / または C 末端に、 $n = 1、2、3$ または 4 であるアミノ酸配列 $(G)_n$ を含む、項目 6 に記載のペプチド試薬。

(項目 8)

ビオチン化された、項目 6 または 7 に記載のペプチド試薬。

(項目 9)

配列番号 1 3 6 を有するペプチドから誘導される、項目 2 に記載のペプチド試薬。

(項目 1 0)

ビオチン化されている、項目 9 に記載のペプチド試薬。

40

(項目 1 1)

1 個以上のプロリン残基が存在する場合、該 1 個以上のプロリン残基は、N 置換グリシンで置換されている、項目 1 に記載のペプチド試薬。

(項目 1 2)

項目 1 に記載のペプチド試薬をコードするポリヌクレオチド。

(項目 1 3)

項目 1 に記載のペプチド試薬および病原性プリオンタンパク質を含む複合体。

(項目 1 4)

サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法であって、該方法は以下の工

50

程：

(a) 病原性プリオンが存在する場合に、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと、項目 1 に記載の第 1 のペプチド試薬とを、該第 1 のペプチド試薬が該病原性プリオンタンパク質に結合し得る条件下で接触させ、第 1 の複合体を形成する工程；および

(b) 該病原性プリオンが存在する場合に、該第 1 のペプチド試薬への該病原性プリオンの結合によってサンプル中の該病原性プリオンの存在を検出する工程

を含む、方法。

(項目 1 5)

前記第 1 のペプチド試薬が、検出可能に標識されている、項目 1 4 に記載の方法。

(項目 1 6)

前記第 1 のペプチド試薬が、ビオチン化されている、項目 1 5 に記載の方法。

(項目 1 7)

前記第 1 のペプチド試薬が、固体支持体に結合している、項目 1 4 に記載の方法。

(項目 1 8)

サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) 病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと、項目 1 に記載の第 1 のペプチド試薬とを、該第 1 のペプチド試薬が該病原性プリオンに結合し得る条件下で接触させ、第 1 の複合体を形成する工程；

(b) 該第 1 の複合体と、項目 1 に記載の第 2 のペプチド試薬とを、該第 2 のペプチド試薬が該第 1 の複合体中の該病原性プリオンに結合し得る条件下で接触させる工程であって、ここで、該第 2 のペプチド試薬は、検出可能な標識を含む、工程；および

(c) 病原性プリオンが存在する場合、該第 2 のペプチド試薬への該病原性プリオンの結合によって該サンプル中の該病原性プリオンの存在を検出する工程

を含む、方法。

(項目 1 9)

前記第 1 のペプチド試薬と前記第 2 のペプチド試薬とが、異なっている、項目 1 8 に記載の方法。

(項目 2 0)

前記第 1 のペプチド試薬と前記第 2 のペプチド試薬とが、同じである、項目 1 8 に記載の方法。

(項目 2 1)

前記第 1 のペプチド試薬が、固体支持体に結合している、項目 1 8 に記載の方法。

(項目 2 2)

前記第 1 のペプチド試薬が、ビオチン化されている、項目 1 8 に記載の方法。

(項目 2 3)

サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) 病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと、項目 1 に記載の第 1 のペプチド試薬とを、該第 1 のペプチド試薬が該病原性プリオンに結合し得る条件下で接触させ、第 1 の複合体を形成する工程；

(b) 未結合サンプル物質を除去する工程；

(c) 該第 1 の複合体から該病原性プリオンを解離する工程；

(d) 該解離された病原性プリオンと、項目 1 に記載の第 2 のペプチド試薬とを、該第 2 のペプチド試薬が該病原性プリオンに結合し得る条件下で接触させる工程であって、ここで、該第 2 のペプチド試薬は、検出可能な標識を含む、工程；および

(e) 該病原性プリオンが存在する場合、該第 2 のペプチド試薬への該病原性プリオンの結合によって該サンプル中の該病原性プリオンの存在を検出する工程

を含む、方法。

(項目 2 4)

10

20

30

40

50

サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) 病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと、項目 1 に記載の第 1 のペプチド試薬とを、該第 1 のペプチド試薬が該病原性プリオンに結合し得る条件下で接触させ、第 1 の複合体を形成する工程；

(b) 未結合サンプル物質を除去する工程；

(c) 該第 1 の複合体から該病原性プリオンを解離する工程；

(d) 該解離された病原性プリオンと、プリオン結合試薬とを、該プリオン結合試薬が該病原性プリオンに結合し得る条件下で接触させる工程であって、ここで、該プリオン結合試薬は、検出可能な標識を含む、工程；および

(e) 該病原性プリオンが存在する場合、該プリオン結合試薬への該病原性プリオンの結合によって該サンプル中の該病原性プリオンの存在を検出する工程を含む、方法。

(項目 2 5)

前記プリオン結合試薬が、抗プリオン抗体、モチーフグラフト化ハイブリッドポリペプチド、陽イオン性または陰イオン性のポリマー、増殖触媒およびプラスミノゲンからなる群から選択される、項目 2 4 に記載の方法。

(項目 2 6)

サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) 病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと、プリオン結合試薬とを、該プリオン結合試薬が該病原性プリオンを結合し得る条件下で接触させ、第 1 の複合体を形成する工程；

(b) 未結合サンプル物質を除去する工程；

(c) 該第 1 の複合体と、項目 1 に記載のペプチド試薬とを、該ペプチド試薬が該病原性プリオンに結合し得る条件下で接触させる工程であって、ここで、該ペプチド試薬は、検出可能な標識を含む、工程；および

(d) 該病原性プリオンが存在する場合、該ペプチド試薬への該病原性プリオンの結合によって、該サンプル中の該病原性プリオンの存在を検出する工程を含む、方法。

(項目 2 7)

サンプル中の病原性プリオンを検出するための方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) 項目 1 に記載の第 1 のペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程；

(b) サンプル中に病原性プリオンが存在するとき、該固体支持体と該サンプルとを、該病原性プリオンが該第 1 のペプチド試薬に結合し得る条件下で接触させる工程であって；該固体支持体と、項目 1 に記載の検出可能に標識された第 2 のペプチド試薬とを、該第 2 のペプチド試薬が該第 1 のペプチド試薬によって結合された病原性プリオンに結合し得る条件下で接触させる工程；および

(c) 該第 1 のペプチド試薬と、該サンプルに由来する病原性プリオンと、該第 2 のペプチド試薬との間に形成された複合体を検出することによって、該サンプル中の該病原性プリオンの存在を検出する工程

を含む、方法。

(項目 2 8)

サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) プリオン結合試薬を含む固体支持体を提供する工程；

(b) プリオンタンパク質がサンプル中に存在するとき、該固体支持体と該サンプルとを、該プリオンタンパク質が該プリオン結合試薬に結合し得る条件下で接触させる工程；

(c) 該固体支持体と項目 1 に記載の検出可能に標識された第 2 のペプチド試薬とを接触させる工程；および

10

20

30

40

50

(d) 該プリオン結合試薬と、該生物学的サンプル由来の病原性プリオンと、該第 2 のペプチド試薬との間に形成された複合体を検出する工程を含む、方法。

(項目 2 9)

サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) 項目 1 に記載の第 1 のペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程；

(b) 該固体支持体と、検出可能に標識された第 1 のリガンドとを混合する工程であって、ここで、該検出可能に標識された第 1 のリガンドに対する該第 1 のペプチド試薬の結合親和性は、病原性プリオンに対する該第 1 のペプチド試薬の結合親和性よりも弱い、工程；

(c) 病原性プリオンがサンプル中に存在するとき、該病原性プリオンが該第 1 のペプチド試薬に結合し、そして該第 1 のリガンドを置換し得る条件下で該サンプルと該固体支持体とを混合する工程；

(d) 該第 1 のペプチド試薬と該サンプル由来の該病原性プリオンとの間に形成された複合体を検出する工程を含む、方法。

(項目 3 0)

前記固体支持体が、ニトロセルロース、ポリスチレンラテックス、ポリビニルフルオリド、ジアゾ化ペーパー、ナイロン膜、活性化ビーズおよび磁氣的反応性ビーズからなる群から選択される、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 3 1)

前記サンプルが、生物学的サンプルである、項目 1 4 に記載の方法。

(項目 3 2)

前記生物学的サンプルが、器官、全血、血液画分、血液成分、血漿、血小板、血清、脳脊髄液 (C S F)、脳組織、神経系組織、筋組織、骨髓、尿、涙、非神経系組織、器官および / またはバイオブシーもしくはネクロブシーからなる群から選択される、項目 3 1 に記載の方法。

(項目 3 3)

前記生物学的サンプルが、全血、血漿、血小板、血液画分または血清である、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 3 4)

項目 1 に記載の少なくとも 1 つのペプチド試薬を含む、固体支持体。

(項目 3 5)

サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するためのキットであって：

(a) 項目 3 4 に記載の固体支持体；および

他に必要な試薬ならびに必要なであれば、ポジティブコントロールおよびネガティブコントロールを備える、キット。

(項目 3 6)

項目 1 に記載のペプチド試薬を含む組成物。

(項目 3 7)

項目 1 2 に記載のポリヌクレオチドを含む組成物。

(項目 3 8)

項目 3 6 に記載の 1 個以上の組成物を動物に投与する工程を含む、プリオン病を処置または予防する方法。

(項目 3 9)

前記被験体が、哺乳動物である、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 0)

前記哺乳動物が、ヒトである、項目 3 9 に記載の方法。

(項目 4 1)

10

20

30

40

50

前記組成物が、筋肉内、粘膜内、鼻腔内、皮下、皮内、経皮的、腔内、直腸内、経口のまたは静脈内に投与される、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 2)

プリオン病を処置または予防する方法であって、該方法は、以下の工程

(a) 初回刺激工程において項目 3 6 に記載の組成物を含む第 1 の組成物を投与する工程および

(b) 追加免疫として、被験体において免疫応答を誘発するのに十分な量の項目 3 6 に記載の組成物を含む第 2 の組成物を投与する工程を含む、方法。

(項目 4 3)

サンプルから病原性プリオンタンパク質を単離するための方法であって、該方法は、以下の工程：

(a) 項目 3 4 に記載のペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程；

(b) 該サンプルと該固体支持体とを、該サンプル中に病原性プリオンタンパク質が存在する場合、該病原性プリオンタンパク質が前記第 1 のペプチド試薬に結合し得る条件下で接触させ、第 1 の複合体を形成する工程および

(c) 未結合サンプル物質を除去する工程を含む、方法。

(項目 4 4)

前記第 1 の複合体から前記病原性プリオンタンパク質を解離する工程をさらに含む、項目 4 3 に記載の方法。

(項目 4 5)

サンプルから病原性プリオンタンパク質を排除するための方法であって、該方法は、以下の工程；

(a) 項目 3 4 に記載のペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程；

(b) 該固体支持体と、病原性プリオンタンパク質を含むと疑われるサンプルとを、病原性プリオンタンパク質が存在する場合、該病原性プリオンタンパク質が該ペプチド試薬に結合し得る条件下で、接触させる工程；および

(c) 未結合サンプル物質を回収する工程を含む、方法。

(項目 4 6)

サンプルの供給物からサンプルを選択するための方法であって、項目 1 に記載のペプチド試薬と優先的に相互作用する病原性プリオンタンパク質を含まないサンプルを選択する工程を含む、方法。

(項目 4 7)

サンプルの供給物からサンプルを選択するための方法であって、項目 1 に記載のペプチド試薬と優先的に相互作用する病原性プリオンタンパク質を含むサンプルを選択する工程を含む、方法。

(項目 4 8)

実質的に病原性プリオンを含まない血液供給物を調製する方法であって、該血液供給物は、全血、血漿、血小板または血清を含み、該方法は、以下の工程：

(a) 回収された血液サンプルから、全血、血漿、血小板または血清のアリコート、項目 1 4 に記載の方法によってスクリーニングする工程；

(b) 病原性プリオンが検出されたサンプルを排除する工程；および

(c) 病原性プリオンが検出されなかったサンプルを混合し、実質的に病原性プリオンを含まない血液供給物を提供する工程を含む、方法。

(項目 4 9)

実質的に病原性プリオンを含まない食品供給物を調製する方法であって、該方法は、以下の工程：

10

20

30

40

50

(a) 該食品供給物に入る生存生物体から回収されたサンプルまたは該食品供給物に入ることが意図された食物から回収されたサンプルを、項目 1 4 に記載の方法によってスクリーニングする工程；

(b) 病原性プリオンが検出されたサンプルを排除する工程；および

(c) 病原性プリオンが検出されなかったサンプルを混合し、実質的に病原性プリオンを含まない食品供給物を提供する工程

を含む、方法。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 3 】

【図 1】図 1 は、ヒト（配列番号 1）およびマウス（配列番号 2）のプリオンタンパク質のアミノ酸配列を示す。

【図 2】図 2 は、ヒト（配列番号 3）、シリアンハムスター（ハムスター）（配列番号 4）、ウシ（配列番号 5）、ヒツジ（配列番号 6）、マウス（配列番号 7）、ヘラジカ（配列番号 8）、ファロージカ（ファロー）（配列番号 9）、ミュールジカ（ミュール）（配列番号 10）およびオジロジカ（オジロ）（配列番号 11）由来のプリオンタンパク質のアラインメントを示す。ヘラジカ、ファロージカ、ミュールジカおよびオジロジカだけは、S / N 1 2 8 および Q / E 2 2 6（太字で示す）の 2 残基で互いに異なっている。

【図 3】図 3 のパネル A ~ F は、本明細書中に記載されるペプチド試薬のいずれかを精製するためになされ得る例示的なペプトイド置換を示す。これらのペプトイドは、各パネルにおいて円で囲まれており、プロリン残基（配列番号 14 の残基 8）が、N 置換グリシン（ペプトイド）残基で置換されている、本明細書中で記載されるような例示的なペプチド試薬（配列番号 14、Q W N K P S K P K T N G）で示される。パネル A は、プロリン残基がペプトイド残基：N -（S）-（1 - フェニルエチル）グリシンで置換されているペプチド試薬を示す；パネル B は、プロリン残基がペプトイド残基：N -（4 - ヒドロキシフェニル）グリシンで置換されているペプチド試薬を示す；パネル C は、プロリン残基がペプトイド残基：N -（シクロプロピルメチル）グリシンで置換されているペプチド試薬を示す；パネル D は、プロリン残基がペプトイド残基：N -（イソプロピル）グリシンで置換されているペプチド試薬を示す；パネル E は、プロリン残基がペプトイド残基：N -（3, 5 - ジメトキシベンジル）グリシンで置換されているペプチド試薬を示す；そしてパネル F は、プロリン残基がペプトイド残基：N - アミノ - ブチルグリシンで置換されているペプチド試薬を示す。

【図 4】図 4 は、実施例 2 に記載されるようなウエスタンブロッティング実験の結果を示す。レーン 1 および 2 は、正常マウス脳ホモジネート（レーン 1、「C」と標識）および変性された感染マウス脳ホモジネート（レーン 2、「Sc」と標識）におけるプリオンタンパク質の存在を示す。レーン 3、4 および 5 は、ヒト血漿の存在下で、本明細書中で記載されるようなペプチド試薬（配列番号 68）の病原性プリオン型への特異的な結合を示す。特に、レーン 3 は、ヒト血漿コントロールであり、レーン 4 は、正常マウス脳ホモジネートサンプルである。レーン 5 は、感染マウス脳ホモジネートサンプルにおけるペプチド試薬の P r P S c への強い結合を示す。

【図 5】図 5 は、本明細書中に記載されるような例示的な P E G 結合ペプチド試薬の構造を示す。

【図 6】図 6 は、（Q W N K P S K P K T N）2 K（配列番号 133）の構造を示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 4 4 】

（詳細な説明）

本発明は、比較的小さいペプチド（50 ~ 100 アミノ酸長未満、好ましくは、50 アミノ酸長未満およびなおもさらに好ましくは、約 30 アミノ酸長未満）が、非病原性プリオンタンパク質と病原性プリオンタンパク質とを識別するために使用され得るという驚くべき、予想外の発見に関する。すなわち、本開示は、これらのペプチドおよびそれらの誘導体（ひとまとめにして「ペプチド試薬」）が、異なる特異性および/または親和性で、

10

20

30

40

50

病原性タンパク質および非病原性タンパク質の形態と結合し得るので、診断試薬／検出試薬として、または治療的組成物の成分としてそれ自体で使用され得るという驚くべき知見に関する。本開示より以前は、大型分子（例えば、抗体、 PrP^{C} 、 α 型 rPrP およびプラスミノゲン）だけが、病原型および非病原型を区別するために使用することができると考えられていた。同様に、以前に報告されていた抗原性ペプチドは、病原型と非病原型とを識別する能力について評価された抗体を作製するために使用されていた。しかしながら、プリオンタンパク質が比較的非免疫原性であるという性質に起因して、病原型に特異的な抗体を作製することが困難であると証明されていた。例えば、R. A. Williamsonら、“Antibodies as Tools to Probe Prion Protein Biology” in PRION BIOLOGY AND DISEASES, ed. S. Prusiner, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999, pp: 717 - 741を参照のこと。

10

【0045】

本明細書中で記載されるような特定のペプチドが、病原性の(PrP^{Sc})プリオンタンパク質と優先的に相互作用するという発見により、とりわけ、診断、検出アッセイおよび治療のための新規試薬の開発が可能となった。従って、本発明は、ペプチド試薬に関し、さらに、これらのペプチド試薬を利用する検出アッセイおよび診断アッセイ、精製またはこれらのペプチド試薬を利用する単離方法およびこれらのペプチド試薬を含む治療的組成物に関する。これらのペプチド試薬をコードするポリヌクレオチドおよびこれらのペプチド試薬を使用して作製される抗体もまた提供される。本明細書中において記載されるペプチド試薬、ポリヌクレオチドおよび／または抗体は、例えば、生物学的サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための組成物および方法において有用である。さらに、本発明は、このようなペプチド試薬、抗体および／またはポリヌクレオチドを治療的組成物または予防的組成物中の成分として使用する方法にさらに関する。

20

【0046】

本発明において使用されるペプチド試薬（およびこれらのペプチド試薬をコードするポリヌクレオチド）は、非病原性アイソフォームと比較して、病原性アイソフォームと優先的に相互作用するペプチドを含む。例えば、特定の実施形態において、本明細書中で記載されるようなペプチド試薬は、病原性のコンホメーション病タンパク質型に特異的に結合し、そして非病原型に結合しない（またはそれほど結合しない）。本明細書中において記載されるペプチド試薬（および同じものをコードするポリヌクレオチド）は、例えば、抗体を作製するために使用され得る。これらの抗体は、病原型、非病原型またはその両方を認識し得る。これらの分子は、診断アッセイおよび／または予防的組成物もしくは治療的組成物において単独または様々な組み合わせで有用である。

30

【0047】

本発明の実施は、他に示されない限り、当該分野の範囲内である、化学、生化学、分子生物学、免疫学および薬理学の従来の方法を利用する。このような技術は、文献で十分に説明されている。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Methods In Enzymology (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.); および Handbook of Experimental Immunology, Vols. I - IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986, Blackwell Scientific Publications); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2nd Edition, 1989); Handbook of Surface and Colloidal Chemistry (Birdi, K. S. ed., CRC Press, 1997); Short Protocols in Molecular Bi

40

50

ology, 4th ed. (Ausubelら、eds., 1999, John Wiley & Sons); Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, (Reamら、eds., 1998, Academic Press); PCR (Introduction to Biotechniques Series), 2nd ed. (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag); Peters and Dalrymple, Fields Virology (2d ed), Fieldsら、(eds.), B.N. Raven Press, New York, NYを参照のこと。

【0048】

10

本発明のペプチド試薬、抗体および方法は、特定の形式またはプロセスパラメータに制限されず、当然のことながら、変化し得ることが理解される。本明細書中で使用される用語は、本発明の特定の実施形態を記述する目的だけのものであり、限定すると意図されないことも理解されるべきである。

【0049】

本明細書中で引用されるすべての出版物、特許および特許出願は、それらの全体が、本明細書中で参考により援用される。

【0050】

(I. 定義)

本発明の理解を促すために、本出願において使用される、選ばれた用語について、以下に記述する。

20

【0051】

用語「プリオン」、「プリオンタンパク質」、「PrPタンパク質」および「PrP」は、本明細書中で交換可能に使用され、病原性タンパク質型（スクレイビータンパク質、病原性タンパク質型、病原性アイソフォーム、病原性プリオンおよびPrP^{Sc}と様々な呼ばれ方をする）と非病原型（細胞性タンパク質型、細胞性アイソフォーム、非病原性アイソフォーム、非病原性プリオンタンパク質およびPrP^Cと様々な呼ばれ方をする）の両方ならびに変性型および病原性コンホメーションまたは正常な細胞性コンホメーションのいずれかを有しなくてもよいプリオンタンパク質の様々な組換え型のことをいう。病原性タンパク質型は、ヒトおよび動物における疾患状態（海綿状脳症）に関連し；非病原型は、動物細胞に通常存在し、そして適切な条件下で、病原性のPrP^{Sc}コンホメーションに変換され得る。プリオンは、ヒト、ヒツジ、ウシおよびマウスを含む多岐にわたる哺乳動物種において天然に産生される。ヒトプリオンタンパク質の代表的なアミノ酸配列を、配列番号1として示す。マウスプリオンタンパク質の代表的なアミノ酸配列を配列番号2として示す。他の代表的な配列を、図2に示す。

30

【0052】

本明細書中で使用されるとき、用語「病原性」とは、そのタンパク質が、疾患を実際に引き起こすことを意味し得るか、またはそのタンパク質が、疾患に関連するがゆえに、疾患が存在するときに存在することを単純に意味し得る。従って、本開示に関連して使用されるような病原性タンパク質は、必ずしも、疾患の特異的な原因物質であるタンパク質ではない。病原型は、伝染性であってもよいし、伝染性でなくてもよい。用語「病原性プリオン型」は、より具体的には、哺乳動物、鳥類または組換えのプリオンタンパク質のコンホメーションおよび/またはベータシートリッチなコンホメーションのことをいうために使用される。一般に、ベータシートリッチなコンホメーションは、プロテイナーゼK耐性である。コンホメーション病タンパク質型に関して使用されるとき、用語「非病原性」および「細胞性」は、交換可能に使用され、その存在が疾患に関連しないタンパク質の正常アイソフォームのことをいう。

40

【0053】

さらに、「プリオンタンパク質」または「コンホメーション病タンパク質」は、本明細書中で使用されるとき、本明細書中において記載されるものに対して正確な配列を有する

50

ポリペプチドに限定されない。これらの用語が、同定された種もしくは未同定の種または同定された疾患もしくは未同定の疾患（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病など）のいずれかに由来するコンホメーション病タンパク質を包含することは、容易に明らかとなる。本開示および当該分野の教示を考慮して当業者は、例えば、配列比較プログラム（例えば、BLASTおよび本明細書中において記載される他のもの）または構造的な特徴またはモチーフの同定およびアラインメントを使用して、他の任意のプリオンタンパク質における、図に示された配列に対応する領域を決定することができる。

【0054】

用語「PrP遺伝子」は、既知の多型および病原性の変異を含むプリオンタンパク質を発現する任意の遺伝物質を記述するために本明細書中において使用される。用語「PrP遺伝子」とは、一般に、PrPタンパク質の任意の形態をコードする任意の種の任意の遺伝子のことをいう。通常知られているいくつかのPrP配列は、Gabrielら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:9097-9101 (1992) ならびにこのような配列を開示および記載するために本明細書中において参考により援用される、米国特許第5,565,186号；同第5,763,740号；同第5,792,901号；およびWO97/04814に記載されている。PrP遺伝子は、本明細書中において記載される「宿主」動物および「試験」動物を含む任意の動物由来であり得、そして任意の多型およびすべての多型ならびにそれらの変異であり得、これらの用語は、まだ発見されていない他のこのようなPrP遺伝子を含むと認識される。このような遺伝子によって発現されるタンパク質は、PrP^C（非疾患）型またはPrP^{Sc}（疾患）型のいずれかを仮定し得る。

10

20

【0055】

「プリオン関連疾患」とは、本明細書中で使用されるとき、病原性プリオンタンパク質（PrP^{Sc}）によって全体的または部分的に引き起こされる疾患のことをいう。プリオン関連疾患としては、スクレイピー、ウシ海綿状脳症（BSE）、狂牛病、ネコ海綿状脳症、クールー、クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）、新変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（nvCJD）、慢性消耗性疾患（CWD）、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病（GSS）および致死性家族性不眠症（FFI）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0056】

用語「ペプチド試薬」とは、本明細書中で使用されるとき、一般に、アミノ酸またはアミノ酸様分子の天然に存在するポリマーまたは合成ポリマーを含む任意の化合物のことをいい、それらとしては、アミノ分子および/またはイミノ分子のみを含む化合物が挙げられるが、これらに限定されない。本発明のペプチド試薬は、病原性プリオンタンパク質と優先的に相互作用し、代表的には、プリオンタンパク質のフラグメントから誘導される。用語「ペプチド」は、「オリゴペプチド」または「ポリペプチド」と交換可能に使用され、そしてこれらの用語の使用によって、特定の大きさを意味しない。例えば、アミノ酸（例えば、天然でないアミノ酸、ペプトイドなどを含む）の1個以上のアナログを含むペプチド、置換された結合を含むペプチドおよび当該分野で公知の他の改変（天然に存在する改変および天然に存在しない改変（例えば、合成）の両方）が、この定義内に含まれる。従って、合成ペプチド、二量体、多量体（例えば、タンデム反復、複数の抗原性ペプチド（multiple antigenic peptide）（MAP）型、直鎖的に連結されたペプチド）、環化分子、分枝分子などが、この定義内に含まれる。これらの用語はまた、1個以上のN置換グリシン残基（「ペプトイド」）および他の合成アミノ酸またはペプチドを含む分子を含む。（例えば、ペプトイドの説明について、米国特許5,831,005号；同第5,877,278号；および同第5,977,301号；Nguyenら、(2000) Chem Biol. 7(7):463-473；およびSimonら、(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89(20):9367-9371を参照のこと）。本発明における使用に適したペプチドの非限定的な長さとしては、3～5残基長、6～10残基長（またはそれらの間の任意の整数）、11～

30

40

50

20 残基長（またはそれらの間の任意の整数）、21～75 残基長（またはそれらの間の任意の整数）、75～100（またはそれらの間の任意の整数）のペプチドまたは100 残基長より長いポリペプチドが挙げられる。代表的には、本発明において有用なペプチドは、意図される用途に適した最大の長さを有し得る。好ましくは、そのペプチドは、約3 残基長～約100 残基長である。一般に、当業者は、本明細書中の定義を考慮して、最大の長さを容易に選択することができる。さらに、本明細書中において記載されるようなペプチド試薬、例えば、合成ペプチドは、付加的な分子（例えば、標識、リンカーまたは他の化学部分（例えば、ビオチン、アミロイド特異的色素（例えば、Control Red または Thioflavin））を含み得る。このような部分は、さらに、ペプチドとプリオンタンパク質との相互作用および/またはプリオンタンパク質のさらなる検出を促進し得る。 10

【0057】

ペプチド試薬はまた、1 個以上の天然に存在しないアミノ酸を含む、1 個以上の置換、付加および/または欠失を有する本発明のアミノ酸配列の誘導体を含む。好ましくは、誘導体は、任意の野生型配列または参照配列と少なくとも約50%の同一性を示し、好ましくは、少なくとも約70%の同一性、より好ましくは、本明細書中において記載される任意の野生型配列または参照配列と少なくとも約75%、約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%または約100%の配列同一性を示す。配列（またはパーセント）同一性は、以下に記載するように決定することができる。このような誘導体は、ポリペプチドの発現後修飾、例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化などを含み得る。 20

【0058】

ペプチド誘導体はまた、ポリペプチドが、所望の活性を維持する限り、天然の配列に対する改変、例えば、欠失、付加および置換（通常、本来は保存的である）を含み得る。これらの改変は、部位特異的な突然変異生成を介するような意図的なものであってもよいし、タンパク質を産生する宿主の変異またはPCR増幅による誤りを介するような偶発的なものであってもよい。さらに、改変は、以下の効果：毒性の低下；プリオンタンパク質に対する親和性および/または特異性の増大；細胞プロセッシング（例えば、分泌、抗原提示など）の促進；ならびにB細胞および/またはT細胞に対する提示の促進の1 個以上を有するようになされ得る。本明細書中において記載されるポリペプチドは、組換えで作製され得、合成で作製され得、天然源からか、または組織培養において精製され得る。 30

【0059】

「フラグメント」とは、本明細書中で使用されるとき、天然に見られるような無処置の全長タンパク質および構造の部分のみからなるペプチドのことをいう。例えば、フラグメントは、タンパク質のC末端欠失および/またはN末端欠失を含み得る。代表的には、フラグメントは、そのフラグメントが誘導される全長ポリペプチド配列の機能の1つ、いくつかまたはすべてを保持する。代表的には、フラグメントは、天然タンパク質の少なくとも5 個連続したアミノ酸残基；好ましくは、天然タンパク質の少なくとも約8 個連続したアミノ酸残基；より好ましくは、天然タンパク質の少なくとも約10 個、約11 個、約12 個、約13 個、約14 個、約15 個、約16 個、約17 個、約18 個、約19 個、約20 個、約21 個、約22 個、約23 個、約24 個、約25 個、約26 個、約27 個、約28 個、約29 個または約30 個連続したアミノ酸残基を含み得る。 40

【0060】

用語「ポリヌクレオチド」とは、当該分野で公知であるように、一般に核酸分子のことをいう。「ポリヌクレオチド」は、二本鎖配列および一本鎖配列の両方を含み得、そして原核生物の配列、真核生物のmRNA、ウイルス由来のcDNA、原核生物または真核生物のmRNA、ウイルス（例えば、RNAウイルスおよびDNAウイルスならびにレトロウイルス）由来のゲノムRNA配列およびゲノムDNA配列、原核生物のDNAまたは真核生物の（例えば、哺乳動物の）DNAならびに特に合成DNA配列のことをいうが、これらに限定されない。この用語はまた、DNAおよびRNAの公知の塩基アナログのいず 50

れかを含む配列を示し、そして天然配列に対する欠失、付加および置換（通常、本来は保存的である）などの改変を含む。これらの改変は、部位特異的な突然変異生成を介するような意図的なものであってもよいし、プリオンをコードするポリヌクレオチドを含む宿主の変異を介するような偶発的なものであってもよい。ポリヌクレオチドの改変は、例えば、宿主細胞におけるポリペプチド産生の発現を促進する効果を含む、いくつかの効果を有し得る。

【0061】

ポリヌクレオチドは、生物学的に活性な（例えば、免疫原性であるかまたは治療的な）タンパク質またはポリペプチドをコードし得る。ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの性質に依存して、ポリヌクレオチドは、例えば、そのポリヌクレオチドが抗原またはエピトープをコードする場合、10ヌクレオチド程度に小さいポリヌクレオチドを含み得る。代表的には、ポリヌクレオチドは、少なくとも18、19、20、21、22、23、24、25、30アミノ酸またはそれ以上のアミノ酸のペプチドをコードする。

10

【0062】

「ポリヌクレオチドコード配列」または選択されたポリペプチドを「コードする」配列は、適切な制御配列（または「調節領域」）の支配下に置かれているとき、（DNAの場合）転写される核酸分子および（mRNAの場合）インビボにおいてポリペプチドに翻訳される核酸分子である。コード配列の境界は、5'（アミノ）末端における開始コドンおよび3'（カルボキシ）末端における翻訳終止コドンによって決定される。転写終結配列は、コード配列に対して3'に位置され得る。代表的な「調節領域」としては、転写制御因子（例えば、プロモーター、転写エンハンサーエレメント、転写終結シグナルおよびポリアダニル化配列）；および翻訳制御因子（例えば、翻訳の開始を最適化するための配列、例えば、シャイン-ダルガルノ（リボソーム結合部位）配列、コザック配列（すなわち、コード配列に対して例えば、5'に位置する、翻訳を最適化するための配列）、リーダー配列（異種または天然）、翻訳開始コドン（例えば、ATG）および翻訳終結配列が挙げられるが、これらに限定されない。プロモーターとしては、誘導性プロモーター（プロモーターに作動可能に連結されたポリヌクレオチド配列の発現が、分析物、コファクター、調節タンパク質などによって誘導される場合）、抑制性プロモーター（プロモーターに作動可能に連結されたポリヌクレオチド配列の発現が、分析物、コファクター、調節タンパク質などによって誘導される場合）および構成的プロモーターが挙げられ得る。

20

30

【0063】

「作動可能に連結された」とは、そのように記載される構成要素がそれらの通常の機能を果たすように配列されるエレメントの配列のことをいう。すなわち、コード配列に作動可能に連結された所与のプロモーターは、適切な酵素が存在するとき、コード配列の発現に影響を及ぼすことができる。プロモーターは、コード配列の発現を指示するように機能する限り、コード配列と連続的である必要はない。すなわち、例えば、翻訳されないが、転写される介在配列が、プロモーター配列とコード配列との間に存在し得、そしてそのプロモーター配列は、なおもコード配列に「作動可能に連結された」と考えられ得る。

【0064】

「組換え」核酸分子は、本明細書中で核酸分子のことを記述するために使用されるとき、ゲノム、cDNA、半合成または合成起源のポリヌクレオチドを意味し、それらは、その起源または操作に基づき：（1）天然に会合するポリヌクレオチドの全部または一部と会合しないポリヌクレオチド；および/または（2）天然に連結するポリヌクレオチド以外のポリヌクレオチドに連結しているポリヌクレオチドを意味する。タンパク質またはポリペプチドに関連して使用されるとき、用語「組換え」は、組換えポリヌクレオチドの発現によって産生されるポリペプチドを意味する。「組換え宿主細胞」、「宿主細胞」、「細胞」、「細胞株」、「細胞培養物」および原核生物の微生物または単細胞の実態として培養される真核細胞株を意味する他の同様の用語は、交換可能に使用され、組換えベクターまたは他の転移DNAのためのレシピエントとして使用され得るか、または使用され得

40

50

た細胞のことをいい、そしてトランスフェクトされたもとの細胞の子孫を含む。単一の親細胞の子孫は、偶発的または意図的な変異に起因して、形態学においてか、またはもとの親に相補的なゲノムDNAもしくは全DNAにおいて、必ずしも完全に同一である必要はないことが理解される。関連する特性（例えば、所望のペプチドをコードするヌクレオチド配列の存在）によって特徴付けられ、親と十分に似ている親細胞の子孫は、この定義によって意図される子孫に含まれ、また、上記の用語によって網羅される。

【0065】

「単離された」とは、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドのことをいうとき、天然に見られる示された分子が、生物体全てから分離し、孤立していることまたは、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドが天然に見られないとき、それらが、他の生物学的高分子を十分に含まないことを意味し、その結果、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、その意図された目的に使用することができる。

10

【0066】

「抗体」は、当該分野で公知であるように、化学的または物理的な手段を介して、目的のポリペプチドのエピトープに結合し得るか、またはそれに会合し得る1個以上の生物学的部分を含む。例えば、本発明の抗体は、病原性プリオンコンホメーションと優先的に相互作用し得る（例えば、特異的に結合し得る）。用語「抗体」は、ポリクローナル調製物およびモノクローナル調製物の両方ならびに以下のものから得られる抗体を含む：ハイブリッド（キメラ）抗体分子（例えば、Winterら、（1991）Nature 349：293-299；および米国特許第4,816,567号を参照のこと）；F(ab')₂フラグメントおよびF(ab)フラグメント；Fv分子（非共有結合性ヘテロ二量体、例えば、Inbarら、（1972）Proc Natl Acad Sci USA 69：2659-2662；およびEhrlichら、（1980）Biochem 19：4091-4096を参照のこと）；一本鎖Fv分子（sFv）（例えば、Houstonら、（1988）Proc Natl Acad Sci USA 85：5897-5883を参照のこと）；二量体および三量体の抗体フラグメント構築物；ミニボディ（minibodies）（例えば、Packら、（1992）Biochem 31：1579-1584；Cumberら、（1992）J Immunology 149B：120-126を参照のこと）；ヒト化抗体分子（例えば、Riechmannら、（1988）Nature 332：323-327；Verhoeyanら、（1988）Science 239：1534-1536；および1994年9月21日に公開された英国特許出願番号GB2,276,169を参照のこと）；ならびにこのような分子から得られる任意の機能的フラグメント（ここで、このようなフラグメントは、親抗体分子の免疫学的結合特性を保持する）。用語「抗体」は、さらに、ファージディスプレイなどの非従来のプロセスを介して得られる抗体を含む。

20

30

【0067】

本明細書中で使用されるとき、用語「モノクローナル抗体」とは、均一な抗体集団を有する抗体組成物のことをいう。この用語は、抗体の種または起源に関して制限せず、また、抗体が作製される様式によって制限されると意図されない。すなわち、この用語は、マウスのハイブリドーマから得られる抗体ならびにマウスのハイブリドーマだけでなく、ヒトを使用して得られるヒトモノクローナル抗体を包含する。例えば、Cote, et al. Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, 1985, p77を参照のこと。

40

【0068】

ポリクローナル抗体が所望される場合、選択される哺乳動物（例えば、マウス、ウサギ、ヤギ、ウマなど）は、一般に免疫原性の組成物（例えば、本明細書中において記載されるようなペプチド試薬）で免疫される。免疫された動物から血清を回収し、公知の手順に従って処理する。選択されたペプチド試薬に対するポリクローナル抗体を含む血清が、他の抗原に対する抗体を含んでいる場合、ポリクローナル抗体は、イムノアフィニティークロマトグラフィーによって精製され得る。ポリクローナル抗血清を作製するためおよび処

50

理するための技術は、当該分野で公知であり、例えば、Mayer and Walker, eds. (1987) IMMUNOCHEMICAL METHODS IN CELL AND MOLECULAR BIOLOGY (Academic Press, London) を参照のこと。

【0069】

当業者はまた、本明細書中において記載されるペプチド試薬に対して特異的なモノクローナル抗体を容易に作製することができる。ハイブリドーマによってモノクローナル抗体を作製するための一般的な方法論が周知である。不死化された抗体産生細胞株は、細胞融合および他の技術（例えば、癌化DNAによるBリンパ球の直接的な形質転換またはエプスタイン・バーウイルスによるトランスフェクション）によって作製され得る。例えば、M. Schreierら、(1980) HYBRIDOMA TECHNIQUES; Hammerlingら、(1981), MONOCLONAL ANTIBODIES AND T-CELL HYBRIDOMAS; Kennettら、(1980) MONOCLONAL ANTIBODIES を参照のこと；また、米国特許第4,341,761号；同第4,399,121号；同第4,427,783号；同第4,444,887号；同第4,466,917号；同第4,472,500号；同第4,491,632号；および同第4,493,890号を参照のこと。

10

【0070】

本明細書中で使用されるとき、「単ドメイン抗体」(dAb)は、指摘された抗原に特異的に結合するVHドメインから構成される抗体である。dAbは、VLドメインを含まないが、抗体に存在すると知られている他の抗原結合ドメイン、例えば、カッパドメインおよびラムダドメインを含み得る。dAbを調製するための方法は、当該分野で公知である。例えば、Ward et al, Nature 341:544 (1989) を参照のこと。

20

【0071】

抗体はまた、VHドメインおよびVLドメインならびに他の公知の抗原結合ドメインから構成され得る。これらのタイプの抗体およびそれらの調製方法の例は、当該分野で公知であり（例えば、本明細書中において参考として援用される米国特許第4,816,467号を参照のこと）、そして以下のものが挙げられる。例えば、「脊椎動物抗体」とは、通常「Y」形に凝集され、そしてそれらの鎖の間に共有結合を有し得るか、または有し得ない、軽鎖および重鎖を含む、四量体であるか、またはそれらの凝集物である抗体のことをいう。脊椎動物抗体において、鎖のアミノ酸配列は、脊椎動物において、インサイチュまたはインビトロのいずれかで（例えば、ハイブリドーマにおいて）産生される抗体に見られるそれらの配列と相同である。脊椎動物抗体としては、例えば、精製されたポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体が挙げられ、それらの調製方法は、下に記載される。

30

【0072】

「ハイブリッド抗体」は、鎖が哺乳動物の抗体鎖に関して別個に相同であり、そしてそれらの新規の集合物を代表する抗体であり、これにより、2つの異なる抗原が四量体または凝集物によって沈殿可能である。ハイブリッド抗体において、一对の重鎖および軽鎖は、第1の抗原に対して産生される抗体に見られるものと相同であり、第2の対の鎖は、第2の抗体に対して産生される抗体に見られるものと相同である。これにより、「二価性」、すなわち、同時に2つの抗原と結合する能力という特性が生じる。このようなハイブリッドはまた、以下に示されるように、キメラ鎖を使用して形成され得る。

40

【0073】

「キメラ抗体」とは、重鎖および/または軽鎖が融合タンパク質である抗体のことをいう。代表的には、鎖のアミノ酸配列の一部が、特定の種または特定のクラスに由来する抗体における対応配列と相同であり、鎖の残りのセグメントが、別の種および/またはクラスに由来する配列と相同である。通常、軽鎖と重鎖の両方の可変領域は、脊椎動物の1つの種に由来する可変領域または抗体を模倣するが、定常部分は、脊椎動物の別の種に由

50

来する抗体における配列に相同である。しかしながら、この定義は、この特定の例に限定されない。重鎖または軽鎖のいずれかまたはその両方が様々な起源の抗体における配列を模倣する配列の組み合わせから構成される任意の抗体もまた含まれ、これらの起源は、起源の異なるクラスまたは異なる種由来であってもよく、そして融合点が、可変 / 定常の境界であっても、なくてもよい。すなわち、定常領域も可変領域も、公知の抗体配列を模倣しない抗体を産生することが可能である。次いで、例えば、その可変領域が特定の抗原に対して高い特異的な親和性を有するか、もしくはその定常領域が高い補体結合を誘発し得る抗体を構築すること、または特定の定常領域によって保有される特性を他に改善することができるようになる。

【 0 0 7 4 】

別の例は、「改変抗体」であり、脊椎動物抗体に天然に存在するアミノ酸配列が変更されている抗体のことをいう。組換え DNA 技術を利用して、抗体は、所望の特性を得るために再設計され得る。可能な改変は、多く、1 個以上のアミノ酸の変更から、領域、例えば、定常領域の完全な再設計までにわたる。一般に、所望の細胞内プロセス特性を獲得するための定常領域における変更は、例えば、補体結合の変更、膜との相互作用の変更および他のエフェクター機能の変更である。可変領域における変更は、抗原結合特性を変更するためになされ得る。その抗体はまた、特定の細胞または組織部位に分子または物質を特異的に送達することを促進するように操作され得る。所望の変更は、分子生物学における公知の技術、例えば、組換え技術、部位特異的な突然変異生成などによってなされ得る。

【 0 0 7 5 】

なおも別の例は、第 2 の重鎖の F c (すなわち、幹) 領域に結合する重鎖 / 軽鎖二量体から構成される凝集物である、「一価の抗体」である。このタイプの抗体は、抗原変調を免れる。例えば、Glennieら、Nature 295 : 712 (1982) を参照のこと。抗体の「F a b」フラグメントは、抗体のこの定義内に含まれる。「F a b」領域とは、重鎖および軽鎖の分枝部分を含む配列とおよそ等価であるか、または類似であり、そして特定された抗原に対して免疫学的な結合を示すことが証明されているが、エフェクターである F c 部分を欠く、重鎖および軽鎖の部分のことをいう。「F a b」は、1 本の重鎖および 1 本の軽鎖 (通常 F a b' として知られる) の凝集物ならびに 2 H 鎖および 2 L 鎖を含む四量体 (F (a b) 2 とよばれる) を含み、それは、指摘された抗原または抗原ファミリーと選択的に反応することができる。F a b 抗体は、上で記載されたもの、すなわち、「脊椎動物 F a b」、「ハイブリッド F a b」、「キメラ F a b」および「改変 F a b」と類似のサブセットに分けられ得る。抗体の F a b フラグメントを作製する方法は、当該分野で公知であり、それらとしては、例えば、タンパク質分解および組換え技術による合成が挙げられる。

【 0 0 7 6 】

「抗原 - 抗体複合体」とは、抗原上のエピトープに特異的に結合した抗体によって形成される複合体のことをいう。

【 0 0 7 7 】

ペプチド (またはペプチド試薬) は、そのペプチドが特異的、非特異的に結合する場合、または特異的および非特異的な結合のいくつかの組み合わせにおいて、別のペプチドまたはタンパク質と「相互作用する」といわれる。ペプチド (またはペプチド試薬) が、非病原性アイソフォームよりも病原型に対して高い親和性および / または高い特異性によって結合する場合、病原性プリオンタンパク質と「優先的に相互作用する」といわれる。病原性プリオンタンパク質と優先的に相互作用するペプチド試薬はまた、病原性プリオンに特異的なペプチド試薬と本明細書中で呼ばれる。優先的な相互作用が各ペプチドの特定のアミノ酸残基間および / またはモチーフ間の相互作用を必ずしも必要としないことが理解されるべきである。例えば、特定の実施形態において、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、病原性アイソフォームと優先的に相互作用するが、それでもなお、弱い、なお検出可能なレベル (例えば、目的のポリペプチドに対して示される結合の 10 % 以下) で非病原性アイソフォームと結合することができる場合がある。代表的には、弱い結

10

20

30

40

50

合またはバックグラウンド結合は、例えば、適切なコントロールを使用することによって、目的の化合物またはポリペプチドとの優先的な相互作用と容易に識別可能である。一般に、本発明のペプチドは、 10^6 倍過剰の非病原型の存在下で病原性プリオンと結合する。

【0078】

用語「親和性」とは、結合の強度のことをいい、解離定数 (K_d) として量的に表すことができる。好ましくは、病原性アイソフォームと優先的に相互作用するペプチド（またはペプチド試薬）は、好ましくは、非病原性アイソフォームと相互作用する場合よりも、少なくとも2倍高い親和性、より好ましくは、少なくとも10倍高い親和性、およびなおより好ましくは、少なくとも100倍高い親和性で病原性アイソフォームと相互作用する。結合親和性（すなわち、 K_d ）は、標準的な技術を使用して決定され得る。

10

【0079】

アミノ酸配列の「類似性」または「同一性パーセント」を決定するための技術は、当該分野で周知である。一般に、「類似性」とは、アミノ酸が、同一であるか、または電荷もしくは疎水性などの類似の化学的および/または物理的特性を有している場合の適切な位置における2個以上のポリペプチドのアミノ酸とアミノ酸との比較を意味する。いわゆる「同一性パーセント」は、比較されるポリペプチド配列間において決定され得る。核酸配列およびアミノ酸配列の同一性を決定するための技術もまた、当該分野で周知であり、その遺伝子に対するmRNA（通常、cDNA中間体を介して）のヌクレオチド配列を決定することおよびそれによってコードされるアミノ酸配列を決定することおよび第2のアミノ酸配列とこの配列を比較することを含む。一般に、「同一性」とは、それぞれ、2つのポリヌクレオチド配列または2つのポリペプチド配列の、正確なヌクレオチドとヌクレオチドとの対応または正確なアミノ酸とアミノ酸との対応のことをいう。

20

【0080】

2つ以上のアミノ酸配列またはポリヌクレオチド配列は、それらの「同一性パーセント」を決定することによって比較され得る。同一性パーセントは、2つの配列（参照配列および参照配列に対する未知の%同一性を有する配列）をアラインメントし、アラインメントされた2つの配列間のマッチの正確な数を数え、参照配列の長さで割り、そしてその結果に100を掛けることによって、それら2つの分子間の配列情報を直接比較することによって決定され得る。容易に入手可能なコンピュータプログラム、例えば、ペプチド解析のためにSmith and Waterman Advances in Appl. Math. 2: 482 - 489, 1981の局所的な相同性アルゴリズムを採用したALIGN (Dayhoff, M.O., Atlas of Protein Sequence and Structure M.O. Dayhoff ed., 5 Suppl. 3: 353 - 358, National biomedical Research Foundation, Washington, DC) は、その解析を促進するために使用され得る。ヌクレオチド配列同一性を決定するためのプログラムは、Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 (Genetics Computer Group, Madison, WIから入手可能) 例えば、BESTFIT、FASTAおよびGAPプログラム（これらもまた、Smith and Watermanアルゴリズムに基づく）として入手可能である。これらのプログラムは、製造者によって推奨され、上で述べたWisconsin Sequence Analysis Packageに基づいて記述されているデフォルトパラメータをすぐに利用する。例えば、特定のヌクレオチド配列と参照配列との同一性パーセントは、デフォルトのスコア表および6ヌクレオチド位置のギャップペナルティを用いて、Smith and Watermanの相同性アルゴリズムを使用して決定され得る。

30

40

【0081】

本発明に関して、同一性パーセントを確立する別の方法は、John F. CollinsおよびShane S. Sturrokによって開発され、University of Edinburghによって著作権保護されているMPSRCHTM パッケージ

50

プログラムを使用することであり、また、数多くの情報源、例えば、インターネット上から入手可能である。この一連のパッケージから、デフォルトパラメータをスコア表（例えば、ギャップオープンペナルティ = 12、ギャップ伸長ペナルティ = 1 およびギャップ = 6）に対して使用する場合に、Smith-Waterman アルゴリズムを使用することができる。これらのデータから、生成される「マッチ」値は、「配列同一性」を反映する。配列間の同一性パーセントまたは類似性を算出するための他の適当なプログラムは、一般に当該分野で公知であり、例えば、別のアラインメントプログラムは、デフォルトパラメータを用いて使用される BLAST である。例えば、BLASTN および BLASTP は、以下のデフォルトパラメータ：遺伝暗号 = 標準；フィルター = なし；鎖 = 両方；カットオフ = 60；期待値 = 10；行列 = BLOSUM62；ディスクリプション = 50 配列；ソート = HIGH SCORE；データベース = 非冗長性、GenBank + EMBL + DDBJ + PDB + GenBank CDS 翻訳 + Swiss タンパク質 + Snp update + PIR を用いて使用され得る。これらのプログラムの詳細は、容易に入手可能である。

【0082】

「免疫原性の組成物」とは、本明細書中で使用されるとき、被験体への組成物の投与が、被験体における体液性免疫応答および／または細胞性免疫応答を発生させる場合の任意の組成物（例えば、ペプチド、抗体および／またはポリヌクレオチド）のことをいう。免疫原性の組成物は、レシピエント被験体に直接的な投与経路（例えば、注入、吸入、経口、鼻腔内または他の任意の非経口的または粘膜（例えば、直腸内にまたは腔内））によって導入され得る。

【0083】

「エピトープ」とは、特定の B 細胞および／または T 細胞が反応する抗原上の部位を意味し、このようなエピトープを含む分子は、免疫学的反応を誘発することができるか、または生物学的サンプル中に存在する抗体と反応することができる。この用語はまた、「抗原決定基」または「抗原決定基部位」と交換可能に使用される。エピトープは、エピトープに特有の空間的なコンホメーションにおいて 3 以上のアミノ酸を含み得る。一般に、エピトープは、少なくとも 5 個のこのようなアミノ酸からなり、より一般には、少なくとも 8 ~ 10 個のこのようなアミノ酸からなる。アミノ酸の空間的なコンホメーションを決定する方法は、当該分野で公知であり、それらとしては、例えば、X 線結晶構造解析および 2 次元核磁気共鳴が挙げられる。さらに、所与のタンパク質におけるエピトープの同定は、当該分野で周知の技術を使用して（例えば、疎水性の研究の使用および部位特異的血清学によって）容易に達成される。Geysen et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1984) 81: 3998 - 4002（所与の抗原における免疫原性のエピトープの位置を決定するための迅速にペプチドを合成する一般的な方法）；米国特許第 4,708,871 号（抗原のエピトープを同定するためおよび化学的に合成するための手順）；および Geysenら、Molecular Immunology (1986) 23: 709 - 715（所与の抗体に対して親和性の高いペプチドを同定するための技術）も参照のこと。同じエピトープを認識する抗体は、一方の抗体が、他方の抗体の標的抗原への結合を遮断する能力を示すという単純なイムノアッセイにおいて同定され得る。

【0084】

「免疫学的応答」または「免疫応答」は、本明細書中で使用されるとき、ポリペプチドが、ワクチン組成物中に存在する場合、被験体において、本明細書中で記載されるようなペプチドに対する体液性免疫応答および／または細胞性免疫応答が発生することである。これらの抗体はまた、感染性を中和し、そして／または抗体 - 補体細胞傷害性または抗体依存性細胞傷害性を媒介することにより、免疫された宿主を保護し得る。免疫学的応答性は、当該分野で周知の競合アッセイなどの標準的なイムノアッセイにおいて測定され得る。

「遺伝子導入」または「遺伝子送達」とは、宿主細胞に目的の DNA を確かに挿入するための方法またはシステムのことをいう。このような方法は、組み込まれていない導入さ

10

20

30

40

50

れたDNAの一過性の発現、染色体外の複製および導入されたレプリコン（例えば、エピソード）の発現または導入された遺伝物質の宿主細胞のゲノムDNAへの組み込みをもたらし得る。遺伝子送達発現ベクターとしては、アルファウイルス、ボックスウイルスおよびワクシニアウイルス由来のベクターが挙げられるが、これらに限定されない。免疫するために使用されるとき、このような遺伝子送達発現ベクターは、ワクチンまたはワクチンベクターと呼ばれることがある。

【0085】

用語「サンプル」とは、生物学的サンプルおよび非生物学的サンプルを含む。生物学的サンプルは、生存生物体またはかつて生存していた生物体から得られたものまたはそれら由来のものである。非生物学的サンプルは、生存生物体またはかつて生存していた生物体

10

【0086】

用語「標識」および「検出可能な標識」とは、検出できる分子のことをいい、それらとしては、放射性同位体、蛍光物質、発光物質、化学発光物質、酵素、酵素基質、酵素コファクター、酵素インヒビター、発色団、色素、金属イオン、金属ゾル、リガンド（例えば、ピオチンまたはハプテン）などが挙げられるが、これらに限定されない。用語「蛍光物質」とは、検出可能な範囲において蛍光を示すことができる物質またはその一部のことをいう。本発明で使用され得る標識の特定の例としては、フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、ウンベリフェロン、テキサスレッド、ルミノール、アクラジマムエステル（*acridium ester*）、NADPH、 β -ガラクトシダーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、アルカリホスファターゼおよびウレアーゼが挙げられるが、これらに限定されない。標識はまた、エピトープタグ（例えば、His-Hisタグ）、抗体または増幅可能なオリゴヌクレオチドもしくは他の方法で検出可能なオリゴヌクレオチドであり得る。

20

【0087】

（II. 一般的な概要）

30

ペプチド試薬（および/またはこれらのペプチド試薬をコードするポリヌクレオチド）を含む組成物が本明細書中に記載され、そのペプチド試薬は、例えば、一方の型と優先的に相互作用するが、他方とは相互作用しないことによって、プリオンタンパク質の病原性アイソフォームと非病原性アイソフォームとを識別することができる。これらのペプチド試薬を使用して作製される抗体だけでなくこれらのペプチド試薬および/または抗体を含む組成物ならびに（例えば、病原性プリオンタンパク質の単離および/または検出のために）これらのペプチド試薬および/または抗体を作製する方法および使用する方法がまた提供される。

【0088】

本発明は、プリオンタンパク質の比較的小さいフラグメントが、プリオンの病原型と優先的に相互作用し得るという本発明者らによる発見に部分的に依存する。病原性プリオンアイソフォームと優先的に相互作用するために、これらのフラグメントは、大型のタンパク質構造または他のタイプの骨格分子の部分である必要がない。任意の特定の理論に適用するつもりはないが、おそらく、非病原性アイソフォームに存在するコンホメーションを模倣することによって、ペプチドフラグメントは、病原性プリオンアイソフォームに結合し得るが、非病原性プリオンアイソフォームとは結合し得ないコンホメーションを自然にとるようだ。コンホメーション病タンパク質の特定のフラグメントが、コンホメーション病タンパク質の病原型と優先的に相互作用するという、本明細書中ではプリオンについて証明されるこの一般的原理を、他のコンホメーション病タンパク質に容易に適用することにより、病原型と優先的に相互作用するペプチド試薬を作製することができる。フラグメ

40

50

ントは、出発点（例えば、大きさまたは配列特性に関して）を提供するが、より望ましい特性（例えば、より高い親和性、よりよい安定性、よりよい溶解性、より低いプロテアーゼ感度、よりよい特異性、より合成しやすいなど）を備えるペプチド試薬を作製するために、そのフラグメントに多くの改変がなされ得ることは、当業者には明らかであろう。

【0089】

一般に、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、プリオンタンパク質の病原型と優先的に相互作用することができる。すなわち、これらのペプチド試薬は、病原性プリオンタンパク質の存在の容易な検出を可能にし、それゆえ、実質的にいかなる生物学的サンプルまたは非生物学的サンプル（生存しているかまたは死亡後の脳、脊髄または他の神経系組織ならびに血液を含む）におけるプリオン関連疾患の診断が可能になる。

10

【0090】

さらに、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、診断的組成物または治療的組成物および診断的方法または治療的方法に使用され得る抗体を作製するために使用され得る。特に、ペプチド試薬および/または抗体が、病原性タンパク質と優先的に相互作用する場合、それらは、例えば、秩序化、凝集または他の方法で、疾患型タンパク質を後に検出され得る状態に誘導することによって、病原性アイソフォームの存在を検出するために使用され得る。本明細書中において記載されるペプチド試薬は、血液含有サンプル中の病原型を検出することを含む種々の診断アッセイにおいて有用である。抗体および/またはペプチド試薬（またはそれらの構成要素部分の1個以上）は、検出を促進および/またはプリオンタンパク質との相互作用を増強するために標識され得るか、またはマークされ得る。

20

【0091】

さらに、任意の適当なシグナル増幅システムを使用することにより、さらに検出を促進することができる。そのシステムとしては、シグナル増幅用の分枝DNAの使用（例えば、米国特許第5,681,697号；同第5,424,413号；同第5,451,503号；同第5,4547,025号；および同第6,235,483号を参照のこと）；PCRのような標的増幅技術の適用、ローリングサークル増幅であるThird Wave's invader (Arrudaら、2002 Expert. Rev. Mol. Diagn. 2:487；米国特許第6090606号、同第5843669号、同第5985557号、同第6090543号、同第5846717号)、NASBA、TMAなど（米国特許第6,511,809号；EP0544212A1）；および/またはイムノPCR技術（例えば、米国特許第5,665,539号；国際特許出願WO98/23962；WO00/75663；およびWO01/31056を参照のこと）が挙げられるがこれらに限定されない。

30

【0092】

さらに、本明細書中において記載されるペプチド試薬および抗体は、疾患を処置または予防するために、単独または任意の組み合わせで使用され得る。

【0093】

(III. A. ペプチド試薬)

コンホメーション病タンパク質の病原型と相互作用するペプチド試薬が本明細書中に記載される。コンホメーション病タンパク質は、本明細書中においてプリオンタンパク質によって代表される。

40

【0094】

以下は、2個以上の異なるコンホメーションを想定する関連タンパク質を伴う疾患の非限定的なリストである。

【0095】

【化 7】

疾患	コンホメーション病タンパク質
プリオン病 (例えば、クロイツフェルト・ヤコブ病、スクレイピー、ウシ海綿状脳症)	PrP ^{Sc}
アルツハイマー病	APP, A* ペプチド, *1-抗キモトリプシン、褐色、非 A* 成分
ALS	SOD およびニューロフィラメント
ピック病	ピック小体
パーキンソン病	レヴィー小体
1 型糖尿病	アミリン
多発性骨髄腫-血漿細胞疾患	IgGL-鎖
家族性アミロイド神経障害	トランスサイレチン
甲状腺の髄様癌	プロカルシトニン
慢性腎不全	beta2-ミクログロブリン
うっ血性心不全	心房性ナトリウム利尿因子
老年性心臓アミロイドーシスおよび全身性アミロイドーシス	トランスサイレチン
慢性炎症	血清アミロイド A
アテローム性動脈硬化症	ApoA1
家族性アミロイドーシス	ゲルソリン

10

20

さらに、上で列挙された各コンホメーション病タンパク質は、本発明によってすべて包含される様々な系統を生じる多くの改変体または変異を含む。マウスプリオンタンパク質の様々な領域および配列の機能的解析が、以下に提供される。Priola (2001) Adv. Protein Chem. 57: 1 - 27 もまた参照のこと。マウス (Mo)、ハムスター (Ha)、ヒト (Hu)、トリ (A) およびヒツジ (Sh) について以下に示されるものに対応する領域および残基は、標準的な手順および本明細書中の教示に従って他の種について容易に決定され得る。

【0096】

【化 8】

アミノ酸	機能
Mo1-28	転移ドメイン (切断)
22	推定切断部位
23-28	欠失すると、プリオンタンパク質のC末端におけるタンパク質×関連変異の作用を抑制するので、タンパク質×結合部位と強力に相互作用する基本領域
23-88	8反復領域 (1~9個の挿入または2個の欠失が疾患を増強する) ; 反復の各々におけるヒスチジンによる銅配位
34-52	ポリプロリンヘリックスおよびヒドロキシプロリンを形成すると示される8反復の部分
86-91	プロテイナーゼK消化の際、PrP ^{Sc} の切断部位
Hu82-146	GSS患者の疾患脳に見られる7Kdaフラグメント ; この領域に対応する合成ペプチドは、イオンチャネルを形成する
HuP102	GSSと関連するP102L変異は、プリオンタンパク質のプロテアーゼ耐性コンホメーションへの自然変換を引き起こさないと考えられる ; プロリンは、実験されたすべての種において保存されていた
HuP105	GSSと関連するP105L変異は、プリオンタンパク質のプロテアーゼ耐性コンホメーションへの自然変換を引き起こさないと考えられる ; プロリンは、実験されたすべての種において保存されていた
Hu102-105	PXXPモチーフ ; 可能性のあるポリプロリンII型ヘリックス
Mo 106	疾患耐性と関連

10

20

【0097】

【化 9】

Hu106-126	合成ペプチドの変異型は、イオンチャネルを調節する銅を形成すると示唆された；ペプチドが、Aに突然変異されると、よりアミロイド形成的であるのでG114およびG119は、このペプチドの原線維発生挙動を減少すると示された
Mo 111	疾患耐性に関連
Sh104-113	D13 Fabと共結晶化されるペプチド
Ha109-112	結晶構造において示されるようにD13ペプチドによって特異的に認識されるループ（M109およびM112は、Fab内の結合ポケットに挿入される）
Hu113-120	バリンドローム配列；完全に保存されている
A117V	バリンドロームにおける病原性変異；その領域を含むペプチドのアミロイド形成的な特性を増大
Ha129-131	PrP ^C における β シート1
Hu129/Go132	
Ha136	ヒツジにおける被覆ピットの増加に関連するアラニン多型
Mo138/Go142	プリオン病に対する感受性／耐性に関連する多型
Mo141-176	マウスミニプリオンPrP106における欠失範囲（23～88）は効果を有しない；この領域に対する非必須機能を示唆
Ha144-154	ヘリックス A
Ha155	プリオン病に対する感受性／耐性に関連する多型
Ha160-163	シート2
MoV165	種の壁；ヒトトランスジェニックマウスがこれらの残基をマウス配列に復帰突然変異させる場合、より速いインキュベーション時間が得られる
MoQ167	種の壁；ヒトトランスジェニックマウスがこれらの残基をマウス配列に復帰突然変異させる場合、より速いインキュベーション時間が得られる
MoQ168	推定タンパク質X結合部位；突然変異時は、プリオン疾患から保護
Sh171	プリオン病に対する感受性／耐性に関連する多型
MoQ172	推定タンパク質X結合部位；突然変異時は、プリオン疾患から保護
176	ジスルフィド結合システイン
Ha173-194	ヘリックス B
178	疾患関連変異
180	疾患関連変異；グリコシル化部位
196	グリコシル化部位
198	疾患関連変異
Hu200-228	ヘリックス C

10

20

30

40

【0098】

【化 1 0】

HuE200	Libyan Jewsにおける家族性CJDに関連したKに対する変異 (M129多型と組み合わせると、疾患の確率が上昇)
208	疾患関連変異
210	疾患関連変異
MoT215	推定タンパク質X結合部位；突然変異時は、プリオン疾患から保護
217	疾患関連変異
MoQ219	推定タンパク質X結合部位；突然変異時は、プリオン疾患から保護
232	疾患関連変異
232	GPI アンカー
~233	推定GPI アンカー切断部位
233-254	成熟タンパク質から除去される部分

10

プリオンタンパク質（および他のコンホメーション病タンパク質）が、同じアミノ酸配列で2つの異なる3次元コンホメーションを有することに注目すべきである。一方のコンホメーションは、疾患特性に関連し、一般に不溶性であるが、他方のコンホメーションは、疾患特性に関連せず、可溶性である。例えば、Wille, et al., "Structural Studies of the Scrapie Prion Protein by Electron Crystallography", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99(6):3563-3568(2002)を参照のこと。プリオンタンパク質に関して例示されたが、本発明は、列挙された疾患、タンパク質および系統に限定されない。

20

【0099】

従って、特定の局面において、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、天然に存在するタンパク質、例えば、コンホメーション病タンパク質（例えば、プリオンタンパク質）またはプリオンタンパク質に対して相同性を示すモチーフまたは配列を含むタンパク質から誘導されるアミノ酸配列を含む。特に、本発明のペプチド試薬は、代表的には、天然に存在するプリオンタンパク質から誘導される。ペプチド試薬は、好ましくは、プリオンタンパク質の特定の領域由来のアミノ酸配列から誘導される。これらの好ましい領域は、アミノ酸残基23～43および85～156およびそれらの小領域からの領域におけるマウスプリオン配列（配列番号2）に関して例示される。本発明は、マウス配列から誘導されるペプチド試薬に限定されないが、ヒト、ウシ、ヒツジ、シカ、ヘラジカ、ハムスターを含む任意の種のプリオン配列から本明細書中において記載されるのと類似の様式において誘導されるペプチド試薬を含む。プリオンタンパク質から誘導されるとき、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、ポリプロリンII型ヘリックスモチーフを含み得る。このモチーフは、代表的には、一般的な配列PxxP（例えば、配列番号1の残基102～105）を含むが、他の配列、特にアラニンテトラペプチドが、同様にポリプロリンII型ヘリックスを形成すると示唆されている（例えば、Nguyenら、Chem Biol, 2000 7:463; Nguyenら、Science 1998 282:2088; Schweitzer-Stennerら、J, Am. Chem Soc, 2004 126:2768を参照のこと）。PxxP配列において、「x」は、任意のアミノ酸であり得、そして「P」は、天然に存在する配列におけるプロリンであるが、本発明のペプチド試薬においては、プロリン代替物によって置換されてもよい。このようなプロリン代替物としては、通常ペプトイドと呼ばれるN置換グリシンが挙げられる。従って、PxxP配列に基づくポリプロリンII型ヘリックスを含む本発明のペプチド試薬において、「P」は、プロリン残基またはN置換グリシン残基を示し、そして「x」は、任意のアミノ酸またはアミノ酸アナログを示す。特に好ましいN置換グリシンは、本明細書中において記載される。

30

40

50

【0100】

さらに、ヒト、マウス、ヒツジおよびウシを含む多くの様々な種から産生されるプリオンタンパク質に対するポリヌクレオチドおよびアミノ酸配列が知られている。これらの配列に対する改変体もまた、各種内に存在する。すなわち、本発明において使用されるペプチド試薬は、任意の種または改変体のアミノ酸配列のフラグメントまたは誘導体を含み得る。例えば、特定の実施形態において、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、図2に示される配列（配列番号3～11）のいずれかから誘導される。本明細書中において特に開示されるペプチド試薬の配列は、一般にマウスプリオン配列に基づくが、しかしながら、当業者は、適切である場合には、他の種から対応する配列を容易に置換し得る。例えば、ヒトの診断または治療が所望される場合、マウス配列を対応するヒト配列に置換することが容易に行える。特定の実施例において、残基約85～残基約112（例えば、配列番号35、36、37、40）の領域から誘導されるペプチド試薬において、残基109に対応する位置のロイシンは、メチオニンで置換され得、残基112に対応する位置のバリンは、メチオニンで置換され得、そして97に対応する位置のアスパラギンは、セリンで置換され得る。同様に、ウシの診断が所望される場合、ウシのプリオン配列を反映するように、開示されたペプチド配列において適切な置換を、行ってもよい。すなわち、残基約85～残基約112の領域から誘導されるペプチド試薬についての上記の例を用いて、残基109に対応する位置のロイシンは、メチオニンで置換され得、そして97に対応する位置のアスパラギンは、グリシンで置換され得る。これらの配列に対するアミノ酸の置換、欠失、付加および他の変異を含むプリオンタンパク質の誘導体もまた使用され得る。好ましくは、プリオンタンパク質配列と比較するとき、任意のアミノ酸の置換、付加および欠失は、病原型と相互作用するペプチド試薬の能力に影響しない。

【0101】

たとえどんな起源が本明細書中において記載されるペプチド試薬に使用されても、これらのペプチド試薬は、公知のプリオンタンパク質に対して配列同一性を必ずしも示さないことが理解されるべきである。すなわち、本明細書中において記載されるペプチド試薬が、コンホメーション病タンパク質の病原型と優先的に相互作用する能力を保持するかぎり、それらは、天然に存在するプリオンタンパク質または本明細書中に開示される配列と比較して、1個以上のアミノ酸の置換、付加および欠失を含んでもよい。特定の実施形態において、保存的アミノ酸置換が、好ましい。保存的アミノ酸置換は、それらの側鎖に関連するアミノ酸のファミリー内で起きるものである。遺伝的にコードされるアミノ酸は、一般に4つのファミリーに分けられる：（1）酸性＝アスパラギン酸、グルタミン酸；（2）塩基性＝リシン、アルギニン、ヒスチジン；（3）非極性＝アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン；および（4）無電荷極性＝グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、トレオニン、チロシン。フェニルアラニン、トリプトファンおよびチロシンは、時折、芳香族アミノ酸として共に分類される。例えば、イソロイシンまたはバリンによるロイシンの分離した置換、グルタミン酸によるアスパラギン酸の分離した置換、セリンによるトレオニンの分離した置換、または構造的に関連したアミノ酸によるアミノ酸の同様の保存的置換が、生物学的活性に対する大きな影響を有しないことが、合理的に予測可能である。

【0102】

天然のアミノ酸および天然でないアミノ酸アナログの任意の組み合わせが、本明細書中において記載されるペプチド試薬を作製するために使用され得ることもまた明らかである。遺伝子にコードされない一般に遭遇するアミノ酸アナログとしては、オルニチン（Orn）；アミノイソ酪酸（Aib）；ベンゾチオフェニルアラニン（BtPhe）；アルピジイン（Abz）；t-ブチルグリシン（Tle）；フェニルグリシン（PhG）；シクロヘキシルアラニン（Cha）；ノルロイシン（Nle）；2-ナフチルアラニン（2-Nal）；1-ナフチルアラニン（1-Nal）；2-チエニルアラニン（2-Thi）；1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸（Tic）；N-メチルイソロイシン（N-Me Ile）；ホモアルギニン（Har）；N α -メチルアルギ

ニン (N - M e A r g) ; ホスホチロシン (p T y r または p Y) ; ピペコリン酸 (P i p) ; 4 - クロロフェニルアラニン (4 - C l P h e) ; 4 - フルオロフェニルアラニン (4 - F P h e) ; 1 - アミノシクロプロパンカルボン酸 (1 - N C P C) ; およびサルコシン (S a r) が挙げられるが、これらに限定されない。本発明のペプチド試薬において使用されるアミノ酸のいずれかは、D - 異性体であり得るか、または、より代表的には、L - 異性体であり得る。

【0103】

本明細書中において記載されるペプチド試薬を形成するために使用され得るアミノ酸の他の天然に存在しないアナログとしては、ペプトイドおよび/またはペプチド模倣物化合物が挙げられ、生物学的に等しい機能を有するアミノ酸のスルホン酸アナログおよびボロン酸アナログはまた、本発明の化合物において有用であり、必要に応じて同配体によって置換されていてもよい1個以上のアミド結合を有する化合物を含む。本発明に関して、例えば、- - C O N H - - は、- C H₂ N H - - 、- - N H C O - - 、- - S O₂ N H - - 、- - C H₂ O - - 、- - C H₂ C H₂ - - 、- - C H₂ S - - 、- - C H₂ S O - - 、- - C H - C H - - (シスまたはトランス)、- - C O C H₂ - - 、- - C H (O H) C H₂ - - および1, 5 - 二置換テトラゾールによって置換されてもよく、これらの同配体によって連結されるラジカルは、- - C O N H - - によって連結されるラジカルに対して同様の配向内に保持され得る。本明細書中において記載されるペプチド試薬における1個以上の残基は、ペプトイドを含み得る。

【0104】

従って、ペプチド試薬はまた、1個以上のN置換グリシン残基を含み得る(1個以上のN置換グリシン残基を有するペプチドは、「ペプトイド」と呼ばれることがある)。例えば、特定の実施形態において、本明細書中において記載されるペプチド試薬のいずれかの1個以上のプロリン残基は、N置換グリシン残基で置換されている。これに関して適当である特定のN置換グリシンとしては、N - (S) - (1 - フェニルエチル)グリシン; N - (4 - ヒドロキシフェニル)グリシン; N - (シクロプロピルメチル)グリシン; N - (イソプロピル)グリシン; N - (3, 5 - ジメトキシベンジル)グリシン; およびN - アミノ - ブチルグリシンが挙げられるが、これらに限定されない。(例えば、図3)。他のN置換グリシンはまた、本明細書中において記載されるペプチド試薬配列において1個以上のアミノ酸残基を置換することが適当であり得る。これらのアミノ酸アナログおよび他のアミノ酸アナログならびにペプチド模倣物の一般的な概説として、N g u y e n ら、(2000) Chem Biol. 7 (7) : 463 - 473; S p a t o l a , A . F . , in Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins, B. Weinstein, eds., Marcel Dekker, New York, p. 267 (1983) を参照のこと。また、S p a t o l a , A . F . , Peptide Backbone Modifications (一般的な概説), Vega Data, Vol. 1, Issue 3, (March 1983); Morley, Trends Pharm Sci (一般的な概説), pp. 463 - 468 (1980); Hudson, D. et al., Int J Pept Prot Res, 14: 177 - 185 (1979) (- - C H₂ N H - - , C H₂ C H₂ - -); S p a t o l a . et al., Life Sci, 38: 1243 - 1249 (1986) (- - C H₂ - - S); Hann J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 307 - 314 (1982) (- - C H - - C H - - , シスおよびトランス); Almqvist ら、J Med Chem, 23: 1392 - 1398 (1980) (- - C O C H₂ - -); Jennings - White ら、Tetrahedron Lett, 23: 2533 (1982) (- - C O C H₂ - -); Szelke ら、European Appln. EP 456 65 CA: 97: 39405 (1982) (- - C H (O H) C H₂ - -); Holladay ら、Tetrahedron Lett, 24: 4401 - 4404 (1983) (- - C (O H) C H₂ - -); および Hruby, Life Sci, 31: 189

10

20

30

40

50

- 199 (1982) (- - CH₂ - - S - -) も参照のこと；これらの各々は、本明細書中において参考により援用される。C 末端のカルボン酸は、ボロン酸 - - B (OH)₂ またはボロン酸エステル - - B (OR)₂ もしくは本明細書中において参考により援用される米国特許第 5, 288, 707 号に開示されているような他のこのようなボロン酸誘導体によって置換され得る。

【0105】

本明細書中において記載されるペプチド試薬は、モノマー、多量体、環化分子、分枝分子、リンカーなどを含み得る。本明細書中において記載される配列のいずれかの多量体（すなわち、二量体、三量体など）またはそれらの生物学的に機能的な等価物もまた企図される。多量体は、ホモ多量体であり得、すなわち、同一のモノマーから構成され得る。例えば、各モノマーが、同じペプチド配列である。あるいは、多量体は、ヘテロ多量体であり得、これは、多量体を構成するすべてのモノマーが同一ではないことを意味する。

10

【0106】

多量体は、互いのモノマーの直接的な結合または支持体との直接的な結合によって形成され得る。それらとしては、例えば、複数の抗原性ペプチド (MAPS) (例えば、対称性 MAPS)、ポリマー骨格 (例えば、PEG 骨格) に結合したペプチド、および / またはスパーサー単位ありまたはなしで、タンデムに連結されたペプチドが挙げられる。

【0107】

あるいは、連結基は、モノマーの配列に加えられることにより、共にモノマーを結合し、そして多量体を形成することができる。連結基を使用した多量体の非限定的な例としては、グリシンリンカーを使用したタンデム反復；支持体にリンカーを介して結合した MAPS および / または骨格にリンカーを介して結合した、直鎖的に連結したペプチドが挙げられる。当業者に公知であるように、連結基は、二官能性のスパーサー単位 (ホモ二官能性またはヘテロ二官能性のいずれか) の使用に関連し得る。例としては、これらに限定されないが、試薬 (例えば、スクシンイミジル - 4 - (p - マレイミドメチル) シクロヘキサン - 1 - カルボキシレート (SMCC)、スクシンイミジル - 4 - (p - マレイミドフェニル) ブチレートなど) を使用してペプチドを共に連結する際にこのようなスパーサー単位を組み込むための多くの方法は、Pierce Immunotechnology Handbook (Pierce Chemical Co., Rockville, Ill.) に記載されており、Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo.) および Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wis.) から入手可能であり、そして "Comprehensive Organic Transformations", VCK - Verlagsgesellschaft, Weinheim / Germany, (1989) に記載されている。モノマーの配列とともに連結するために使用され得る連結基の 1 つの例は、- - Y₁ - - F - - Y₂ であり、ここで、Y₁ および Y₂ は、同一であるか、または異なり、そして 0 ~ 20 個、好ましくは、0 ~ 8 個、より好ましくは、0 ~ 3 個の炭素原子のアルキレン基であり、そして F は、1 個以上の官能基 (例えば、- - O - -、- - S - -、- - S - - S - -、- - C (O) - - O - -、- - NR - -、- - C (O) - NR - -、- - NR - - C (O) - - O - -、- - NR - - C (O) - - NR - -、- - NR - - C (S) - - NR - -、- - NR - - C (S) - - O - -) である。Y₁ および Y₂ は、必要に応じて、ヒドロキシ、アルコキシ、ヒドロキシアシル、アルコキシアシル、アミノ、カルボキシル、カルボキシアシルなどで置換されていてもよい。モノマーの任意の適切な原子が、連結基に結合されることが理解され得る。

20

30

40

【0108】

さらに、本発明のペプチド試薬は、直鎖状、分枝状または環状であり得る。モノマー単位は、環化されるか、または共に連結されて、直鎖状または分枝状の形態、環状 (例えば、大環状)、星状 (デンドリマー) または球状 (例えば、フラーレン) の形態の多量体を提供し得る。当業者は、本明細書中に開示されたモノマーの配列から形成され得る多くのポリマーを容易に認識し得る。特定の実施形態において、多量体は、環状二量体である。

50

上と同じ用語の定義を使用して、二量体は、ホモ二量体またはヘテロ二量体であり得る。

【0109】

モノマーまたは多量体のいずれに関わらず、環状形態は、上で記載した任意の結合によって形成され得、それらとしては、例えば：(1)窒素とC末端のカルボニルとの間で直接的なアミド結合を形成することによってか、またはスパーサー基の仲介によって(例えば、 ϵ -アミノカルボン酸による縮合によって)のいずれかによって、N末端のアミンとC末端のカルボン酸とが環化したもの；(2)2つの残基の側鎖の間で結合を形成することによって環化したもの、例えば、アスパラギン酸側鎖またはグルタミン酸側鎖とリシン側鎖との間でアミド結合を形成することによってか、または2つのシステイン側鎖間またはペニシラミン側鎖とシステイン側鎖との間または2つのペニシラミン側鎖間でジスルフィド結合を形成することによって環化したもの；(3)側鎖(例えば、アスパラギン酸またはリシン)とそれぞれN末端のアミンまたはC末端のカルボキシルのいずれかとの間でアミド結合を形成することによって環化したもの；および/または(4)短い炭素スパーサー基の仲介によって2つの側鎖を連結したものが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0110】

好ましくは、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、病原性ではなく、そして/または感染性でない。

【0111】

本発明のペプチド試薬は、概して、3~約100残基長(またはそれらの間の任意の値)またはそれ以上、好ましくは、約4~75残基長(またはそれらの間の任意の値)、好ましくは、約5~約63残基長(またはそれらの間の任意の値)およびなおより好ましくは、約8~約30残基長(またはそれらの間の任意の値)であり得、そして最も好ましくは、ペプチド試薬は、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30残基であり得る。

20

【0112】

本明細書中において記載される組成物および方法において有用なペプチド試薬の非限定的な例は、表1および表4に示される配列から誘導される。それらの表中のペプチド試薬は、従来の1文字のアミノ酸コードによって表され、左側がN末端、右側がC末端を示す。角括弧内のアミノ酸は、異なるペプチド試薬におけるその位置で使用され得る別の残基を示す。丸括弧は、残基が存在し得るか、またはペプチド試薬に存在しないことを示す。「2」の前の二重丸括弧(例えば、配列番号133)は、この配列が、二重括弧の間のペプチドを2コピー含むことを示す。コピー数を指示する数字の後の残基(例えば、配列番号133における「K」)は、二重括弧の間のペプチドの各コピーが伸びている残基を示す。すなわち、配列番号133(図6)は、リシンの α -アミノ官能基および ϵ -アミノ官能基を介して各々のC末端がリシン(K)残基に連結した、QWNKPSKPKTNペプチド配列の二量体である。「MAPS」を含む配列は、本明細書中においてさらに詳細に記載されるように、複数の抗原性部位を含むペプチドを示す。用語「分枝」の前の数字は、コピー数を示す。すなわち、配列番号134は、4コピーのGGGKKRPKPGGWNTGGGを含み、配列番号135は、8コピーのGGGKKRPKPGGWNTGGGを含む。任意のプロリン残基は、ペプトイドを形成するN置換グリシン残基で置換され得る。これらの表中の任意の配列は、必要に応じてN末端および/またはC末端にGlyリンカー(G_n 、ここで、 $n=1, 2, 3$ または4)を含んでもよい。表1のすべてのペプチドにおいて、(X)は、「G」またはその位置にアミノ酸残基が存在しないことのいずれかを示す。

30

40

【0113】

【表 1 - 1】

表 1

ペプチド配列	配列番号
KKRPK	12
MANLGCWMLVLFVATWSDLGLC	13
(GGG)QWNKPSKPKTN	14
QWNKPSKPKTNMKHV	15
NQNN[N/T]FVHDCVNIT[I/V]K[Q/E]HTVTTTTTKGEN	16
TTKGENFTETD	17
GENFTETD	18
GENFTETD[V/I]K[M/I]MERVVEQMC[I/V]TQY[E/Q]ESQAYY[Q/D](G)(R)R[G/S][S/A]S	19
NQNN[N/T]FVHDCVNIT[I/V]K[Q/E]HTVTTTTTKGENFTETD[V/I]K[M/I]MERVVEQMC[I/V]TQY[E/Q]ESQAYY[Q/D](G)(R)R[G/S][S/A]S	20
[A/V/T/M][V/I]LFSSPPVILLISFLIFL[I/M]VG	21
G[N/S]D[W/Y]EDRYRENM[H/Y]RYPNQVYYRP[M/V]D[Q/E/R]Y[S/N]NQNN[N/T]FVH	22
N[N/T]FVHDCVNIT[I/V]K[Q/E]HTVTTTTTK	23
VYYR	24
RYPNQVYYRP[M/V]D[Q/E/R]	25
KKRPKPGG(G)WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQGG	26
WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQGG(G)	27
WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQGG(G)[G/T]WGQPHGG	28
GGWGQGGGTHSQWNKPSKPKTN	29
GGTHSQWNKPSKPKTN	30

10

20

【 0 1 1 4 】

【表 1 - 2】

WNTGGSRYPGQSGPGGNRYPPQGG(G)[G/T]WGQPHGGGWGQ PHGGGWGQPHGG	31
GQPHGGGW	32
RPIIHFGSDYEDRYRENMR	33
RPMIHFGNDWEDRYRENMYR	34
(GGGG)C(GG)GGWGQGGGTHNQWNKPSKPKTNLKHV(GGGG) C	35
(GGGG)GGWGQGGGTHNQWNKPSKPKTNLKHV	36
GGWGQGGGTHNQWNKPSKPKTNLKHV(GGGG)	37
[M/L]KH[M/V]	38
KPKTN[M/L]KH[M/V]	39
C(GG)GGWGQGGGTHNQWNKPSKPKTNLKHV(GGGG)C	40
SRPIIHFGSDYEDRYRENMRYPN	41
PMIHFGNDWEDRYRENMYRPVD	42
AGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAM	43
RPMIHFGNDWEDRYRENMYR(GGG)	44
GGGRPMIHFGNDWEDRYRENMYRGG	45
(GG)C(GGG)RPMIHFGNDWEDRYRENMYR(GGG)C	46
AGAAAAGAVVGGLGG	47
GGLGG	48
LGS	49
QWNKPSKPKTN(GGG)	50
QWNKPSKPKTN(GGG)QWNKPSKPKTN	51
QWNKPSKPKTNLKHV(GGG)	52
GGWGQGGGTHNQWNKPSKPKTN	53
GGTHNQWNKPSKPKTN	54
(GGG)AGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAM	55
(GGG)AGAAAAGAVVGGLGG	56
(KKK)AGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAM	57
YMLGSAM[S/N]R	58
[S/N]RP[M/I/L][I/L]H	59
YMLGSAM[S/N]RP[M/I/L][I/L]H	60
YMLGSAM[S/N]RP[M/I/L][I/L]HFG[N/S]D	61
[W/Y]EDRYRENM[H/Y]RYPNQVYYRP[M/V]D[Q/E/R]Y	62
[W/Y]EDRYRENM[H/Y]RYPNQVYYRP[M/V]D[Q/E/R]Y[S/N]N QN[N/T]	63
D[Q/E/R]Y[S/N]NQ[N/T]	64
(KKK)AGAAAAGAVVGGLGG	65
(GGG)KKRPKPGGWNTGGSRYPGQGS	66
(GGG)KKRPKPGGWNTGG	67
(GGG)KKRPKPGG	68
PHGGGWGQHGGSWGQPHGGSWGQ	69
PHGGGWGQPHGGSWGQ	70
PHGGGWGQ	71
(GGG)KKRPKPGGKKRPKPGG	72
(GGG)GPKRKGP	73
(GGG)WNTGGSRYPGQGS	74
(GGG)WNKPSKPKT	75

【 0 1 1 5 】

【表 1 - 3】

(GGG)RPMIHFGNDWEDRYRENMYR(GG)C	76
QWNKPSKPKTNLKHV(GGG)	77
(GGG)AGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAM	78
(GGG)NKPSKPK	79
(GGG)KPSKPK	80
(GGG)KKRPKPGGGQWNKPSKPKTN	81
KKKAGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAMDDD	82
DDDAGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAM	83
KKKAGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAMKKK	84
(GGG)KKKKKKKK	85
DDDAGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAMDDD	86
(GGG)NNKQSPWPTKK	87
DKDKGGVGALAGAAVAAGGDKDK	88
(GGG)QANKPSKPKTN	89
(GGG)QWNKASKPKTN	90
(GGG)QWNKPSAKTN	91
(GGG)QWNAPSKPKTN	92
(GGG)QWNKPSAPKTN	93
(GGG)QWNKPSKPATN	94
(GGG)QWNKASKAKTN	95
(GGG)KKRAKPGG	96
(GGG)KKRPKAGG	97
(GGG)KKRAKAGG	98
(GGG)QWNKASKPKTN	99
(GGG)QWAKPSKPKTN	100
(GGG)QWNKPAKPKTN	101
(GGG)QWNKPSKPKAN	102
(GGG)QWNKPSKPKTA	103
(GGG)AKRPKPGG	104
(GGG)KARPKPGG	105
(GGG)KKAPKPGG	106
(GGG)KKRPAPGG	107
(GGG)KKAPKAGG	108
(GGG)KKRPKPGGGWNTGG	127
QWNKPSKPKTNGGGQWNKPSKPKTNGGGQWNKPSKPKTN	128
((QWNKPSKPKTN))2K	133
4-分枝 MAPS-GGGKKRPKPGGWNTGGG	134
8-分枝 MAPS-GGGKKRPKPGGWNTGGG	135
KKKAGAAAAGAVVGGLGG-CONH2	136
DLGLCKKRPKPGGXWNTGG	137
DLGLCKKRPKPGGXWNTG	138
DLGLCKKRPKPGGXWNT	139
DLGLCKKRPKPGGXWN	140
DLGLCKKRPKPGGXW	141
DLGLCKKRPKPGGX	142
LGLCKKRPKPGGXWNTG	143
LGLCKKRPKPGGXWNT	144
LGLCKKRPKPGGXWN	145

【表 1 - 4】

LGLCKKRPKPGGXW	146
LGLCKKRPKPGGX	147
GLCKKRPKPGGXWNTGG	148
GLCKKRPKPGGXWNTG	149
GLCKKRPKPGGXWNT	150
GLCKKRPKPGGXWN	151
GLCKKRPKPGGXW	152
GLCKKRPKPGGX	153
LCKKRPKPGGXWNTGG	154
LCKKRPKPGGXWNTG	155
LCKKRPKPGGXWNT	156
LCKKRPKPGGXWN	157
LCKKRPKPGGXW	158
LCKKRPKPGGX	159
CKKRPKPGGXWNTGG	160
CKKRPKPGGXWNTG	161
CKKRPKPGGXWNT	162
CKKRPKPGGXWN	163
CKKRPKPGGXW	164
CKKRPKPGGX	165
KKRPKPGGXWNTGG	166
KKRPKPGGXWNTG	167
KKRPKPGGXWNT	168
KKRPKPGGXWN	169
KKRPKPGGXW	170
KKRPKPGGX	171
DVGLCKKRPKPGGXWNTGG	172
DVGLCKKRPKPGGXWNTG	173
DVGLCKKRPKPGGXWNT	174
DVGLCKKRPKPGGXWN	175
DVGLCKKRPKPGGXW	176
DVGLCKKRPKPGGX	177
VGLCKKRPKPGGXWNTG	178
VGLCKKRPKPGGXWNT	179
VGLCKKRPKPGGXWN	180
VGLCKKRPKPGGXW	181
VGLCKKRPKPGGX	182
THSQWNKPSKPKTNMKHM	183
THSQWNKPSKPKTNMKH	184
THSQWNKPSKPKTNMK	185
THSQWNKPSKPKTNM	186
THSQWNKPSKPKTN	187
HSQWNKPSKPKTNMKHM	188
HSQWNKPSKPKTNMKH	189
HSQWNKPSKPKTNMK	190
HSQWNKPSKPKTNM	191
HSQWNKPSKPKTN	192
SQWNKPSKPKTNMKHM	193

10

20

30

40

【表 1 - 5】

SQWNKPSKPKTNMKH	194
SQWNKPSKPKTNMK	195
SQWNKPSKPKTNM	196
SQWNKPSKPKTN	197
QWNKPSKPKTNMKHM	198
QWNKPSKPKTNMKH	199
QWNKPSKPKTNMK	200
QWNKPSKPKTNM	201
THSQWNKPSKPKTNMKHV	202
HSQWNKPSKPKTNMKHV	203
SQWNKPSKPKTNMKHV	204
QWNKPSKPKTNMKHV	205
THGQWNKPSKPKTNMKHM	206
THGQWNKPSKPKTNMKH	207
THGQWNKPSKPKTNMK	208
THGQWNKPSKPKTNM	209
THGQWNKPSKPKTN	210
HGQWNKPSKPKTNMKHM	211
HGQWNKPSKPKTNMKH	212
HGQWNKPSKPKTNMK	213
HGQWNKPSKPKTNM	214
HGQWNKPSKPKTN	215
GQWNKPSKPKTNMKHM	216
GQWNKPSKPKTNMKH	217
GQWNKPSKPKTNMK	218
GQWNKPSKPKTNM	219
GQWNKPSKPKTN	220
THGQWNKPSKPKTNMKHV	221
HGQWNKPSKPKTNMKHV	222
GQWNKPSKPKTNMKHV	223
THNQWNKPSKPKTNMKHM	224
THNQWNKPSKPKTNMKH	225
THNQWNKPSKPKTNMK	226
THNQWNKPSKPKTNM	227
THNQWNKPSKPKTN	228
HNQWNKPSKPKTNMKHM	229
HNQWNKPSKPKTNMKH	230
HNQWNKPSKPKTNMK	231
HNQWNKPSKPKTNM	232
HNQWNKPSKPKTN	233
NQWNKPSKPKTNMKHM	234
NQWNKPSKPKTNMKH	235
NQWNKPSKPKTNMK	236
NQWNKPSKPKTNM	237
NQWNKPSKPKTN	238
THNQWNKPSKPKTNMKHV	239
HNQWNKPSKPKTNMKHV	240
NQWNKPSKPKTNMKHV	241

10

20

30

40

【表 1 - 6】

PHGGGWGQPHGGGWGQPHGGGWGQ	242
GGWGQGGGTHSQWNKPSKPKTNMKHM	243
QWNKPSKPKTNMKHMGGGQWNKPSKPKTNMKHM	244
GGWGQGGGTH[N/S]QWNKPSKPKTN[L/M]KH[V/M](GGGG)	245
PHGGGWGQHG[G/S]SWGQPHGG[G/S]WGQ	246
QWNKPSKPKTN[L/M]KH[V/M](GGG)	247
4-分枝 MAPS-(GGG)QWNKPSKPKTN(GGG)	259
8-分枝 MAPS-(GGG)KKRPKPGGWNT(GGG)	260

1つの局面において、本発明のペプチド試薬は、本明細書中に開示されるペプチドの各々およびそれらの（本明細書中において記載されるような）誘導体を含む。すなわち、本発明は、配列番号

【 0 1 1 9 】

【 化 1 1 】

12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31,
 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55,
 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79,
 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102,
 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120,
 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138,
 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156,
 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174,
 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192,
 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210,
 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228,
 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246,
 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, または 260

に示される配列のいずれかのペプチドならびにそれらのアナログ（例えば、N置換グリシンによる1個以上のプロリンの置換）および誘導体から誘導されるペプチド試薬を含む。

【 0 1 2 0 】

本発明は、好ましくは、配列番号

【 0 1 2 1 】

【化 1 2】

12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31,
 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56,
 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 72, 74, 76, 77, 78, 81, 82, 84, 89, 96, 97, 98,
 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116,
 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134,
 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152,
 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,
 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188,
 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206,
 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224,
 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242,
 243, 244, 245, 246, 247, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, または 260
 のペプチドならびにそれらのアナログ（例えば、N置換グリシンによる１個以上のプロリ
 ンの置換）および誘導体から誘導されるペプチド試薬を含む。

10

【0 1 2 2】

特定の好ましい実施形態において、ペプチド試薬、例えば、配列番号

20

【0 1 2 3】

【化 1 3】

66, 67, 68, 72, 81, 96, 97, 98, 107, 108, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 14,
 35, 36, 37, 40, 50, 51, 77, 89, 100, 101, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118,
 128, 129, 130, 131, 132, 56, 57, 65, 82, 84, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141,
 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159,
 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177,
 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195,
 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213,
 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231,
 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 249, 250,
 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, または 260
 のペプチドならびにそれらのアナログ（例えば、N置換グリシンによる１個以上のプロリ
 ンの置換）および誘導体から誘導されるペプチド試薬は、病原性プリオンに特異的に結合
 する。

30

【0 1 2 4】

上で記載したように、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、１個以上の置換
 、付加および／または変異を含み得る。例えば、１個以上の残基は、ペプチドを作製す
 るために、ペプチド試薬において他の残基、例えば、アラニン残基またはアミノ酸アナロ
 グもしくはN置換グリシン残基で置換され得る（例えば、N g u y e n ら、(2 0 0 0)
 C h e m B i o l . 7 (7) : 4 6 3 - 4 7 3 を参照のこと）。

40

【0 1 2 5】

さらに、本明細書中において記載されるペプチド試薬はまた、付加的なペプチド成分ま
 たは非ペプチド成分を含み得る。付加的なペプチド成分の非限定的な例としては、スペー
 サー残基、例えば、２個以上のグリシン（天然または誘導体化された）残基または一方の
 末端もしくは両方の末端におけるアミノヘキサ酸リンカーまたはペプチド試薬の可溶化
 を助け得る残基、例えば、配列番号 8 3 または 8 6 に示されるようなアスパラギン酸（A

50

s p または D) などの酸性残基が挙げられる。特定の実施形態において、例えば、ペプチド試薬は、複数の抗原性ペプチド (MAP) として合成される。例えば、配列番号 134、(4 - 分枝 MAPS - GGGKKRPKPGGWNTGGG) (これは、4 コピーのペプチド GGGKKRPKPGGWNTGGG を含む) ; 配列番号 259 (4 - 分枝 MAPS - GGGQWNKPSKPKKTNGGG) (これは、4 コピーのペプチド GGGQWNKPSKPKKTNGGG を含む) ; 配列番号 135 (8 - 分枝 MAPS - GGGKKRPKPGGWNTGGG) (これは、8 コピーのペプチド GGGKKRPKPGGWNTGGG を含む) ; および配列番号 260 (8 - 分枝 MAPSGGGQWNKPSKPKKTNGGG) (これは、8 コピーのペプチド GGGQWNKPSKPKKTNGGG を含む) を参照のこと。代表的には、多コピーのペプチド試薬 (例えば、2 ~ 10 コピー) は、分枝リシンまたは他の MAP キャリアコアなどの MAP キャリア上に直接合成される。例えば、Wu ら、(2001) J Am Chem Soc. 2001 123 (28) : 6778 - 84 ; Spetzler ら、(1995) Int J Pept Protein Res. 45 (1) : 78 - 85 ; Tam (1998) Proc. Nat'l Acad. Sci USA 85 : 5409 - 5413 を参照のこと。

10

【0126】

本明細書中において記載されるペプチド試薬に含まれ得る非ペプチド成分 (例えば、化学部分) の非限定的な例としては、ペプチド試薬の末端または内部のいずれかに存在する、1 個以上の検出可能な標識、タグ (例えば、ビオチン、His - Tag、オリゴヌクレオチド)、色素、結合対のメンバーなどが挙げられる。非ペプチド成分はまた、定量的な構造 - 活性データおよび / または分子モデリングによって干渉しないと予測される化合物上の位置に、直接的またはスパーサー (例えば、アミド基) を介して (例えば、1 個以上の標識の共有結合を介して)、結合され得る。本明細書中で記載されるようなペプチド試薬はまた、プリオン特異的な化学部分 (例えば、アミロイド特異的な色素 (例えば、Congo Red、Thioflavin など)) を含み得る。化合物の誘導体化 (例えば、標識、環化、化学部分の結合など) は、ペプチド試薬の結合特性、生物学的機能および / または薬理的活性を実質的に干渉するべきでない (そしてなおも増強し得る) 。

20

【0127】

本発明のペプチド試薬は、代表的には、プリオンタンパク質フラグメントまたは本明細書中に示されるペプチド配列と少なくとも約 50 % の配列同一性を有し得る。好ましくは、ペプチド試薬は、プリオンタンパク質フラグメントまたは本明細書中に示されるペプチド配列と、少なくとも 70 % の配列同一性を有し得る : より好ましくは、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % または 100 % の配列同一性を有し得る。

30

【0128】

本明細書中で記載されるようなペプチド試薬は、病原型と優先的に相互作用し、従って、単離、精製、検出、診断的および治療的な用途にわたって有用である。例えば、ペプチド試薬が病原型と優先的に相互作用する実施形態において、ペプチド試薬自体は、サンプル (例えば、血液、神経系組織 (脳、脊髄、CSF など) または他の組織もしくは器官サンプル) 中の病原型を検出するために使用され得る。ペプチド試薬はまた、病原型に関連する疾患の存在を診断するため、病原型を単離するため、および病原型を除去することによりサンプルを汚染除去するために有用である。

40

【0129】

ペプチド試薬とプリオンタンパク質との相互作用は、公知の任意の結合アッセイ、例えば、標準的なイムノアッセイ (例えば、ELISA、ウエスタンブロットなど) を用いて試験され得る。

【0130】

本発明のペプチド試薬の特異性を試験する 1 つの簡便な方法は、病原性プリオンと非病原性プリオンの両方を含むサンプルを選択することである。代表的なこのようなサンプルとしては、疾患動物由来の脳組織または脊髄組織が挙げられる。病原型に特異的に結合す

50

る本明細書中で記載されるようなペプチド試薬は、(当該分野で周知の方法によって、そして以下にさらに記載されるように)固体支持体に結合され、そして他のサンプル成分から病原性プリオンを分離(「プルダウン」)するため、および固体支持体上におけるペプチドとプリオンとの結合の相互作用の数に直接関連する定量的な値を得るために使用される。変法および当該分野で公知の他のアッセイもまた、本発明のペプチド試薬の特異性を証明するために使用され得る。例えば、実施例を参照のこと。

【0131】

本明細書中において記載されるペプチド試薬を使用するときに必要なとされないが、これらのアッセイは、病原性コンホメーションを有するプリオンが一般にプロテアーゼKなどの特定のプロテアーゼに耐性であるという事実を利用し得る。同じプロテアーゼは、非病原性のコンホメーションのプリオンを分解することができる。それゆえ、プロテアーゼを使用するとき、サンプルは、2つの等容積に分離され得る。プロテアーゼは、第2のサンプルに加えられ、そして同じ試験が実施され得る。第2のサンプル中のプロテアーゼが任意の非病原性プリオンを分解するので、第2のサンプル中のどのペプチド-プリオン結合相互作用も、病原性プリオンに起因し得る。

【0132】

従って、本明細書中において記載されるペプチド試薬の結合の特異性および/または親和性を評価する方法の非限定的な例としては、標準的なウエスタンブロッティング法およびファウエスタンブロッティング法;ペプチドの標識;ELISA様アッセイ;および/または細胞ベースのアッセイが挙げられる。例えば、ウエスタンブロットは、代表的には、「プルダウン」アッセイ(本明細書中において記載されるように)から得られたサンプルについて、SDS-PAGEゲルからニトロセルロースまたはPVDFにエレクトロブロットされた変性プリオンタンパク質を検出するタグ化された1次抗体を使用する。変性プリオンタンパク質を認識する抗体は、報告されており(とりわけ、Peretzら、1997 J. Mol. Biol. 273:614; Peretzら、2001 Nature 412:739; Williamsonら、1998 J. Virol. 72:9413; 米国特許第6,765,088号; 米国特許第6,537,548号に説明されている)、一部は、市販されている。他のプリオン結合分子、例えば、モチーフグラフト化ハイブリッドポリペプチド(WO03/085086を参照のこと)、特定の陽イオン性または陰イオン性のポリマー(WO03/073106を参照のこと)、「増殖触媒(propagation catalyst)」である特定のペプチド(WO02/097444を参照のこと)およびプラスミノゲンが報告されている。次いで1次抗体が、タグに対するプローブ(例えば、ストレプトアビジン結合体化アルカリホスファターゼ、ストレプトアビジン結合体化西洋ワサビペルオキシダーゼ、ストレプトアビジン結合体化ECL試薬および/またはストレプトアビジンと結合体化された増幅可能なオリゴヌクレオチド)を用いて検出される(そして/または増幅される)。結合はまた、検出試薬(例えば、親和性タグに対するプローブ(例えば、ストレプトアビジン結合体化アルカリホスファターゼ、ストレプトアビジン結合体化西洋ワサビペルオキシダーゼ、ストレプトアビジン結合体化ECL試薬またはストレプトアビジンと結合体化された増幅可能なオリゴヌクレオチド)で標識および増幅される親和性タグ(例えば、ビオチン)を有するペプチド)を使用して評価され得る。さらに、サンドイッチELISAに類似したマイクロタイタープレート法が使用され得、例えば、本明細書中で記載されるようなプリオン特異的ペプチド試薬は、プリオンタンパク質およびさらなる検出試薬(親和性標識および/または検出標識(例えば、結合体化アルカリホスファターゼ、結合体化西洋ワサビペルオキシダーゼ、結合体化ECL試薬または結合体化された増幅可能なオリゴヌクレオチド)を有する別のプリオン特異的ペプチド試薬が挙げられ得るが、これらに限定されない)を固体支持体(例えば、マイクロタイタープレートのウェル、ビーズなど)に固定するために使用される。例えば、プリオンタンパク質が、個々の細胞上で直接検出されるとき(例えば、蛍光ベースの細胞の選別、カウントまたは特異的に標識された細胞の検出が可能な、蛍光で標識されたプリオン特異的ペプチド試薬を使用して)、細胞ベースのアッセイを使用す

10

20

30

40

50

ることもできる。

【0133】

(III.B. ペプチド試薬作製)

本発明のペプチド試薬は、すべてが当該分野で周知であるいかなる方法においても作製することができる。このような方法は、米国特許出願番号10/917,646(開示の全体が、本明細書中で参考により援用される)に記載されている。

【0134】

1つの実施形態において、ペプチド試薬が、全部または部分的に遺伝的にコードされるペプチドであるペプチドを、当該分野で周知の組換え技術を用いて作製することができる。当業者は、標準的な方法論および本明細書中の教示を用いて所望のペプチドをコードするヌクレオチド配列を容易に決定し得る。一旦単離されると、組換えペプチドは、必要に応じて、本明細書中において記載され、そして当該分野で周知であるような遺伝的にコードされない成分(例えば、検出可能な標識、結合対メンバーなど)を含むように改変されることにより、ペプチド試薬が作製され得る。

10

【0135】

オリゴヌクレオチドプローブは、既知配列に基づいて考案され得、そしてゲノムDNAライブラリーまたはcDNAライブラリーを探索するために使用され得る。次いでそれらの配列は、標準的な技術および例えば、全長配列の所望の部分で遺伝子を切断するために使用される制限酵素を用いてさらに単離され得る。同様に、目的の配列は、フェノール抽出などの公知の技術を用いて、同じものを含む細胞および組織から直接単離され得、そしてその配列を、さらに操作することにより所望の切断を行う。DNAを得て、単離するために使用される技術の説明として、例えば、Sambrookら、前出を参照のこと。

20

【0136】

ペプチドをコードする配列はまた、合成的に、例えば、既知配列に基づいて作製され得る。ヌクレオチド配列は、所望の特定のアミノ酸配列に対して適切なコドンを用いて設計され得る。完全な配列は、一般に、標準的な方法によって調製される重複オリゴヌクレオチドから構築され、そして完全なコード配列に構築される。例えば、Edge(1981)Nature 292:756; Nambairら、(1984)Science 223:1299; Jayら、(1984)J. Biol. Chem. 259:6311; Stemmerら、(1995)Gene 164:49-53を参照のこと。

30

【0137】

組換え技術は、特許請求されるペプチド試薬において有用なポリペプチドをコードする配列をクローニングするために容易に使用され、その配列は、インビトロにおいて適切な塩基対を置換することによって変異誘発され得、それにより、所望のアミノ酸用のコドンがもたらされる。このような変更は、1アミノ酸の変化に影響するわずか1塩基対を含み得るか、または数塩基対の変化を含み得る。あるいは、変異は、ミスマッチの二重鎖の融解温度より低い温度で親ヌクレオチド配列(一般に、RNA配列に対応するcDNA)とハイブリダイズするミスマッチのプライマーを使用してもたらされ得る。プライマーの長さおよび塩基組成を比較的狭い範囲内に維持しておくことおよび変異塩基を中央に位置させておくことによって、このプライマーを特異的なものとして行うことができる。例えば、Innis et al, (1990)PCR Applications: Protocols for Functional Genomics; Zoller and Smith, Methods Enzymol. (1983)100:468を参照のこと。DNAポリメラーゼを使用してプライマーを伸長し、その産物をクローニングし、そして変異されたDNAを含むクローンをプライマー伸長された鎖の分離によって得て、選択することができる。この技術は、複数の点変異を生成するために適用することもできる。例えば、Dalbie-McFarlandら、Proc. Natl. Acad. Sci USA (1982)79:6409を参照のこと。

40

【0138】

50

一旦コード配列が単離および／または合成されると、それらは、発現に向けて、任意の適当なベクターまたはレプリコンにクローニングされ得る。（例えば、実施例も参照のこと）。本明細書中の教示から明らかであるように、改変ポリペプチドをコードする多岐にわたるベクターは、様々な組み合わせで、それらの中に欠失または変異を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと作動可能に連結する発現構築物を作製することによって生成され得る。

【0139】

数多くのクローニングベクターは、当業者に公知であり、適切なクローニングベクターの選択には、選択の余地がある。クローニング用の組換えDNAベクターおよびそれらを形質転換することができる宿主細胞の例としては、バクテリオファージλ (E. coli)、pBR322 (E. coli)、pACYC177 (E. coli)、pKT230 (グラム陰性菌)、pGV1106 (グラム陰性菌)、pLAFR1 (グラム陰性菌)、pME290 (E. coliでないグラム陰性菌)、pHV14 (E. coliおよびBacillus subtilis)、pBD9 (Bacillus)、pIJ61 (Streptomyces)、pUC6 (Streptomyces)、YIp5 (Saccharomyces)、YCp19 (Saccharomyces) およびウシパピローマウイルス (哺乳動物細胞) が挙げられる。一般には、DNA Cloning: Vols. I & II, 前出; Sambrook et al, 前出; B. Perbal, 前出を参照のこと。

【0140】

バキュロウイルス系などの昆虫細胞発現系も使用することができ、それらは、当業者に公知であり、例えば、Summers and Smith, Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No. 1555 (1987) に記載されている。バキュロウイルス / 昆虫細胞発現系のための材料および方法は、キットの形態で、とりわけ、Invitrogen, San Diego CA から (「MaxBac」キットとして) 市販されている。

【0141】

植物発現系もまた、本明細書中において記載されるペプチド試薬を作製するために使用することができる。一般に、このような系は、ウイルスベースのベクターを使用することにより、異種性遺伝子で植物細胞にトランスフェクションする。このような系についての説明としては、例えば、Portaら、Mol. Biotech. (1996) 5: 209 - 221; および Hacklandら、Arch. Virol. (1994) 139: 1 - 22 を参照のこと。

【0142】

ウイルス系 (例えば、Tomeiら、J. Virol. (1993) 67: 4017 - 4026 および Selbyら、J. Gen. Virol. (1993) 74: 1103 - 1113 に記載されているようなワクシニアベースの感染 / トランスフェクション系) もまた、本発明において使用され得る。この系において、細胞は、はじめに、バクテリオファージ T7 RNAポリメラーゼをコードするワクシニアウイルス組換え体でインビトロにおいてトランスフェクションされる。このポリメラーゼは、T7プロモーターを有する鋳型だけを転写するという優れた特異性を示す。感染後、細胞を、T7プロモーターによって作動される、目的のDNAでトランスフェクションされる。ワクシニアウイルス組換え体から細胞質で発現されるポリメラーゼが、トランスフェクションされたDNAをRNAに転写し、その後、宿主の翻訳機構によってタンパク質に翻訳される。この方法は、高レベルで、一過性で、細胞質における大量のRNAの産生およびその翻訳産物を提供する。

【0143】

遺伝子は、プロモーター、(細菌発現用の) リボソーム結合部位および必要に応じて、オペレーター (本明細書中で「調節」領域と集合的に呼ばれる) の支配下に配置され得るので、所望のポリペプチドをコードするDNA配列は、この発現構築物を含むベクターによって形質転換される宿主細胞においてRNAに転写される。コード配列は、シグナルペ

プチドまたはリーダー配列を含んでいてもよいし、含んでいなくてもよい。本発明では、天然に存在するシグナルペプチドまたは異種性配列の両方が使用され得る。リーダー配列は、翻訳後プロセッシングにおいて宿主によって除去され得る。例えば、米国特許第4,431,739号；同第4,425,437号；同第4,338,397号を参照のこと。このような配列としては、TPAリーダー配列ならびにミツバチメリチンシグナル配列が挙げられるが、これらに限定されない。

【0144】

宿主細胞の生育に対してタンパク質配列の発現の制御を可能にする他の制御配列がまた、望ましい場合がある。このような制御配列は、当業者に公知であり、例としては、制御化合物の存在を含む化学的または物理的刺激に応答して遺伝子の発現のオンまたはオフを引き起こす配列が挙げられる。他のタイプの制御領域はまた、ベクター内に存在し得、例えば、エンハンサー配列である。

10

【0145】

制御配列および他の制御配列は、ベクターへの挿入の前に、コード配列に連結され得る。あるいは、コード配列は、制御配列および適切な制限酵素認識部位をすでに含む発現ベクターに直接クローニングされ得る。

【0146】

いくつかの場合において、コード配列を改変する必要がある場合があり、適切な向きで制御配列が結合され得る；すなわち、適切な読み枠を維持するため。変異体またはアナログは、タンパク質をコードする配列の一部の欠失、配列の挿入および/または配列内における1個以上のヌクレオチドの置換によって調製され得る。部位特異的突然変異生成などのヌクレオチド配列を改変するための技術は、当業者に周知である。例えば、Sambrook et al, 前出；DNA Cloning, Vols. I and II, 前出；Nucleic Acid Hybridization, 前出を参照のこと。

20

【0147】

そして発現ベクターは、適切な宿主細胞を形質転換するために使用される。数多くの哺乳動物細胞株が、当該分野で公知であり、それらとしては、American Type Culture Collection (ATCC) から入手可能である不死化細胞株が挙げられ、例えば、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、HeLa細胞、ベビーハムスター腎 (BHK) 細胞、サル腎細胞 (COS)、ヒト肝癌細胞 (例えば、Hep G2)、Vero 293細胞ならびに他の細胞が挙げられるが、これらに限定されない。同様に、細菌の宿主 (例えば、E. coli、Bacillus subtilis および Streptococcus spp.) は、本発現構築物において使用され得る。本発明において有用な酵母宿主としては、とりわけ、Saccharomyces cerevisiae、Candida albicans、Candida maltosa、Hansenula polymorpha、Kluyveromyces fragilis、Kluyveromyces lactis、Pichia guilliermondii、Pichia pastoris、Schizosaccharomyces pombe および Yarrowia lipolytica が挙げられる。バキュロウイルス発現ベクターとともに使用するための昆虫細胞としては、とりわけ、Aedes aegypti、Autographa californica、Bombyx mori、Drosophila melanogaster、Spodoptera frugiperda および Trichoplusia ni が挙げられる。

30

40

【0148】

発現系および選択された宿主に依存して、本発明のタンパク質は、目的のタンパク質が発現する条件下で、上記の発現ベクターによって形質転換された宿主細胞を生育することによって産生される。適切な生育条件の選択は、当該分野の技術の範囲内である。

【0149】

1つの実施形態において、形質転換された細胞は、周囲の培地にポリペプチド産物を分泌する。例えば、組織プラスミノゲンアクチベーター (TPA) リーダー配列、インター

50

フェロン (γ または α) シグナル配列または公知の分泌タンパク質由来の他のシグナルペプチド配列を使用して、タンパク質産物の分泌を促進する特定の制御配列が、ベクター内に含まれ得る。次いで、分泌されたポリペプチド産物は、本明細書中において記載される様々な技術、例えば、標準的な精製技術 (例えば、ヒドロキシアパタイト樹脂、カラムクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、電気泳動、HPLC、免疫吸着技術、アフィニティークロマトグラフィー、免疫沈降などがこれらに限定されない) を使用して、単離され得る。

【0150】

あるいは、形質転換された細胞を、化学的、物理的または機械的手段を使用して破碎して、細胞を溶解するが、組換えポリペプチドは実質的に破壊されていない状態にする。細胞内タンパク質はまた、例えば、界面活性剤または有機溶媒を使用することにより、細胞壁または細胞膜由来の成分を除去し、ポリペプチドが漏出することにより得られる。このような方法は、当業者に公知であり、例えば、Protein, Purification Applications: A Practical Approach, (E. L. V. Harris and S. Angal, Eds., 1990) に記載されている。

10

【0151】

例えば、本発明において使用するための細胞を破碎する方法としては：音波処理または超音波処理；振動；液体押出または固体押出；熱処理；凍結融解；乾燥；爆発的減圧；浸透圧ショック；プロテアーゼ (例えば、トリプシン、ノイラミニダーゼおよびリゾチーム) を含む溶解性酵素による処理；アルカリ処理；ならびに界面活性剤および溶媒 (例えば、胆汁酸塩、ドデシル硫酸ナトリウム、Triton、NP40 および CHAPS) の使用が挙げられるが、これらに限定されない。細胞を破碎するために使用される特定の技術は、選択の余地が大いにあり、また、ポリペプチドが発現される細胞タイプ、培養条件および使用される任意の前処理に依存する。

20

【0152】

細胞を破碎した後、通常、遠心分離によって細胞の残骸を除去し、そして、標準的な精製技術 (例えば、カラムクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、電気泳動、HPLC、免疫吸着技術、アフィニティークロマトグラフィー、免疫沈降などが挙げられるが、これらに限定されない) を使用して細胞内で産生されたポリペプチドをさらに精製する。

30

【0153】

例えば、本発明の細胞内のポリペプチドを得るための1つの方法は、抗体 (例えば、以前に作製された抗体) を使用したイムノアフィニティークロマトグラフィーまたはレクチンアフィニティークロマトグラフィーなどによる、親和性精製を含む。特に好ましいレクチン樹脂は、マンノース部分を認識する樹脂であり、例えば、Galanthus nivalis 凝集素 (GNA)、Lens culinaris 凝集素 (LCA または レンチルレクチン)、Pisum sativum 凝集素 (PSA または エンドウマメレクチン)、Narcissus pseudonarcissus 凝集素 (NPA) および Allium ursinum 凝集素 (AUA) に由来する樹脂が挙げられるが、これらに限定されない。適当な親和性樹脂の選択は、当該分野の技術の範囲内である。親和性精製後、ポリペプチドは、当該分野で周知の従来技術、例えば、上で記載した技術のいずれかによって、さらに精製され得る。

40

【0154】

ペプチド試薬は、化学的に、例えば、ペプチド分野の当業者に公知のいくつかの技術のいずれかによって、簡便に合成され得る。一般に、これらの方法は、伸長しているペプチド鎖に1個以上のアミノ酸を連続的に付加することを使用する。通常、1番目のアミノ酸のアミノ基またはカルボキシル基のいずれかを、適当な保護基で保護する。次いで、保護されたアミノ酸または誘導体化されたアミノ酸は、アミド結合の形成を可能にする条件下で、適当な保護された相補的な基 (アミノ基またはカルボキシル基) を有する配列におい

50

て次のアミノ酸を付加する間、不活性な固体支持体に結合され得るか、または溶液中で使用され得る。次いで、保護基を、新たに付加されたアミノ酸残基から除去し、そして次の（適当に保護された）アミノ酸の付加などを行う。所望のアミノ酸が、適切な配列に連結された後、残存している任意の保護基（および固相合成技術を使用した場合は、任意の固体支持体）を次々とまたは同時に除去することにより、最終的なポリペプチドが得られる。この一般的な手順の簡単な改変により、伸長している鎖に同時に2個以上のアミノ酸を付加することが可能である。例えば、（キラル中心をラセミ化しない条件下で）保護されたトリペプチドと、適切に保護されたジペプチドとを結合することにより、脱保護の後、ペンタペプチドが形成される。例えば、固相ペプチド合成技術については、J. M. Stewart and J. D. Young, *Solid Phase Peptide Synthesis* (Pierce Chemical Co., Rockford, IL 1984) および G. Barany and R. B. Merrifield, *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology*, editors E. Gross and J. Meienhofer, Vol. 2, (Academic Press, New York, 1980), pp. 3 - 254; ならびに、従来の溶液中の合成については、M. Bodansky, *Principles of Peptide Synthesis*, (Springer-Verlag, Berlin 1984) および E. Gross and J. Meienhofer, Eds., *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology*, Vol. 1 を参照のこと。これらの方法は、代表的には、比較的小さいポリペプチド、すなわち、約50～100アミノ酸長までのポリペプチドに使用するが、それよりも大きいポリペプチドにも適用可能である。

10

20

【0155】

代表的な保護基としては、t-ブチルオキシカルボニル (Boc)、9-フルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc) ベンジルオキシカルボニル (Cbz); p-トルエンスルホニル (Tx); 2, 4-ジニトロフェニル; ベンジル (Bzl); ビフェニルイソプロピルオキシカルボキシ-カルボニル、t-アミルオキシカルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、o-プロモベンジルオキシカルボニル、シクロヘキシル、イソプロピル、アセチル、o-ニトロフェニルスルホニルなどが挙げられる。

30

【0156】

代表的な固体支持体は、架橋された多量体の支持体である。これらとしては、ジビニルベンゼン架橋スチレンベースのポリマー、例えば、ジビニルベンゼン-ヒドロキシメチルスチレン共重合体、ジビニルベンゼン-クロロメチルスチレン共重合体およびジビニルベンゼン-ベンズヒドリルアミノポリスチレン共重合体が挙げられ得る。

40

【0157】

ペプチド含有ポリマーの合成は、例えば、米国特許第5, 877, 278号; 同第6, 033, 631号; Simonら、(1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 9367に従って実施され得る。

【0158】

本発明のペプチド試薬はまた、同時に複数のペプチド合成を行う方法などの他の方法によって、化学的に調製され得る。例えば、Houghten *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1985) 82: 5131 - 5135; 米国特許第4, 631, 211号を参照のこと。

【0159】

(IV. 抗体)

さらに、本発明において使用される、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、米国特許出願公開第10/917, 646号に記載されているような抗体を作製するために使用され得る。この開示は、その全体が本明細書中に参考として援用される。

【0160】

特定の実施形態において、これらのペプチド試薬に対して産生される抗体は、病原性ブ

50

リオンに特異的である。他の実施形態において、これらの抗体は、病原型と非病原型の両方に結合する。なおもさらなる実施形態において、これらの抗体は、非病原性アイソフォームに特異的である。必要に応じて、本明細書中において記載される抗体は、非病原型を病原性のコンホメーションへ変換することを阻害する。代表的には、本発明の抗体は、本明細書中で記載されるようなペプチド試薬（またはこのようなペプチド試薬をコードするポリヌクレオチド）を動物に投与することによって作製される。その方法は、動物から抗体を単離する工程も含む。

【0161】

本発明の抗体は、ポリクローナル抗体調製物またはモノクローナル抗体調製物、単一特異性の抗血清、ヒト抗体であり得るか、またはハイブリッド抗体またはキメラ抗体（例えば、ヒト化抗体、改変抗体、 $(F a b')_2$ フラグメント、 $F(a b)$ フラグメント、 F_v フラグメント、単ドメイン抗体、二量体もしくは三量体の抗体フラグメントもしくは構築物、ミニボディまたは問題の抗原に結合するそれらの機能的フラグメント）であり得る。

10

【0162】

抗体は、当業者に周知の技術を使用して作製され、例えば、米国特許第4,011,308号；同第4,722,890号；同第4,016,043号；同第3,876,504号；同第3,770,380号；および同第4,372,745号に開示されている。例えば、ポリクローナル抗体は、適当な動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジまたはヤギ）を目的の抗原（例えば、本明細書中において記載されるペプチド試薬）で免疫することによって作製される。免疫原性を増強するために、その抗原は、免疫の前にキャリアに結合され得る。このようなキャリアは、当業者に周知である。免疫は、一般に、抗原を食塩水、好ましくは、フロイント完全アジュバントなどのアジュバント中に混合または乳化し、そしてその混合物またはエマルジョンを非経口的に（通常、皮下または筋肉内に）注入することによって実施される。動物を通常、2～6週間後に、食塩水、好ましくは、フロイント不完全アジュバント中の抗原を1回以上の注入することによって追加免疫する。抗体は、当該分野で公知の方法を使用して、インビトロにおける免疫によっても作製され得る。次いで、ポリクローナル抗血清を、免疫された動物から得る。

20

【0163】

モノクローナル抗体は、通常、Kohler and Milstein (1975) Nature 256: 495 - 497の方法またはその変法を使用して調製される。代表的には、マウスまたはラットを、上で記載したように免疫する。しかしながら、血清を抽出するためにその動物から採血するのではなく、脾臓（および必要に応じて、いくつかの大きなリンパ節）を取り出し、単一細胞に分離する。所望であれば、細胞懸濁液を、抗原がコートされたプレートまたはウェルに加えることによって、（非特異的に接着する細胞を除去した後）脾臓細胞をスクリーニングしてもよい。抗原に特異的な膜結合性免疫グロブリンを発現するB細胞は、そのプレートに結合し、懸濁液の残りの液で洗い流されない。次いで、得られたB細胞または分離されたすべての脾臓細胞を、ハイブリドーマを形成するためにミエローマ細胞と融合するように誘導し、選択培地（例えば、ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジン培地、「HAT」）中で培養する。得られたハイブリドーマを限界希釈するためにプレートにまき、そして免疫する抗原に特異的に結合する抗体（かつ無関係の抗原に結合しない抗体）の産生についてアッセイする。次いで、選択されたモノクローナル抗体分泌ハイブリドーマは、インビトロ（例えば、組織培養瓶または中空系反応器の中で）またはインビボ（例えば、マウスの腹水として）のいずれかで培養される。

30

40

【0164】

ヒト化抗体およびキメラ抗体もまた、本発明に有用である。ハイブリッド（キメラ）抗体分子は、一般に、Winterら、(1991) Nature 349: 293 - 299および米国特許第4,816,567号に記述されている。ヒト化抗体分子は、一般に、Riechmannら、(1988) Nature 332: 323 - 327; Ver

50

hoe yanら、(1988) Science 239:1534-1536; および 1994年9月21日に公開された英国特許出願公開第GB2,276,169号)に記述されている。ヒト化抗体を操作するための1つのアプローチは、マウス-ヒト抗体、すなわち、ヒト化抗体を作製するために、マウス抗体遺伝子由来のプロモーター、リーダー配列および可変領域配列ならびにヒト抗体遺伝子由来の定常領域エキソンを含む組換えDNAをクローニングする工程を含む。一般に、Kuby, "Immunology, 3rd Edition", W.H. Freeman and Company, New York (1998)の136頁を参照のこと。

【0165】

本明細書中で記載されるようなペプチド試薬に特異的な、モノクローナル抗体とポリクローナル抗体の両方は、診断的および治療的な用途に特に有用であり、例えば、これらの中和抗体は、受動免疫療法に有用である。モノクローナル抗体は、特に、抗イディオタイプ抗体を産生するために使用され得る。

【0166】

抗イディオタイプ抗体は、保護が望まれる物質の抗原の「内部イメージ (internal image)」を保持する免疫グロブリンである。抗イディオタイプ抗体を産生するための技術は、当該分野で公知である。例えば、Grzych (1985), Nature 316:74; MacNamaraら、(1984), Science 226:1325, Uytendhaag et al (1985), J. Immunol. 134:1225を参照のこと。これらの抗イディオタイプ抗体はまた、コンホメーション病の処置および/または診断に有用であり得る。

【0167】

抗体フラグメントはまた、本発明の範囲内に含まれる。無処置の抗体分子の免疫学的結合特性を示すことができる抗原結合部位を含む数多くの抗体フラグメントが、当該分野で公知である。例えば、機能的抗体フラグメントは、例えば、ペプシンを使用して抗体分子から抗原結合に関与しない定常領域を切断することによって作製され得、その結果、F(ab')₂フラグメントが得られる。これらのフラグメントは、2つの抗原結合部位を含むが、各重鎖の定常領域の一部を欠く。同様に、所望であれば、例えば、パバインによるポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の消化によって、単一の抗原結合部位を含むFabフラグメントを作製することができる。重鎖および軽鎖の可変領域のみを含む機能的フラグメントはまた、標準的な技術(例えば、組換え生成または免疫グロブリン分子の優先的なタンパク質分解性切断)を使用して作製され得る。これらのフラグメントは、Fvとして知られている。例えば、Inbarら、(1972) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69:2659-2662; Hochmanら、(1976) Biochem 15:2706-2710; および Ehrlichら、(1980) Biochem 19:4091-4096を参照のこと。

【0168】

一本鎖Fv(「sFv」または「scFv」)ポリペプチドは、ペプチドをコードするリンカーによって連結されたV_HおよびV_Lをコードする遺伝子を含む遺伝子融合から発現される、共有結合したV_H-V_Lヘテロ二量体である。Hustonら、(1988) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 85:5879-5883。天然に凝集しているが、化学的に分離される、抗体のV領域由来の軽鎖ポリペプチドおよび重鎖ポリペプチドを、抗原結合部位の構造に実質的に類似した3次元構造に折りたたむsFv分子に変換するための化学構造(リンカー)を識別し、開発するための数多くの方法が報告されている。例えば、米国特許第5,091,513号; 同第5,132,405号; および同第4,946,778号を参照のこと。sFv分子は、当該分野で報告されている方法を使用して作製され得る。例えば、Hustonら、(1988) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 85:5879-5338; 米国特許第5,091,513号; 同第5,132,405号および同第4,946,778号を参照のこと。設計の基準は、一方の鎖のC末端と他方の鎖のN末端との間の適切な長さを決定することを含み

、ここで、リンカーは、渦巻状に巻かないか、または二次構造を形成しない小さい親水性アミノ酸残基から一般に形成される。このような方法は、当該分野で報告されている。例えば、米国特許第5,091,513号；同第5,132,405号および同第4,946,778号を参照のこと。適当なリンカーは、一般に、グリシン残基およびセリン残基の交互のセットのポリペプチド鎖を含み、そして溶解性を増大させるために挿入されるグルタミン酸残基およびリシン残基を含み得る。

【0169】

「ミニ抗体」または「ミニボディ」はまた、本発明において使用され得る。ミニボディは、C末端にオリゴマー形成ドメインを含むsFvポリペプチド鎖であり、そのオリゴマー形成ドメインは、ヒンジ領域によってsFvから分離される。Packら、(1992) Biochem 31:1579-1584。オリゴマー形成ドメインは、さらなるジスルフィド結合により、さらに安定化され得る自己会合 α -ヘリックス、例えば、ロイシンジッパーを含む。オリゴマー形成ドメインは、膜を横断した折りたたみの方向に適合するように設計され、そのプロセスは、インビボにおけるポリペプチドの折りたたみを機能的結合タンパク質に促進すると考えられている。一般に、ミニボディは、当該分野で周知の組換え方法を使用して作製される。例えば、Packら、(1992) Biochem 31:1579-1584；Cumberら、(1992) J. Immunology 149B:120-126を参照のこと。

【0170】

非従来の手段もまた、抗体を作製および同定するために使用され得る。例えば、ファージディスプレイライブラリーは、非病原型よりも病原型に結合する抗体またはその反対の抗体について、スクリーニングされ得る。一般に、Siegel, "Recombinant Monoclonal Antibody Technology", Transfus. Clin. Biol. (2002) 9(1):15-22；Sidhu, "Phage Display in Pharmaceutical Biotechnology", Curr. Opin. Biotechnol. (2000) 11(6):610-616；Sharon, et al., "Recombinant Polyclonal Antibody Libraries", Comb. Chem. High Throughput Screen (2000) 3(3):185-196；およびSchmitzら、"Phage Display: A Molecular Tool for the Generation of Antibodies - Review", Placenta, (2000) 21 Suppl A:S 106-12を参照のこと。

【0171】

上で述べたように、抗体は、本明細書中で記載されるようなペプチド試薬をコードするポリヌクレオチド配列を動物に投与することによって作製することもできる。そのペプチドがインビボにおいて発現されるとき、抗体は、インビボにおいて産生される。ポリヌクレオチド送達のための方法を、以下に記述する。

【0172】

本発明の抗体の特異性は、上で記載したようにペプチド試薬について試験され得る。上で述べたように、病原性のコンホメーションを有するプリオンは、一般に、プロテイナーゼKなどの特定のプロテアーゼに耐性である。同じプロテアーゼは、非病原性のコンホメーションのプリオンを分解することができる。本発明の抗体の特異性を試験する1つの方法は、病原性プリオンと非病原性プリオンの両方を含む生物学的サンプルを選択することである。そのサンプルは、2等量に分離され得る。本発明の抗体は、(下でさらに説明するように)固体支持体上に加えられて、吸着され得、そして固体支持体上の抗体-プリオン結合相互作用の数に直接関連する定量的な値を得るために使用され得る。プロテアーゼが、第2のサンプルに加えられ得、そして同じ試験が実施され得る。第2のサンプル中のプロテアーゼが任意の非病原性プリオンを分解するので、第2のサンプル中の任意の抗体-プリオン結合相互作用は、病原性プリオンに起因し得る。変法および当該分野で公知の

他のアッセイもまた、本発明の抗体の特異性を証明するために使用され得る。

【0173】

(V. アッセイ)

本発明のペプチド試薬は、サンプル（例えば、生物学的サンプル（例えば、血液、脳、脊髄、CSFまたは器官サンプル）をスクリーニングするため、例えば、これらのサンプル中のコンホメーション病タンパク質の病原型の存在の有無を検出するための種々のアッセイにおいて使用され得る。多くの現在のプリオン診断試薬とは異なり、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、血液サンプル、血液供給物またはバイオブシーサンプルを含む、実質的にどんなタイプの生物学的サンプルまたは非生物学的サンプルにおいても検出が可能である。

10

【0174】

従って、本発明は、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法を提供し、その方法は：病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと、本発明のペプチド試薬とを、病原性プリオンタンパク質が存在する場合、ペプチド試薬が病原性プリオンタンパク質に結合し得る条件下で接触させる工程；および病原性プリオンタンパク質が存在する場合、病原性プリオンをペプチド試薬に結合することによって、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出する工程を含む。

【0175】

本発明の方法において使用するために、サンプルは、病原性プリオンタンパク質を含んでいることが知られているか、または含むと疑われるものであり得る。サンプルは、生物学的サンプル（すなわち、生存生物体またはかつて生存していた生物体から調製されたサンプル）または非生物学的サンプルであり得る。適当な生物学的サンプルとしては、器官、全血、血液画分、血液成分、血漿、血小板、血清、脳脊髄液（CSF）、脳組織、神経系組織、筋組織、骨髄、尿、涙、非神経系組織、器官および/またはバイオブシーもしくはネクロブシーが挙げられるが、これらに限定されない。好ましい生物学的サンプルとしては、全血、血液画分、血液成分、血漿、血小板および血清が挙げられる。

20

【0176】

サンプルは、病原性プリオンタンパク質がサンプル中に存在する場合、ペプチド試薬が病原性プリオンタンパク質に結合し得る条件下で本発明の1個以上のペプチド試薬と接触させる。本明細書中の開示に基づく特定の条件を決定することは、当業者の能力の範囲内に十分入る。代表的には、サンプルおよびペプチド試薬は、およそ中性のpHの適当な緩衝液（例えば、pH7.5のTBS緩衝液）中で、適当な温度（例えば、約4℃）で、適当な期間（例えば、約1時間から一晚）、一緒にインキュベートされることによって、結合が起きる。

30

【0177】

サンプル中の病原性プリオンタンパク質の存在は、病原性プリオンタンパク質をペプチド試薬と結合することによって検出される。病原性プリオンタンパク質を本発明のペプチド試薬に結合することによって病原性プリオンタンパク質の存在を検出することは、数多くの方法により達成され得る。例えば、本発明のペプチド試薬は、ペプチド試薬と病原性プリオンタンパク質との間に第1の複合体を形成することによって病原性プリオンタンパク質を特異的に「捕捉」するために使用され得、第1の複合体は、サンプル中に存在する任意の非病原性プリオンタンパク質を含む未結合サンプル物質から分離され得る。次いで、病原性プリオンタンパク質は、本発明の1個以上のペプチド試薬の付加および結合によって検出され得る。ここで、そのペプチド試薬は、検出可能に標識されている（すなわち、標識されたペプチド試薬である）。病原性プリオンタンパク質は、第1の複合体において検出され得るか、または本発明の標識されたペプチド試薬の付加の前および本発明の標識されたペプチド試薬への結合の前に、病原性プリオンタンパク質は、第1の複合体から解離され得る。

40

【0178】

あるいは、本発明のペプチド試薬が、上記のような病原性プリオンタンパク質を捕捉す

50

るために使用する場合および第 1 の複合体が、未結合サンプル物質から分離される場合、病原性プリオンタンパク質が第 1 の複体内に存在する間か、または第 1 の複合体から病原性プリオンタンパク質を解離した後に、検出可能に標識されたプリオン結合試薬は、病原性プリオンタンパク質を検出するために使用され得る。「プリオン結合試薬」は、いかなるコンホメーションのプリオンタンパク質にも結合する試薬である。代表的には、プリオン結合試薬は、プリオンタンパク質の変性型に結合する。このような試薬は、報告されており、それらとしては、例えば、抗プリオン抗体（とりわけ、Peretz ら、1997 J. Mol. Biol. 273:614; Peretz ら、2001 Nature 412:739; Williamson ら、1998 J. Virol. 72:9413; 米国特許第 6,765,088 号; 米国特許第 6,537,548 号に記載されている）、モチーフグラフト化ハイブリッドポリペプチド（WO03/085086 を参照のこと）、特定の陽イオン性ポリマーまたは陰イオン性ポリマー（WO03/073106 を参照のこと）、「増殖触媒」である特定のペプチド（WO02/097444 を参照のこと）およびプラスミノゲンが挙げられる。使用される特定のプリオン結合試薬が、プリオンの変性型に結合する場合、「捕捉された」病原性プリオンタンパク質がプリオン結合試薬で検出する前に変性されるべきであることは明らかである。

10

20

30

40

50

【0179】

別の代替例において、プリオン結合試薬は、第 1 の複合体を形成するために、サンプル中に存在する任意のプリオン（病原性または非病原性）を捕捉するために使用され得る。そして、本発明の 1 個以上の検出可能に標識されたペプチド試薬は、第 1 の複合体中または第 1 の複合体からの解離後の病原性プリオンを検出するために使用され得る。

【0180】

さらなる代替例において、サンプルは、固体支持体上に直接捕捉され得（すなわち、いかなるプリオン結合試薬なしで）、そして、病原性プリオンタンパク質が存在する場合、病原性プリオンタンパク質は、本発明の 1 個以上の検出可能に標識されたペプチド試薬を使用して検出され得る。

【0181】

上記の捕捉工程および検出工程は、溶液中で実施可能であるか、または固体支持体中、もしくは固体支持体上で実施可能であるか、または溶液と固相のいくつかの組み合わせにおいて実施可能である。いくつかの適当な溶液相の形式としては、例えば、蛍光相関分光法（Giese ら、Arch. Virol. Suppl. 2000 16:161; Bieschke ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2000 97:55468 を参照のこと）および蛍光共鳴エネルギー転移が挙げられる。代表的には、本発明のペプチド試薬は、これらの溶液相形式中で検出可能に標識される。好ましくは、ペプチド試薬は、2 個以上の識別可能で検出可能な標識で標識される。病原性プリオンタンパク質の存在は、第 1 の複合体における 2 個以上の検出可能な標識の一致により検出され得る。適当な固相アッセイ形式は、本明細書中において記載される。一般に、固相形式のために、（1 個以上の本発明のペプチド試薬または 1 個以上のプリオン結合試薬であり得る）捕捉試薬は、固体支持体に結合されているか、または結合するように適用されている。捕捉試薬は、当該分野で公知の任意の手段によって固体支持体に結合するように適用され得る。例えば、捕捉試薬および固体支持体は、それぞれ結合対の一方のメンバーを含み得るので、捕捉試薬が固体支持体と混合されるとき、捕捉試薬は、結合対のメンバーの結合を介して固体支持体に結合される。例えば、捕捉試薬が、ビオチンを含み得、そして、支持体が、アビジンまたはストレプトアビジンを含み得る。ビオチン - アビジンおよびビオチン - ストレプトアビジンに加えて、この実施形態に適した他の結合対としては、例えば、抗原 - 抗体、ハプテン - 抗体、ミメトープ - 抗体、レセプター - ホルモン、レセプター - リガンド、アゴニスト - アンタゴニスト、レクチン - 炭水化物、プロテイン A - 抗体 Fc が挙げられる。このような結合対は、周知であり（例えば、米国特許第 6,551,843 号および同第 6,586,193 号）、当業者は、適当な結合対を選択し、そしてそれらを本発明において使用するために適用する能力を有する。捕捉試薬が、上記のように

支持体に結合するために適用されるとき、捕捉試薬が支持体に結合する前または後に、サンプルは捕捉試薬と接触し得る。

【 0 1 8 2 】

従って、本発明は、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法を提供し、その方法は：（ a ）病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと第 1 のペプチド試薬とを、病原性プリオンタンパク質が存在する場合、第 1 のペプチド試薬が病原性プリオンタンパク質に結合し得る条件下で接触させ、第 1 の複合体を形成する工程；および（ b ）病原性プリオンタンパク質が存在する場合、病原性プリオンを第 1 のペプチド試薬に結合することによって、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出する工程を含む。ペプチド試薬は、本明細書中において記載されるとおりであり、好ましくは、ペプチド試薬は、配列番号

10

【 0 1 8 3 】

【 化 1 4 】

12, 13,

14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 72, 74, 76, 77, 78, 81, 82, 84, 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, または 260

20

30

の配列を有するペプチドから誘導され、より好ましくは、配列番号

【 0 1 8 4 】

【 化 1 5 】

66, 67, 68, 72, 81, 96,

97, 98, 107, 108, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256;

40

のうちの 1 つの配列を有するペプチド；または配列番号

【 0 1 8 5 】

【化 1 6】

14, 35, 36, 37, 40, 50, 51, 77, 89, 100,
 101, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 128, 183, 184, 185, 186, 187, 188,
 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206,
 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224,
 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242,
 243, 244, 245, 247, 257, 258, 259, または 260

を有するペプチドまたは配列番号 5 6、5 7、6 5、8 2、8 4 もしくは 1 3 6 を有する
 ペプチドから誘導される。ペプチド試薬は、ビオチン化することができる。ペプチド試薬
 は、固体支持体に結合することができる。いくつかの実施形態において、ペプチド試薬は
 、検出可能に標識され得る。

【0 1 8 6】

本発明はまた、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法を提供し、こ
 の方法は：(a) 病原性プリオンが存在する場合、第 1 のペプチド試薬が病原性プリオン
 に結合し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと、第 1 のペプチド試
 薬とを接触させて、第 1 の複合体を形成する工程；(b) 第 2 のペプチド試薬が前記第 1
 の複合体における病原性プリオンに結合し得る条件下で、前記第 1 の複合体と第 2 のペプ
 チド試薬とを接触させる工程、ここで、前記第 2 のペプチド試薬は、検出可能な標識を含
 み；および(c) 病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンを第 2 のペプチド試薬
 に結合することによって、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出する工程を含む。

【0 1 8 7】

その方法において、第 1 のペプチド試薬および第 2 のペプチド試薬を使用するとき、第
 1 および第 2 のペプチド試薬は、同じであってもよいし、異なってもよい。「同じ」
 とは、第 1 および第 2 のペプチド試薬が、第 2 のペプチド試薬における検出可能な標識を
 含むという点のみが異なるということを意味する。

【0 1 8 8】

第 1 のペプチド試薬および第 2 のペプチド試薬は、プリオンタンパク質の同じ領域由来
 のペプチドフラグメントまたはプリオンタンパク質の異なる領域由来のペプチドフラグメ
 ントから誘導され得る。第 1 のペプチド試薬および第 2 のペプチド試薬は配列番号

【0 1 8 9】

【化 1 7】

12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27,
 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51,
 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75,
 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99,
 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117,
 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135,
 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153,
 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171,
 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189,
 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207,
 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225,
 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243,
 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, または 260

10

20

30

40

50

のいずれかを有するペプチドから誘導されるペプチド試薬から、それぞれ独立して選択され得る。

【 0 1 9 0 】

第 1 のペプチド試薬および第 2 のペプチド試薬は、配列番号

【 0 1 9 1 】

【 化 1 8 】

66, 67, 68, 72, 81, 96, 97, 98, 107, 108, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 14, 35, 36, 37, 40, 50, 51, 77, 89, 100, 101, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 128, 129, 130, 131, 132, 56, 57, 65, 82, 84, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, または 260

10

を有するペプチドから誘導されるペプチド試薬からそれぞれ独立して選択され得る。

20

【 0 1 9 2 】

第 1 のペプチド試薬は、配列番号

【 0 1 9 3 】

【 化 1 9 】

66, 67, 68, 72, 81, 96, 97, 98, 107, 108, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 133, 134, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 244, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, または 256

30

を有するペプチドから誘導されるペプチド試薬から選択され得、そして第 2 のペプチド試薬は、配列番号 1 4 、 3 5 、 3 6 、 3 7 、

【 0 1 9 4 】

【 化 2 0 】

40, 50, 51, 77, 89, 100, 101, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 128, 129, 130, 131, 132, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 247, 257, 258, 259, または 260

40

を有するペプチドから誘導されるペプチド試薬から選択され得るか、またはその逆もあり得る。第 1 のペプチド試薬は、

【 0 1 9 5 】

【化 2 1】

66, 67, 68, 72, 81, 96, 97, 98, 107, 108, 119, 120, 121, 122, 123, 124,
125, 126, 127, 133, 134, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148,
149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166,
167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 244, 249,
250, 251, 252, 253, 254, 255, または 256

を有するペプチドから誘導されるペプチド試薬から選択され得、そして第 2 のペプチド試薬は、配列番号 5 6、5 7、6 5、8 2、8 4 および 1 3 6 を有するペプチドから誘導されるペプチド試薬から選択され得るか、またはその逆もあり得る。第 1 のペプチド試薬は、配列番号

【 0 1 9 6 】

【化 2 2】

14, 35, 36, 37, 40, 50, 51, 77, 89, 100, 101, 109, 110, 111,
112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 128, 129, 130, 131, 132, 183, 184, 185, 186, 187, 188,
189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206,
207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224,
225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242,
243, 244, 245, 247, 257, 258, 259, または 260

を有するペプチドから誘導されるペプチド試薬から選択され得、そして第 2 のペプチド試薬は、配列番号 5 6、5 7、6 5、8 2、8 4 および 1 3 6 を有するペプチドから誘導されるペプチド試薬から選択され得るか、またはその逆もあり得る。

【 0 1 9 7 】

第 1 のペプチド試薬は、ビオチン化され得、そして固体支持体に結合され得る。

【 0 1 9 8 】

本発明はまた、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法を提供し、その方法は：(a) 病原性プリオンが存在する場合、第 1 のペプチド試薬が病原性プリオンに結合し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと第 1 のペプチド試薬とを接触させて、第 1 の複合体を形成する工程；(b) 未結合サンプル物質を除去する工程；(c) 前記第 1 の複合体から前記病原性プリオンを解離する工程；(d) 第 2 のペプチド試薬が病原性プリオンに結合し得る条件下で、前記解離された病原性プリオンと第 2 のペプチド試薬とを接触させる工程、ここで、前記第 2 のペプチド試薬は、検出可能な標識を含み；および(e) 病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンを第 2 のペプチド試薬に結合することによって、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出する工程を含む。第 1 および第 2 のペプチド試薬は、同じであってもよいし、異なってもよい。

【 0 1 9 9 】

本発明はまた、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法を提供し、この方法は：(a) 病原性プリオンが存在する場合、第 1 のペプチド試薬が病原性プリオンに結合し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと第 1 のペプチド試薬とを接触させて、第 1 の複合体を形成する工程；(b) 未結合サンプル物質を除去する工程；(c) 前記病原性プリオンを前記第 1 の複合体から解離する工程；(d) プリオン結合試薬が病原性プリオンに結合し得る条件下で、前記解離された病原性プリオンとプリオン結合試薬とを接触させる工程、ここで、前記プリオン結合試薬は、検出可能な標識を含み；および(e) 病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンをプリオン結合試薬に結合することによって、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出する工程を含む。プリオン結合試薬は、抗プリオン抗体、モチーフグラフト化ハイブリッドポリペプチド、陽イオン性ポリマーまたは陰イオン性ポリマー、増殖触媒およびプラスミノゲンまたはプリオ

ンタンパク質に結合すると知られている他の任意の部分であり得る。

【0200】

本発明はまた、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法を提供し、その方法は：(a) 病原性プリオンが存在する場合、プリオン結合試薬が病原性プリオンに結合し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルとプリオン結合試薬とを接触させて、第1の複合体を形成する工程；(b) 未結合サンプル物質を除去する工程；(c) ペプチド試薬が病原性プリオンに結合し得る条件下で、前記第1の複合体とペプチド試薬とを接触させる工程、ここで、前記ペプチド試薬は、検出可能な標識を含み；および(d) 病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンをペプチド試薬に結合することによって、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出する工程を含む。

10

【0201】

本発明はまた、サンプル中の病原性プリオンを検出するための方法を提供し、その方法は：(a) 第1のペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程；(b) サンプル中に病原性プリオンが存在するとき、病原性プリオンが第1のペプチド試薬に結合し得る条件下で、固体支持体とサンプルとを接触させる工程；(c) 第2のペプチド試薬が第1のペプチド試薬に結合した病原性プリオンに結合し得る条件下で、固体支持体と、検出可能に標識された第2のペプチド試薬とを接触させる工程；および(d) 第1のペプチド試薬と、サンプル由来の病原性プリオンと、第2のペプチド試薬との間に形成された複合体を検出することによって、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出する工程を含む。

20

【0202】

あるいは、プリオン結合試薬は、固体支持体上に提供され得る。従って、本発明は、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法を提供し、その方法は：(a) プリオン結合試薬を含む固体支持体を提供する工程；(b) サンプル中にプリオンタンパク質が存在する場合、プリオンタンパク質がプリオン結合試薬に結合し得る条件下で、固体支持体とサンプルとを接触させる工程；(c) 固体支持体と検出可能に標識された第2のペプチド試薬とを接触させる工程；および(d) プリオン結合試薬と、生物学的サンプル由来の病原性プリオンと、第2のペプチド試薬との間に形成される複合体を検出する工程を含む。

【0203】

アッセイは、競合的形式で提供され得る；すなわち、本発明は、サンプル中の病原性プリオンの存在を検出するための方法を提供し、その方法は：(a) 第1のペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程；(b) 固体支持体と検出可能に標識された第1のリガンドとを混合する工程、ここで、検出可能に標識された第1のリガンドに対する第1のペプチド試薬の結合親和性は、病原性プリオンに対する第1のペプチド試薬の結合親和性よりも低く；(c) サンプル中に病原性プリオンが存在する場合、病原性プリオンが第1のペプチド試薬に結合し得、そして第1のリガンドを置換し得る条件下で、サンプルと固体支持体とを混合する工程；(d) 第1のペプチド試薬とサンプル由来の病原性プリオンとの間で形成された複合体を検出する工程を含む。

30

【0204】

一般に、本明細書中で記載されるようなペプチド試薬は、サンプル中のプリオンタンパク質に結合するために(例えば、捕捉試薬として)および/またはプリオンタンパク質の存在を検出するために(例えば、検出試薬として)使用される。捕捉試薬および検出試薬は、別個の分子であり得るか、または1つの分子が、捕捉および検出の両方の機能を果たし得る。特定の実施形態において、捕捉試薬および/または検出試薬は、病原性プリオンと優先的に相互作用する(すなわち、病原性プリオンに特異的である)、本明細書中において記載されるペプチド試薬である。他の実施形態において、捕捉試薬は、病原性プリオンに特異的であり、そして検出試薬は、病原型と非病原型の両方に結合し、例えば、プリオンタンパク質に結合する抗体である。このようなプリオン結合試薬は、本明細書中の上で記載してきた。あるいは、他の実施形態において、捕捉試薬は、病原性プリオンに特異的ではなく、検出試薬が、病原性プリオンに特異的である。

40

50

【 0 2 0 5 】

次いで、適当な任意の検出の手段は、本明細書中において記載されるようなペプチド試薬とプリオンタンパク質との間の結合を同定するために使用され得る。例えば、本明細書中で記載されるようなアッセイは、標識されたペプチド試薬または抗体の使用に関し得る。本発明における使用に適した検出可能な標識は、検出することができる任意の分子を含み、それらとしては、放射性同位体、蛍光物質、化学発光物質、発色団、蛍光性半導体ナノ結晶、酵素、酵素基質、酵素コファクター、酵素インヒビター、発色団、色素、金属イオン、金属ゾル、リガンド（例えば、ビオチン、ストレプトアビジンまたはハプテン）などが挙げられるが、これらに限定されない。さらなる標識としては、検出可能な範囲において蛍光を示すことができる物質またはその部分を含む、蛍光を使用したものが挙げられるが、これらに限定されない。本発明において使用され得る標識の特定の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）、フルオレセイン、FITC、ローダミン、ダンシル、ウンベリフェロン、ジメチルアクリジニウムエステル（DMAE）、テキサスレッド、ルミノール、NADPHおよびβ-ガラクトシダーゼが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、検出可能な標識は、オリゴヌクレオチドタグを含み得る。そのタグは、PCR、TMA、b-DNA、NASBAなどを含む核酸検出の任意の公知の方法によって検出され得る。

10

【 0 2 0 6 】

標識された検出試薬の使用に加えて（上記）、免疫沈降が、プリオンタンパク質（例えば、病原性プリオン）に結合しているペプチド試薬を分離するために使用され得る。好ましくは、免疫沈降は、沈降促進剤の添加によって、促進される。沈降促進剤は、病原性プリオンに結合しているペプチド試薬の沈降を促進または増大し得る部分を含む。このような沈降促進剤としては、ポリエチレングリコール（PEG）、プロテインG、プロテインAなどが挙げられる。プロテインGまたはプロテインAが、沈降促進剤として使用される場合、そのタンパク質は、必要に応じてビーズ、好ましくは、磁気ビーズに結合され得る。沈降は、遠心分離の使用または磁力の使用によってさらに促進され得る。このような沈降促進剤の使用は、当該分野で公知である。

20

【 0 2 0 7 】

検出試薬からシグナルを増幅するアッセイもまた知られている。このようなアッセイの例は、ビオチンおよびアビジンならびに酵素標識されたものを利用するアッセイおよびELISAアッセイなどのイムノアッセイを媒介したアッセイである。

30

【 0 2 0 8 】

本明細書中において記載されるアッセイの1つ以上の工程は、溶液（例えば、液体の媒質）中または固体支持体上で実施され得る。本発明の目的で、固体支持体は、目的の分子（例えば、本発明のペプチド試薬、プリオンタンパク質、抗体など）が連結され得るか、または結合され得る、不溶性マトリックスであり、かつ強固な表面または半剛体の表面を有し得る任意の材料であり得る。例示的な固体支持体としては、基材、例えば、ニトロセルロース、ポリ塩化ビニル；ポリプロピレン、ポリスチレン、ラテックス、ポリカーボネート、ナイロン、デキストラン、キチン、砂、シリカ、軽石、アガロース、セルロース、ガラス、金属、ポリアクリルアミド、ケイ素、ゴム、多糖類、ポリビニルフルオライド；ジアゾ化ペーパー；活性化ビーズ、磁氣的反応性ビーズならびに固相合成、アフィニティー分離、精製、ハイブリダイゼーション反応、イムノアッセイおよび他のそのような用途に通常使用される任意の材料が挙げられるが、これらに限定されない。支持体は、粒子状であり得るか、または連続した表面の形態であり得、それらとしては、膜、メッシュ、プレート、小球、スライド、円板、毛細管、中空系、針、ピン、チップ、固体繊維、ゲル（例えば、シリカゲル）およびビーズ（例えば、孔-ガラスビーズ、シリカゲル、必要に応じてジビニルベンゼンで架橋されたポリスチレンビーズ、グラフト化された共重合ビーズ、ポリアクリルアミドビーズ、ラテックスビーズ、必要に応じてN-N'-ビス-アクリロイルエチレンジアミンで架橋されたジメチルアクリルアミドビーズ、酸化鉄磁気ビーズおよび疎水性ポリマーでコートされたガラス粒子が挙げられる。

40

50

【0209】

本明細書中で記載されるようなペプチド試薬は、標準的な技術を使用して固体支持体に容易に結合され得る。支持体への固定は、ペプチド試薬をタンパク質に第1の結合をすることによって促進され得る（例えば、タンパク質がよりよい固相結合特性を有する場合）。適当な結合タンパク質としては、ウシ血清アルブミン（BSA）、キーホールリンペットヘモシアニン、免疫グロブリン分子、チログロブリン（thyroglobulin）、オバルブミンおよび当業者に周知の他のタンパク質を含む血清アルブミンなどの高分子が挙げられるが、これらに限定されない。支持体に分子を結合するために使用され得る他の試薬としては、多糖類、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、重合体のアミノ酸、アミノ酸共重合体などが挙げられる。このような分子およびこれらの分子をタンパク質に結合する方法は、当業者に周知である。例えば、Brinkley, M. A., (1992) Bioconjugate Chem., 3: 2-13; Hashidaら、(1984) J. Appl. Biochem., 6: 56-63; および Anjaneyulu and Staros (1987) International J. of Peptide and Protein Res. 30: 117-124を参照のこと。

10

【0210】

所望であれば、固体支持体に加えられるべき分子は、スチレン部分またはアクリレート部分を生成するために容易に官能性を持たせられ得る。従って、ポリスチレン、ポリアクリレートまたは他のポリマー（例えば、ポリイミド、ポリアクリルアミド、ポリエチレン、ポリビニル、ポリジアセチレン、ポリフェニレン-ビニレン、ポリペプチド、多糖、ポリスルホン、ポリピロール、ポリイミダゾール、ポリチオフエン、ポリエーテル、エポキシ、シリカガラス、シリカゲル、シロキサン、ポリホスフェート、ヒドロゲル、アガロース、セルロースなど）に分子を組み込むことができる。

20

【0211】

ペプチド試薬は、分子の結合対の相互作用を介して固体支持体に結合され得る。このような結合対は、周知であり、例は、本明細書中の別の箇所に記載されている。結合対の一方のメンバーは、上記の技術によって固体支持体に結合され、そして結合対の他方のメンバーは、ペプチド試薬に結合される（合成前、合成中、合成後）。すなわち、改変されたペプチド試薬は、サンプルと接触され得、そして病原性プリオンが存在する場合、固体支持体がペプチド試薬（またはペプチド-プリオン複合体）と接触された後、病原性プリオンとの相互作用が、溶液中で起き得る。この実施形態についての好ましい結合対としては、ピオチンとアビジンおよびピオチンとストレプトアビジンが挙げられる。

30

【0212】

適当なコントロールもまた、本発明のアッセイにおいて使用され得る。例えば、PrP^Cのネガティブコントロールが、アッセイにおいて使用され得る。PrP^{Sc}（またはPrPres）のポジティブコントロールもまたアッセイにおいて使用され得る。このようなコントロールは、必要に応じて検出可能に標識されていてもよい。

【0213】

本発明のペプチド試薬を使用するいくつかの変法および組み合わせが、本発明のアッセイに適用され得る。以下の非限定的な例が、例示のために記載される。

40

【0214】

特定の実施形態において、アッセイは、生物学的サンプル中の病原性プリオンを検出するために説明される。このような方法において、本発明のペプチド試薬は、生物学的サンプルまたは非生物学的サンプル中の病原性プリオンについての捕捉試薬として使用され得る。このような実施形態において、固体支持体（例えば、磁気ビーズ）は、まず、病原性プリオンと優先的に相互作用する、本明細書中で記載されるようなペプチド試薬と反応する。ここで、ペプチド試薬は、その支持体に十分固定されている。次いで、固体支持体を、ペプチド試薬が病原性プリオンに結合し得る条件下で、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと接触させる。未結合サンプル物質を除去した後、結合している病原性プリオンを、ペプチド試薬から解離し、公知の任意の検出メカニズムを使用して検出し得る。そ

50

の検出メカニズムとしては、例えば、以下の実施例および本明細書中で引用された参考文献に記載されているようなウエスタンブロットおよびE L I S Aが挙げられるがこれらに限定されない。あるいは、結合している病原性プリオンは、ペプチド試薬から解離せずに検出され得る。

【0215】

あるいは、本発明のペプチド試薬は、固体支持体に結合する前に、病原性プリオンを含むと疑われるサンプルと接触され得、その後、ペプチド試薬を固体支持体に結合する（例えば、ペプチド試薬は、ビオチン化され得、固体支持体は、アビジンまたはストレプトアビジンを含む）。未結合サンプル物質を除去した後、病原性プリオンは、ペプチド試薬から解離され、そして任意の公知の検出メカニズムを使用して検出され得る。その検出メカニズムとしては、以下の実施例および本明細書中で引用された参考文献に記載されているようなウエスタンブロットおよびE L I S Aが挙げられるがこれらに限定されない。あるいは、病原性プリオンは、検出の前にペプチド試薬から解離される必要がない。

10

【0216】

サンプル中の病原性プリオンの検出は、病原型と優先的に相互作用する、本明細書中において記載されるようなペプチド試薬を使用することによって達成され得る。あるいは、病原性プリオンは、非特異的な検出試薬（例えば、一般にP r Pに結合するペプチドまたは抗体）によって検出され得る。特定の実施形態において、固体支持体からの解離後、捕捉された病原性プリオンは、検出の前に変性される。これにより、非特異的な検出試薬を使用することによって検出が促進され得る。あるいは、例えば、ペプチド試薬が、ペプチド試薬と病原性プリオンとを共有結合するために使用され得る活性化可能な反応基（例えば、光反応基）を含むように改変される場合、捕捉された病原性プリオンは、ペプチド試薬からの解離なしで変性され得る。

20

【0217】

R y o uら、(2003) L a b I n v e s t . 83(6) : 837 - 43に記載されているようなE L I S Aのプロトコールは、固体支持体から溶出される病原性プリオンの量を定量するために実施され得る。（実施例を参照のこと）。簡潔には、マイクロタイタープレートのウェルを、固体支持体から解離（溶出）された、捕捉された病原性プリオンでコートする。そのプレートを洗浄することにより、未結合部分を除去し得、そして検出可能に標識された結合分子（例えば、抗プリオン抗体または本発明のペプチド試薬（捕捉のために使用されるのと同じものまたは異なるもの））を加える。この結合分子を、任意の捕捉されたサンプルプリオンと反応させ、そのプレートを洗浄し、標識された抗体および/または標識されたペプチド試薬の存在を当該分野で周知の方法を使用して検出する。結合分子は、捕捉試薬が病原性プリオン型に特異的であるかぎり、病原性プリオン型に特異的である必要はないが、アイソフォームまたは変性されたP r Pの両方に結合し得る。

30

【0218】

他の例示的なアッセイにおいて、捕捉試薬およびプリオンは、検出の前に解離されない。例えば、固体支持体（例えば、マイクロタイタープレートのウェル）を第1の病原性プリオン特異的分子（ペプチド試薬）と結合する。次いで、病原性プリオンを含むかまたは含むと疑われる生物学的サンプルを固体支持体に加える。病原性プリオンが第1の分子に十分結合し得るインキュベーション時間が経過した後、その固体支持体を洗浄することにより未結合部分を除去し得、そして上記のような検出可能に標識された第2の結合分子（例えば、第2の抗P r P抗体またはプリオン特異的ペプチド試薬）を加える。あるいは、病原型および非病原型に結合する分子（例えば、非特異的捕捉試薬）を固体支持体に結合し得る（例えば、マイクロタイタープレートのウェル上にコートし得る）。そして病原性プリオン特異的検出試薬（例えば、本明細書中において記載されるペプチド試薬）を使用して検出が達成され得る。

40

【0219】

別の例示的なアッセイである、「2ペプチドサンドイッチ」アッセイは、プリオン（例

50

えば、病原性プリオン)を検出するために使用され得る。この技術において、固体支持体を、本明細書中において記載されるような本発明の1個以上の第1のペプチド試薬と反応させて、洗浄することにより未反応の第1のペプチド試薬を除去し、次いで第1のペプチド試薬とサンプル中に存在する任意の病原性プリオンタンパク質との間で相互作用し得る条件下で、病原性プリオンタンパク質を含むと疑われる試験サンプル(例えば、生物学的サンプル)に曝露する。未反応のサンプル成分を除去し、そして存在する任意の病原性プリオンタンパク質と相互作用する第2のペプチド試薬が相互作用し得る条件下で、本発明の1個以上の第2のペプチド試薬を加える。第1のペプチド-プリオンタンパク質-第2のペプチドの相互作用は、当該分野で公知である任意の手段によって検出され得る。代表的には、第2のペプチド試薬は、検出可能な標識を含む。このアッセイにおいて、第1のペプチド試薬および/または第2のペプチド試薬は、病原性プリオンタンパク質と優先的に相互作用する。

10

【0220】

特定の実施形態において、抗PrP抗体を、プリオンタンパク質を検出するために使用する。プリオン、特にPrP^Cまたは変性PrPに結合する抗体、改変抗体および他の試薬については、報告されており、これらのいくつかは、市販されている(例えば、Peretzら、1997 J. Mol. Biol. 273:614; Peretzら、2001 Nature 412:739; Williamsonら、1998 J. Virol. 72:9413; 米国特許第6,765,088号に記載されている抗プリオン抗体)。これらのいくつかおよび他のものは、とりわけ、InPro Biotechnology, South San Francisco, CA、Cayman Chemicals, Ann Arbor MI; Prionics AG, Zurichから市販されている; 改変抗体の説明については、WO03/085086も参照のこと)。

20

【0221】

本発明のペプチド試薬はまた、競合アッセイにおいて使用され得る。検出の手段を使用して、PrP^{Sc}に弱く結合しているリガンドが、本明細書中において記載されるPrP^{Sc}に特異的なペプチド試薬によって置換されるとき同定し得る。例えば、PrP^{Sc}を含むと疑われるサンプルが、固体支持体上に吸着され得る。続いて、その固体支持体を、検出可能に標識されたりリガンドがPrP^{Sc}に結合するような条件下で、PrP^{Sc}に結合する検出可能に標識されたりリガンド(例えば、プラスミノゲン、ラミニンレセプターおよびヘパラン硫酸)と混合される。リガンド-PrP^{Sc}複合体を検出する。次いで、本明細書中で記載されるようなPrP^{Sc}結合ペプチド試薬を加える。病原性プリオンに対する検出可能に標識されたりリガンドの結合親和性は、ペプチド試薬の結合親和性よりも弱い。従って、PrP^{Sc}結合ペプチド試薬は、標識されたりリガンドを置換し得、標識されたりリガンドの検出量の減少は、ペプチド試薬と生物学的サンプル由来の病原性プリオンとの間で形成された複合体が検出され得ることを示す。

30

【0222】

本明細書中において記載されるペプチド試薬を含む上記のアッセイ試薬は、上記のような検出アッセイを実施するために、適当な指示書および他に必要な試薬を備えるキットとして提供され得る。ペプチド試薬が、固体支持体上に吸着されている場合、そのキットは、1個以上の固体支持体上に吸着されたそのようなペプチド試薬をさらに備え得るか、または代わりに備え得る。そのキットは、上記のような、適当なポジティブコントロールおよびネガティブコントロールをさらに備え得る。そのキットはまた、使用される特定の検出アッセイに依存して、適当な標識および他のパッケージ化された試薬および材料(すなわち、洗浄緩衝液など)を備え得る。

40

【0223】

なおもさらなる実施形態において、本発明は、病原性プリオン特異的なペプチド試薬を含む固体支持体に関する。これらの固体支持体を作製する方法がまた提供され、その方法は、例えば、(a)固体支持体を提供する工程; および(b)それに1個以上の病原性プリオン特異的なペプチド試薬を結合する工程を含む。

50

【0224】

プリオン特異的ペプチド試薬は、親和性支持体を使用して病原性プリオンタンパク質を単離するためにさらに使用され得る。そのペプチド試薬は、例えば、吸着、共有結合などによって固体支持体に結合され得、そのペプチド試薬は、それらのプリオン選択的結合活性を保持する。例えば、ペプチド試薬の結合部位を露出させたままにするために、必要に応じて、スパーサー基を含み得る。次いで、固定された分子は、生物学的サンプル（例えば、血液、血漿、脳、脊髄、他の組織）由来の病原性プリオンタンパク質を結合するために使用され得る。結合したペプチド試薬または複合体は、例えば、pHを変化させることによって支持体から回収されるか、または病原性プリオンが、複合体から解離され得る。

【0225】

本発明に従って試験され得るサンプルとしては、生存被験体または死亡被験体由来の神経系組織（例えば、脳、脊髄、CSFなど）由来のサンプル、血液および/または他の組織サンプルを含む、抗体アッセイに反応する任意のサンプルが挙げられる。上で述べたように、好ましい実施形態において、サンプルは、血液、血液供給物または生存被験体から得られた組織サンプルである。

【0226】

（VI．さらなる用途）

（A．検出）

上で記載したように、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、被験体のプリオン病を診断するために使用され得る。さらに、上記のペプチド試薬はまた、任意のサンプル、例えば、血液および/または食品供給物中の病原性プリオンの汚染を検出するために使用され得る。本発明は、サンプルの供給物、例えば、血液供給物または食品供給物からサンプルを選択する方法を提供し、この方法は、病原性プリオンタンパク質を含まないサンプルを選択する工程を含む。すなわち、実質的に病原性プリオンを含まない血液供給物を、本明細書中において記載される検出アッセイのいずれかを使用して、個々の回収されたサンプルまたは貯蔵されたサンプル由来のアリコートを手スクリーニングすることにより調製し得る。病原性プリオンで汚染されたサンプルまたは貯蔵されたサンプルは、それらが混合される前に排除され得る。このようにして、実質的に病原性プリオン汚染がない血液供給物が提供され得る。「実質的に病原性プリオンを含まない」とは、本明細書中において記載されるアッセイのいずれを使用しても、病原性プリオンの存在が検出されないことを意味する。重要なことには、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、希釈した脳組織中の病原性タンパク質型を、正常組織と比較して 10^6 倍検出することがすでに示されており、本明細書中において記載されるペプチド試薬は、血液中の病原性プリオンを検出することが可能であり得る唯一の証明された試薬である。

【0227】

従って、本発明は、本明細書中において記載される1個以上のペプチド試薬と優先的に相互作用する病原性プリオンタンパク質を含まないサンプルを選択する工程を含む、サンプルの供給物からサンプルを選択する方法を提供する。あるいは、本発明は、本明細書中において記載される1個以上のペプチド試薬と優先的に相互作用する病原性プリオンタンパク質を含むサンプルを選択する工程を含む、サンプルの供給物からサンプルを選択する方法を提供する。本明細書中において記載される方法を使用すると、どのサンプルが記載されたペプチド試薬と相互作用する病原性プリオンタンパク質を含むか、また、どのサンプルがそのようなタンパク質を含まないかが、容易に決定され得る。さらなる実施形態において、本発明は、実質的に病原性プリオンを含まない血液供給物を調製する方法を提供し、前記血液供給物は、全血、赤血球、血漿、血小板または血清を含み、前記方法は：（a）病原性プリオンを検出するための本明細書中に提供される検出方法のいずれかによって、回収された血液サンプル由来の全血、赤血球、血漿、血小板または血清のアリコートをスクリーニングする工程；（b）病原性プリオンが検出されたサンプルを排除する工程；および必要に応じて（c）病原性プリオンが検出されなかったサンプルを混合することにより、実質的に病原性プリオンを含まない血液供給物を提供する工程を含む。

【 0 2 2 8 】

同様に、実質的に病原性プリオンを含まない食物を提供するために、病原性プリオンの存在について食品供給物をスクリーニングし得る。従って、本明細書中において記載される方法のいずれかを使用して、ヒトまたは動物の消費のための食物として意図される生存生物体由来のサンプルが病原性プリオンの存在についてスクリーニングされ得る。食品供給物に投入することを意図される食品から得られるサンプルもまたスクリーニングされ得る。病原性プリオンが検出されたサンプルが同定され、そして病原性プリオンが検出されたサンプル由来の、食品供給物に投入することを意図された生存生物体または食物が、食品供給物から除去される。このようにして、実質的に病原性プリオンを含まない食品供給物が提供され得る。

10

【 0 2 2 9 】

従って、本発明は、実質的に病原性プリオンを含まない食品供給物を調製する方法を提供し、前記方法は：（a）食品供給物に投入し得る生存生物体から回収されたサンプルまたは食品供給物に投入することを意図された食物から回収されたサンプルを、病原性プリオンを検出するための本明細書中に提供された検出方法のいずれかによってスクリーニングする工程（b）病原性プリオンが検出されたサンプルを排除する工程；および必要に応じて（c）病原性プリオンが検出されなかったサンプルを混合することにより、実質的に病原性プリオンを含まない食品供給物を提供する工程を含む。

【 0 2 3 0 】

（ B . 精製 ）

本発明のペプチドはまた、病原性プリオンを単離する目的（例えば、検出前にプリオンタンパク質を濃縮するため）およびサンプルから病原性プリオンを排除する目的（例えば、実質的に病原性プリオンを含まないサンプルを提供する手段として）の両方のために、サンプルから病原性プリオンを除去するために使用され得る。これらの方法において、ペプチド試薬は、代表的には、固体支持体上に提供される。ペプチド試薬を含む固体支持体を、プリオンがペプチド試薬と結合する条件下で、病原性プリオンを含むサンプルと接触させる。目的が、病原性プリオンを単離することである場合、未結合サンプルは、除去され、そしてプリオンを含む固体支持体が回収される；目的が、サンプルからプリオンを排除することである場合、未結合サンプルが回収される。

20

【 0 2 3 1 】

従って、本発明は、サンプルから病原性プリオンタンパク質を単離するための方法を提供し、この方法は：（a）本発明に従って、ペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程；（b）前記サンプル中に病原性プリオンタンパク質が存在する場合、病原性プリオンタンパク質が前記第1のペプチド試薬に結合し得る条件下で、前記サンプルと前記固体支持体とを接触させて、第1の複合体を形成する工程および（c）未結合サンプル物質を除去する工程を含む。

30

【 0 2 3 2 】

さらなる実施形態において、前記病原性プリオンタンパク質は、前記第1の複合体から解離され得る。この解離工程は、タンパク質精製分野において周知の技術によって達成され得る。

40

【 0 2 3 3 】

本発明はまた、サンプルから病原性プリオンタンパク質を排除するための方法を提供し、この方法は；（a）本発明に従って、ペプチド試薬を含む固体支持体を提供する工程；（b）病原性プリオンタンパク質が存在する場合、病原性プリオンタンパク質がペプチド試薬に結合し得る条件下で、前記固体支持体と、病原性プリオンタンパク質を含むと疑われるサンプルとを接触させる工程；および（c）未結合のサンプル物質を回収する工程を含む。

【 0 2 3 4 】

（ C . 組成物 ）

本発明は、さらに、本明細書中において記載されるペプチド試薬および／または抗体（

50

ならびにこれらのペプチド試薬および／または抗体をコードするポリヌクレオチド)を含む組成物ならびにプリオン関連疾患の処置または予防のために治療的組成物および予防的組成物においてこれらの組成物を使用する方法に関する。さらに、抗体、ペプチド試薬(ならびにこれらの抗体および／またはペプチド試薬をコードするポリヌクレオチド)はまた、予防的な目的(すなわち、発病を予防するため)または治療的な目的(感染後の疾患を処置するため)のために個別に、または組み合わせて組成物中で使用され得る。

【0235】

本明細書中において記載される組成物が疾患を処置または予防するために作用する正確なメカニズムは、重要ではない。1つの理論に拘束されずに、本明細書中において記載される組成物は、以下のメカニズム：被験体における免疫応答の誘導によって、疾患状態を処置または予防すること；非病原型と相互作用(例えば、結合)して、非病原型への変換を予防し得ること；病原型に結合して、病原性の結果を予防し得ること；および／または病原型に結合して、病原型が非病原型を疾患型にさらに変換することを妨げ得ることの1個以上によってコンホメーション疾患を処置または予防するために作用し得る。(例えば、特定のFabがプリオンの伝播を阻害する能力のアッセイについては、Peretzら、(2001)Nature 412:739-743を参照のこと)。

10

【0236】

それらの組成物は、ペプチド試薬、抗体および／またはポリヌクレオチドの1個以上の混合物を含み得る。これらの分子は、種々の起源、例えば、組換えで産生されたタンパク質、合成的に生成されたタンパク質などから得られる場合がある。組成物はまた、他の分子、例えば、抗原および免疫調節物質(例えば、免疫グロブリン、サイトカイン、リンフォカインおよびケモカイン(それらとしては、IL-2、改変IL-2(cys125-ser125)、GM-CSF、IL-12、 α -インターフェロンまたは γ -インターフェロン、IP-10、MIP1およびRANTESが挙げられるがこれらに限定されない)と併せて投与され得る。それらの組成物は、ウイルスベクター(例えば、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、アルファウイルスベクター)または非ウイルスベクター(例えば、リポソーム、核酸またはタンパク質でコートされた粒子)を使用して、ポリペプチドまたは裸の核酸(例えば、DNA)として投与され得る。

20

【0237】

それらの組成物はまた、ペプチド試薬と核酸の混合物を含み得、同じかまたは異なる様式および／またはビヒクルを使用して送達され得る。同じかまたは異なる組成物を、1回以上投与し得る(例えば、「初回」投与に続いて1回以上の「追加免疫」)ことにより、所望の効果が達成される。同じ組成物が、初回および1回以上の追加免疫として投与され得る。あるいは、異なる組成物が初回および追加免疫のために使用され得る。

30

【0238】

本発明の組成物は、好ましくは、薬学的に許容可能であり、かつ薬理学的に許容可能である。特に、組成物は、好ましくは、生物学的または他の面で、望ましくないものでなく、すなわち、その材料は、いかなる望ましくない生物学的作用も引き起こさずに、または含まれる組成物のどの成分とも有害な様式で相互作用せずに、処方物または組成物として個体に投与され得る。

40

【0239】

本明細書中で記載されるような組成物は、代表的には、治療有効量の分子(ペプチド試薬)または同じものをコードするヌクレオチド配列、これらの分子に特異的な抗体および必要に応じて他の任意の上記の成分を含み得る。「治療有効量」とは、組成物を投与される、感染していない被験体、感染している被験体または曝露されていない被験体において、保護的および／または治療的な応答を誘導する量を意味する。「治療有効量」は、慣習的な試験によって決定され得る比較的広い範囲に入る。必要とされる正確な量は、処置される被験体；処置される個体の年齢および全身の状態；その個体が抗体を合成する免疫系の能力；望む保護の程度；処置される状態の重症度；選択される特定の組成物およびその

50

投与の様式などの他の因子に依存して変化する。

【0240】

特定の実施形態において、ペプチド試薬は、免疫原性であり、本発明の方法は、本明細書中において記載されるようなペプチド試薬、病原性プリオンに特異的な抗体および/またはこれらのペプチド試薬もしくは抗体をコードするポリヌクレオチドを含む免疫原性の組成物を動物に投与する工程を含む。本発明において使用される免疫原性の組成物は、好ましくは、免疫学的有効量のこれらの成分を含む。「免疫学的有効量」とは、プリオンタンパク質、好ましくは、病原性プリオンに対して哺乳動物が免疫応答を惹起し得るのに十分な量のことである。免疫応答は、一般に、被験体において、分泌、細胞および/または抗体媒介性の免疫応答を発生させる。通常、このような応答としては、以下の作用の1つ以上；任意の免疫学的分類（例えば、免疫グロブリンA、D、E、GまたはM）由来の抗体の産生；Bリンパ球およびTリンパ球の増殖；免疫学的細胞への活性化シグナル、増殖シグナルおよび分化シグナルの提示；ヘルパーT細胞、サブプレッサーT細胞および/または細胞傷害性T細胞の増殖が挙げられるが、これらに限定されない。産生される抗体の量は、使用する動物、アジュバントの存在などを含むいくつかの因子によって変化し得る。

10

【0241】

本発明の組成物は、さらに、1個以上のアジュバントを含み得る。本発明の使用に適するアジュバントとしては、米国特許出願第10/917,646号（その全体が本明細書中に参考として援用される）に記載されているアジュバントの1個以上が挙げられる。

【0242】

本発明の使用に適するアジュバントとしては、以下：E.coli 易熱性エンテロトキシン（「LT」）または解毒されたその変異体（例えば、K63またはR72変異体）；コレラ毒素（「CT」）または解毒されたその変異体；生分解性および非毒性である物質（例えば、ポリ（ α -ヒドロキシ酸）、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルトエステル、ポリ無水物、ポリカプロラクトンなど）から形成された微小粒子（すなわち、直径約100nm～約150 μ mの粒子、より好ましくは、直径約200nm～約30 μ mおよび最も好ましくは、直径約500nm～約10 μ m）；ポリオキシエチレンエーテルまたはポリオキシエチレンエステル（国際特許出願WO99/52549を参照のこと）；オクトキシノールと組み合わせたポリオキシエチレンソルビタンエステル界面活性剤（国際特許出願WO01/21207を参照のこと）または少なくとも1つのさらなる非イオン性界面活性剤（オクトキシノールなど）と組み合わせたポリオキシエチレンアルキルエーテル界面活性剤もしくはポリオキシエチレンアルキルエステル界面活性剤（国際特許出願WO01/21152を参照のこと）；キトサン（例えば、国際特許出願WO99/27960）；免疫賦活性オリゴヌクレオチド（例えば、CpGオリゴヌクレオチド）およびサポニン（国際特許出願WO00/62800を参照のこと）；免疫賦活性二本鎖RNA；アルミニウム化合物（例えば、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、ヒドロキシリン酸アルミニウム、オキシ水酸化物、オルトホスフェート、スルフェートなど（例えば、Vaccine design: the subunit and adjuvant approach, eds. Powell & Newman, Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X)（以後、「Vaccine design」）の8および9章を参照のこと）または任意の適当な形態の化合物（例えば、ゲル、結晶、非結晶など）と様々なアルミニウム化合物との混合物および吸着に好ましい様々なアルミニウム化合物の混合物；MF59（5%スクアレン、0.5%Tween80および0.5%Span85を、マイクロフルイダイザー（microfluidizer）を使用してサブミクロン粒子に処方したもの）（Vaccine designの10章を参照のこと；国際特許出願WO90/14837も参照のこと）；リボソーム（Vaccine designの13および14章を参照のこと）；ISCOM（Vaccine designの23章を参照のこと）；10%スクアレン、0.4%Tween80、5%プルロニックブロックポリマーL121およびthr-MDPを含むSAF、サブミクロンエマルジョンにマイクロ流動化したものまたはより大きい粒径のエマルジョンを生

20

30

40

50

成するためにボルテックスしたもの (Vaccine design の 12 章を参照のこと) ; 2 % スクアレン、0.2 % Tween 80 ならびに、モノホスホリルリピド (monophosphoryl lipid) A (MPL)、トレハロースダイマイコレート (TDM) および細胞壁骨格 (CWS) からなる群からの 1 個以上の細菌細胞壁成分を含む Ribⁱ T^M アジュバント系 (RAS)、(Ribⁱ Immunochem)、好ましくは、MPL + CWS (Detox^{T M}) ; Stimulon^{T M} としても知られる、Quil A または QS 21 などのサポニンアジュバント (Vaccine design の 2 章を参照のこと) ; さらなる界面活性剤を含まない ISCOM (国際特許出願 WO 00 / 07621) ; フロイント完全アジュバント (CFA) およびフロイント不完全アジュバント (IFA) ; サイトカイン (例えば、インターロイキン (例えば、IL - 1、IL - 2、IL - 4、IL - 5、IL - 6、IL - 7、IL - 12 など)、インターフェロン (例えば、インターフェロン - γ)、マクロファージコロニー刺激因子、腫瘍壊死因子など) (Vaccine design の 27 および 28 章を参照のこと) ; モノホスホリルリピド A (MPL) または 3 - O - 脱アシル化 MPL (3dMPL) (例えば、Vaccine design の 21 章) ; 3dMPL と、例えば、QS 21 および / または水中油型エマルジョンとの組み合わせ (欧州特許出願 0835318、0735898 および 0761231) ; CpG モチーフを含むオリゴヌクレオチド (Krieg (2000) Vaccine, 19:618-622; Krieg (2001) Curr. Opin. Mol. Ther., 2001, 3:15-24; WO96/02555, WO98/16247, WO98/18810, WO98/40100, WO98/55495, WO98/37919 および WO98/52581 などを参照のこと)、すなわち少なくとも 1 つの CG ジヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド ; ポリオキシエチレンエーテルまたはポリオキシエチレンエステル (国際特許出願 WO99/52549) ; オクトキシノールと組み合わせたポリオキシエチレンソルビタンエステル界面活性剤 (国際特許出願 WO01/21207) または少なくとも 1 つのさらなる非イオン性界面活性剤 (オクトキシノールなど) と組み合わせたポリオキシエチレンアルキルエーテル界面活性剤もしくはポリオキシエチレンアルキルエステル界面活性剤 (国際特許出願 WO01/21152) ; 免疫賦活性オリゴヌクレオチド (例えば、CpG オリゴヌクレオチド) およびサポニン (国際特許出願 WO00/62800) ; 免疫賦活薬および金属塩の粒子 (国際特許出願 WO00/23105) ; サポニンおよび水中油型エマルジョン (国際特許出願 WO99/11241) ; ならびにサポニン (例えば、QS 21) + 3dMPL + IL - 12 (必要に応じて + ステロール) (国際特許出願 WO98/57659) の 1 個以上が挙げられる。

【0243】

ムラミルペプチドとしては、N - アセチル (acteyl) - ムラミル - L - トレオニル - D - イソグルタミン (thr - MDP)、N - アセチル - ノルムラミル - L - アラニル - D - イソグルタミン (isogluatme) (nor - MDP)、N - アセチルムラミル - L - アラニル - D - イソグルタミン (isogluatminy) - L - アラニン - 2 - (1' - 2' - ジパルミトイル - sn - グリセロ - 3 - ヒドロキシホスホリルオキシ (hydroxyphosphoryloxy)) - エチルアミン (MTP - PE) などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0244】

粘膜投与または非経口投与に適した他のアジュバントも、利用可能である (例えば、Vaccine design: the subunit and adjuvant approach, eds. Powell & Newman, Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X) の 7 章を参照のこと)。

【0245】

免疫応答が増強されるので、LT の変異体、特に「K63」および「R72」変異体 (例えば、国際特許出願 WO98/18928 を参照のこと) は、好ましいアジュバント (例えば、粘膜アジュバント) である。

10

20

30

40

50

【0246】

微小粒子もまた、有用であり、好ましくは、ポリ(α-ヒドロキシ酸)、特に、ポリ(ラクチド)(「PLA」)、D, L-ラクチドとグリコリドまたはグリコール酸との共重合体(例えば、ポリ(D, L-ラクチド-コ-グリコリド)(「PLG」または「PLGA」)またはD, L-ラクチドとカプロラクトンとの共重合体から誘導される。それらの微小粒子は、種々の分子量およびPLGなどの共重合体の場合、種々のラクチド:グリコリド比を有する様々な重合体出発物質のいずれかから誘導され得、それらの選択は、大いに選択の余地がある。本発明のプリオン、抗体および/またはポリヌクレオチドは、微小粒子内に封入され得るか、またはそれらに吸着され得る。PLG微小粒子内への封入が好ましい。PLG微小粒子については、Morrisら、(1994), Vaccine, 12:5-11, Mucosal Vaccines, eds. Kiyonoら、Academic Press 1996 (ISBN 0 12 4 105 87)の13章およびVaccine design: the subunit and adjuvant approach, eds. Powell & Newman, Plenum Press 1995 (ISBN 0 - 306 - 44867 - X)の16および18章にさらに詳細に記述されている。

10

【0247】

LT変異体は、微小粒子を封入した抗原と組み合わせて好都合に使用され得、その結果、顕著な免疫応答の増強が見られる。

20

【0248】

アルミニウム化合物およびMF59は、非経口に使用するための好ましいアジュバントである。

【0249】

代表的には、組成物は、液体の溶液または懸濁液のいずれかとして、注入可能に調製される;液体ビヒクル中の溶液または懸濁液に適する固体の形態が注射前に調製され得る。その調製物もまた、上で記載したように、アジュバントの効果を増強するために、乳化され得るか、またはリポソーム内に封入され得る。

【0250】

薬学的に許容可能な塩もまた、本発明の組成物中に使用され得る。その塩としては、例えば、無機塩(例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩または硫酸塩)ならびに有機酸の塩(例えば、酢酸塩、プロピオン酸塩(propionate)、マロン酸塩または安息香酸塩)が挙げられる。特に有用なタンパク質基質は、血清アルブミン、キーホールリンベットヘモシアニン、免疫グロブリン分子、チログロブリン、オバルブミン、破傷風トキソイドおよび当業者に周知の他のタンパク質である。

30

【0251】

本発明の組成物はまた、液体または賦形剤(例えば、水、食塩水、グリセロール、デキストロース、エタノールなど)ならびに薬剤(例えば、湿潤剤、乳化剤またはpH緩衝剤)を、単独でまたは組み合わせて含み得る。必要に応じて、それ自体で組成物を投与される個体に有害な抗体の産生を誘導しない分子であるキャリアが、存在する。適当なキャリアは、代表的には、大型の、ゆっくりと代謝される高分子(例えば、タンパク質、多糖類、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、アミノ酸の重合体、アミノ酸の共重合体、脂質凝集体(例えば、油滴またはリポソーム)および不活性なウイルス粒子)である。このようなキャリアは、当業者に周知である。さらに、組成物中の1個以上のポリペプチドは、細菌のトキソイド(例えば、ジフテリア、破傷風、コレラなど由来のトキソイド)に結合体化され得る。

40

【0252】

(D. 送達)

本発明の組成物は、単回用量または投与レジメンの一部として投与され得る。核酸および/またはペプチドが、任意の適当な様式によって投与され得る。その様式としては、筋肉内、粘膜内、皮下、皮内、経皮的、腔内、直腸内、経口的および/または静脈内が挙げ

50

られるがこれらに限定されない。投与レジメンは、初回投薬および追加免疫投薬を含み得、経粘膜的、非経口的またはそれらの様々な組み合わせで投与され得る。

【0253】

特定の実施形態において、組成物の1個以上の成分は、非経口的または経粘膜的に投与される。非経口投与の適当な経路としては、筋肉内(IM)、皮下、静脈内、腹腔内、皮内、経皮的(transcutaneous)および経皮的(transdermal)(例えば、国際特許出願WO98/20734を参照のこと)な経路ならびに組織の間質腔への送達が挙げられる。粘膜投与の適当な経路としては、経口、鼻腔内、胃内、肺内、腸管、直腸、眼球および膺の経路が挙げられる。組成物は、粘膜投与に適合され得る。例えば、組成物が、経口投与用である場合、組成物は、錠剤またはカプセルの形態、必要に応じて、腸溶コーティング、液体、トランスジェニック植物などの形態であり得る。組成物が鼻腔内投与用である場合、組成物は、点鼻薬、点鼻液、ゲルまたは散剤の形態であり得る。投薬処置は、単回投与スケジュールまたは反復投与スケジュールであり得る。

10

【0254】

組成物(またはそれらの成分)はまた、カプセル化され得るか、粒子状のキャリアに吸着され得るか、または粒子状のキャリアに会合され得る。このようなキャリアは、多コピーの選択された抗原を免疫系に提示し、そして局所的なリンパ節において、抗原の捕捉および保持を促進する。これらの粒子は、マクロファージによって貪食され得、そしてサイトカイン放出を介して抗原提示を促進し得る。粒子状のキャリアの例としては、ポリメタクリル酸メチルポリマーから誘導されるものならびにPLGとして知られるポリ(ラクチド)およびポリ(ラクチド-コ-グリコリド)から誘導される微小粒子が挙げられる。例えば、Jefferyら、Pharm. Res. (1993) 10: 362-368; McGee JP, et al., J Microencapsul. 14(2): 197-210, 1997; O'Hagan DT, et al., Vaccine 11(2): 149-54, 1993を参照のこと。適当な微小粒子はまた、荷電界面活性剤(例えば、陰イオン性界面活性剤または陽イオン性界面活性剤)の存在下で作製され、正味の負の電荷または正味の正の電荷を有する表面を有する微小粒子が得られる。例えば、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム(CTAB)などの陰イオン性界面活性剤を用いて作製された微小粒子、すなわち、CTAB-PLG微小粒子は、DNAなどの負に帯電した高分子を吸着する(例えば、国際特許出願PCT/US99/17308を参照のこと)。

20

30

【0255】

さらに、他の粒子系およびポリマーが、インビボ送達またはエキソビボ送達に使用され得る。例えば、ポリマー(例えば、ポリリジン、ポリアルギニン、ポリオルニチン、スベルミン、スベルミジンならびにこれらの分子の結合体)が、目的の核酸の移送に有用である。同様に、DEAEデキストラン媒介性トランスフェクション、リン酸カルシウム沈降または他の不溶性無機塩(例えば、リン酸ストロンチウム、ベントナイトおよびカオリンを含むケイ酸アルミニウム、酸化第二クロム、ケイ酸マグネシウム、タルクなど)を使用した沈降が、本方法において使用され得る。遺伝子導入に有用な送達系の概説として、例えば、Felgner, P. L., Advanced Drug Delivery Reviews (1990) 5: 163-187を参照のこと。ペプトイド(Zuckerman, R. N., et al., 1998年11月3日に発行された米国特許第5,831,005号、本明細書中に参考として援用される)はまた、本発明の構築物の送達に使用され得る。

40

【0256】

上で述べたように、ペプチド(または抗体)は、これらの分子をコードする核酸としても送達され得る。所望の配列が、選択された調節領域(例えば、プロモーター、エンハンサーなど)を含む、一シストロン性(unicistronic)ベクターまたは多シストロン性(multicistronic)ベクターに挿入される。一旦、完成すると、構築物は、標準的な遺伝子送達プロトコールを使用して送達され得る。それらとして

50

は、例えば、従来の注射器；（例えば、米国特許第5,399,346号、同第5,580,859号、同第5,589,466号）またはAccell（登録商標）遺伝子送達系（Powderject Technologies, Inc., Oxford, England）などの遺伝子ガンのいずれかを使用した注入；ウイルス系の系（例えば、（米国特許第5,219,740号）に記載されているようなレトロウイルス系、アデノウイルス系（Barrら、Gene Therapy（1994）1:51-58；Berckner, K.L. BioTechniques（1988）6:616-629；およびRichら、Human Gene Therapy（1993）4:461-476）、アデノ随伴ウイルス（AAV）系（米国特許第5,173,414号および同第5,139,941号）、ボックスウイルス系、ワクシニアウイルス送達系（例えば、国際公開番号WO94/26911を参照のこと）、アピボックスウイルス系（例えば、鶏痘ウイルスおよびカナリア痘ウイルス）、アルファウイルス送達系（米国特許第5,843,723号；同第5,789,245号；同第6,342,372号；同第6,329,201号）ならびに他のウイルス系）；非ウイルス系（例えば、電荷リポソームまたは非電荷リポソーム（例えば、Hug and Sleight, Biochim. Biophys. Acta.（1991）1097:1-17；Straubingerら、Methods of Enzymology（1983）, Vol. 101, pp. 512-527；Felgnerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA（1987）84:7413-7416）を参照のこと）；および/またはPapahadjopoulosら、Biochem. Biophys. Acta.（1975）394:483-491に記載されているものと類似した渦巻形脂質組成物を使用した注入が挙げられる。米国特許第4,663,161号および同第4,871,488号も参照のこと。ポリヌクレオチドは、脊椎動物被験体に直接送達され得るか、またはエキソビポで被験体由来の細胞に送達され得、そしてその細胞を被験体に再移植され得る。

【0257】

本発明の方法は、さらに、有効量の本発明の抗体を含む組成物を動物に投与することによって、プリオン関連疾患を処置または予防する工程を含む。

【0258】

処置の方法は、本明細書中において記載される組成物のいずれかを組み合わせてもよい。例えば、ペプチド含有組成物および/または抗体組成物。様々な成分が一緒かまたは別々に投与され得る。

【0259】

本発明の方法における使用に適した動物としては、ヒトおよび非ヒト霊長類（例えば、チンパンジーおよび他の類人猿およびサル種）を含む他の霊長類；家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギおよびウマ）、家庭内の動物（例えば、イヌおよびネコ）；げっ歯類（例えば、マウス、ラット、ハムスターおよびモルモット）を含む実験動物；家禽、野生鳥および獺鳥（例えば、ニワトリ、シチメンチョウおよび他のキジ類の鳥、アヒル、ガチョウなど）を含む鳥類が挙げられる。本発明における使用に適した動物は、成体（または成人）および新生仔（または新生児）の両方を含むいずれの年齢でもよい。トランスジェニック動物もまた、本発明において使用され得る。プリオン関連疾患を研究するために最近使用されるトランスジェニック動物についての記述については、一般に、Prusiner "Prions" Proc. Natl. Acad. Sci. USA（1998）95:13363-13383を参照のこと。

【0260】

本発明の組成物は、プリオン関連疾患を処置または予防するために使用され得る。このようなプリオン関連疾患は、病原性プリオンタンパク質（PrP^{Sc}）によって全部または一部引き起こされる疾患を含む。プリオン関連疾患としては、スクレイピー、ウシ海綿状脳症（BSE）、狂牛病、ネコ海綿状脳症、クールー、クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病（GSS）および致死性家族性不眠症（FFI）が挙げられる。

10

20

30

40

50

【 0 2 6 1 】

【 0 2 6 2 】

【 0 2 6 3 】

10

【 0 2 6 4 】

20

【 0 2 6 5 】

30

【 0 2 6 6 】

【 0 2 6 7 】

40

【 0 2 6 8 】

50

(ペプチド)。さらに、L y s に連結したペプチドを調製した：L y s - ε - N H - C O - (C H 2) 3 - M a l - S - C y s - ペプチド。図 5 を参照のこと。

【 0 2 6 9 】

(C . ビオチン化)

ペプチドを、合成および精製の後に標準的な技術を使用してビオチン化した。ビオチンを、ペプチドの N 末端または C 末端に付加した。

【 0 2 7 0 】

(実施例 2 : 結合アッセイ)

(A . プルダウン)

本明細書中で記載されるようなペプチド試薬を、磁気ビーズプルダウンアッセイを使用して、プリオンタンパク質に特異的に結合する能力について試験した。このアッセイに向けて、ペプチド試薬をビオチンで標識し、これにより、ストレプトアビジンコートされた磁気ビーズへの結合が可能となった。

10

【 0 2 7 1 】

脳ホモジネートを R M L P r P ^S C + および P r P ^C + B a l b - c マウスから調製した。簡潔には、1 % T W 2 0 および 1 % トリトン 1 0 0 を含む 5 m l の T B S 緩衝液 (5 0 m M の T r i s - H C l , p H 7 . 5 および 3 7 . 5 m M の N a C l) を約 0 . 5 g の脳に加え、1 0 % ホモジネートとした。脳スラリーを大きな粒子が消えるまで処理した。2 0 0 μ l のアリコート緩衝液で 1 : 1 に希釈し、予冷したエッペンドルフチューブに加え、そのサンプルを、各々数秒間、音波処理し、それを数回繰り返した。サンプルを 5 0 0 × で 1 0 ~ 1 5 分遠心し、そしてその上清を取り出した。

20

【 0 2 7 2 】

プロテイナーゼ K 消化の作用を試験するために、一定の上清を 2 サンプルに分け、そして 4 μ l のプロテイナーゼ K を一方のサンプルに加え、3 7 ° で 1 時間回転した。8 マイクロリットルの P M S F をそのプロテイナーゼ K チューブに加えて消化を停止し、そのチューブを 4 ° で少なくとも 1 時間インキュベートした。

【 0 2 7 3 】

ホモジネートを、さらに使用するまで 4 ° で保存し、必要であれば、上記のように再度音波処理した。脳ホモジネートの 1 0 % w / v の P r P ^C + 調製物または P r P ^S C + 調製物を、ビオチン標識されたペプチド試薬とともに 4 ° で一晩インキュベートし、その後、4 0 0 μ l の緩衝液、5 0 μ l の抽出物および 5 μ l のビオチン標識されたペプチド試薬 (1 0 m M 原液) を含むチューブを調製した。そのチューブを、室温で少なくとも 2 時間または 4 ° で一晩、固定台付き揺り器具 (p l a t f o r m r o c k e r) 上でインキュベートした。

30

【 0 2 7 4 】

インキュベート後、5 0 μ l の S A - ビーズ (D y n a l M 2 8 0 ストレプトアビジン 1 1 2 . 0 6) を加え、そしてそのチューブをボルテックスにより混合した。そのチューブを振盪しながら (V W R , R o c k i n g p l a t f o r m , モデル 1 0 0) 室温で 1 時間または 4 ° で一晩インキュベートした。

【 0 2 7 5 】

サンプルを振盪機から取り出し、磁場に置くことにより、ペプチド試薬およびプリオンが結合している磁気ビーズを回収し、5 ~ 6 回、1 m l のアッセイ緩衝液を用いて洗浄した。サンプルは、すぐに使用するか、または以下に記載されるウエスタンブロッティングまたは E L I S A まで - 2 0 ° で保存した。

40

【 0 2 7 6 】

(B . ウエスタンブロッティング)

ウエスタンブロッティング解析を以下のとおり実施した。上記のように沈降したビーズ - ペプチド - プリオン複合体を、各チューブに加えられる 2 5 ~ 3 0 μ l の S D S 緩衝液 (N o v e x T r i s - グリシン S D S - サンプル緩衝液 2 ×) を加えることによる最終的な洗浄のあと、変性した。そのチューブを、すべてのビーズが懸濁するまでボルテッ

50

クスにより混合した。そのチューブを、その蓋が開くまで煮沸し、標準的なSDS-PAGEゲルで泳動し、そしてWB解析に向けて固体メンブレンに転写した。

【0277】

そのメンブレンを5%乳/TBS-T[50mlの1M Tris, pH7.5; 37.5mlの4M NaCl、1~10mlのTween、乳で容量を1Lとする]中、室温にて30分間、ブロッキングした。2003年9月30日に出願された「Prion Chimeras and Uses Thereof」という表題の国際特許出願番号PCT/US03/31057に記載されているように10~15mlの抗プリオンポリクローナル抗体を1:50倍希釈でメンブレンに加え、室温で1時間インキュベートした。そのメンブレンをTBS-Tで複数回洗浄した。洗浄後、二次抗体(アルカリホスファターゼ(AP)結合体化ヤギ抗ウサギIgG(H+L)抗体(Pierce))を1:1000希釈(TBS-T中)で加え、室温で20分間インキュベートした。メンブレンをTBS-Tで複数回洗浄した。アルカリホスファターゼ誘発試薬(1-ステップNBT/BICIP(Pierce))を加え、そしてバックグラウンドが現れるまでか、またはシグナルが現れるまで反応した。

10

【0278】

(C. ELISA)

最後の洗浄後、上記のビーズ-ペプチド複合体をチオシアン酸グアニジンで変性し、以前にRyouら、(2003) Lab Invest. 83(6): 837-43に記載されたような変性タンパク質を用いてELISAを実施した。ブランクコントロール(.172~.259の範囲)よりも高いO.D.値を陽性とみなした。

20

【0279】

(D. 結果)

ウエスタンブロッティングおよびELISA結合アッセイの結果を表2にまとめた。簡潔には、PrP^{Sc}に結合する、本明細書中で記載されるようなペプチド試薬の特異的な結合を検出するために、脳ホモジネートのプロテイナーゼK消化は、必要ではなかった。図4に示すように、野生型脳ホモジネートへの結合は観察されなかったことから、ペプチド試薬がPrP^{Sc}に特異的に結合したことが示唆される。さらに、上記のウエスタンブロッティング解析では、4対数希釈以上でPrP^{Sc}が検出されたが、ELISAはウエスタンブロッティングよりも少なくとも10倍以上感度が高かった。

30

【0280】

【表 2 - 1】

表 2

ペプチド試薬 (N末端またはC末端でビオチン標識)	配列番号	ウエスタンブロット ¹	ELISA A _{405nm}
³ CGG ⁵ WGQGGGTHNQWNKPSKPKTNLKH V ³ C	35	+	0.687
³ GGWGQGGGTHNQWNKPSKPKTNLKHV	36	+	ND
GGWGQGGGTHNQWNKPSKPKTNLKHV ³	37	+	ND
C ⁵ GGWGQGGGTHNQWNKPSKPKTNLKH V ³ C	40	+	ND
RPMIHFGNDWEDRYRENMYR ⁴	44	-	ND
⁴ RPMIHFGNDWEDRYRENMYR ³ C	76	-	ND
⁵ C ⁴ RPMIHFGNDWEDRYRENMYR ⁴ C ²	46	+	ND
QWNKPSKPKTN ⁴	50	+	0.932
QWNKPSKPKTN	14	+++	0.775
QWNKPSKPKTN ⁴ QWNKPSKPKTN	51	+++	.923
QWNKPSKPKTNLKHV ⁴	77	++	0.839
GGWGQGGGTHNQWNKPSKPKTN	53	+	0.254
GGTHNQWNKPSKPKTN	54	+	0.253
⁴ AGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAM	78	不溶性	0.259
⁴ AGAAAAGAVVGGLGG	56	不溶性	0.313
⁶ AGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAM	57	+	0.901
⁶ AGAAAAGAVVGGLGG	65	++	0.635
⁴ KKRPKPGGWNTGGSRYPGQS	66	+	0.533
⁴ KKRPKPGGWNTGG	67	++	0.451
⁴ KKRPKPGG	68	+++	0.765
PHGGGWGQPHGGSWGQPHGGSWGQ	69	-	0.282
PHGGGWGQPHGGSWGQ	70	-	0.241
PHGGGWGQ	71	-	0.263
⁴ GPKRKGP	73	+	1.0621
⁴ WNKPSKPKT	75	-	0.247
⁴ NKPSKPK	79	-	0.24
⁴ KPSKPK	80	-	0.225
⁴ KKRPKPGGGKKRPKPGG	72	+	0.522
⁴ KKRPKPGGGQWNKPSKPKTN	81	+	1.247

【 0 2 8 1 】

10

20

30

【表 2 - 2】

KKKAGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAMD DD	82	-	0.340
DDDAGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAM	83	-	0.237
KKKAGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAMK KK	84	+	0.268
⁴ KKKKKKKK	85	+ ³	0.530
DDDAGAAAAGAVVGGLGGYMLGSAMD DD	86	-	0.227
⁴ NNKQSPWPTKK	87	-	0.277
DKDKGGVGALAGAAVAAGGDKDK	88	-	0.282
⁴ QANKPSKPKTN	89	+	0.245
⁴ QWNKASKPKTN	90	-	0.283
⁴ QWNKPSAKTN	91	-	0.256
⁴ QWNAPSKPKTN	92	-	0.230
⁴ QWNKPSAPKTN	93	-	0.250
⁴ QWNKPSKPATN	94	-	0.260
⁴ QWNKASKAKTN	95	-	0.241
⁴ KKRAKPGG	96	+	2.19
⁴ KKRPKAGG	97	+	1.24
⁴ KKRAKAGG	98	+	1.46
4- 分枝 MAPS ⁴ QWNKPSKPKTN ⁴	259	+	ND
8- 分枝 MAPS ⁴ QWNKPSKPKTN ⁴	260	+	ND

1 : 相対的なシグナル強度を視覚的に評価した

2 : 環化

3 : 示された位置で G G G G 残基を付加 / 挿入した

4 : 示された位置で G G G 残基を付加 / 挿入した

5 : 示された位置で G G 残基を付加 / 挿入した

6 : 示された位置で K K K 残基を付加 / 挿入した

ND = 試験せず

結合に関連する残基を同定するために、アラニンスキャニングも実施した。結果を表 3 に示す。

【 0 2 8 2 】

10

20

30

【表 3】

表 3

ペプチド試薬 (N末端またはC末端でビオチン標識)	配列番号	ウエスタン ブロット	ELISA A _{405nm}
QWNKPSKPKTN	14	+++	0.775
QANKPSKPKTN	89	+++	0.245
QWNAPSKPKTN	92	+	0.283
QWNKPSAPKTN	93	+	0.256
QWNKPSKPATN	94	+	0.230
QWNKASKPKTN	99	+/-	0.250
QWNKPSKAKTN	91	+	0.260
QWNKASKAKTN	95	-	0.241
QWAKPSKPKTN	100	ND	0.376
QWNKPAKPKTN	101	ND	0.356
QWNKPSKPKAN	102	ND	0.234
QWNKPSKPKTA	103	ND	0.262
KKRPKPGG	68	+++	0.765
AKRPKPGG	104	+	0.273
KARPKPGG	105	+	0.256
KKAPKPGG	106	+	0.268
KKRPAPGG	107	+	0.578
KKRAKPGG	96	++	2.19
KKRPKAGG	97	++	1.24
KKAPKAGG	108	+	1.46
GGGAWNKPSKPKTN	248	ND	ND

さらに、表 4 に示すように、配列番号 14、配列番号 67 および配列番号 68 を有するペプチド試薬による PrP^{Sc} への結合を、プロリン残基における多くの N 置換グリシン (ペプトイド) による置換によってさらに促進した。

【0283】

10

20

30

【表 4 - 1】

表 4

	ウェスタンブロット	ELISA A _{405nm}
* (GGG) ¹ QWNKPSK*KTN (配列番号14) において		
プロリン	+++	0.775
N-(S)-(1-フェニルエチル)グリシン (図3 Aにおいて円で囲まれたペプチド) (配列番号109)	++	0.865
N-(4-ヒドロキシフェニル)グリシン (図3 Bにおいて円で囲まれたペプチド) (配列番号110)	-	0.934
N-(シクロプロピルメチル)グリシン (図3 Cにおいて円で囲まれたペプチド) (配列番号111)	++++	1.141
N-(イソプロピル)グリシン (図3 Dにおいて円で囲まれたペプチド) (配列番号112)	ND	0.974
N-(3,5-ジメトキシベンジル)グリシン (図3 Eにおいて円で囲まれたペプチド) (配列番号113)	+++	2.045
N-アミノ-ブチルグリシン (図3 Fにおいて円で囲まれたペプチド) (配列番号114)	++++	0.776
* (GGG) ¹ QWNK*SKPKTN (配列番号14) において		
N-(シクロプロピルメチル)グリシン (配列番号115)	ND	0.498
N-(イソプロピル)グリシン (配列番号116)	ND	1.57
N-(3,5-ジメトキシベンジル)グリシン (配列番号117)	ND	0.823
N-アミノ-ブチルグリシン (配列番号118)	ND	0.619
* (GGG) ¹ KKRPK*GG (配列番号68) において		
プロリン	ND	0.765

10

20

【0284】

【表 4 - 2】

N-アミノ-βチルグリシン (配列番号 119)	ND	0.61
N-(3, 5-ジメトキシベンジル) グリシン (配列番号 120)	ND	0.631
N-(イソプロピル) グリシン (配列番号 121)	ND	0.509
N-(シクロプロピルメチル) グリシン (配列番号 122)	ND	0.503
* (GGG) ¹ KKRPK*GGWNTGG (配列番号 67) において		
プロリン	ND	0.451
N-アミノ-βチルグリシン (配列番号 123)	ND	0.503
N-(3, 5-ジメトキシベンジル) グリシン (配列番号 124)	ND	0.464
N-(イソプロピル) グリシン (配列番号 125)	ND	0.555
N-(シクロプロピルメチル) グリシン (配列番号 126)	ND	0.344
(GGG) ¹ QWNKX1SKX2KTN		
X1がN-(シクロプロピルメチル) グリシン; X2がN-(シクロプロピルメチル) グリシン (配列番号 129)	ND	ND
X1がN-(シクロプロピルメチル) グリシン; X2がN-(3, 5-ジメトキシベンジル) グリシン (配列番号 130)	ND	ND
X1がN-(シクロプロピルメチル) グリシン; X2がN-アミノ-βチルグリシン (配列番号 131)	ND	ND
X1がN-(イソプロピル) グリシン; X2がN-(シクロプロピルメチル) グリシン (配列番号 132)	ND	ND
X1がN-(イソプロピル) グリシン; X2がN-(3, 5-ジメトキシベンジル) グリシン (配列番号 257)	ND	ND
X1がN-(イソプロピル) グリシン; X2がN-アミノ-βチルグリシン (配列番号 258)	ND	ND
* (GGG) ¹ KKR*KPGGWNTGG (配列番号 67) において		
N-アミノ-βチルグリシン (配列番号 249)	ND	ND
N-(3, 5-ジメトキシベンジル) グリシン (配列番号 250)	ND	ND
N-(イソプロピル) グリシン (配列番号 251)	ND	ND
N-(シクロプロピルメチル) グリシン (配列番号 252)	ND	ND
* (GGG) ¹ KKR*KPGG (配列番号 68) において		
N-アミノ-βチルグリシン (配列番号 253)	ND	ND
N-(3, 5-ジメトキシベンジル) グリシン (配列番号 254)	ND	ND
N-(イソプロピル) グリシン (配列番号 255)	ND	ND
N-(シクロプロピルメチル) グリシン (配列番号 256)	ND	ND

¹ 任意の G G G リンカーは、この表に示される実験においてペプチド試薬中に存在しなかった。

【0285】

さらに、PrP^SC 結合ペプチド試薬の多量体化によってもまた、PrP^SC に対する親和性が改善された。特に、タンデム反復によって、1コピーよりも強力なシグナル(ウエスタンブロッティングによって測定されるように)が得られた。ビーズ上で予め誘導体化されたMAP型は、特定の場合において、2倍まで結合が増強した。しかしながら、MAP型は、溶液中のペプチドの沈殿を引き起こした。直鎖的に連結されたペプチドはまた、沈殿を引き起こすことなく、結合を増強する能力について試験された。

【0286】

(実施例 3: 抗体作製)

以下において、本発明のペプチド試薬に対する抗体を作製するために使用され得るプロトコルの実施例を提供する。

【0287】

マウスを、IM(筋肉内)またはIP(腹腔内)のいずれかで第0日目に、本明細書中

で記載されるようなペプチド試薬（例えば、配列番号 12 ~ 260 のいずれか 1 つ、好ましくは、配列番号 14、35、50、51、56、57、65、66、67、68、72、73、77、81、82 またはそれらのアナログもしくは誘導体のいずれか 1 つ）を含む組成物で免疫し、その後、2 週間ごとよりも高くない頻度の間隔で 2 ~ 5 回追加免疫する。最初の免疫の前および各追加免疫の 7 日後に採血することにより、抗原に対する体液性応答をモニターする。1 出血あたり約 0.2 ml 以下の 6 つの眼窩出血を各動物（各眼から 3 つ）から得た。最後の追加免疫を、IV（静脈内）注入により送達する。最後の追加免疫の 3 日後に、マウスを CO₂ またはイソフルオランへの曝露によって安楽死させ、その後、頸椎脱臼を行った。ハイブリドーマ産生のために脾臓を回収した。

【0288】

10

最初の注入用のアジュバントとしてフロイント完全アジュバントを使用し、その後、IV 感染以外の残りの感染にはフロイント不完全アジュバントを使用する。IV 注射を、食塩水中に調製する。

【0289】

本発明の好ましい実施形態をいくつか詳細に記載したが、本明細書中で定義されるような本発明の精神および範囲から逸脱することなく、明らかな改変がなされ得ると理解される。

【 数 1 】

SEQUENCE LISTING

<110> MICHELITSCH, Melissa D

<120> PRION-SPECIFIC PEPTIDE REAGENTS

<130> 2300-21026.60

<140> 11/056,950

<141> 2005-02-11

<160> 260

10

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 253

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> human prion protein

<400> 1

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

20

Ser Asp Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn
20 25 30Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly Asn Arg
35 40 45Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly
50 55 60Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly
65 70 75 80

30

Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His
85 90 95Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Met
100 105 110Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu Gly Gly Tyr
115 120 125Met Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Ile Ile His Phe Gly Ser Asp
130 135 140

40

Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met His Arg Tyr Pro Asn Gln
145 150 155 160Val Tyr Tyr Arg Pro Met Asp Glu Tyr Ser Asn Gln Asn Asn Phe Val
165 170 175

【数 2】

His Asp Cys Val Asn Ile Thr Ile Lys Gln His Thr Val Thr Thr Thr
180 185 190

Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Val Lys Met Met Glu Arg
195 200 205

Val Val Glu Gln Met Cys Ile Thr Gln Tyr Glu Arg Glu Ser Gln Ala
210 215 220

Tyr Tyr Gln Arg Gly Ser Ser Met Val Leu Phe Ser Ser Pro Pro Val
225 230 235 240

10

Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
245 250

<210> 2
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> mouse prion protein

20

<400> 2

Met Ala Asn Leu Gly Tyr Trp Leu Leu Ala Leu Phe Val Thr Met Trp
1 5 10 15

Thr Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn
20 25 30

Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly Asn Arg
35 40 45

Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Thr Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp
50 55 60

30

Gly Gln Pro His Gly Gly Ser Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Ser Trp
65 70 75 80

Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His Asn
85 90 95

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Leu Lys His Val Ala
100 105 110

40

Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu Gly Gly Tyr Met
115 120 125

Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Met Ile His Phe Gly Asn Asp Trp
130 135 140

Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Tyr Arg Tyr Pro Asn Gln Val
Page 2

【数 3】

145 150 155 160

Tyr Tyr Arg Pro Val₁₆₅ Asp Gln Tyr Ser Asn₁₇₀ Gln Asn Asn Phe Val₁₇₅ His

Asp Cys Val₁₈₀ Ile Thr Ile Lys Gln₁₈₅ His Thr Val Thr₁₉₀ Thr Thr Thr

Lys Gly Glu₁₉₅ Asn Phe Thr Glu Thr₂₀₀ Asp Val Lys Met Met₂₀₅ Glu Arg Val

10

Val Glu Gln Met Cys Val Thr₂₁₅ Gln Tyr Gln Lys Glu₂₂₀ Ser Gln Ala Tyr

Tyr Asp Gly Arg Arg Ser₂₃₀ Ser Ser Thr Val Leu₂₃₅ Phe Ser Ser Pro Pro₂₄₀

Val Ile Leu Leu Ile₂₄₅ Ser Phe Leu Ile Phe₂₅₀ Leu Ile Val Gly

<210> 3
<211> 253
<212> PRT
<213> Artificial

20

<220>
<223> human prion protein

<400> 3

Met Ala Asn Leu Gly₅ Cys Trp Met Leu Val₁₀ Leu Phe Val Ala Thr Trp₁₅

Ser Asp Leu Gly₂₀ Leu Cys Lys Lys Arg₂₅ Pro Lys Pro Gly₃₀ Gly Trp Asn

30

Thr Gly Gly₃₅ Ser Arg Tyr Pro Gly₄₀ Gln Gly Ser Pro Gly₄₅ Gly Asn Arg

Tyr Pro Pro Gln Gly Gly₅₅ Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly

Trp Gly Gln Pro His Gly₇₀ Gly Gly Trp Gly Gln₇₅ Pro His Gly Gly Gly₈₀

Trp Gly Gln Pro His₈₅ Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His₉₅

40

Ser Gln Trp Asn₁₀₀ Lys Pro Ser Lys Pro₁₀₅ Lys Thr Asn Met Lys₁₁₀ His Met

Ala Gly Ala Ala Ala Gly Ala₁₂₀ Val Val Gly Gly Leu₁₂₅ Gly Gly Tyr

【数 4】

Met Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Ile Ile His Phe Gly Ser Asp
130 135 140

Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met His Arg Tyr Pro Asn Gln
145 150 155 160

Val Tyr Tyr Arg Pro Met Asp Glu Tyr Ser Asn Gln Asn Asn Phe Val
165 170 175

His Asp Cys Val Asn Ile Thr Ile Lys Gln His Thr Val Thr Thr Thr
180 185 190

10

Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Val Lys Met Met Glu Arg
195 200 205

Val Val Glu Gln Met Cys Ile Thr Gln Tyr Glu Arg Glu Ser Gln Ala
210 215 220

Tyr Tyr Gln Arg Gly Ser Ser Met Val Leu Phe Ser Ser Pro Pro Val
225 230 235 240

20

Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
245 250

<210> 4
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> syrian hamster prion protein

<400> 4

Met Ala Asn Leu Ser Tyr Trp Leu Leu Ala Leu Phe Val Ala Met Trp
1 5 10 15

30

Thr Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn
20 25 30

Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly Asn Arg
35 40 45

Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Thr Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly
50 55 60

40

Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly
65 70 75 80

Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His
85 90 95

Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Met
Page 4

【数 5】

	100	105	110	
Ala Gly	Ala Ala Ala Ala Gly	Ala Val Val Gly Gly	Leu Gly Gly Tyr	
	115	120	125	
Met Leu Gly Ser Ala Met	Ser Arg Pro Met Met His Phe Gly Asn Asp			
	130	135	140	
Trp Glu Asp Arg Tyr	Tyr Arg Glu Asn Met Asn Arg Tyr Pro Asn Gln			10
	145	150	155	160
Val Tyr Tyr Arg	Pro Val Asp Gln Tyr Asn Asn Gln Asn Asn Phe Val			
	165	170	175	
His Asp Cys Val Asn Ile Thr Ile	Lys Gln His Thr Val Thr Thr Thr			
	180	185	190	
Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr	Glu Thr Asp Ile Lys Ile Met Glu Arg			
	195	200	205	
Val Val Glu Gln Met Cys Thr Thr Gln Tyr Gln	Lys Glu Ser Gln Ala			20
	210	215	220	
Tyr Tyr Asp Gly Arg Arg Ser Ser Ala Val	Leu Phe Ser Ser Pro Pro			
	225	230	235	240
Val Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu Ile Phe Leu Met Val Gly				
	245	250		
<210>	5			
<211>	264			
<212>	PRT			30
<213>	Artificial			
<220>				
<223>	bovine prion protein			
<220>				
<221>	misc_feature			
<222>	(46)..(46)			
<223>	Xaa can be any naturally occurring amino acid			
<220>				
<221>	misc_feature			
<222>	(154)..(154)			
<223>	Xaa can be any naturally occurring amino acid			40
<400>	5			
Met Val Lys Ser His Ile Gly Ser Trp Ile Leu Val Leu Phe Val Ala				
1	5	10	15	
Met Trp Ser Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly				
	20	25	30	

【数 6】

Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Xaa Pro Gly
35 40 45

Gly Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
50 55 60

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
65 70 75 80

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
85 90 95

10

Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Thr His Gly Gln Trp Asn Lys
100 105 110

Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Val Ala Gly Ala Ala Ala
115 120 125

Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala
130 135 140

20

Met Ser Arg Pro Leu Ile His Phe Gly Xaa Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr
145 150 155 160

Tyr Arg Glu Asn Met His Arg Tyr Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro
165 170 175

Val Asp Gln Tyr Ser Asn Gln Asn Asn Phe Val His Asp Cys Val Asn
180 185 190

Ile Thr Val Lys Glu His Thr Val Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn
195 200 205

30

Phe Thr Glu Thr Asp Ile Lys Met Met Glu Arg Val Val Glu Gln Met
210 215 220

Cys Ile Thr Gln Tyr Gln Arg Glu Ser Gln Ala Tyr Tyr Gln Arg Gly
225 230 235 240

Ala Ser Val Ile Leu Phe Ser Ser Pro Pro Val Ile Leu Leu Ile Ser
245 250 255

Phe Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
260

40

<210> 6
<211> 256
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sheep prion protein

【数 7】

<400> 6

Met Val Lys Ser His Ile Gly Ser Trp Ile Leu Val Leu Phe Val Ala
1 5 10 15

Met Trp Ser Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly
20 25 30

Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly
35 40 45

10

Gly Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
50 55 60

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
65 70 75 80

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly
85 90 95

Gly Ser His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
100 105 110

20

Lys His Val Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
115 120 125

Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Leu Ile His Phe
130 135 140

Gly Asn Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Tyr Arg Tyr
145 150 155 160

Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro Val Asp Arg Tyr Ser Asn Gln Asn
165 170 175

30

Asn Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile Thr Val Lys Gln His Thr Val
180 185 190

Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Ile Lys Ile
195 200 205

Met Glu Arg Val Val Glu Gln Met Cys Ile Thr Gln Tyr Gln Arg Glu
210 215 220

40

Ser Gln Ala Tyr Tyr Gln Arg Gly Ala Ser Val Ile Leu Phe Ser Ser
225 230 235 240

Pro Pro Val Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
245 250 255

<210> 7

<211> 254

【数 8】

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> mouse prion protein

<400> 7

Met Ala Asn Leu Gly Tyr Trp Leu Leu Ala Leu Phe Val Thr Met Trp
1 5 10 15

Thr Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn
20 25 30

Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly Asn Arg
35 40 45

Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Thr Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp
50 55 60

Gly Gln Pro His Gly Gly Ser Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Ser Trp
65 70 75 80

Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His Asn
85 90 95

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Leu Lys His Val Ala
100 105 110

Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu Gly Gly Tyr Met
115 120 125

Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Met Ile His Phe Gly Asn Asp Trp
130 135 140

Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Tyr Arg Tyr Pro Asn Gln Val
145 150 155 160

Tyr Tyr Arg Pro Val Asp Gln Tyr Ser Asn Gln Asn Asn Phe Val His
165 170 175

Asp Cys Val Asn Ile Thr Ile Lys Gln His Thr Val Thr Thr Thr
180 185 190

Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Val Lys Met Met Glu Arg Val
195 200 205

Val Glu Gln Met Cys Val Thr Gln Tyr Gln Lys Glu Ser Gln Ala Tyr
210 215 220

Tyr Asp Gly Arg Arg Ser Ser Ser Thr Val Leu Phe Ser Ser Pro Pro
225 230 235 240

10

20

30

40

【数 9】

Val Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
 245 250

<210> 8
 <211> 256
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> elk prion protein

<400> 8

10

Met Val Lys Ser His Ile Gly Ser Trp Ile Leu Val Leu Phe Val Ala
 1 5 10 15

Met Trp Ser Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly
 20 25 30

Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly
 35 40 45

Gly Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
 50 55 60

20

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
 65 70 75 80

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly
 85 90 95

Gly Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
 100 105 110

Lys His Val Ala Gly Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 115 120 125

30

Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Leu Ile His Phe
 130 135 140

Gly Asn Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Tyr Arg Tyr
 145 150 155 160

Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro Val Asp Gln Tyr Asn Asn Gln Asn
 165 170 175

40

Thr Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile Thr Val Lys Gln His Thr Val
 180 185 190

Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Ile Lys Met
 195 200 205

Met Glu Arg Val Val Glu Gln Met Cys Ile Thr Gln Tyr Gln Arg Glu
 210 215 220

【数 1 0】

Ser Glu Ala Tyr Tyr Gln Arg Gly Ala Ser Val Ile Leu Phe Ser Ser
225 230 235 240

Pro Pro Val Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
245 250 255

<210> 9
<211> 256
<212> PRT
<213> Artificial

10

<220>
<223> fallow deer prion protein

<400> 9

Met Val Lys Ser His Ile Gly Ser Trp Ile Leu Val Leu Phe Val Ala
1 5 10 15

Met Trp Ser Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly
20 25 30

Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly
35 40 45

20

Gly Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
50 55 60

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
65 70 75 80

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly
85 90 95

Gly Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
100 105 110

30

Lys His Val Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
115 120 125

Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Asn Arg Pro Leu Ile His Phe
130 135 140

Gly Asn Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Tyr Arg Tyr
145 150 155 160

40

Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro Val Asp Gln Tyr Asn Asn Gln Asn
165 170 175

Thr Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile Thr Val Lys Gln His Thr Val
180 185 190

【数 1 1】

Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Ile Lys Met
195 200 205

Met Glu Arg Val Val Glu Gln Met Cys Ile Thr Gln Tyr Gln Arg Glu
210 215 220

Ser Glu Ala Tyr Tyr Gln Arg Gly Ala Ser Val Ile Leu Phe Ser Ser
225 230 235 240

Pro Pro Val Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
245 250 255

10

<210> 10
<211> 256
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> mule deer prion protein

<400> 10

Met Val Lys Ser His Ile Gly Ser Trp Ile Leu Val Leu Phe Val Ala
1 5 10 15

20

Met Trp Ser Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly
20 25 30

Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly
35 40 45

Gly Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
50 55 60

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
65 70 75 80

30

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly
85 90 95

Gly Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
100 105 110

Lys His Val Ala Gly Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
115 120 125

Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Leu Ile His Phe
130 135 140

40

Gly Asn Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Tyr Arg Tyr
145 150 155 160

Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro Val Asp Gln Tyr Asn Asn Gln Asn
165 170 175

【数 1 2】

Thr Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile Thr Val Lys Gln His Thr Val
 180 185 190

Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Ile Lys Met
 195 200 205

Met Glu Arg Val Val Glu Gln Met Cys Ile Thr Gln Tyr Gln Arg Glu
 210 215 220

Ser Gln Ala Tyr Tyr Gln Arg Gly Ala Ser Val Ile Leu Phe Ser Ser
 225 230 235 240

10

Pro Pro Val Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
 245 250 255

<210> 11
 <211> 256
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> white tailed deer prion protein

20

<400> 11

Met Val Lys Ser His Ile Gly Ser Trp Ile Leu Val Leu Phe Val Ala
 1 5 10 15

Met Trp Ser Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly
 20 25 30

Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly
 35 40 45

Gly Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
 50 55 60

30

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His
 65 70 75 80

Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly
 85 90 95

Gly Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
 100 105 110

40

Lys His Val Ala Gly Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 115 120 125

Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Leu Ile His Phe
 130 135 140

【数 1 3】

Gly Asn Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Tyr Arg Tyr
 145 150 155 160

Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro Val Asp Gln Tyr Asn Asn Gln Asn
 165 170 175

Thr Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile Thr Val Lys Gln His Thr Val
 180 185 190

Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Ile Lys Met
 195 200 205

Met Glu Arg Val Val Glu Gln Met Cys Ile Thr Gln Tyr Gln Arg Glu
 210 215 220

Ser Gln Ala Tyr Tyr Gln Arg Gly Ala Ser Val Ile Leu Phe Ser Ser
 225 230 235 240

Pro Pro Val Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
 245 250 255

<210> 12
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 12

Lys Lys Arg Pro Lys
 1 5

<210> 13
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 13

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

Ser Asp Leu Gly Leu Cys
 20

<210> 14
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

【数 1 4】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 14

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 15
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> peptide

<400> 15

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Val
 1 5 10 15

<210> 16
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa = Asn or Thr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa = Ile or Val

30

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)
 <223> Xaa = Gln or Glu

<400> 16

Asn Gln Asn Asn Xaa Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile Thr Xaa Lys
 1 5 10 15

Xaa His Thr Val Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn
 20 25

40

<210> 17
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

【数 1 5】

<400> 17

Thr Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp
 1 5 10

<210> 18

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

10

<400> 18

Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp
 1 5

<210> 19

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

20

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa = Val or Ile

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa = Met or Ile

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = Ile or Val

30

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (25)..(25)

<223> Xaa = Glu or Gln

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa = Gln or Asp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> Gly may be present or absent

40

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (34)..(34)

<223> Arg may be present or absent

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (36)..(36)

<223> Xaa = Gly or Ser

【数 1 6】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (37)..(37)
 <223> Xaa = Ser or Ala

<400> 19

Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Xaa Lys Xaa Met Glu Arg Val Val
 1 5 10 15

Glu Gln Met Cys Xaa Thr Gln Tyr Xaa Glu Ser Gln Ala Tyr Tyr Xaa
 20 25 30

10

Gly Arg Arg Xaa Xaa Ser
 35

<210> 20
 <211> 63
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa = Asn or Thr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa = Ile or Val

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)
 <223> Xaa = Gln or Glu

30

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (34)..(34)
 <223> Xaa = Val or Ile

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (36)..(36)
 <223> Xaa = Met or Ile

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (46)..(46)
 <223> Xaa = Ile or Val

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (50)..(50)
 <223> Xaa = Glu or Gln

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (57)..(57)
 <223> Xaa = Gln or Asp

【数 1 7】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (58)..(58)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (59)..(59)
 <223> Arg may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (61)..(61)
 <223> Xaa = Gly or Ser

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (62)..(62)
 <223> Xaa = Ser or Ala

<400> 20

Asn Gln Asn Asn Xaa Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile Thr Xaa Lys
 1 5 10 15

Xaa His Thr Val Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr
 20 25 30

20

Asp Xaa Lys Xaa Met Glu Arg Val Val Glu Gln Met Cys Xaa Thr Gln
 35 40 45

Tyr Xaa Glu Ser Gln Ala Tyr Tyr Xaa Gly Arg Arg Xaa Xaa Ser
 50 55 60

<210> 21
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = Ala, Val, Thr or Met

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = Val or Ile

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20)..(20)
 <223> Xaa = Ile or Met

<400> 21

Xaa Xaa Leu Phe Ser Ser Pro Pro Val Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu
 1 5 10 15

【数 1 8】

Ile Phe Leu Xaa Val Gly
20

<210> 22
<211> 36
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

10

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = Asn or Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa = Trp or Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> Xaa = His or Tyr

20

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (25)..(25)
<223> Xaa = Met or Val

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(27)
<223> Xaa = Gln, Glu or Arg

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (29)..(29)
<223> Xaa = Ser or Asn

30

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (33)..(33)
<223> Xaa = Asn or Thr

<400> 22

Gly Xaa Asp Xaa Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Xaa Arg Tyr
1 5 10 15

Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro Xaa Asp Xaa Tyr Xaa Asn Gln Asn
20 25 30

40

Xaa Phe Val His
35

<210> 23
<211> 22
<212> PRT
<213> Artificial

【 数 1 9 】

<220>
<223> peptide

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = Asn or Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa = Ile or Val

10

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> Xaa = Gln or Glu

<400> 23

Asn Xaa Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile Thr Xaa Lys Xaa His Thr
1 5 10 15

Val Thr Thr Thr Thr Lys
20

20

<210> 24
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

<400> 24

Val Tyr Tyr Arg
1

30

<210> 25
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> Xaa = Met or Val

40

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa = Gln, Glu or Arg

<400> 25

Arg Tyr Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro Xaa Asp Xaa
1 5 10

【数 2 0】

<210> 26
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Gly may be present or absent

10

<400> 26

Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg
 1 5 10 15

Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly
 20 25 30

Gly

20

<210> 27
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (25)..(25)
 <223> Gly may be present or absent

30

<400> 27

Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly
 20 25

<210> 28
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (25)..(25)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE

【数 2 1】

<222> (26)..(26)

<223> Xaa = Gly or Thr

<400> 28

Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Xaa Trp Gly Gln Pro His Gly
 20 25 30

Gly

10

<210> 29

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 29

Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro
 1 5 10 15

20

Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 20

<210> 30

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 30

Gly Gly Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10 15

30

<210> 31

<211> 49

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

40

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (25)..(25)

<223> Gly may be present or absent

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa = Gly or Thr

【数 2 2】

<400> 31

Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Asn Arg Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Xaa Trp Gly Gln Pro His Gly
 20 25 30

Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly
 35 40 45

10

Gly

<210> 32

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 32

20

Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp
 1 5

<210> 33

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 33

30

Arg Pro Ile Ile His Phe Gly Ser Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg
 1 5 10 15

Glu Asn Met His Arg
 20

<210> 34

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

40

<400> 34

Arg Pro Met Ile His Phe Gly Asn Asp Trp Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg
 1 5 10 15

Glu Asn Met Tyr Arg
 20

【数 2 3】

<210> 35
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(4)
 <223> Gly may be present or absent

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(7)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (34)..(37)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 35

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr
 1 5 10 15

20

His Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Leu Lys His
 20 25 30

Val Gly Gly Gly Gly Cys
 35

<210> 36
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(4)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 36

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His Asn Gln
 1 5 10 15

40

Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Leu Lys His Val
 20 25 30

<210> 37
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

【数 2 4】

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(30)

<223> Gly may be present or absent

<400> 37

Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His Asn Gln Trp Asn Lys Pro
 1 5 10 15

10

Ser Lys Pro Lys Thr Asn Leu Lys His Val Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

<210> 38

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

20

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Met or Leu

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa = Met or Val

<400> 38

Xaa Lys His Xaa
 1

30

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa = Met or Leu

40

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa = Met or Val

<400> 39

Lys Pro Lys Thr Asn Xaa Lys His Xaa
 1 5

【数 2 5】

<210> 40
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (30)..(33)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 40

Cys Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His Asn Gln Trp
 1 5 10 15

Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Leu Lys His Val Gly Gly Gly
 20 25 30

20

Gly Cys

<210> 41
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 41

30

Ser Arg Pro Ile Ile His Phe Gly Ser Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr
 1 5 10 15

Arg Glu Asn Met His Arg Tyr Pro Asn
 20 25

<210> 42
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<400> 42

Pro Met Ile His Phe Gly Asn Asp Trp Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu
 1 5 10 15

Asn Met Tyr Arg Pro Val Asp
 20

【数 2 6】

<210> 43
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 43

Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu Gly Gly Tyr
 1 5 10 15

10

Met Leu Gly Ser Ala Met
 20

<210> 44
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (22)..(24)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 44

Arg Pro Met Ile His Phe Gly Asn Asp Trp Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg
 1 5 10 15

Glu Asn Met Tyr Arg Gly Gly Gly
 20

30

<210> 45
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 45

Gly Gly Gly Arg Pro Met Ile His Phe Gly Asn Asp Trp Glu Asp Arg
 1 5 10 15

Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Tyr Arg Gly Gly
 20 25

40

<210> 46
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

【数 2 7】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(2)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(6)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (28)..(30)
 <223> Gly may be present or absent

10

<400> 46

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Arg Pro Met Ile His Phe Gly Asn Asp Trp
 1 5 10 15

Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Tyr Arg Gly Gly Gly Cys
 20 25 30

<210> 47
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide

<400> 47

Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu Gly Gly
 1 5 10 15

<210> 48
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<400> 48

Gly Gly Leu Gly Gly
 1 5

<210> 49
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> peptide

<400> 49

Leu Gly Ser
 1

【数 2 8】

<210> 50
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(14)
 <223> Gly may be present or absent

10

<400> 50

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Gly Gly Gly
 1 5 10

<210> 51
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(14)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 51

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Gly Gly Gly Gln Trp
 1 5 10 15

Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 20 25

30

<210> 52
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(18)
 <223> Gly may be present or absent

40

<400> 52

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Leu Lys His Val Gly
 1 5 10 15

Gly Gly

【数 2 9】

<210> 53
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 53

Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His Asn Gln Trp Asn Lys Pro
 1 5 10 15

10

Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 20

<210> 54
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 54

20

Gly Gly Thr His Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10 15

<210> 55
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

30

<400> 55

Gly Gly Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 1 5 10 15

Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met
 20 25

<210> 56
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE

【数 3 0】

<222> (1)..(3)

<223> Gly may be present or absent

<400> 56

Gly Gly Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 1 5 10 15

Gly Gly

10

<210> 57

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Lys may be present or absent

<400> 57

20

Lys Lys Lys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 1 5 10 15

Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met
 20 25

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

30

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa = Ser or Asn

<400> 58

Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Xaa Arg
 1 5

<210> 59

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

40

<220>

<221> MISC_FEATURE

【 数 3 1 】

<222> (1)..(1)
 <223> Xaa = Ser or Asn

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa = Met, Ile or Leu

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa = Ile or Leu

10

<400> 59

Xaa Arg Pro Xaa Xaa His
 1 5

<210> 60
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa = Ser or Asn

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa = Met, Ile or Leu

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa = Ile or Leu

30

<400> 60

Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Xaa Arg Pro Xaa Xaa His
 1 5 10

<210> 61
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa = Ser or Asn

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa = Met, Ile or Leu

【数 3 2】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa = Ile or Leu

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa = Asn or Ser

<400> 61

Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Xaa Arg Pro Xaa Xaa His Phe Gly Xaa
 1 5 10 15

10

Asp

<210> 62
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = Trp or Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa = His or Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (22)..(22)
 <223> Xaa = Met or Val

30

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (24)..(24)
 <223> Xaa = Gln, Glu or Arg

<400> 62

Xaa Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Xaa Arg Tyr Pro Asn Gln
 1 5 10 15

Val Tyr Tyr Arg Pro Xaa Asp Xaa Tyr
 20 25

40

<210> 63
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

【数 3 3】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = Trp or Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa = His or Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (22)..(22)
 <223> Xaa = Met or Val

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (24)..(24)
 <223> Xaa = Gln, Glu or Arg

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(26)
 <223> Xaa = Ser or Asn

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (30)..(30)
 <223> Xaa = Asn or Thr

20

<400> 63

Xaa Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Xaa Arg Tyr Pro Asn Gln
 1 5 10 15

Val Tyr Tyr Arg Pro Xaa Asp Xaa Tyr Xaa Asn Gln Asn Xaa
 20 25 30

<210> 64
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = Gln, Glu or Arg

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa = Ser or Asn

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa = Asn or Thr

<400> 64

Asp Xaa Tyr Xaa Asn Gln Asn Xaa
 1 5

【 数 3 4 】

<210> 65
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Lys may be present or absent

10

<400> 65

Lys Lys Lys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 1 5 10 15

Gly Gly

<210> 66
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 66

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

30

Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser
 20

<210> 67
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 67

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

【数 3 5】

<210> 68
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

10

<400> 68

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly
 1 5 10

<210> 69
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<400> 69

Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln His Gly Gly Ser Trp Gly Gln Pro
 1 5 10 15

His Gly Gly Ser Trp Gly Gln
 20

<210> 70
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<400> 70

Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Ser Trp Gly Gln
 1 5 10 15

<210> 71
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> peptide

<400> 71

Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln
 1 5

【数 3 6】

<210> 72
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

10

<400> 72

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro
 1 5 10 15

Lys Pro Gly Gly
 20

<210> 73
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 73

Gly Gly Gly Gly Pro Lys Arg Lys Gly Pro Lys
 1 5 10

30

<210> 74
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

40

<400> 74

Gly Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 75
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial

【 数 3 7 】

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 75

Gly Gly Gly Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr
 1 5 10

10

<210> 76
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (25)..(26)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 76

Gly Gly Gly Arg Pro Met Ile His Phe Gly Asn Asp Trp Glu Asp Arg
 1 5 10 15

Tyr Tyr Arg Glu Asn Met Tyr Arg Gly Gly Cys
 20 25

30

<210> 77
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(18)
 <223> Gly may be present or absent

40

<400> 77

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Leu Lys His Val Gly
 1 5 10 15

Gly Gly

【数 3 8】

<210> 78
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

10

<400> 78

Gly Gly Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 1 5 10 15

Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met
 20 25

<210> 79
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 79

Gly Gly Gly Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys
 1 5 10

30

<210> 80
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

40

<400> 80

Gly Gly Gly Lys Pro Ser Lys Pro Lys
 1 5

<210> 81
 <211> 23
 <212> PRT

【 数 3 9 】

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Gly may be present or absent

<400> 81

10

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys
 1 5 10 15

Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 20

<210> 82

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

20

<400> 82

Lys Lys Lys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 1 5 10 15

Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Asp Asp Asp
 20 25

<210> 83

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial

30

<220>

<223> peptide

<400> 83

Asp Asp Asp Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 1 5 10 15

Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met
 20 25

<210> 84

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

<223> peptide

<400> 84

Lys Lys Lys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 Page 39

1 5 10 15

10

20

40

Page 40

【 数 4 1 】

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 88

Asp Lys Asp Lys Gly Gly Val Gly Ala Leu Ala Gly Ala Ala Val Ala
 1 5 10 15

Ala Gly Gly Asp Lys Asp Lys
 20

10

<210> 89

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Gly may be present or absent

20

<400> 89

Gly Gly Gly Gln Ala Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 90

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

30

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Gly may be present or absent

<400> 90

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Ala Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 91

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Gly may be present or absent

【数 4 2】

<400> 91

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Ala Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 92
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 92

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Ala Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 93
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 93

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Ala Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

30

<210> 94
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

40

<400> 94

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Ala Thr Asn
 1 5 10

<210> 95

【 数 4 3 】

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

10

<400> 95

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Ala Ser Lys Ala Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 96
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 96

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Ala Lys Pro Gly Gly
 1 5 10

<210> 97
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 97

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Ala Gly Gly
 1 5 10

40

<210> 98
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

【数 4 4】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 98

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Ala Lys Ala Gly Gly
 1 5 10

<210> 99
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 99

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Ala Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

20

<210> 100
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

30

<400> 100

Gly Gly Gly Gln Trp Ala Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 101
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 101

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ala Lys Pro Lys Thr Asn
 Page 44

【 数 4 5 】

1

5

10

<210> 102
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 102

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Ala Asn
 1 5 10

<210> 103
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 103

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Ala
 1 5 10

<210> 104
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 104

Gly Gly Gly Ala Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly
 1 5 10

<210> 105
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

【 数 4 6 】

<220>
<223> peptide

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> Gly may be present or absent

<400> 105

Gly Gly Gly Lys Ala Arg Pro Lys Pro Gly Gly
1 5 10

10

<210> 106
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> Gly may be present or absent

20

<400> 106

Gly Gly Gly Lys Lys Ala Pro Lys Pro Gly Gly
1 5 10

<210> 107
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

30

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> Gly may be present or absent

<400> 107

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Ala Pro Gly Gly
1 5 10

<210> 108
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

40

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> Gly may be present or absent

【数 4 7】

<400> 108

Gly Gly Gly Lys Lys Ala Pro Lys Ala Gly Gly
 1 5 10

<210> 109
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Gly = N-(S)-(1-phenylethyl)glycine

<400> 109

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Gly Lys Thr Asn
 1 5 10

20

<210> 110
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

30

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Gly = N-(4-hydroxyphenyl)glycine

<400> 110

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Gly Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 111
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE

【数 4 8】

<222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine

<400> 111

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Gly Lys Thr Asn
 1 5 10

10

<210> 112
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Gly = N-(isopropyl)glycine

<400> 112

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Gly Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 113
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Gly = N-(3,5-dimethoxybenzyl)glycine

40

<400> 113

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Gly Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 114
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

【 数 4 9 】

<220>
<223> peptide

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> Gly may be present or absent

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> Gly = N-butylglycine

10

<400> 114

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Gly Lys Thr Asn
1 5 10

<210> 115
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

20

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> Gly may be present or absent

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine

<400> 115

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Gly Ser Lys Pro Lys Thr Asn
1 5 10

30

<210> 116
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> Gly may be present or absent

40

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Gly = N-(isopropyl)glycine

<400> 116

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Gly Ser Lys Pro Lys Thr Asn
Page 49

【数 5 0】

1

5

10

<210> 117
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Gly = N-(3,5-dimethoxybenzyl)glycine

<400> 117

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Gly Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

20

<210> 118
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

30

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Gly = N-butylglycine

<400> 118

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Gly Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 119
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>

【数 5 1】

<221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Gly = N-butylglycine

<400> 119

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Gly Gly Gly
 1 5 10

<210> 120
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Gly = N-(3,5-dimethoxybenzyl)glycine

20

<400> 120

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Gly Gly Gly
 1 5 10

<210> 121
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

30

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Gly = N-(isopropyl)glycine

<400> 121

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Gly Gly Gly
 1 5 10

40

<210> 122
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

【数 5 2】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine

 <400> 122
 Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Gly Gly Gly
 1 5 10

10

<210> 123
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Gly = N-butylglycine

<400> 123

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Gly Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

<210> 124
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Gly = N-(3,5-dimethoxybenzyl)glycine

40

<400> 124

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Gly Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

<210> 125

【数 5 3】

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Gly = N-(isopropyl)glycine

<400> 125

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Gly Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

<210> 126
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine

30

<400> 126

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Gly Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

<210> 127
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 127

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Gly Trp Asn Thr Gly
 1 5 10 15

【数 5 4】

Gly

<210> 128
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 128

10

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Gly Gly Gly Gln Trp
 1 5 10 15

Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys
 20 25 30

Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 35

<210> 129
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine

30

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine

<400> 129

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Gly Ser Lys Gly Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 130
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE

【数 5 5】

<222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Gly = N-(3,5-dimethoxybenzyl)glycine

 <400> 130

10

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Gly Ser Lys Gly Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 131
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Gly = N-butylglycine

30

<400> 131

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Gly Ser Lys Gly Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 132
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Gly = N-(isopropyl)glycine

【数 5 6】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine
 <400> 132
 Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Gly Ser Lys Gly Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 133
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> peptide
 <400> 133

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Gln Trp Asn Lys Pro
 1 5 10 15

Ser Lys Pro Lys Thr Asn Lys
 20

20

<210> 134
 <211> 68
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide
 <400> 134

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

30

Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn
 50 55 60

Thr Gly Gly Gly
 65

40

<210> 135
 <211> 136
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide
 <400> 135

【数 5 7】

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn
 50 55 60

10

Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp
 65 70 75 80

Asn Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly
 85 90 95

Trp Asn Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly
 100 105 110

20

Gly Trp Asn Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro
 115 120 125

Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly Gly
 130 135

<210> 136
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

30

<400> 136

Lys Lys Lys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu
 1 5 10 15

Gly Gly

<210> 137
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa may be Gly or absent

【数 5 8】

<400> 137

Asp Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
 1 5 10 15

Thr Gly Gly

<210> 138

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> Xaa may be Gly or absent

<400> 138

Asp Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
 1 5 10 15

20

Thr Gly

<210> 139

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

30

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> Xaa may be Gly or absent

<400> 139

Asp Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
 1 5 10 15

Thr

40

<210> 140

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

【数 5 9】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 140

Asp Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
 1 5 10 15

<210> 141
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 141

Asp Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp
 1 5 10 15

20

<210> 142
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa may be Gly or absent

30

<400> 142

Asp Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa
 1 5 10

<210> 143
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 143

Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr
 Page 59

【 数 6 0 】

1 5 10 15

Gly

<210>	144
<211>	16
<212>	PRT
<213>	Artificial

<220>
<223> peptide

10

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa may be Gly or absent

```

<400> 144

Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr
1 5 10 15

<210>	145
<211>	15
<212>	PRT
<213>	Artificial

20

<220>
<223> peptide

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa may be Gly or absent

```

<400> 145

30

Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
1 5 10 15

<210>	146
<211>	14
<212>	PRT
<213>	Artificial

<220>
<223> peptide

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa may be Gly or absent

```

40

<400> 146

Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp
1 5 10

<210> 147

【数 6 1】

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa may be Gly or absent

10

<400> 147

Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa
 1 5 10

<210> 148
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 148

Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr Gly
 1 5 10 15

Gly

30

<210> 149
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa may be Gly or absent

40

<400> 149

Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr Gly
 1 5 10 15

<210> 150
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

【数 6 2】

<220>
<223> peptide

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa may be Gly or absent

<400> 150

Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr
1 5 10 15

10

<210> 151
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa may be Gly or absent

20

<400> 151

Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
1 5 10

<210> 152
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

30

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa may be Gly or absent

<400> 152

Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp
1 5 10

<210> 153
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> peptide

40

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa may be Gly or absent

【数 6 3】

<400> 153

Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa
 1 5 10

<210> 154

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

10

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa may be Gly or absent

<400> 154

Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

<210> 155

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

20

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa may be Gly or absent

<400> 155

Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr Gly
 1 5 10 15

30

<210> 156

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa may be Gly or absent

<400> 156

Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr
 1 5 10

<210> 157

40

【数 6 4】

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa may be Gly or absent

10

<400> 157

Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
 1 5 10

<210> 158
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 158

Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp
 1 5 10

<210> 159
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 159

Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa
 1 5 10

40

<210> 160
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

【数 6 5】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 160

Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

<210> 161
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 161

Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr Gly
 1 5 10

20

<210> 162
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa may be Gly or absent

30

<400> 162

Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr
 1 5 10

<210> 163
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 163

Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
 Page 65

1 5 10

<210>	167
<211>	13
<212>	PRT
<213>	Artificial

【 数 6 7 】

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa may be Gly or absent

<400> 167

Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr Gly
 1 5 10

10

<210> 168

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa may be Gly or absent

<400> 168

Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn Thr
 1 5 10

20

<210> 169

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

30

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa may be Gly or absent

<400> 169

Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
 1 5 10

<210> 170

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

40

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa may be Gly or absent

【数 6 8】

<400> 170

Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp
 1 5 10

<210> 171
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 171

Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa
 1 5

<210> 172
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 172

Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
 1 5 10 15

30

Thr Gly Gly

<210> 173
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 173

Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
 Page 68

1 5 10 15

10

10

10

10

10

10

20

20

20

20

20

20

20

20

20

20

20

1 5 10 15

<220>
<223> peptide

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> Xaa may be Gly or absent

```

10

<210>	178
<211>	17
<212>	PRT
<213>	Artificial

<220>
<223> peptide

```
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa may be Gly or absent
```

20

30

Gly

<210>	179
<211>	16
<212>	PRT
<213>	Artificial

<220>
<223> peptide

```

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa may be Gly or absent

```

40

$\langle 210 \rangle$ 180

【数 7 1】

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 180

Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp Asn
 1 5 10 15

<210> 181
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 181

Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa Trp
 1 5 10

<210> 182
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa may be Gly or absent

<400> 182

Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Xaa
 1 5 10

<210> 183
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 183

【数 7 2】

Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

His Met

<210> 184
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> peptide

<400> 184

Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

His

<210> 185
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide

<400> 185

Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

<210> 186
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<400> 186

Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
 1 5 10 15

<210> 187
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> peptide

<400> 187

Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

【数 7 3】

<210> 188
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 188

His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His
 1 5 10 15

10

Met

<210> 189
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 189

20

His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His
 1 5 10 15

<210> 190
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 190

30

His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

<210> 191
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<400> 191

40

His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
 1 5 10

<210> 192
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

【数 7 4】

<400> 192

His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 193

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

10

<400> 193

Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Met
 1 5 10 15

<210> 194

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

20

<400> 194

Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His
 1 5 10 15

<210> 195

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

30

<400> 195

Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10

<210> 196

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

40

<400> 196

Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
 1 5 10

<210> 197

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

【数 7 5】

<220>
 <223> peptide

<400> 197

Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 198
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> peptide

<400> 198

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Met
 1 5 10 15

<210> 199
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide

<400> 199

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His
 1 5 10

<210> 200
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<400> 200

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10

<210> 201
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> peptide

<400> 201

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
 1 5 10

<210> 202
 <211> 18
 <212> PRT

【数 7 6】

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 202

Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

His Val

10

<210> 203

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 203

His Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His
 1 5 10 15

20

Val

<210> 204

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 204

30

Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Val
 1 5 10 15

<210> 205

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 205

40

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Val
 1 5 10 15

<210> 206

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

【数 7 7】

<400> 206

Thr His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

His Met

<210> 207

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> peptide

<400> 207

Thr His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

His

20

<210> 208

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 208

Thr His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

<210> 209

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

30

<220>

<223> peptide

<400> 209

Thr His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
 1 5 10 15

<210> 210

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

<223> peptide

<400> 210

Thr His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn

【数 7 8】

1	5	10	
<210>	211		
<211>	17		
<212>	PRT		
<213>	Artificial		
<220>			
<223>	peptide		
<400>	211		10
His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His			
1 5 10 15			
Met			
<210>	212		
<211>	16		
<212>	PRT		
<213>	Artificial		
<220>			20
<223>	peptide		
<400>	212		
His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His			
1 5 10 15			
<210>	213		
<211>	15		
<212>	PRT		
<213>	Artificial		
<220>			
<223>	peptide		30
<400>	213		
His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys			
1 5 10 15			
<210>	214		
<211>	14		
<212>	PRT		
<213>	Artificial		
<220>			
<223>	peptide		40
<400>	214		
His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met			
1 5 10			
<210>	215		
<211>	13		
<212>	PRT		
<213>	Artificial		

【数 7 9】

<220>
 <223> peptide
 <400> 215

His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 216
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> peptide
 <400> 216

Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Met
 1 5 10 15

<210> 217
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide
 <400> 217

Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His
 1 5 10 15

<210> 218
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide
 <400> 218

Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10

<210> 219
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> peptide
 <400> 219

Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
 1 5 10

<210> 220
 <211> 12
 <212> PRT

【数 8 0】

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 220

Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 221

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 221

Thr His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

His Val

<210> 222

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 222

His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His
 1 5 10 15

Val

<210> 223

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 223

Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Val
 1 5 10 15

<210> 224

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

【数 8 1】

<400> 224

Thr His Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

His Met

<210> 225

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> peptide

<400> 225

Thr His Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

His

20

<210> 226

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 226

Thr His Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

30

<210> 227

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 227

Thr His Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
 1 5 10 15

40

<210> 228

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 228

Thr His Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn

1 **5** **10**

40

【 数 8 3 】

<220>

<223> peptide

<400> 233

His Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 234

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> peptide

<400> 234

Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Met
 1 5 10 15

<210> 235

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> peptide

<400> 235

Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His
 1 5 10 15

<210> 236

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

30

<220>

<223> peptide

<400> 236

Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10

<210> 237

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

40

<400> 237

Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met
 1 5 10

<210> 238

<211> 12

<212> PRT

【 数 8 4 】

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 238

Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 1 5 10

<210> 239

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 239

Thr His Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys
 1 5 10 15

His Val

<210> 240

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 240

His Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His
 1 5 10 15

Val

<210> 241

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 241

Asn Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Val
 1 5 10 15

<210> 242

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

【 数 8 5 】

<400> 242

Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln
 1 5 10 15

Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln
 20

<210> 243

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> peptide

<400> 243

Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His Ser Gln Trp Asn Lys Pro
 1 5 10 15

Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Met
 20 25

20

<210> 244

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 244

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Met Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His
 20 25 30

30

Met

<210> 245

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

40

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa = Asn or Ser

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (23)..(23)

【数 8 6】

<223> Xaa = Leu or Met

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa = Val or Met

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(30)

<223> Gly may be present or absent

<400> 245

10

Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His Xaa Gln Trp Asn Lys Pro
1 5 10 15

Ser Lys Pro Lys Thr Asn Xaa Lys His Xaa Gly Gly Gly Gly
20 25 30

<210> 246

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

20

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa = Gly or Ser

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Xaa = Gly or Ser

<400> 246

30

Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln His Gly Xaa Ser Trp Gly Gln Pro
1 5 10 15

His Gly Gly Xaa Trp Gly Gln
20

<210> 247

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

40

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> Xaa = Leu or Met

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

【 数 8 7 】

<223> Xaa = Val or Met

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(18)

<223> Gly may be present or absent

<400> 247

Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Xaa Lys His Xaa Gly
1 5 10 15

Gly Gly

10

<210> 248

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<400> 248

Gly Gly Gly Ala Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
1 5 10

20

<210> 249

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Gly may be present or absent

30

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Gly = N-butyl-glycine

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Gly = N-butylglycine

<400> 249

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Gly Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
1 5 10 15

40

<210> 250

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

【数 8 8】

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Gly = N-(3,5-dimethoxybenzyl)glycine

<400> 250

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Gly Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

10

<210> 251
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Gly = N-(isopropyl)glycine

<400> 251

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Gly Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

<210> 252
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine

40

<400> 252

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Gly Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

【 数 8 9 】

<210> 253
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Gly = N-butylglycine

<400> 253

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Gly Lys Pro Gly Gly
 1 5 10

<210> 254
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Gly = N-(3,5-dimethoxybenzyl)glycine

30

<400> 254

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Gly Lys Pro Gly Gly
 1 5 10

<210> 255
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptide

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Gly = N-(isopropyl)glycine

【数 9 0】

<400> 255

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Gly Lys Pro Gly Gly
 1 5 10

<210> 256

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

10

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Gly may be present or absent

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Gly = N-(cyclopropylmethyl)glycine

<400> 256

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Gly Lys Pro Gly Gly
 1 5 10

20

<210> 257

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Gly may be present or absent

30

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Gly = N-(isopropyl)glycine

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Gly = N-(3,5-dimethoxybenzyl)glycine

<400> 257

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Gly Ser Lys Gly Lys Thr Asn
 1 5 10

40

<210> 258

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

【数 9 1】

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Gly may be present or absent

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Gly = N-(isopropyl)glycine

10

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Gly = N-butylglycine

<400> 258

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Gly Ser Lys Gly Lys Thr Asn
1 5 10

<210> 259

<211> 68

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> peptide

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Gly may be present or absent

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(20)

<223> Gly may be present or absent

30

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(37)

<223> Gly may be present or absent

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (49)..(54)

<223> Gly may be present or absent

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (66)..(68)

<223> Gly may be present or absent

40

<400> 259

Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Gly
20 25 30

【数 9 2】

Gly Gly Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr
 50 55 60

Asn Gly Gly Gly
 65

<210> 260
 <211> 136
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> peptide

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(3)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(20)
 <223> Gly may be present or absent

20

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (32)..(37)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (49)..(54)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (66)..(71)
 <223> Gly may be present or absent

30

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (83)..(88)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (100)..(105)
 <223> Gly may be present or absent

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (117)..(122)
 <223> Gly may be present or absent

40

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (134)..(136)
 <223> Gly may be present or absent

<400> 260

【数 9 3】

Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn Thr
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn
 50 55 60

Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp
 65 70 75 80

Asn Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly
 85 90 95

Trp Asn Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly
 100 105 110

Gly Trp Asn Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Lys Arg Pro Lys Pro
 115 120 125

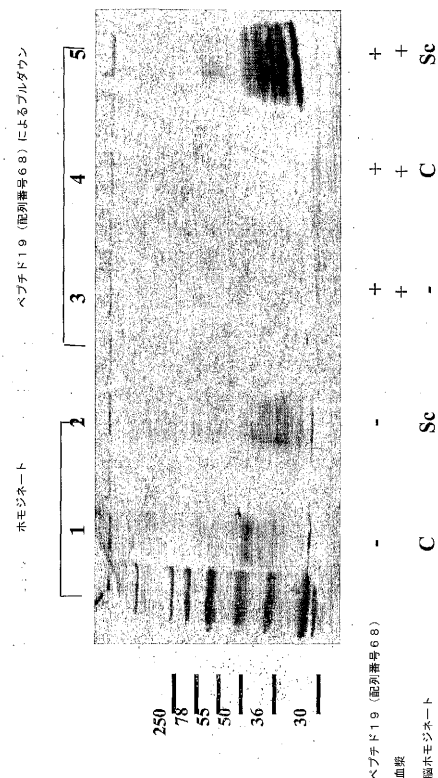
Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly Gly
 130 135

10

20

30

40



フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/543 (2006.01)		G 0 1 N 33/53	U	
C 0 7 K 16/18 (2006.01)		G 0 1 N 33/543	5 0 1 A	
		C 0 7 K 16/18		

(72)発明者 メリッサ ミシェリッチ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 6 0 8 , エミリービル, ホートン ストリート 4 5
 6 0 , ノバルティス ヴァクシンズ アンド ダイアグノスティクス インコーポレイテッド

(72)発明者 セリーヌ ユアン - ウェイ フー
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 6 0 8 , エミリービル, ホートン ストリート 4 5
 6 0 , ノバルティス ヴァクシンズ アンド ダイアグノスティクス インコーポレイテッド

(72)発明者 マイケル ディー . コノリー
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 6 0 8 , エミリービル, ホートン ストリート 4 5
 6 0 , ノバルティス ヴァクシンズ アンド ダイアグノスティクス インコーポレイテッド

(72)発明者 ロナルド ズッカーマン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 6 0 8 , エミリービル, ホートン ストリート 4 5
 6 0 , ノバルティス ヴァクシンズ アンド ダイアグノスティクス インコーポレイテッド

F ターム(参考) 4B018 MD94 ME14

4B024 AA01 BA41 CA01 GA03

4C084 AA02 AA07 BA01 BA08 BA22 MA52 MA55 MA56 MA57 MA59

MA60 MA66 NA14 ZB012 ZB312 ZC542

4C087 AA01 AA02 DA05 DA06 MA16 MA66 NA01 ZA51 ZA52

4H045 BA10 CA40 DA76 DA86 EA20 FA20 FA74

【外国語明細書】

2012080899000001.pdf

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2012080899A5	公开(公告)日	2013-02-07
申请号	JP2011289829	申请日	2011-12-28
[标]申请(专利权)人(译)	诺华科尔多瓦点击罪和诊断公司		
申请(专利权)人(译)	诺华Vakushinzu和诊断公司		
[标]发明人	メリッサミシエリッチ セリーヌユアンウェイフー マイケルディーコノリー ロナルドズッカーマン		
发明人	メリッサ ミシエリッチ セリーヌ ユアン-ウェイ フー マイケル ディー. コノリー ロナルド ズッカーマン		
IPC分类号	C12N15/09 A23L1/29 A61K38/00 A61K35/14 G01N33/53 G01N33/543 C07K16/18		
CPC分类号	A61K38/00 A61P7/00 A61P31/00 C07K14/47 G01N33/6896 G01N2800/2828		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A23L1/29 A61K37/02 A61K35/14.Z G01N33/53.D G01N33/53.U G01N33/543.501.A C07K16/18		
F-TERM分类号	4B018/MD94 4B018/ME14 4B024/AA01 4B024/BA41 4B024/CA01 4B024/GA03 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/MA56 4C084/MA57 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZB012 4C084/ZB312 4C084/ZC542 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/DA05 4C087/DA06 4C087/MA16 4C087/MA66 4C087/NA01 4C087/ZA51 4C087/ZA52 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/FA20 4H045/FA74		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	11/056950 2005-02-11 US		
其他公开文献	JP2012080899A		

摘要(译)

要解决的问题：提供优先与PrP蛋白的PrP Sc 形式相互作用的肽试剂。
 溶剂：使用试剂或试剂的抗体进行检测，诊断的方法还描述了朊病毒和朊病毒相关疾病的纯化，治疗和预防。肽试剂可用于广泛的应用，包括作为分离致病性朊病毒或检测样品中致病性朊病毒的存在工具，作为治疗性或预防性组合物的组分和/或产生朊病毒特异性抗体。例如，与PrP C 相比，优先与PrP Sc 相互作用的肽试剂可用于直接检测样品中的致病形式从活体受试者获得，例如，用于疾病的诊断或用于筛选捐献的血液样品或用于器官捐赠的筛选器官。