

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-512644

(P2009-512644A)

(43) 公表日 平成21年3月26日(2009.3.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02 Z N A	4 C 0 8 4
C 0 7 K 14/075 (2006.01)	C 0 7 K 14/075	4 C 0 8 7
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	C 0 7 K 14/47	4 H 0 4 5
C 0 7 K 14/195 (2006.01)	C 0 7 K 14/195	
C 0 7 K 14/245 (2006.01)	C 0 7 K 14/245	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 24 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2008-535711 (P2008-535711)	(71) 出願人	598091963
(86) (22) 出願日	平成18年10月11日 (2006.10.11)		マヨ ファウンデーション フォー メデ
(85) 翻訳文提出日	平成20年6月13日 (2008.6.13)		ィカル エデュケーション アンド リサ
(86) 国際出願番号	PCT/US2006/040085		ーチ
(87) 国際公開番号	W02007/047436		アメリカ合衆国 5 5 9 0 5 ミネソタ州
(87) 国際公開日	平成19年4月26日 (2007.4.26)		, ロチェスター, ファースト ストリート
(31) 優先権主張番号	60/727, 296		サウス ウェスト 2 0 0
(32) 優先日	平成17年10月17日 (2005.10.17)	(74) 代理人	100091096
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 平木 祐輔
		(74) 代理人	100096183
			弁理士 石井 貞次
		(74) 代理人	100118773
			弁理士 藤田 節
		(74) 代理人	100122389
			弁理士 新井 栄一
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 哺乳動物において全般的な抗アミロイド免疫応答を生じるための方法および材料

(57) 【要約】

アミロイド生成性のポリペプチドの原線維の凝集物およびアジュバントを含む組成物、ならびに哺乳動物において全般的な抗アミロイド免疫応答を誘導するため当該組成物の使用方法が記載される。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

哺乳動物において全般的な抗アミロイド免疫応答を誘導するための方法であって、該全般的な抗アミロイド免疫応答を生じるのに有効量の異種アミロイド生成性のポリペプチドを該哺乳動物に投与するステップ、および該哺乳動物由来の血漿または血清が *in vitro* にて異なるアミロイドを検出する能力についてモニタするステップであって、該異なるアミロイドが該異種アミロイド生成性のポリペプチドと相同ではないポリペプチドによって形成される、ステップ、を含む上記方法。

【請求項 2】

血漿または血清を *in vitro* にて少なくとも 2 つの異なるアミロイドを検出する能力についてモニタする、請求項 1 記載の方法。

10

【請求項 3】

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドがアデノウイルスのファイバーポリペプチドのシャフト配列に由来する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

アミロイド生成性のポリペプチドが、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6または配列番号7に示される配列を有する、請求項 3 記載の方法。

【請求項 5】

アミロイド生成性のポリペプチドがコリオンクラスAポリペプチド(配列番号8)およびコリオンクラスBポリペプチド(配列番号9)からなる群から選択される、請求項 1 記載の方法。

20

【請求項 6】

アミロイド生成性のポリペプチドが細菌のコールドショックタンパク質のN末端断片である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】

アミロイド生成性のポリペプチドが、配列番号1に示されるポリペプチドまたは配列番号2に示されるポリペプチドである、請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

アミロイド生成性のポリペプチドが、配列番号12に示されるアミノ酸配列を有するカーリン(curlin)タンパク質である、請求項 1 記載の方法。

30

【請求項 9】

アミロイド生成性のポリペプチドが、配列番号12に示されるポリペプチドの断片である、請求項 8 記載の方法。

【請求項 10】

アミロイド生成性のポリペプチドが、カーリン関連タンパク質である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 11】

カーリン関連タンパク質が、配列番号13に示されるアミノ酸配列を有するAgfAタンパク質である、請求項 10 記載の方法。

【請求項 12】

アミロイド生成性のポリペプチドがSaccyromyces由来のSup35またはUre2pの断片である、請求項 1 記載の方法。

40

【請求項 13】

アミロイド生成性のポリペプチドが配列番号15に示されるアミノ酸配列を有する不凍ポリペプチド-3または関連ポリペプチドである、請求項 1 記載の方法。

【請求項 14】

哺乳動物がヒトである、請求項 1 記載の方法。

【請求項 15】

アミロイド生成性のポリペプチドが、Podospira anserina由来のHET-sタンパク質の断片である、請求項 1 記載の方法。

50

- 【請求項 16】
アミロイド生成性のポリペプチドが菌類のハイドロホピンである、請求項 1 記載の方法。
- 【請求項 17】
アミロイド生成性のポリペプチドが、Streptomyces spp由来のチャプリン(chaplin)である、請求項 1 記載の方法。
- 【請求項 18】
アミロイド生成性のポリペプチドが、配列番号10のモンネリン(monnelin) A鎖ポリペプチドまたは配列番号11のモンネリン B鎖ポリペプチドである、請求項 1 記載の方法。
- 【請求項 19】 10
アミロイド生成性のポリペプチドが、FlgB、FlgC、FlgGまたはFliEである、請求項 1 記載の方法。
- 【請求項 20】
アミロイド生成性のポリペプチドが、FlgB、FlgC、FlgGまたはFliEの断片である、請求項 1 記載の方法。
- 【請求項 21】
アミロイド生成性のポリペプチドが全てD-エナンチオマーである、請求項 1 記載の方法。
- 【請求項 22】 20
アミロイド生成性のポリペプチドが、DおよびL エナンチオマーの混合物である、請求項 1 記載の方法。
- 【請求項 23】
アミロイド生成性のポリペプチドが、Boc- -Ala-mABA-OmeまたはBoc- -Abu-mABA-Omeである、請求項 1 記載の方法。
- 【請求項 24】
ヒト組織におけるアミロイド沈着を検出する能力について、哺乳動物由来の血漿または血清をモニタするステップをさらに含む、請求項 1 記載の方法。
- 【請求項 25】 30
非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドの原線維の凝集物およびアジュバントを含む組成物。
- 【請求項 26】
アジュバントがミョウバンである、請求項 25 記載の組成物。
- 【請求項 27】
非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、または配列番号7に示される配列を有する、請求項 25 記載の組成物。
- 【請求項 28】
非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、コリオンクラスAポリペプチド(配列番号8)およびコリオンクラスBポリペプチド(配列番号9)からなる群から選択される、請求項 25 記載の組成物。
- 【請求項 29】 40
非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、細菌のコールドショックタンパク質のN末端断片である、請求項 25 記載の組成物。
- 【請求項 30】
非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、配列番号1、配列番号2、配列番号10、または配列番号11に示されるポリペプチドである、請求項 25 記載の組成物。
- 【請求項 31】
非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、配列番号12に示されるアミノ酸配列を有するカーリントンタンパク質または配列番号12に示されるポリペプチドの断片である、請求項 25 記載の組成物。
- 【請求項 32】 50

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、配列番号13に示されるアミノ酸配列を有するAgfAタンパク質である、請求項25記載の組成物。

【請求項33】

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、*Saccyromyces*由来のSup35またはUre2pの断片である、請求項25記載の組成物。

【請求項34】

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、配列番号15に示されるアミノ酸配列を有する不凍ポリペプチド-3または関連ポリペプチドである、請求項25記載の組成物。

【請求項35】

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、*Podospira anserina*由来のHET-sタンパク質の断片である、請求項25記載の組成物。

10

【請求項36】

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、菌類のヒドロホピンである、請求項25記載の組成物。

【請求項37】

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、*Streptomyces* spp由来のチャプリンである、請求項25記載の組成物。

【請求項38】

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、FlgB、FlgC、FlgGもしくはFlieEまたはFlgB、FlgC、FlgGもしくはFlieEの断片である、請求項25記載の組成物。

20

【請求項39】

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが全てD-エナンチオマーである、請求項25記載の組成物。

【請求項40】

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、DおよびLエナンチオマーの混合物である、請求項25記載の組成物。

【請求項41】

非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドが、Boc- -Ala-mABA-OmeまたはBoc- -Abu-mABA-Omeである、請求項25記載の組成物。

【請求項42】

凝集物がアミロイドである、請求項25記載の組成物。

30

【請求項43】

凝集物が、可溶性オリゴマー、環状ポアまたは原線維である、請求項25記載の組成物。

【請求項44】

患者におけるA 沈着を変化させる方法であって、患者に非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドおよびアジュバントを含む組成物を投与するステップを含む、上記方法。

【請求項45】

患者由来の血漿または血清を、*in vitro*または*in situ*にて、原線維のアミロイドポリペプチドを検出する能力についてモニタするステップをさらに含む、請求項44記載の方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、哺乳動物において全般的な抗アミロイド免疫応答を生じるための方法に関し、より具体的には、非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドからなる原線維の凝集物を含む組成物およびそのような組成物を使用する、哺乳動物において全般的な抗アミロイド免疫応答を誘導するための方法に関する。

【背景技術】

【0002】

50

A ペプチドの凝集がアルツハイマー疾患(AD)の発症に因果的役割を果たすことが明らかとなっている。Schenkらによる研究(非特許文献1)は、A に対する体液性免疫応答を誘導することによって、A 沈着を変化させることにより治療可能性があることに注目した。その後の研究によって、マウスを原線維のA を用いて能動免疫した場合、または無傷の抗A 抗体を用いて受動免疫した場合、複数のマウスモデルにおいてA による免疫付与は、アミロイド沈着を減少させるのに有効であることが示された。さらに、脳におけるA 沈着に何ら効果が示されない場合であっても、A による免疫付与によって、特定のAPPトランスジェニックマウスにある参照記憶の認知障害を改善することが可能である。したがって、たとえA 沈着の減少が見られなくても、免疫付与によりなんらかの治療効果を有し得る。

10

【0003】

【非特許文献1】Schenkら,Nature, 400:173-177(1999)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

これらのデータに基づいて、A 免疫療法はADに対する有効な治療戦略として推進されている。原線維のA₄₂を用いた能動免疫の付与による臨床試験が、数年前より開始された。この試験は、髄膜脳炎様の症状が約5%の個体で見られたために第2相で中断した。これによって、抗A 免疫付与による継続的な臨床開発に重大な懸念が生じた(Orgogozoら、2003, Neurology 61:46-54参照)。したがって、ADを治療するための代替的な免疫付与戦略が望まれている。

20

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明は、ヒトA ペプチド自体を含む、ヒトタンパク質またはペプチドのいずれにも顕著な相同性を示さないアミロイド生成性のポリペプチドを、アルツハイマー疾患におけるアミロイド沈着およびそれ以外のアミロイドイシス(amyloidosis)を変化させることができる、全般的な抗アミロイド反応を誘導するための免疫原として用いることができるという知見に基づく。

【0006】

一態様において、本発明は、哺乳動物(例えば、ヒト)において全般的な抗アミロイド免疫応答を誘導するための方法を特徴とする。本方法は、全般的な抗アミロイド免疫応答を生じるのに有効な量の異種アミロイド生成性のポリペプチドを哺乳動物に投与するステップ、当該哺乳動物由来の血漿または血清を、in vitroにて異なるアミロイドを検出する能力についてモニタするステップを含む。本方法において、上記異なるアミロイドは、異種アミロイド生成性のポリペプチドと非相同的なポリペプチドによって形成される。血漿または血清は、in vitroにて少なくとも2つの異なるアミロイドを検出する能力についてモニタし得る。本方法はさらに、当該哺乳動物由来の血漿または血清をヒト組織におけるアミロイド沈着を検出するその能力についてモニタするステップを含んでも良い。

30

【0007】

アミロイド生成性のポリペプチドは、全てD-エナンチオマーであるか、またはDおよびLエナンチオマーの混合物であり得る。非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドは、アデノウイルスのファイバーポリペプチドのシャフト配列に由来し得る(例えば、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6または配列番号7に示される配列を有するポリペプチド)。アミロイド生成性のポリペプチドは、コリオンクラスAポリペプチド(配列番号8)およびコリオンクラスBポリペプチド(配列番号9)からなる群より選択し得る。アミロイド生成性のポリペプチドは細菌のコールドショックタンパク質のN末端断片であり得る(例えば、配列番号1に示されるポリペプチドまたは配列番号2に示されるポリペプチド)。

40

【0008】

アミロイド生成性のポリペプチドは、配列番号12に示されるアミノ酸配列を有するカーリン(curlin)タンパク質、配列番号12に示されるポリペプチドの断片、または配列番号

50

13に示されるアミノ酸配列を有するAgfAタンパク質などのカーリン関連タンパク質であり得る。アミロイド生成性のポリペプチドは、*Saccyromyces*由来のSup35またはUre2pの断片であり得る。アミロイド生成性のポリペプチドは、配列番号15に示されるアミノ酸配列を有する不凍ポリペプチド-3または関連ポリペプチドであり得る。アミロイド生成性のポリペプチドは、*Podospira anserina*由来のHET-sタンパク質の断片であり得る。アミロイド生成性のポリペプチドは、菌類のハイドロホビン、*Streptomyces* spp.由来のチャプリン(chaplin)、配列番号10のモンネリン(monnelin) A鎖ポリペプチドまたは配列番号11のモンネリンB鎖ポリペプチドであり得る。アミロイド生成性のポリペプチドは、FlgB、FlgC、FlgGもしくはFlieEまたはFlgB、FlgC、FlgGもしくはFlieEの断片であり得る。アミロイド生成性のポリペプチドは、Boc- -Ala-mABA-OmeまたはBoc- -Abu-mABA-Omeであり得る。

10

【0009】

別の態様において、本発明は、非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドからなる原線維の凝集物およびアジュバント(例えば、ミョウバン)を含む組成物を特徴とする。この凝集物は、アミロイドまたは可溶性オリゴマー、環状ポアもしくは原線維であり得る。非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドは、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号10、または配列番号11に示される配列を有し得る。非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドはまた、コリオンクラスAポリペプチド(配列番号8)およびコリオンクラスBポリペプチド(配列番号9)からなる群より選択し得る。他の実施形態において、非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドは細菌のコールドショックタンパク質のN末端断片である。非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドは配列番号12に示されるアミノ酸配列を有するカーリンタンパク質または配列番号12に示されるポリペプチドの断片である。非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドは、配列番号13に示されるアミノ酸配列を有するAgfAタンパク質または*Saccyromyces*由来のSup35もしくはUre2pの断片であり得る。非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドは、配列番号15に示される不凍ポリペプチド-3もしくは関連ポリペプチド、または*Podospira anserina*由来のHET-sタンパク質の断片であり得る。他の実施形態において、非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドは、菌類のハイドロホビンまたは*Streptomyces* spp.由来のチャプリンである。非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドは、FlgB、FlgC、FlgGもしくはFlieEまたはFlgB、FlgC、FlgGもしくはFlieEの断片であり得る。非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドは、全てD-エナンチオマーまたはDおよびL エナンチオマーの混合物であり得る。非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドは、Boc- -Ala-mABA-OmeまたはBoc- -Abu-mABA-Omeであり得る。

20

30

【0010】

別の態様において、本発明は患者におけるA 沈着を変化させるための方法の特徴とする。本方法は、患者に非ヒトアミロイド生成性のポリペプチドおよびアジュバントを含む組成物を投与するステップを含む。本方法はさらに、患者由来の血漿または血清をin vitroまたはin situにおいて原線維のアミロイド ポリペプチドを検出するその能力についてモニタするステップを含む。

【0011】

特に明記しない限り、本明細書中で用いられる全ての技術的および科学的用語は、本発明が属する分野における当業者が一般的に理解しているのと同じの意味を有する。本明細書中に記載される方法および物質と類似または同等の方法および物質を本発明を実施するのに用いることができるが、好適な方法および物質が以下に記載される。本明細書中に言及される全ての文献、特許出願、特許および他の参考文献は、その全体が参照により本明細書中に援用される。矛盾する場合には、定義を含む本明細書を基準とする。さらに、物質、方法および例示は単なる例示であって、限定することを意図するものではない。

40

【0012】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および図面、ならびに特許請求の範囲より明らかとなる。

【発明を実施するための最良の形態】

50

【0013】

一般に、本発明は、哺乳動物と非相同のアミロイド生成性のポリペプチドの凝集物を使用して、哺乳動物(例えば、ヒト)において全般的な抗アミロイド体液性免疫応答を誘導するための方法および物質を提供する。本明細書中において、「抗アミロイド体液性応答」とは、アミロイドおよび/またはプレアミロイド凝集物の四次構造に見出される立体構造エピトープの特徴を認識する抗体を生じることを特徴とする抗体反応を指す。このような方法は、現行の免疫療法ストラテジーを上回る、少なくとも2つの利点を提供する。第一に、本方法は、T細胞が、二次構造ではなく、線状のエピトープを認識するために、免疫化した哺乳動物における有害なT細胞応答を回避することができる。異種アミロイドによる免疫付与によって、アミロイドを生じるペプチドに対してT細胞応答を生じ得るが、一般的な抗アミロイドT細胞応答は生じない。さらに、哺乳動物に非相同的なアミロイドポリペプチド(例えば、ヒトを免疫化する場合、アミロイドポリペプチドはヒト起源のものではない)を使用することによって、自己反応性T細胞に関連する問題は回避することができる。第二に、異種アミロイドによる免疫付与は、高力価の抗体を生じるのにより効果的であり得る。他のヒトペプチド由来のA またはアミロイドを用いたヒト年配者への能動免疫付与の有効性は、自己寛容および加齢により見られるワクチンに対する免疫応答の低下によって限定されたものとなり得る。実際、このような場合、臨床試験の第2相においてわずか30%の人においてのみ高力価の抗A 抗体を生じたことが報告されている。

10

【0014】

アミロイド生成性のポリペプチド

20

「ポリペプチド」という用語は、少なくとも2アミノ酸の長さを有するアミノ酸鎖を指す。一般的に、好適なポリペプチドは少なくとも6アミノ酸の長さ(例えば、6, 8, 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600または650以上のアミノ酸の長さ)である。本明細書中において、「アミロイド生成性のポリペプチド」はアミロイドまたはプレアミロイド凝集物を形成し得るポリペプチドである。アミロイドは、不溶性の、秩序ある、ペプチドまたはタンパク質の凝集物であり、これらペプチドまたはタンパク質は原線維の構造を有し、Congo Redまたはチオフラビン(例えば、チオフラビン T)への結合によって検出することができる。Congo Redおよびチオフラビンの染色条件については、MerliniおよびBellotti, 2003, N Engl. J. Med. 349:583-596;ならびにGlennner, 1980, N Engl. J. Med. 302:1283-1292を参照のこと。一般的に、アミロイドは、およそ10 nmの直径で、数mmまでの長さを有する。プレアミロイド凝集物はアミロイドと比べて小さく(一般的に、長さ200 nm未満)、可溶性であり、構造的に球形粒子、曲線原線維または環状ポアに類似している。原子間力顕微鏡法を用いて、プレアミロイド凝集物の構造を決定することができる。8アミノ酸またはそれ以上の長さを有する好適なアミロイド生成性のポリペプチドは、免疫化される哺乳動物に由来するいずれかのタンパク質またはペプチドに対して40%未満(例えば、35%未満)の同一性を有し、免疫化される哺乳動物のゲノムにコードされるいずれかのタンパク質またはペプチドの7以下の連続アミノ酸(例えば、6アミノ酸またはそれ以下)を含む。ポリペプチドが8未満のアミノ酸の長さを有する実施形態において、ポリペプチドがMHCに結合せず、また自己反応性T細胞を誘導すべきではない場合などは、全体的な相同性40%を上回り得る。

30

40

【0015】

別の「標的」アミノ酸配列に対するアミロイド生成性のポリペプチドのアミノ酸配列の同一性%は、以下のように決定することができる。まず、BLASTNおよびBLASTPを含むBLASTZのスタンドアロンバージョン(例えば、バージョン 2.0.14)に由来するBLAST 2 配列(BI2seq)プログラムを用いて、標的アミノ酸配列を対象のアミノ酸配列と比較および整列させ得る。BLASTZのスタンドアロンバージョンは、www.fr.com/blastまたはwww.ncbi.nlm.nih.govより得ることができる。BLASTZ、特にBI2seq プログラムをどのように使用するかを説明する解説書は、BLASTZに付いている「リードミー」ファイル中に見出すことができる。本プログラムはまた、Karlin ら、1990, Proc. Natl. Acad. Sci. 87:2264; Karlin ら、1990, Proc. Natl. Acad. Sci. 90:5873;and Altschul ら、1997, Nucl. Aci

50

ds Res. 25:3389に詳細に記載されている。

【 0 0 1 6 】

BI2seqは、対象配列と標的配列とをBLASTN(核酸配列の比較に用いられる)またはBLASTP(アミノ酸配列の比較に用いられる)アルゴリズムのいずれかを用いて比較する。一般的に、アミノ酸配列のアライメントを行う際には、デフォルトパラメーター(BLOSUM62スコアリングマトリックス、ギャップ存在コスト=11、拡張コスト=1、ワードサイズ=3、期待値=10、1残基当たりのコスト=1および比率=0.85)を使用する。アウトプットファイルは、標的配列および対象配列間の整列した相同領域を含む。整列したら、長さを、いずれかの一致位置を始めとしていずれかの他の一致位置を終わりとする対象配列由来の配列と整列した標的配列の連続したヌクレオチドまたはアミノ酸残基(すなわち、ギャップは除く)の数を数えることによって決定する。一致位置とは、同一のヌクレオチドまたはアミノ酸残基が標的配列および対象配列の両方に存在する任意の位置である。1または複数の残基のギャップを、標的配列または対象配列に挿入し、構造的に保存されているドメイン(例えば、 α -ヘリックス、 β -シートおよびループ)間の配列アライメントを最大にし得る。

10

【 0 0 1 7 】

特定の長さにわたる同一性%は、特定の長さにわたる一致位置の数を数える、その数を長さで除す、そして得られた値に100を掛けることによって決定することができる。例えば、(i)500アミノ酸の標的配列を対象のアミノ酸配列と比較し、(ii)BI2seqプログラムが対象配列の領域と整列した標的配列の200アミノ酸を示し(ここで200アミノ酸領域のうち最初と最後のアミノ酸は一致している)、(iii)これらの整列した200アミノ酸のうち一致した数が180である場合、500アミノ酸の標的配列は、200の長さで、その長さによって90%の配列同一性を有する(すなわち、 $180 \div 200 \times 100 = 90$)。

20

【 0 0 1 8 】

対象の配列と整列した標的配列は、それぞれの長さでそれぞれの同一性%を有する、様々な長さを生じ得ると考えられる。また、好適なアミノ酸配列の長さは企図される用途によって決まると考えられる。同一性%の値は、少数第2位を四捨五入し得る点に留意する。例えば、78.11、78.12、78.13および78.14は、四捨五入して78.1となり、78.15、78.16、78.17、78.18および78.19は四捨五入して78.2となる。また、長さの値は常に整数である点に留意する。

30

【 0 0 1 9 】

アミロイド生成性のポリペプチドは、 α -、 β -および γ -アミノ酸、天然および非天然のアミノ酸、ならびにD- およびL-立体化学のアミノ酸を含むことができ、固相合成し得る。アミノ酸の立体化学は、必要に応じて、「D」もしくは「d」または「L」もしくは「l」などの記号をもつ名称または略語を頭につけて指定することができる。いくつかの実施形態において、アミロイド生成性のポリペプチドは全てD-エナンチオマーを含む。他の実施形態において、アミロイド生成性のポリペプチドは、DおよびL エナンチオマーの両方を含む。ポリペプチドの固相合成に使用するのに好適な様々な保護基(例えば、Boc)を有するアミノ酸が、市販されている。

40

【 0 0 2 0 】

「天然」または「天然に存在する」アミノ酸という用語は、20個の最も一般的なアミノ酸のうちの一つを指す。本明細書中において天然のアミノ酸は、標準的な一文字の略語によって表される。「非天然のアミノ酸」または「非天然の」という用語は、D形態、ならびに α - および β -アミノ酸誘導体を含む天然のアミノ酸の誘導体を指す。アミロイド生成性のポリペプチドに組み込まれ得る非天然のアミノ酸またはアミノ酸誘導体の例としては以下のものが挙げられる(括弧内は一般的な略語): α -アラニン(α -Ala), γ -アミノ酪酸(GABA), 2-アミノ酪酸(2-Abu), β -アミノ酪酸(β -Abu), β -アミノ酪酸(β -Abu), 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸(ACPC), アミノイソ酪酸(Aib), 2-アミノ-チアゾリン-4-カルボン酸, 5-アミノバレリアン酸(5-Ava), 6-アミノヘキササン酸(6-Ahx), 8-アミノオクタン酸(8-Aoc), 11-アミノウンデカン酸(11-Aun), 12-アミノドデカン

50

酸(12-Ado), 2-アミノ安息香酸(2-Abz), 3-アミノ安息香酸(3-Abz,メタ-アミノ安息香酸(mABA)としても知られる), 4-アミノ安息香酸(4-Abz), 4-アミノ-3-ヒドロキシ-6-メチルヘプタン酸(Statine, Sta), アミノオキシ酢酸(Aoa), 2-アミノテトラリン-2-カルボン酸(Atc), 4-アミノ-5-シクロヘキシル-3-ヒドロキシペンタン酸(ACHPA), パラ-アミノフェニルアラニン(4-NH₂-Phe), ビフェニルアラニン(Bip), パラ-ブromoフェニルアラニン(4-Br-Phe), オルト-クロロフェニルアラニン(2-Cl-Phe), メタ-クロロフェニルアラニン(3-Cl-Phe), パラ-クロロフェニルアラニン(4-Cl-Phe), メタ-クロロチロシン(3-Cl-Tyr), パラ-ベンゾイルフェニルアラニン(Bpa), tert-ブチルグリシン(Tle), シクロヘキシルアラニン(Cha), シクロヘキシルグリシン(Chg), 2,3-ジアミノプロピオン酸(Dpr), 2,4-ジアミノ酪酸(Dbu), 3,4-ジクロロフェニルアラニン(3,4-Cl₂-Phe), 3,4-ジフルオロフェニルアラニン(3,4-F₂-Phe), 3,5-ジヨードチロシン(3,5-I₂-Tyr), オルト-フルオロフェニルアラニン(2-F-Phe), メタ-フルオロフェニルアラニン(3-F-Phe), パラ-フルオロフェニルアラニン(4-F-Phe), メタ-フルオロチロシン(3-F-Tyr), ホモセリン(Hse), ホモフェニルアラニン(Hfe), ホモチロシン(Htyr), 5-ヒドロキシトリプトファン(5-OH-Trp), ヒドロキシプロリン(Hyp), パラ-ヨードフェニルアラニン(4-I-Phe), 3-ヨードチロシン(3-I-Tyr), インドリン-2-カルボン酸(ldc), イソニペコチン酸(lnp), メタ-メチルチロシン(3-Me-Tyr), 1-ナフチルアラニン(1-Nal), 2ナフチルアラニン(2-Nal), パラ-ニトロフェニルアラニン(4-NO₂-Phe), 3-ニトロチロシン(3-NO₂-Tyr), ノルロイシン(Nle), ノルバリン(Nva), オルニチン(Orn), オルト-ホスホチロシン(H₂PO₃-Tyr), オクタヒドロインドール-2-カルボン酸(Oic), ペニシラミン(Pen), ペンタフルオロフェニルアラニン(F₅-Phe), フェニルグリシン(Phg), ピペコリン酸(Pip), プロバルギルグリシン(Pra), ピログルタミン酸(pGlu), サルコシン(Sar), テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸(Tic), およびチアゾリジン-4-カルボン酸(チオプロリン, Th)。特定のアミノ酸、例えば、ヒドロキシプロリン(本明細書中非天然のアミノ酸として分類される)は特定の生物または特定のタンパク質内に天然に見出すことができる点に留意すべきである。例えば、アミロイド生成性のポリペプチドはBoc- -Ala-mABA-OmeまたはBoc- -Abu-mABA-Omeであり得、ここで「Ome」とは、フェニル環のCOOHをキャッピングしているO-メトキシである。ポリペプチドは固相にて合成し、95%を上回る純度で精製することができる(例えば、高処理液体クロマトグラフィー(HPLC)による)。アミロイド生成性のポリペプチドの凝集物は、緩衝液中37にて精製したポリペプチドをインキュベートすることによって形成し得る。例えば、2

mg/mLのポリペプチドを、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中にて一晩、37にて攪拌しながらインキュベートし得る。目に見える沈殿物が形成されたら、様々な手法を用いて、ポリペプチドがアミロイドまたはプレアミロイドに凝集したことを確認することができる。例えば、以下の一または複数の手法を用いることができる: チオフラビンTおよびCongo Red結合、動的光散乱(DLS)、サイズ排除クロマトグラフィー、SDS-PAGE、電子顕微鏡法または原子間力顕微鏡法。

10

20

30

40

50

【0021】

アミロイド生成性のポリペプチドの非限定的な例としては、細菌のコールドショックタンパク質(例えば、*Bacillus subtilis*または*Bacillus licheniformis*の主要コールドショックタンパク質)のアミノ末端(残基1-37)由来のポリペプチドが挙げられる。例えば、好適なポリペプチドは、*B. subtilis*もしくは*B. licheniformis*の主要コールドショックタンパク質の残基1-25(MLEGGKVKWFNSEKGFGEVEG、配列番号1)または*B. subtilis*もしくは*B. licheniformis*の主要コールドショックタンパク質の残基1-35(MLEGGKVKWFNSEKGFGEVEGQDDVVFVHFSAIQG、配列番号2)を含み得る。

【0022】

ヒトアデノウイルスのファイバータンパク質のシャフト配列に由来するポリペプチドもまた使用することができる。例えば、好適なポリペプチドは、アデノウイルス2型線維タンパク質のシャフト領域(アミノ酸356-396)に由来する6アミノ酸(GAITIG、配列番号3)、8アミノ酸(NSGAITIG、配列番号4)、12アミノ酸(LSFDNSGAITIG、配列番号5)、25アミノ酸(A MITKLGSGLSFDNSGAITIGNKND、配列番号6)または41アミノ酸(PIKTKIGSGIDYNGAMITKLGSGL

SFDNSGAITIGNKND、配列番号7)を含み得る。

【 0 0 2 3 】

他の好適なポリペプチドは、*Antheraea polyphemus*由来のコリオンクラスAタンパク質p c292前駆体に由来し得る(例えば、配列番号8:SYGGEGIGNVAVAGELPVAGKTAVAGRVP IIGAVGFGGP AGAAGAVSIAGRの配列を有するポリペプチド)、あるいは*Bombyx mori*由来のコリオンタンパク質に由来し得る(例えば、配列番号9:GNLPFLGTAXVAGEFPTAを有するポリペプチド (XはGまたはDである)。

【 0 0 2 4 】

*Dioscoreophyllum cumminsii*に由来するモンネリンA鎖タンパク質(FREIKGYEYQLYVYASD KLFRADISEDYKTRGRKLLRFNGPVPPP、配列番号10)およびモンネリンB鎖タンパク質(GEWELIDIG PFTQNLGKFAVDEENKIQYGRLLTFNKVIRPCMKKTIYEEN、配列番号11)ならびにモンネリンA鎖およびB鎖タンパク質の断片もまた、好適である。

10

【 0 0 2 5 】

Bacterial カーリン/CSGAおよび関連タンパク質、ならびに当該タンパク質の断片もまた有用である。このようなタンパク質の非限定的な例として以下のものが挙げられる: *Escherichia coli*由来のカーリン/CSGAタンパク質(GenBank 受入番号. CAA62282.1, GI:1147564, MKLLKVAIAAIVFSGSALAGVVPQYGGGGNHGGGNNSGPNSSELN IYQYGGGNSALALQTDARNSDLTITQHG GNGADVGQGSDDSSIDL TQRGFNGSATLDQWNGKNSSEMTVKQFGGGNGAADQTASNSSVNVTVQVGFGNNTAHQY、配列番号12)、*E. coli*由来のカーリンサブユニット(GenBank 受入番号. AAA23616.1, GI:290425);*E. coli*由来のCsgAタンパク質(GenBank 受入番号. AAK53212.1, GI:14039401);*Enterobacter sakazakii*由来のカーリン-csgAタンパク質(GenBank 受入番号. CAD56678.1, GI:31790502)、*Citrobacter freundii*(GenBank 受入番号. CAD56675.1, GI:31790498)、または*Citrobacter sp. Fec2*(GenBank 受入番号. CAD56672.1, GI:31790494);*E. coli*、例えば、*E. coli* CFT073(GenBank 受入番号. NP_753219.1, GI:26247179)または*E. coli* K12(GenBank 受入番号. BAA35840.1, GI:1651514)由来の主要カーリンサブユニット前駆体;*Salmonella enterica*由来の主要カーリンサブユニット前駆体(GenBank 受入番号. YP_150943.1, GI:56413868)、*Salmonella typhimurium*由来のAgfAタンパク質(GenBank 受入番号. CAA04151.1, GI:2275121, MKLLKVAFAAAIVVSGSAVAGVVPQWGGGGNHGGGNSSGPDSTLSIYQYGSAN AALALQSDARKSETTITQSGYNGADVGQGANSTIELTQNGFRNNATIDQWNAKNSDITVGGYGGNNAALVNQTASDSS VMVRQVGFGNAPANQYN、配列番号13);あるいは*Salmonella enteritidis*由来のSEF17 fimbriaタンパク質(GenBank 受入番号. AAA98671.1, GI:1293678)。

20

30

【 0 0 2 6 】

*Saccharomyces cerevisiae*由来のSup35タンパク質(GenBank 受入番号. NP_010457.1, GI:6320377, MSDSNQGNQQNYQQYSQNGNQQGNNRYQGYQAYNAQAQAPAGGYQNYQYSGYQQGGYQQYNPDAGY QQYNPQGGYQQYNPQGGYQQQFNPPQGGGRGNYKNFNYNLNLQGYQAGFQPSQSGMSLNDQKQKQAAPKPKKTLKLVSS SGIKLANATKKVGTGKPAESDKKEEESAETKEPTKEPTKVEEPVKKEEKVPQTEEKTEEKSELPKVEDLKI SESTHNTNN ANVTSADALIKEQEEVVDDEVNDMFGGKDHVSLIFMGHV DAGKSTMGGNLLYL TGSVDKRTIEKYEREAKDAGRQGWYL SWVMDTNKEERNDGKTEVGVKAYFETEKRRTYILDAPGHKMYVSEMI GGASQADVGVLVISARKGEYETGFERGGQTREH ALLAKTQGVNKMVVV/NKMDPTV/NWSKERYDQCVSNSVSNFLRAIGYNIKTDVVFMPVSGYSGANLKDHDVDPKECPWYTG PTLLEYLDTMNHVDRHINAPFMLPIAAKMKDLGTIVEGKIESGHIKKGQSTLLMPNKTAVEIQNIYNETENEVDMMAMCGE QVKLRIKGVEEEDISPGFVLTSPKNP IKSVTKFVAQIAIVELKSI I AAGFSCVMHVHTAIEEVHIVKLLHKLEKGTNRKS KKPPFAFAKGMKVI AVLETEAPVCVETYQDYQPLGRFTLRDQGTIIAIGKIVKIAE、配列番号14)または*Saccharomyces cerevisiae*由来のUre2pタンパク質(GenBank 受入番号. AAM93191)は、Sup35およびUre2pタンパク質の断片と同様に、アミロイド生成性のポリペプチドとして用いることができる。さらに、Sup35およびUre2p関連タンパク質およびそのようなタンパク質の断片を用いることができる。好適なSup35関連タンパク質としては、例えば以下のものが挙げられる:*Candida albicans*由来の翻訳終結因子3(GenBank 受入番号. AAB82541.1, GI:2582369);*Zygosaccharomyces rouxii*(GenBank 受入番号. BAB12684.2, GI:13676384)、*Candida maltosa*(GenBank 受入番号. BAB12681.2, GI:13676380)または*Debaryomyces hansenii*(GenBank 受入番号. BAB12682.3, GI:15080702)由来のポリペプチド終結因子3;*Candida*

40

50

glabrata CBS138(GenBank 受入番号. CAG58641.1, GI:49525028), *Kluyveromyces lactis* NRRL Y-1140(GenBank 受入番号. CAH00927.1, GI:49642965)または*Debaryomyces hansenii* CBS767(GenBank 受入番号. CAG85369.1, GI:49653030)由来のタンパク質産物;*Zygosaccharomyces rouxii*(GenBank 受入番号. AAF14007.1, GI:6478796), *Kluyveromyces lactis*(GenBank 受入番号. AAF14003.1, GI:6478792), *Kluyveromyces marxianus*(GenBank 受入番号. AAF14004.1 GI:6478793), *Saccharomyces ludwigii*(GenBank 受入番号. AAF14006.1, GI:6478795)または*Pichia pastoris*(GenBank 受入番号. AAF14005.1, GI:6478794)由来のSUP35 ホモログ;*Ashbya gossypii*由来のAGL145Wタンパク質(GenBank 受入番号. AAS54346.1, GI:44985722);および*Pichia pinus*由来のEF-1 様タンパク質因子(GenBank 受入番号. CAA40231.1, GI:3236)。

10

【 0 0 2 7 】

アラニンリッチ不凍ポリペプチドはまた、アミロイド生成性のポリペプチドとして用いることができる。例えば、不凍ポリペプチドSS-3(GenBank 受入番号. P04367, GI:113894, MNAPARAAAK TAADALAAK KTAADAAAA AAA、配列番号15)および関連ポリペプチドを用いることができる。SS-3関連ポリペプチドの非限定的な例としては以下のものが挙げられる：不凍スカルピン (sculpin) ポリペプチド(GenBank 受入番号. 1Y04_A, GI:62738562); 不凍ポリペプチドGS-5(GenBank 受入番号. P20421, GI:113904);*Myoxocephalus octodecemspinus*由来のロングホーンズカルピン皮膚型不凍タンパク質(GenBank 受入番号. AAG22048.1, GI:10717168);不凍タンパク質3-ヒラメ(*Pseudopleuronectes americanus*)(GenBank 受入番号. FDFL3W, GI:72032);タバコ由来のAfa5 不凍タンパク質(GenBank 受入番号. AAB20142.1, GI:237857);*Prochlorococcus marinus*由来のI 型不凍タンパク質(GenBank 受入番号. CAE21324.1, GI:33640869);不凍タンパク質-ヒラメ(GenBank 受入番号. I51125, GI:2134023, GenBank 受入番号. JS0705, GI:85670, GenBank 受入番号. CAA30389.1, GI:64212, GenBank 受入番号. AAA49472.1, GI:213595およびGenBank 受入番号. 1212275A, GI:225327);タバコ由来のAfa3 不凍タンパク質(GenBank 受入番号. AAB20141.1, GI:237856);不凍タンパク質SS-8-ショートホーンズカルピン (GenBank 受入番号. A05163, GI:85611);不凍タンパク質A/B前駆体(P04002, GI:113914);*Myoxocephalus aeneus*由来の不凍ポリペプチドGS-8(GenBank 受入番号. P20617, GI:113909);合成ヒラメ不凍タンパク質(GenBank 受入番号. AAA72967.1, GI:554531);ヒラメ由来のB鎖不凍タンパク質(GenBank 受入番号. 1WFB_B GI:1065084);*Myoxocephalus scorpius*由来の皮膚型不凍ポリペプチドAFP-2(GenBank 受入番号. AAG25982.1, GI:10998655);*Shigella flexneri*(GenBank 受入番号. NP_706495.1, GI:24111985), *E. coli* O157:H7 EDL933(GenBank 受入番号. AAG55075.1, GI:12513672)または*E. coli* K12(GenBank 受入番号. NP_415267.1, GI:16128714)由来の膜貫通タンパク質;ヒラメ由来の不凍プレプロペプチド(GenBank 受入番号. AAB59964.1, GI:457351);*Streptomyces coelicolor*由来の推定分泌タンパク質(GenBank 受入番号. CAB36606.1, GI:4455743またはGenBank 受入番号. CAB62715.1, GI:6562784);COG3144, *Burkholderia fungorum*由来の鞭毛フック長調節タンパク質(GenBank 受入番号. ZP_0278986.1, GI:48782457);*Drosophila melanogaster*由来のCG16779-PA(GenBank 受入番号. AAF54383.1, GI:7299186)またはCG7434-PA(GenBank 受入番号. NP_477134.1, GI:17137152);*Drosophila melanogaster*由来のリボソームタンパク質L22(GenBank 受入番号. AAD19341.1, GI:4378008);Flagタグ_ ラクタマーゼ_tolA 融合タンパク質(GenBank 受入番号. AAQ93652.1, GI:37575400);不凍タンパク質AFP ホモログ(GenBank 受入番号. AAC60714.1, GI:560670);*Cryptococcus neoformans*由来の転写活性化因子(GenBank 受入番号. AAW40728.1, GI:57222684);*E. coli* CFT073由来のToIAタンパク質(GenBank 受入番号. NP_752748.1, GI:26246708);*Salmonella typhimurium* LT2由来のtolタンパク質(GenBank 受入番号. AAL19691.1, GI:16419257), *Mus musculus*由来のMapkap1タンパク質(GenBank 受入番号. AAH48870.1, GI:28981397);*Pseudomonas* sp. 61-3由来のポリヒドロキシアルカノエート封入体に関連したタンパク質(GenBank 受入番号. BAB91367.1, GI:20502373);*Drosophila melanogaster*由来のCG11203-PA(GenBank 受入番号. NP_572666.1, GI:24641144);*Magnaporthe grisea* 70-15由来の予測タンパク質(GenBank 受入番号. EAA50560.1, GI:3810

20

30

40

50

3924); *Anopheles gambiae* str. PEST由来のENSANGP00000012554(GenBank 受入番号. EAA11004.2 GI:30175902); *Drosophila ananassae*由来のOm(1D)(GenBank 受入番号. CAA40011.1, GI:7147); *Drosophila ananassae*由来のBarH1(GenBank 受入番号. AAA28381.1, GI:156976); *Pseudomonas syringae* pv. tomato str. DC3000由来のポリヒドロキシアルカノエート顆粒関連タンパク質PhaF(GenBank 受入番号. NP_794878.1, GI:28872259); *Archaeoglobus fulgidus*由来のB鎖逆ジャイレース(GenBank 受入番号. 1GKU_B, GI:20149845); *Kluyveromyces lactis*(GenBank 受入番号. CAG99118.1, GI:49643166), *Tetraodon nigroviridis*(GenBank 受入番号. CAF91831.1 GI:47213557)または *Limanda ferruginea*(GenBank 受入番号. CAA29655.1, GI:64042)由来のタンパク質産物; *Drosophila melanogaster*由来のSD05989p(GenBank 受入番号. AAM52764.1, GI:21483578); *Drosophila melanogaster*由来のCG7518-PB, アイソフォーム A(GenBank 受入番号. AAF54888.2, GI:10726500)およびアイソフォーム B(GenBank 受入番号. AAN14338.1, GI:23175967); *Drosophila melanogaster*由来のCG5529-PA(GenBank 受入番号. NP_523387.1, GI:17737357); *Chlamydomonas reinhardtii*由来の放射状スポークタンパク質2(GenBank 受入番号. AAQ92371.1, GI:37528882); *Rhodopseudomonas palustris*由来のOmpA/MotB ドメイン(GenBank 受入番号. NP_947119.1 GI:39934843), *Pseudomonas aeruginosa*由来のポリヒドロキシアルカノエート合成タンパク質PhaF(GenBank 受入番号. NP_253747.1, GI:15600253); *Gallus gallus*由来のエクソデオキシリボヌクレアーゼ V, 予測タンパク質(GenBank 受入番号. XP_424728.1, GI:50761474); ならびに *Burkholderia cepacia*由来のCOG2913, 小タンパク質A(tmRNA-結合)タンパク質(GenBank 受入番号. ZP_00216624.1, GI:46316044)。他の好適な SS-3関連ポリペプチドとしては以下の仮想タンパク質が挙げられる: *Burkholderia pseudomallei*由来のBPSS2166(GenBank 受入番号. YP_112167.1, GI:53723182), *Rhodobacter sphaeroides*由来のRsph03002275(GenBank 受入番号. ZP_00006323.2, GI:46192645), *Microbulbifer degradans*由来のMdeg02001428(GenBank 受入番号. ZP_00317244.1, GI:48863350), *Halobacterium* sp. NRC-1由来のVNG0441H(GenBank 受入番号. NP_279507.1, GI:15789683), *Rattus norvegicus*由来のXP_579923(GenBank 受入番号. XP_579923.1, GI:62640396), *Streptomyces coelicolor* A3(2)由来の仮想タンパク質(GenBank 受入番号. CAA19786.1, GI:3288614), *Bacteroides thetaiotaomicron* VPI-5482由来の表面タンパク質(GenBank 受入番号. AAO76619.1, GI:29338820), *Rhodopseudomonas palustris* CGA009由来のRPA4347(GenBank 受入番号. NP_949683.1 GI:39937407), *Ustilago maydis*由来のUM03989.1(GenBank 受入番号. EAK84999.1, GI:46099766), *Pseudomonas aeruginosa*由来の仮想タンパク質4(phaC2 3'領域)(GenBank 受入番号. S29309, GI:485464), *Cryptococcus neoformans*由来のCNBH0920(GenBank 受入番号. EAL19399.1, GI:50256676), *Burkholderia cenocepacia* ファージ BcepB1A由来のgp58(GenBank 受入番号. YP_024894.1 GI:48697536) ならびに *Oryza sativa*(*japonica* 品種群)(GenBank 受入番号. BAD61824.1, GI:54291151)。

【 0 0 2 8 】

他の好適なポリペプチドとしては以下のものが挙げられる: *Podospora anserina*由来のHET-sタンパク質の断片(例えば、GNNQQNY(配列番号16))または菌類のヒドロホピンポリペプチド(例えば、*Aspergillus niger*由来のRodA(GenBank 受入番号. AAX21520, GI 60476801)); *Claviceps fusiformis*由来のQ9UV14, トリヒドロホピン前駆体(GenBank 受入番号. Q9UV14, GI:25091421); *Agaricus bisporus*由来のヒドロホピン 3前駆体(GenBank 受入番号. 013300, GI 12643535); *Hypocrea jecorina*(GenBank 受入番号. P79073, GI 6647555), *Pisolithus tinctorius*(GenBank 受入番号. P52749, GI:1708380), または *Agaricus bisporus*(GenBank 受入番号. P49073, GI 1708379)由来のヒドロホピン II 前駆体; *Metarhizium anisopliae*由来のヒドロホピン様タンパク質ssgA前駆体(GenBank 受入番号. P52752, GI 1711536); *Magnaporthe grisea*由来のヒドロホピン様タンパク質MPG1前駆体(GenBank 受入番号. P52751, GI 1709085); *Hypocrea jecorina*(GenBank 受入番号. P52754; GI 1708378)または *Pisolithus tinctorius*(GenBank 受入番号. P52748, GI 1708377)由来のヒドロホピン I 前駆体; *Emericella nidulans*由来の胞子壁菌類のヒドロホピン dewA前駆体(GenBank 受入番号. P52750, GI 1706367); *Cryphonectria*

10

20

30

40

50

parasitica由来のcryparin前駆体 (GenBank 受入番号. P52753, GI 1706154); Heterobasidium annosum由来のハイドロホビン 1 (GenBank 受入番号. ABA46363, GI 76563862); Heterobasidium annosum由来のハイドロホビン 2 (GenBank 受入番号. ABA46362, GI 76563860); Ustilago maydis (GenBank 受入番号. XP_761157, GI 71021853) または Caenorhabditis elegans (GenBank 受入番号. AAA81483, GI 29570473) 由来の UM05010.1, 仮想タンパク質; Aspergillus nidulans由来のrodletタンパク質前駆体 (GenBank 受入番号. XP_682072, GI 67903632); Aspergillus nidulans由来の胞子壁 ハイドロホビン前駆体 (GenBank 受入番号. XP_681275, GI 67902038); Neurospora crassa由来のハイドロホビン前駆体 (GenBank 受入番号. Q04571, GI 416771); Magnaporthe grisea由来のマグナポリン (magnaporin) (GenBank 受入番号. AAD18059, GI 4337063)。他の有用なポリペプチドの例としては以下のものが挙げられる: Streptomyces spp.由来のチャプリンおよび関連ポリペプチド (例えば、Streptomyces coelicolor (GenBank 受入番号. NP_625950.1, GI:21220171) もしくは受入番号. NP_626950, GI 21221171) または Thermobifida fusca (GenBank 受入番号. YP_290942, GI 72163285) 由来の小膜タンパク質; Streptomyces avermitilis (GenBank 受入番号. NP_827811.1, GI:29833177), Streptomyces coelicolor (GenBank 受入番号. NP_625949.1, GI:21220170; NP_733581, GI 32141179; AAM78434, GI 21902161; NP_626070, GI 21220291; もしくは NP_631313, GI 21225534); Streptomyces avermitilis (GenBank 受入番号. NP_827812, GI 29833178; NP_822405, GI 29827771; もしくは NP_827654, GI 29833020) 由来の分泌タンパク質; Streptomyces coelicolor由来の膜タンパク質 (GenBank 受入番号. NP_626939, GI 21221160); または Streptomyces verticillius由来のタンパク質 (GenBank 受入番号. AAG43514, GI 12003276)。Salmonella由来の鞭毛基底小体タンパク質 (例えば、FlgB、FlgC、FlgG および FljE (それぞれ GenBank 受入番号 s. BAA21014, YP_150913, P16323 および P26462) または鞭毛基底小体タンパク質の断片もまた有用である。

10

20

30

40

50

【0029】

アミロイド生成性のポリペプチドを含有する組成物

いくつかの実施形態において、アミロイド生成性のポリペプチドの凝集物は、アジュバントと組み合わせて組成物を形成する。当該組成物は哺乳動物に投与されると全般的な抗アミロイド免疫応答を誘導する。他の実施形態において、組成物は2またはそれ以上の異なるアミロイド生成性のポリペプチドの凝集物を含有する。「アジュバント」とは免疫化合物であり、ポリペプチドなどの特定の抗原に対する免疫応答を増強し得る。好適なアジュバントとしては、ミョウバンや他のアルミニウムベースの化合物 (例えば、Al₂O₃) が挙げられ、これらは様々な商業的供給源から得ることができる。例えば、Rehydrigel (登録商標) アジュバントは Reheis Inc. (Berkeley Heights, NJ) から得ることができる。Rehydrigel (登録商標) アジュバントは、結晶性アルミニウムオキシヒドロキシドをベースとしていたり、表面積の大きな結晶粒子 (約 525 m²/g) を含有する水和ゲルである。その Al₂O₃ 含有量は一般的に、約 2% ~ 約 10% である。例えば、Rehydrigel LG は、Al₂O₃ を約 6% 含有し、わずかな攪拌で容易に流動する。Rehydrigel LG はまた、1.58 のタンパク質結合能 (すなわち、1 mg の Al₂O₃ につき 1.58 mg のウシ血清アルブミン結合)、0.02% のナトリウム含有量、0.28% の塩素含有量、検出不可能な量の硫酸塩、3 ppm 未満のヒ素値、15 ppm 未満の重金属含有量、pH 6.5、1090 cp の粘性を有する。Rehydrigel LG は、ポリペプチド溶液 (例えば、PBS 中のポリペプチド) と組み合わせて、Al(OH)₃ を生じ得る。さらに、Brenntag Stinnes Logistics より得られる ALHYDROGEL™、すなわち、アルミニウムヒドロキシゲルアジュバント (Alhydrogel 1.3%, Alhydrogel 2.0% または Alhydrogel “85”) を用いることができる。

【0030】

さらに、MN51 はアミロイド生成性のポリペプチドの凝集物と組み合わせて、哺乳動物に投与されると全般的な抗アミロイド免疫応答を誘導する組成物を形成し得る。MN51 (MONTANIDE (登録商標) Incomplete SEPPIC アジュバント (ISA) 51) および MN720 は、Seppic (Paris, France) より入手することができる。MN51 は、鉱油溶液 (Drakeol 6 VR) 中にオレイン酸

マンノイド(MONTANIDE(登録商標)80、またアンヒドロマンニトールオクタデセノエートとしても知られる)を含む。MONTANIDE(登録商標)80は、最大酸価=1、鹼化価=164-172、ヒドロキシル価=89-100、ヨウ素価=67-75、最大過酸化物価=2、20 ppm未満の重金属値、最大含水量=0.35%、最大明度=9および25における粘性=約300 mPasを有する透明な液体である。油(例えば、鉱油、植物油、スクアラン、スクアレンまたはエステル)と結合しているMONTANIDE(登録商標)は、MONTANIDE(登録商標)ISAとして知られる。Drakeol 6 VRは、医薬品グレードの鉱油である。Drakeol 6 VRは、不飽和または芳香族炭化水素を含まず、A.P.I.比重=36.2-36.8、25における比重=0.834-0.838、100°Fにおける粘性=59-61 SSUまたは10.0-10.6センチストーク、25における屈折率=1.458-1.463を有し、最小酸性試験を上回り、360 nmにおける蛍光についてネガティブであり、浮遊物質についてネガティブであり、0-15°FのASTM流動試験値を有し、295°Fの最小ASTM引火点を有し、軽鉱油および紫外線吸収について全てのRN要件に準拠する。MN51は約8~12%のアンヒドロマンニトールオクタデセノエートおよび約88~92%鉱油を含む。

10

【0031】

他のアジュバントとしては、コレステロールおよびサポニンなどの成分を含み得る免疫刺激複合体(ISCOM)が挙げられる。ISCOMマトリクスは本明細書中に記載した方法を使用して製造およびCu²⁺にコンジュゲートし得る。FCA, FIA, MN51, MN720およびAl(OH)₃などのアジュバントは、Seppic, Difco Laboratories(Detroit, MI)およびSuperfos Biosector A/S(Vedbeek, Denmark)などの企業より市販されている。

20

【0032】

他の免疫賦活性成分としては、特に限定されないが、ムラミルジペプチド(例えば、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン;MDP)、モノホスホリルリピドA(MPL)、ホルミル-メチオニン含有トリペプチド(例えば、N-ホルミル-Met-Leu-Phe)または細菌のリポポリ多糖が挙げられる。これらの化合物は例えば、Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)およびRIBI ImmunoChem Research, Inc.(Hamilton, MT)より市販されている。さらなる免疫賦活性成分は、ニューモバックス(認可されたヒトワクチン)、CD40LまたはIL-12が挙げられる。他の実施形態において、アジュバントは、完全フロイントアジュバントまたは不完全フロイントアジュバントである。

【0033】

本発明はまた、本明細書中にて提供される組成物の製造方法を提供する。本方法は、ある量の凝集したポリペプチドを適量の生理緩衝液(例えば、PBS)中に懸濁するステップ、次に当該凝集物と適量のアジュバント/免疫賦活化合物とを混合するステップを含み得る。混合するステップは、例えば、攪拌、振盪、ボルテックスまたはシリンジに付いた針を往復させることを含む方法によって行うことができる。

30

【0034】

組成物はバッチ式で製造することができ、それによって複数回の注射(例えば、複数の哺乳動物への注射または同じ哺乳動物への頻回注射)用に十分な単位用量を得ることができ、点に留意する。組成物の「単位用量」とは、一度に哺乳動物に投与される組成物の量を指す。本明細書中にて提供される組成物の単位用量は、任意の量の凝集したポリペプチドを含み得る。例えば、組成物の単位用量は、約0.1 μg ~ 約1 g(例えば、1 μg, 10 μg, 15 μg, 25 μg, 30 μg, 50 μg, 100 μg, 250 μg, 280 μg, 300 μg, 500 μg, 750 μg, 1 mg, 10 mg, 15 mg, 25 mg, 30 mg, 50 mg, 100 mg, 250 mg, 280 mg, 300 mg, 500 mg, 750 mgまたはそれ以上)の凝集ポリペプチドを含み得る。例えば、組成物の単位用量は0.1 μg ~ 500 μgの凝集ポリペプチドを含み得る。いくつかの実施形態において、凝集ポリペプチドは、生理緩衝液(例えば、水またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS), pH 7.0)中に懸濁または溶解することができる。

40

【0035】

同様に、組成物の単位用量は、任意の量のアジュバントを含み得る。例えば、単位用量は、約10 μL ~ 約1 mL(例えば、10 μL, 25 μL, 50 μL, 100 μL, 250 μL, 500 μL, 750 μL, 800 μL, 900 μLもしくは1 mL)の一または複数のアジュバントを含み得る。さらに、組

50

成物の単位用量は、任意の量の免疫賦活成分を含み得る。例えば、本明細書中にて提供される組成物は、約10 µg ~ 約1 g(例えば、10 µg, 15 µg, 25 µg, 30 µg, 50 µg, 100 µg, 250 µg, 280 µg, 300 µg, 500 µg, 750 µg, 1 mg, 10 mg, 15 mg, 25 mg, 30 mg, 50 mg, 100 mg, 250 mg, 280 mg, 300 mg, 500 mg, 750 mgまたはそれ以上)の免疫賦活成分を含み得る。

【0036】

本明細書中にて提供される組成物は、任意の比率でアジュバントおよび凝集ポリペプチドを含み得る。アジュバント：抗原の比率は、例えば、50:50(vol:vol)であり得る。あるいは、アジュバント：抗原の比率は特に限定しないが、90:10, 80:20, 70:30, 64:36, 60:40, 55:45, 40:60, 30:70, 20:80または90:10であり得る。

10

【0037】

全般的な抗アミロイド体液性応答反応の誘導方法

哺乳動物(例えば、マウス、ラット、ネコ、イヌ、ウマ、ウシ、カニクイザルなどの非ヒト霊長類またはヒト)にて全般的な抗アミロイド体液性応答反応を誘導する方法は、全般的な抗アミロイド体液性免疫応答を生じるのに有効量の異種アミロイド生成性のポリペプチドの凝集物を哺乳動物に投与することを含む。いくつかの実施形態において、上記組成物を哺乳動物に投与し得る。

【0038】

本明細書中にて提供されるポリペプチドまたは組成物は複数の方法で投与することができる。例えば、局所的(例えば、経皮、点眼もしくは経鼻);経肺(例えば、粉末剤もしくはエアロゾル剤の吸入(inhalationもしくはinsufflation)による);経口;または非経口(例えば、皮下、くも膜下、脳室内、筋肉内もしくは腹腔内注射によるか、または点滴による)投与であり得る。投与は(例えば、注射によって)迅速に行っても、(例えば、ゆっくりと注入するか徐放性製剤を投与することによって)長時間かけて行っても良い。

20

【0039】

いくつかの場合、本明細書中で提供されるポリペプチドは、ペグ化、アセチル化またはその両方であり得る。いくつかの場合、本明細書中で提供されるポリペプチドは、短い、両親媒性オリゴマーなどのオリゴマーの共有結合し、それによって経口投与を可能とするか、コンジュゲートしたポリペプチドの薬物動態または薬力学的プロファイルを改善し得る。オリゴマーは、水溶性ポリエチレングリコール(PEG)および脂溶性アルキル(短鎖脂肪酸ポリマー)を含み得る。例えば、国際特許出願 WO 2004/047871公報参照。いくつかの場合、本明細書中で提供されるポリペプチドは、免疫グロブリン分子(例えば、IgG1分子)のFcドメインに融合し、それによって融合ポリペプチドが上皮細胞バリアを横切る能動輸送をFc受容体を介して生じ得る。いくつかの場合、ポリペプチドは環状ポリペプチドであり得る。

30

【0040】

任意の投与量を哺乳動物に投与することができる。投与量は個々の組成物の相対力に応じて変化し得、一般的に、in vitroおよびin vivoでの動物モデルより得られたデータを基に見積もることができる。一般的に、投与量は、体重1 kg当たり約0.01 µg ~ 約100 gであり、1日に1回もしくはそれ以上、毎週、またはそれよりも少なく与えることができる。うまく投与した後、好適なレベルの抗アミロイド反応を維持するために、被験体は追加投与を受けるのが望ましい。例えば、追加的な投与は、最初の投与から6, 12, 24, 36, 48, 60ヶ月またはそれ以上後に投与し得る。いくつかの場合、追加的な投与は、最初の投与から6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60ヶ月または60ヶ月以上毎に投与し得る。追加的な投与はまた、必要に応じて投与することができる。

40

【0041】

哺乳動物の抗アミロイド抗体力価は、例えば、酵素免疫吸着測定(ELISA)、免疫細胞化学またはウエスタンブロットを含む任意の方法を使用して調べることができる。例えば、哺乳動物由来の血漿または血清は、in vitroにて少なくとも1つのアミロイド(例えば、2またはそれ以上の異なるアミロイド)を検出する能力についてモニタでき、各試験アミロ

50

イドはアミロイド生成性のポリペプチドと相同ではないポリペプチドによって形成される。いくつかの実施形態において、患者由来の血漿または血清はAを含むアミロイドを検出するためにモニタできる。他の実施形態において、患者由来の血漿または血清は以下の2またはそれ以上を検出するためにモニタできる：Aを含むアミロイド、アデノウイルスシャフトファイバペプチドを含むアミロイド(例えば、配列番号7に示される配列を有するポリペプチド)またはコールドショックタンパク質を含むアミロイド(例えば、配列番号2に示される配列を有するポリペプチド)。いくつかの実施形態において、哺乳動物由来の血漿または血清は、in situ(例えば、ヒトまたはマウスのA プラークを含む組織)にてアミロイドを検出する能力についてスクリーニングする。

【0042】

他の実施形態において、本明細書中にて提供される組成物は、哺乳動物(例えば、ヒト患者)に投与され、哺乳動物における全身性のアミロイド沈着(A沈着を含む)を変化させる。哺乳動物由来の血漿または血清は、in vitroおよび/またはin situにて原線維のアミロイドペプチド、血清アミロイドA、軽鎖アミロイドおよびトランスサイレチンを検出する能力についてモニタする。

【0043】

いくつかの実施形態において、哺乳動物より得られた血液は、1またはそれ以上のアミロイドポリペプチド(例えば、Aを含むアミロイドポリペプチド)とインキュベートし得る。アミロイドポリペプチドは、哺乳動物を免疫化するために用いたアミロイド生成性のポリペプチドとは非相同であり得る。アミロイドポリペプチドはまた、哺乳動物に相同であり得る。アミロイドポリペプチドを認識し得る抗体が血中に存在する場合、当該抗体はアミロイドポリペプチドに結合し得る。二次抗体を用いて、抗アミロイド抗体に結合させ、それによってアミロイドポリペプチドに結合している抗アミロイド抗体の有無を調べることができる。二次抗体は検出のために標識しても良い。

【0044】

製品

本明細書中にて記載されるアミロイド生成性のポリペプチド組成物またはワクチンは、包装材料と組合わせて、製品またはキットとして販売することができる。製品を製造するための構成要素および方法は周知である。本製品は本明細書中にて記載されるアミロイド生成性のポリペプチド組成物またはワクチンを一または複数組合わせ得る。さらに、本製品は滅菌水、医薬担体、緩衝液、抗体、指標分子および/または哺乳動物の免疫応答をモニタするのに有用な他の試薬をさらに含み得る。このようなキットには、いかにアミロイド生成性のポリペプチド組成物またはワクチンが全般的な抗アミロイド免疫応答を誘導するのに、またはアミロイド沈着を変化させるのに効果的であるのかを示した解説書を含めることができる。アミロイド生成性のポリペプチド組成物またはワクチンは、単回投与(例えば、一人用)または所定の数のヒトに十分な量で、例えば、密封したアンプル、カプセルまたはカートリッジに予め包装された単位用量形態で提供することが可能である。

【0045】

本発明は、以下の実施例においてさらに説明されるが、これは特許請求の範囲に記載される発明の範囲を限定するものではない。

【実施例】

【0046】

非相同アミロイドポリペプチドによる全般的な抗アミロイド反応の生成

アデノウイルスシャフト6(fAVS-6, GAITIG、配列番号3)、アデノウイルスシャフト41(fAVS-41 PIKTKIGSGIDYNGAMITKLGSGLSFDNSGAITIGNKND、配列番号7)およびfA 1-42(DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA、配列番号17)の原線維の凝集物を、合成ポリペプチド(2 mg/mL)をリン酸緩衝生理食塩水(PBS)中、37 にて一晚インキュベートすることによって作製した。マウス(B6/SJL F1, 6週齢)に、AVS-6, fAVS-41およびfA 1-42ポリペプチドを皮下注射した。0日目に最初の注射を行い、その後2回(14日および46日)追加免疫した。各注射(または追加免疫)は、完全(CFA)または不完全(IFA)フロイントアジュバ

10

20

30

40

50

ントのいずれかを用いて1:1に乳化した100 μ Lの2 mg/ml 原線維のアミロイド製剤ストックを用いて行った。血清を30日目(図1A)および60日目(図1B)に採取し、抗体価を原線維のA 1-42(5 μ g/well)でコートした96穴ELISAプレートを用いて試験した。次にコートしたプレートを免疫化マウス由来の希釈した免疫血清(1:500)と共にインキュベートしてブロッキングし、続いて二次抗体(抗西洋ワサビペルオキシダーゼ)と共にインキュベートして、そしてペルオキシダーゼ基質中にて展開させた。

【0047】

図1Aおよび1Bにて示されるように、免疫化マウス由来の血清(500分の1希釈)は、fA 1-42 アミロイドに対して免疫反応性であった。示されるデータは、OD 450の値から正常マウス血清のバックグラウンドの値(バックグラウンドOD 450であるところの0.08を生じる)を引いた値を示す。注射した原線維のポリペプチド(アミロイド)によらず、全ての血清はfA 1-42アミロイドに対する反応性を示した。二回目の追加免疫は、スペクトル、特にfAVS 41と交差反応性を増大した。fAVS41免疫化マウス血清の反応性は、fA 1-42を注射したマウス由来の血清と等しいか、それよりも高いことが証明された。IFAまたはCFAと組み合わせられる場合、fAVS 41は反応性を示した。このことは主な反応が原線維の材料自体に対して開始したことを示す。これらのデータは、fAVS-6およびAVS-41が免疫原と主要な配列相同性を有さないポリペプチドによって形成されるアミロイドを検出することができる全般的な抗アミロイド反応を誘導することを示す。

10

【0048】

その他の実施形態

20

本発明はそれらの詳細な説明により解説されているが、前記記載は本発明を例示するものであって本発明の範囲を限定することを企図するものではない。本発明は特許請求の範囲の記載によって明確となる。他の態様、利点および変更は特許請求の範囲に記載される範囲内である。

【図面の簡単な説明】

【0049】

【図1】図1は、免疫付与から30日(A)および60日(B)後の血清の抗原線維のA 1-42反応性を示すグラフ図である。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US06/40085
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: A61K 39/00(2006.01) USPC: 424/185.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 424/185.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Public sequence databases, USPATFULL, DERWENT, USPGPUBS, USOCR, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 92/09695 A1 (E.I. DU PONT DE NEMOURS AND COMPANY) 11 June 1992 (11.06.1992), entire document.	1-4, 14, 21, 22, 24-27, 39, 40 and 42-45
A	US 5,985,242 A (FINDELS et al) 16 November 1999 (16.11.1999), entire document.	1-4, 14, 21, 22, 24-27, 39, 40 and 42-45
A	US 6,787,523 B1 (SCHENK) 07 September 2004 (07.09.2004), entire document.	1-4, 14, 21, 22, 24-27, 39, 40 and 42-45
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"B" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 13 April 2007 (13.04.2007)		Date of mailing of the international search report 15 MAY 2007
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer Gregory S. Emch <i>Felicia D. Roberts</i> Telephone No. (571) 272-1600 <i>for</i>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US06/40085

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material

a sequence listing

table(s) related to the sequence listing

h. format of material

on paper

in electronic form

c. time of filing/furnishing

contained in the international application as filed

filed together with the international application in electronic form

furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US06/40085

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

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please See Continuation Sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-4,14,21,22,24-27,39,40 and 42-45 to the extent of SEQ ID NO: 3

- Remark on Protest** The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
-

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/US06/40085**BOX III. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING**

This application contains the following inventions or groups of inventions, which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I, claims 1-4, 14, 21, 22, 24-27, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 3.

Group II, claims 1-4, 14, 21, 22, 24-27, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 4.

Group III, claims 1-4, 14, 21, 22, 24-27, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 5.

Group IV, claims 1-4, 14, 21, 22, 24-27, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 6.

Group V, claims 1-4, 14, 21, 22, 24-27, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 7.

Group VI, claims 1, 2, 5, 14, 21, 22, 24-26, 28, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 8.

Group VII, claims 1, 2, 5, 14, 21, 22, 24-26, 28, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 9.

Group VIII, claims 1, 2, 6, 7, 14, 21, 22, 24-26, 29, 30, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 1.

Group IX, claims 1, 2, 6, 7, 14, 21, 22, 24-26, 29, 30, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 2.

Group X, claims 1, 2, 8, 9, 14, 21, 22, 24-26, 31, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 12.

Group XI, claims 1, 2, 10, 11, 14, 21, 22, 24-26, 32, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 13.

Group XII, claims 1, 2, 12, 14, 21, 22, 24-26, 33, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of Sup35.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US06/40085

Group XIII, claims 1, 2, 12, 14, 21, 22, 24-26, 33, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of Ure2p.

Group XIV, claims 1, 2, 13, 14, 21, 22, 24-26, 34, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 15.

Group XV, claims 1, 2, 14, 15, 21, 22, 24-26, 35, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of HET-s protein.

Group XVI, claims 1, 2, 14, 16, 21, 22, 24-26, 36, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of a fungal hydrophobin.

Group XVII, claims 1, 2, 14, 17, 21, 22, 24-26, 37, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of a chaplin from *Streptomyces* spp.

Group XVIII, claims 1, 2, 14, 18, 21, 22, 24-26, 30, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 10.

Group XIX, claims 1, 2, 14, 18, 21, 22, 24-26, 30, 39, 40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of SEQ ID NO: 11.

Group XX, claims 1, 2, 14, 19-22, 24-26, 38-40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of FigB.

Group XXI, claims 1, 2, 14, 19-22, 24-26, 38-40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of FigC.

Group XXII, claims 1, 2, 14, 19-22, 24-26, 38-40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of FigG.

Group XXIII, claims 1, 2, 14, 19-22, 24-26, 38-40 and 42-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of FigE.

Group XXIV, claims 1, 2, 14, 21-26 and 39-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of Boc-beta-Ala-mABA-Ome.

Group XXV, claims 1, 2, 14, 21-26 and 39-45, is drawn to a method for inducing a generic anti-amyloid immune response in a mammal and composition thereof, to the extent of Boc-gamma-Abu-mABA-Ome.

The inventions listed as Groups I-XXV do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: Groups I-XXV are drawn to separate, distinct inventions and are distinguished from each other because the special technical features which define them by chemical and physical characteristics are different. These special technical features are not shared by each invention as evidenced by the different molecules recited by the claims. Since these special technical features are not shared by each invention and since the common features do not establish an advance over the prior art, the inventions of Groups I-XXV do not form a single inventive concept within the meaning of Rule 13.2.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 14/395 (2006.01)	C 0 7 K 14/395	
C 0 7 K 14/46 (2006.01)	C 0 7 K 14/46	
C 0 7 K 14/37 (2006.01)	C 0 7 K 14/37	
C 0 7 K 14/36 (2006.01)	C 0 7 K 14/36	
A 6 1 K 36/06 (2006.01)	A 6 1 K 35/72	
A 6 1 K 35/74 (2006.01)	A 6 1 K 35/74	Z
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1

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

(72)発明者 ゴールデ, トッド エリオット

アメリカ合衆国 3 2 0 8 2 フロリダ州, ポンテ ベドラ ビーチ, ポンテ ベドラ ブルバード 9 6 4

(72)発明者 ホルンシック, ルディ

アメリカ合衆国 3 2 2 2 4 フロリダ州, ジャクソンビル, サン パブロ ロード エス. 3 7 0 9 ナンバー 6 0 6

(72)発明者 ダス, プリタム

アメリカ合衆国 3 2 0 8 2 フロリダ州, ポンテ ベドラ ビーチ, インディアン コウブ レーン 1 1 7

Fターム(参考) 4C084 AA02 BA01 BA22 BA23 NA14 ZA161 ZB091

4C087 AA01 AA02 BC12 BC22 CA09 CA16 NA14 ZA16 ZB09

4H045 AA10 AA30

专利名称(译)	用于在哺乳动物中产生一般抗淀粉样蛋白免疫应答的方法和材料		
公开(公告)号	JP2009512644A	公开(公告)日	2009-03-26
申请号	JP2008535711	申请日	2006-10-11
[标]申请(专利权)人(译)	梅约医学教育与研究基金会		
申请(专利权)人(译)	梅奥基金会的医学教育和研究		
[标]发明人	ゴールデトッドエリオット ホルンシッケルディ ダスプリタム		
发明人	ゴールデ,トッド エリオット ホルンシッケ,ルディ ダス,プリタム		
IPC分类号	A61K38/00 C07K14/075 C07K14/47 C07K14/195 C07K14/245 C07K14/395 C07K14/46 C07K14/37 C07K14/36 A61K36/06 A61K35/74 A61P25/28 G01N33/53 A61P43/00 A61K39/00		
CPC分类号	A61K39/0007 A61K2039/55505 A61P25/28		
FI分类号	A61K37/02.ZNA C07K14/075 C07K14/47 C07K14/195 C07K14/245 C07K14/395 C07K14/46 C07K14 /37 C07K14/36 A61K35/72 A61K35/74.Z A61P25/28 G01N33/53.D A61P43/00.111		
F-TERM分类号	4C084/AA02 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/NA14 4C084/ZA161 4C084/ZB091 4C087 /AA01 4C087/AA02 4C087/BC12 4C087/BC22 4C087/CA09 4C087/CA16 4C087/NA14 4C087/ZA16 4C087/ZB09 4H045/AA10 4H045/AA30		
代理人(译)	荒井英一		
优先权	60/727296 2005-10-17 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

原纤维的聚集体多肽淀粉样变和包括辅剂，以及用于在哺乳动物中诱导的一般抗淀粉样蛋白免疫应答使用该组合物的组合物进行了描述。技术领域

