

(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2014-505014

(P2014-505014A)

(43) 公表日 平成26年2月27日(2014.2.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 14/755 (2006.01)	C07K 14/755 ZNA	4B024
C07K 19/00 (2006.01)	C07K 19/00	4B063
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 A	4C084
C12Q 1/02 (2006.01)	C12Q 1/02	4H045
A61K 38/36 (2006.01)	A61K 37/46	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 74 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2013-536845 (P2013-536845)	(71) 出願人	502178849
(86) (22) 出願日	平成23年10月27日 (2011.10.27)		バクスター、インターナショナル、インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成25年6月6日 (2013.6.6)		アメリカ合衆国60015イリノイ、ディヤフィールド、バクスターパークウェイ1
(86) 国際出願番号	PCT/US2011/058165	(71) 出願人	512107787
(87) 国際公開番号	W02012/058480		バクスター ヘルスケア エス. エー.
(87) 国際公開日	平成24年5月3日 (2012.5.3)		スイス国 グラットパーク (オブフィコン)
(31) 優先権主張番号	61/407, 402		サーガワーシュトラーセ130
(32) 優先日	平成22年10月27日 (2010.10.27)	(74) 代理人	100102978
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 清水 初志
(31) 優先権主張番号	61/502, 476	(74) 代理人	100102118
(32) 優先日	平成23年6月29日 (2011.6.29)		弁理士 春名 雅夫
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100160923
(31) 優先権主張番号	61/467, 894		弁理士 山口 裕孝
(32) 優先日	平成23年3月25日 (2011.3.25)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫寛容誘導および免疫診断のためのF V I I Iペプチド

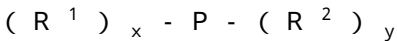
(57) 【要約】

本発明は、血友病Aなどを有する患者においてF V I I Iに対する免疫応答を低下させるためまたはヒトF V I I Iに対する寛容を誘導するために使用することができるペプチドに関する。さらに該ペプチドを、免疫診断目的で、F V I I I特異的C D 4 + T細胞を検出して補充療法中および免疫寛容誘導療法中の血友病Aを有する患者をモニターするために使用することもできる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

それを必要とする対象において F V I I I に対する免疫寛容を誘導する方法であって、
該対象に、



からなるアミノ酸配列を有するペプチドの治療有効量を投与するステップ

を含み、

式中、

P は、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、

R¹ は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

R² は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

x および y はそれぞれ独立して、0 または 1 である、

方法。

【請求項 2】

P が、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

P が、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

P が、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

P が、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

x および y がともに 0 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

x が 1 であり、y が 0 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

x が 0 であり、y が 1 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

x および y がともに 1 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記ペプチドが 9 ~ 100 個のアミノ酸からなる、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

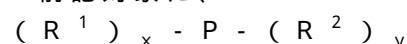
前記ペプチドが 9 ~ 50 個のアミノ酸からなる、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記ペプチドが 9 ~ 25 個のアミノ酸からなる、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 13】

前記対象に、



からなるアミノ酸配列を有する第 2 のペプチドの治療有効量を投与するステップ

をさらに含み、

式中、

P は、SEQ ID NO: 10、68、159、250、344、477、568、659、および 740 から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、

10

20

30

40

50

R^1 は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

R^2 は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

x および y はそれぞれ独立して、0または1である、

請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

前記薬学的組成物の投与が、前記対象における抗FVII抗体の発生を防止する、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項15】

前記薬学的組成物の投与が、前記対象中に存在する抗FVII抗体の量を減少させる、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項16】

アミノ酸配列：

$(R^1)_x - P - (R^2)_y$

からなる、ペプチドであって、

式中、

Pは、SEQ ID NO：344の少なくとも9個の連続するアミノ酸に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、

R^1 は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

R^2 は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

x および y はそれぞれ独立して、0または1である、

20

ペプチド。

【請求項17】

Pが、SEQ ID NO：344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項16に記載のペプチド。

【請求項18】

Pが、SEQ ID NO：344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項16に記載のペプチド。

【請求項19】

Pが、SEQ ID NO：344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項16に記載のペプチド。

30

【請求項20】

Pが、SEQ ID NO：344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である、請求項16に記載のペプチド。

【請求項21】

x および y がともに0である、請求項16～20のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項22】

x が1であり、 y が0である、請求項16～20のいずれか1項に記載のペプチド。

40

【請求項23】

x が0であり、 y が1である、請求項16～20のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項24】

x および y がともに1である、請求項16～20のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項25】

9～100個のアミノ酸からなる、請求項16～20のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項26】

9～50個のアミノ酸からなる、請求項25に記載のペプチド。

【請求項27】

50

9 ~ 25 個のアミノ酸からなる、請求項 25 に記載のペプチド。

【請求項 28】

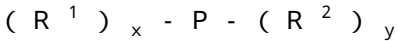
請求項 16 ~ 27 のいずれか 1 項に記載のペプチドを含む、組成物。

【請求項 29】

薬学的投与のために製剤化される、請求項 28 に記載の組成物。

【請求項 30】

アミノ酸配列：



からなる第 2 のポリペプチドをさらに含み、

式中、

P は、SEQ ID NO: 10、68、159、250、344、477、568、659、および 740 から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、

R¹ は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

R² は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

x および y はそれぞれ独立して、0 または 1 である、

請求項 28 または 29 に記載の組成物。

10

【請求項 31】

(a) 請求項 16 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の F V I I I ペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む細胞の培養物を供給するステップ、および

20

(b) 該細胞の培養物において該ペプチドを発現させるステップを含む、F V I I I ペプチドを作製する方法。

【請求項 32】

(a) M H C クラス I I 多量体と複合体を形成したペプチドと複数の C D 4⁺ T 細胞を混合するステップであって、該ペプチドが、請求項 16 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の F V I I I ペプチドである、ステップ、および

(b) 該 M H C クラス I I 多量体と複合体を形成した該ペプチドに対して特異的な該複数の C D 4⁺ T 細胞のメンバーのうち少なくとも 1 つを特定するステップ

を含む、F V I I I ペプチド特異的 T 細胞を特定する方法。

30

【請求項 33】

前記 M H C クラス I I 多量体が M H C クラス I I 四量体である、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

前記ペプチドまたは前記 M H C クラス I I 多量体が検出可能部分をさらに含む、請求項 32 または 33 に記載の方法。

【請求項 35】

前記ペプチドに対して特異的な少なくとも 1 つの前記 C D 4⁺ T 細胞を単離するステップをさらに含む、請求項 32 ~ 34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 36】

フローサイトメトリーを用いて前記 C D 4⁺ T 細胞を単離する、請求項 35 に記載の方法。

40

【請求項 37】

請求項 16 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の第 V I I I 因子ペプチドと、

第 2 のペプチドと

を含む、融合タンパク質。

【請求項 38】

前記第 2 のペプチドがレポーターペプチドである、請求項 37 に記載の融合タンパク質

。

【請求項 39】

核酸によってコードされる、請求項 37 または 38 に記載の融合タンパク質。

50

【請求項 40】

前記 F V I I I ペプチドが前記第 2 のペプチドと化学的に連結している、請求項 37 または 38 に記載の融合タンパク質。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2010年10月27日に出願された米国仮特許出願第61/407,402号、2011年3月25日に出願された米国仮特許出願第61/467,894号、および2011年6月29日に出願された米国仮特許出願第61/502,476号に基づく優先権を主張するものであり、前記出願の開示内容は参照によりあらゆる目的で全体が本明細書に援用される。

10

【0002】

合衆国政府に支援された研究または開発の下でなされた発明の権利に関する陳述

該当なし。

【0003】

コンパクトディスクで提出された付属書類の「配列リスト」、表、またはコンピュータプログラム一覧の参照

該当なし。

【背景技術】

20

【0004】

発明の背景

第 V I I I 因子 (F V I I I) は、血漿中に見られるタンパク質であり、血液凝固をもたらす反応のカスケードにおいて補因子として機能する。血友病 A は、機能的 F V I I I タンパク質の減少または欠乏によって引き起こされ、およそ 5000 人 ~ 10000 人に 1 人の男性が侵される最も一般的な出血性障害である。血友病の臨床症状は、高頻度の筋肉内および関節内出血であり、外傷が命にかかわる状況につながる恐れすらある。現在、血友病の有効な治療には、組換えまたは血漿由来の F V I I I 製剤の静脈内適用を用いた、不足している F V I I I タンパク質の補充がある。このような製剤は、一般に、出血症状の発現に対して投与されるか (オンデマンド療法)、または制御不良の出血を防ぐために高頻度の定期的間隔で投与される (予防)。残念なことに、中和抗 F V I I I 抗体 (F V I I I 阻害物質) の出現は、F V I I I 製剤による補充療法における主な合併症である。治療を受けている患者のおよそ 25% は、F V I I I タンパク質に対するこの免疫を生じ、そのためさらに出血を制御することが非常に困難になる。

30

【0005】

F V I I I タンパク質に対するこの免疫応答の原因は完全には解明されていないが、患者の免疫系の特性は、治療反応に影響を与える恐れがある。通常は、免疫系は特定の抗原、例えば「自己」抗原に対する寛容を生じる。この特性がなければ、自己抗原が外来抗原として認識された場合に自己免疫疾患が生じるため、この特性は重要である。とりわけ、血友病 A の患者は、F V I I I 遺伝子に遺伝子異常を有し、これにより免疫系は投与された F V I I I タンパク質を「自己」抗原として認識しない。したがって、凝固因子補充療法において F V I I I タンパク質が投与されたとき、患者の免疫系は、F V I I I タンパク質を外來抗原または変性自己タンパク質として認識し、それに応じて抗 F V I I I 抗体を発生する。

40

【0006】

F V I I I 阻害物質、すなわち抗 F V I I I 抗体は、F V I I I 特異的 B 細胞由来の形質細胞によって生成される。B 細胞は、増殖して、抗 F V I I I 抗体を生成する形質細胞に分化するために、活性化 C D 4 + T 細胞の助けを必要とする。例えば、F V I I I タンパク質は、B リンパ球および T リンパ球によって異なる方式で認識される。抗 F V I I I 抗体の誘導は、T ヘルパー細胞に依存する。B 細胞は、全タンパク質エピトープをその特

50

異的B細胞受容体によって認識する。一方T細胞は、抗原提示細胞の表面に存在するMHCクラスII分子と複合体を形成した、プロセッシングされたペプチドの形で、タンパク質を認識する。それぞれのCD4⁺T細胞クローンは、1つのみの特異的ペプチド-MHC複合体を認識する。ペプチドをT細胞に提示するために、MHCクラスII分子は、様々な長さのペプチドを収め、細胞表面に提示させる、開放した結合溝を有する。さらに、MHCクラスIIタンパク質は、種々のハプロタイプのための異なる4つの結合ポケットを含む(Jones et al., Nature Rev. Immunol. 6: 271-282 (2006) (非特許文献1))。特定のアミノ酸のみがこれらの結合ポケット内に収まり、結合ペプチドの最小サイズはアミノ酸9個である。特に、異なるMHCクラスIIハプロタイプは、異なるペプチドを提示することができる。したがって、患者のMHCクラスIIハプロタイプが、抗FVII抗体を発生する危険性に影響を及ぼす可能性が高い。実際に、いくつかの研究は、ヒトMHCクラスIIハプロタイプHLA-DRB1*1501と抗FVII抗体発生の危険性の増加との相関が存在することを示している(Pavlova et al., J. Thromb. Haemost. 7: 2006-2015 (2009) (非特許文献2)、Oldenburg et al., Thromb. Haemost. 77: 238-242 (1997) (非特許文献3)、Hay et al., Thromb. Haemost. 77: 234-237 (1997) (非特許文献4))。

10

【0007】

特定のアプローチが、FVIIタンパク質投与による血友病の治療に関連する困難に対処するために研究されている。例えば、WO 03/087161 (特許文献1)は、タンパク質上に存在する潜在的T細胞エピトープの数を減少または排除することによってFVIIタンパク質の免疫特性が改変された、改変FVIIタンパク質を開示している。FVIIタンパク質に沿ってT細胞エピトープを含む複数の領域が特定されているが、これには例えばFVII²⁰³⁰⁻²⁰⁴⁴が含まれる。この開示によると、そのような領域の除去は、抗FVII抗体の生成を誘導しない機能的FVIIタンパク質を提供するために使用できる。また、WO 09/071886 (特許文献2)も、患者の免疫応答に關与するHLA-DR2結合ペプチドを生じると予想されるFVIIタンパク質の特定の領域、例えば、FVII⁴⁷⁵⁻⁴⁹⁵、FVII⁵⁴²⁻⁵⁶²、FVII¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵、およびFVII²¹⁵⁸⁻²¹⁷⁸を開示している。これらのペプチドは、患者の免疫寛容の誘導における使用可能性のために特定された。

20

30

【0008】

免疫応答に關与するFVIIタンパク質の領域の特定においては進歩が見られるが、例えば、血友病Aなどを有する患者を治療するために使用することができる他の治療用ペプチドおよび手法を開発するために使用することができるFVIIタンパク質の他の領域を特定する必要性は依然として存在する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】WO 03/087161

【特許文献2】WO 09/071886

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】Jones et al., Nature Rev. Immunol. 6: 271-282 (2006)

【非特許文献2】Pavlova et al., J. Thromb. Haemost. 7: 2006-2015 (2009)

【非特許文献3】Oldenburg et al., Thromb. Haemost. 77: 238-242 (1997)

【非特許文献4】Hay et al., Thromb. Haemost. 77: 234

40

50

- 237 (1997)

【発明の概要】

【0011】

本発明は、F V I I I 分子に対する免疫応答に関連する F V I I I タンパク質の領域の特定に基づく。より具体的には、F V I I I タンパク質のその領域を含む F V I I I ペプチドは、血友病 A などを有する患者において、ヒト F V I I I に対する寛容を誘導するために使用することができる。さらに、この F V I I I ペプチドは、免疫診断目的で、補充療法中および免疫寛容誘導療法中の血友病 A を有する患者をモニターするために使用することもできる。

【0012】

一態様において、本発明は、それを必要とする対象において F V I I I に対する免疫寛容を誘導する方法を提供し、この方法は、該対象に、 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ からなるアミノ酸配列を有するペプチドの治療有効量を投与するステップを含み、式中、P が、SEQ ID NO: 10、68、344、および 740 から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である。

10

【0013】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 10 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列である。

20

【0014】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 10 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0015】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 68 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0016】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 68 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列である。

30

【0017】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 68 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0018】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列である。

40

【0019】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0020】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0021】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 344 の少

50

なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0022】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO : 740 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85 % の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0023】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO : 740 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0024】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO : 740 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95 % の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0025】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO : 740 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0026】

上記で提供される方法の一実施形態において、x および y はともに 0 である。

【0027】

上記で提供される方法の一実施形態において、x は 1 であり、y は 0 である。

【0028】

上記で提供される方法の一実施形態において、x は 0 であり、y は 1 である。

【0029】

上記で提供される方法の一実施形態において、x および y はともに 0 である。

【0030】

上記で提供される方法の一実施形態において、ペプチドは 9 ~ 100 個のアミノ酸からなる。

【0031】

上記で提供される方法の一実施形態において、ペプチドは 9 ~ 50 個のアミノ酸からなる。

【0032】

上記で提供される方法の一実施形態において、ペプチドは 9 ~ 25 個のアミノ酸からなる。

【0033】

上記で提供される方法の一実施形態において、薬学的組成物の投与は、対象における抗 F V I I I 抗体の発生を防止する。

【0034】

上記で提供される方法の一実施形態において、薬学的組成物の投与は、対象中に存在する抗 F V I I I 抗体の量を減少させる。

【0035】

一態様において、本発明は、アミノ酸配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ からなり、式中、P が、SEQ ID NO : 10、68、159、250、344、477、568、659、および 740 から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85 % の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ペプチドを提供する。

【0036】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、P は、SEQ ID NO : 10 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列である。

10

20

30

40

50

【0037】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 10の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0038】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 68の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0039】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 68の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。

10

【0040】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 68の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0041】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0042】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。

20

【0043】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0044】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0045】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。

30

【0046】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0047】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。

40

【0048】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0049】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、xおよびyはともに0である。

【0050】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、xは1であり、yは0である。

【0051】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、xは0であり、yは1である。

50

【0052】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、 x および y はともに0である。

【0053】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、ペプチドは9～100個のアミノ酸からなる。

【0054】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、ペプチドは9～50個のアミノ酸からなる。

【0055】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、ペプチドは9～25個のアミノ酸からなる。

10

【0056】

一態様において、本発明は、本明細書に記載するペプチドを含む組成物を提供する。

【0057】

上記で提供される組成物の一実施形態において、組成物は薬学的投与のために製剤化される。

【0058】

上記で提供される組成物の一実施形態において、組成物は第2のポリペプチドをさらに含み、該第2のポリペプチドは、アミノ酸配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ からなり、式中、 P は、SEQ ID NO: 10、68、159、250、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 x および y はそれぞれ独立して、0または1である。

20

【0059】

一態様において、本発明は、FVIIIペプチドを作製する方法を提供し、この方法は、(a)請求項24～41のいずれか1項に記載のFVIIIペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む細胞の培養物を供給するステップ、および(b)該細胞の培養物において該ペプチドを発現させるステップを含む。

【0060】

一態様において、本発明は、FVIIIペプチド特異的T細胞を特定する方法を提供し、この方法は、(a)MHCクラスII多量体と複合体を形成した該ペプチドと複数のCD4+T細胞を混合するステップであって、該ペプチドが、請求項24～41のいずれか1項に記載のFVIIIペプチドである、ステップ、および(b)MHCクラスII多量体と複合体を形成した該ペプチドに対して特異的な該複数のCD4+T細胞のメンバーのうち少なくとも1つを特定するステップを含む。

30

【0061】

上記で提供される方法の一実施形態において、MHCクラスII多量体はMHCクラスII四量体である。

【0062】

上記で提供される方法の一実施形態において、ペプチドまたはMHCクラスII多量体は、検出可能部分をさらに含む。

40

【0063】

上記で提供される方法の一実施形態において、方法は、当該ペプチドに対して特異的な少なくとも1つのCD4+T細胞を単離するステップをさらに含む。

【0064】

上記で提供される方法の一実施形態において、CD4+T細胞はフローサイトメトリーを用いて単離される。

【0065】

一態様において、本発明は、本明細書において提供されるFVIIIペプチドと第2の

50

ペプチドとを含む融合タンパク質を提供する。

【0066】

上記で提供される方法の一実施形態において、第2のペプチドはレポーターペプチドである。

【0067】

上記で提供される方法の一実施形態において、融合タンパク質は核酸によってコードされる。

【0068】

上記で提供される方法の一実施形態において、FVIIIペプチドは第2のペプチドと化学的に連結している。

【0069】

一態様において、本明細書において提供されるFVIIIペプチドを使用して、FVIII阻害物質の発生を防止するためにヒトFVIIIに対する免疫寛容を誘導する。

【0070】

一態様において、本明細書において提供されるFVIIIペプチドを使用して、確立されたFVIII阻害物質を有する患者を治療するためにヒトFVIIIに対する寛容を誘導する。

【0071】

一態様において、本明細書において提供されるFVIIIペプチドを使用して、補充療法中または免疫寛容誘導療法中の患者の免疫モニタリングにおけるFVIII特異的T細胞の直接染色に好適な試薬（例えば、MHCクラスII多量体またはMHCクラスII四量体）を作成する。

【0072】

一態様において、本明細書において提供されるFVIIIペプチドを使用して、抗原特異的T細胞を特定する。一実施形態において、これらの試薬を使用して、インビトロ環境およびエクスピボ環境でFVIII特異的T細胞を追跡することができる。別の実施形態において、これらの試薬を使用して、FVIII特異的T細胞を単離し、さらに特徴付けることができる。一実施形態において、これらの目的で蛍光活性化細胞選別法（FACS）または単一細胞PCRを使用することができる。

【0073】

一態様において、免疫寛容誘導療法中のFVIII特異的T細胞の免疫モニタリングに、本明細書において提供されるFVIIIペプチドを使用することができる。

【0074】

一態様において、FVIII治療中のFVIII特異的T細胞の免疫モニタリングに、本明細書において提供されるFVIIIペプチドを使用することができる。

【0075】

一態様において、本明細書において提供されるFVIIIペプチドは、FVIII阻害物質を阻止するための新しい免疫調節薬の臨床開発において、FVIII特異的T細胞の免疫診断に使用される。

【発明を実施するための形態】

【0076】

発明の詳細な説明

I. 序論

本発明は、例えば血友病Aを有する患者において、FVIIIタンパク質に対する寛容を誘導するために使用することができる可第VIII因子（FVIII）ペプチドに関する。さらに、このペプチドは、補充療法中および免疫寛容誘導療法中の血友病Aを有する患者におけるFVIII特異的T細胞をモニターするために、免疫診断目的で使用することもできる。

【0077】

本発明は、部分的に、FVIIIのいくつかの領域、具体的にはFVIII¹⁰²⁻¹

10

20

30

40

50

² ²、F V I I I ² ⁴ ⁶ - ² ⁶ ⁶、およびF V I I I ¹ ⁴ ⁰ ¹ - ¹ ⁴ ² ⁴が、第V I I I 因子補充療法中にF V I I I タンパク質に対して開始される免疫応答に關与する、あるいは後天性血友病と關連するという発見に基づく。特定されたそれらの領域のアミノ酸配列は、それぞれ TVVITLKNMASHPVS LHAVGV (SEQ ID NO:740), AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68), および QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

である。本発明は、これらのF V I I I タンパク質領域の初めての特定、およびそれらの領域とF V I I I タンパク質に対する免疫応答との關係を提供すると考えられている。

【0078】

本発明のペプチドは、MHCクラスII分子と複合体を形成して、患者の免疫応答に關与するT細胞によって認識可能なT細胞エピトープを生成する領域であるF V I I I ¹ ⁰ ² - ¹ ² ²、F V I I I ² ⁴ ⁶ - ² ⁶ ⁶、およびF V I I I ¹ ⁴ ⁰ ¹ - ¹ ⁴ ² ⁴の少なくとも一部を有するペプチドを含む。一部の実施形態において、このペプチドは、F V I I I ¹ ⁰ ² - ¹ ² ²、F V I I I ² ⁴ ⁶ - ² ⁶ ⁶、またはF V I I I ¹ ⁴ ⁰ ¹ - ¹ ⁴ ² ⁴中の9個の連続アミノ酸に対応する、少なくとも9個の連続アミノ酸を含む。下記でさらに説明するように、本明細書において提供されるペプチドは、9アミノ酸長よりも長いペプチド、ならびにF V I I I ¹ ⁰ ² - ¹ ² ²、F V I I I ² ⁴ ⁶ - ² ⁶ ⁶、およびF V I I I ¹ ⁴ ⁰ ¹ - ¹ ⁴ ² ⁴配列の変異体も含む。本発明のペプチドのそのような特定は、血友病Aなどの血液凝固に關連する疾患を治療するための治療方針の改善および発展に影響を与え得る。

【0079】

II. 定義

「第V I I I 因子タンパク質」または「F V I I I タンパク質」という用語は、Bドメインの少なくとも一部が無傷であり、天然のヒトF V I I I タンパク質に關連する生物活性を示す、あらゆるF V I I I 分子を指す。F V I I I 分子は、全長F V I I I であってもよい。また、F V I I I 分子は、天然のF V I I I の保存的に改変された変異体であってもよい。F V I I I タンパク質は、ヒト血漿由来であっても、組換え技術によって生成されたものでもよい。F V I I I タンパク質のさらなる特徴付けは、例えば、米国特許第2010/0168018号の段落[0042]~[0055]に記載されており、これは参照により本明細書に援用される。

【0080】

「第V I I I 因子ペプチド」または「F V I I I ペプチド」という用語は、F V I I I に対する免疫応答において重要であることが発見されたF V I I I タンパク質の領域に対応するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載されるペプチドを指す。F V I I I ペプチドは、MHCクラスIIタンパク質と複合体を形成して免疫応答に關与するT細胞に提示される、少なくとも9個のアミノ酸を含む。このペプチドの少なくとも9個のアミノ酸コアのいずれか一端に付加的なアミノ酸が存在してもよい。一部の実施形態において、F V I I I ペプチドは、天然のヒトF V I I I タンパク質の特定の領域と同一の配列を含んでもよい。他の実施形態において、F V I I I ペプチドは、F V I I I タンパク質の領域の保存的に改変された変異体であってもよい。本明細書においてさらに説明するように、F V I I I ペプチドは、天然ヒトF V I I I タンパク質の領域の配列に対する特定の同一性パーセント、例えば85%同一などによって特徴付けることができる。

【0081】

「アミノ酸」という用語は、天然に存在するアミノ酸、および天然に存在するアミノ酸と同様に機能する、アミノ酸類似体およびアミノ酸模倣体を含む非天然アミノ酸を指す。天然に存在するアミノ酸には、遺伝暗号によってコードされたもの、ならびにのちに修飾されたアミノ酸、例えば、ヒドロキシプロリン、γ-カルボキシグルタメート、およびO-ホスホセリンがある。天然に存在するアミノ酸は、例えば、D-アミノ酸およびL-アミノ酸を含み得る。本明細書において使用するアミノ酸は、非天然アミノ酸も含んでよい

10

20

30

40

50

。アミノ酸類似体とは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を有する化合物、すなわち水素、カルボキシル基、アミノ基、およびR基に結合した任意の炭素、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、またはメチオニンメチルスルホニウムを指す。このような類似体は、改変されたR基（例えば、ノルロイシン）または改変されたペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を保持する。アミノ酸模倣体は、アミノ酸の一般的化学構造と異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様に機能する化合物を指す。アミノ酸は、本明細書において、一般に知られている3文字表記またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字表記のいずれかで言及することがある。ヌクレオチドは、同様に、それらの一般に認められている1文字コードで言及することがある。

10

【0082】

「保存的に改変された変異体」は、アミノ酸および核酸の両配列に適用される。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された変異体は、同一または本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸を指し、あるいは核酸がアミノ酸配列をコードしない場合、本質的に同一の配列を指す。遺伝暗号の縮重により、多数の機能的に同一の核酸が任意の所定のペプチドをコードする。例えば、コドンGCA、GCC、GCG、およびGCUは、全てアミノ酸アラニンをコードする。したがって、コドンによってアラニンが指定される全ての位置で、そのコドンを、コードされるポリペプチドを変更することなく記載した対応するコドンのいずれかに変更することができる。そのような核酸変異は「サイレント変異」であり、これは保存的に改変された変異の一種である。本明細書におけるポリペプチドをコードする全ての核酸配列は、その核酸の全ての考えられるサイレント変異も表す。当業者は、核酸中の各コドン（通常メチオニンの唯一のコドンであるAUGと、通常トリプトファンの唯一のコドンであるTGGを除く）を改変して機能的に同一な分子が得られることを理解するであろう。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、発現産物については記載した各配列に暗示されるが、実際のプローブ配列についてはそうではない。

20

【0083】

アミノ酸配列に関して、当業者は、コードされた配列中の単一のアミノ酸またはわずかな比率のアミノ酸を変更、付加、または欠失させる、核酸もしくはペプチド配列に対する個々の置換、欠失、または付加が、その変更によってアミノ酸を化学的に類似するアミノ酸に置換することになる「保存的に改変された変異体」であることを理解するであろう。機能的に類似するアミノ酸を提示する保存的置換表は、当技術分野で周知である。保存的に改変されたそのような変異体は、本発明の多型変異体、種間相同体、および対立遺伝子に加えられるものであり、これらを排除するものではない。

30

【0084】

以下の8つの群はそれぞれ、互いに保存的置換体であるアミノ酸を含む：(1)アラニン(A)、グリシン(G)；(2)アスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)；(3)アスパラギン(N)、グルタミン(Q)；(4)アルギニン(R)、リジン(K)；(5)イソロイシン(I)、ロイシン(L)、メチオニン(M)、バリン(V)；(6)フェニルアラニン(F)、チロシン(Y)、トリプトファン(W)；(7)セリン(S)、スレオニン(T)；および(8)システイン(C)、メチオニン(M)。例えば、Creighton, Proteins (1984)を参照されたい。

40

【0085】

2つ以上の核酸配列またはペプチド配列に関連して、「同一の」または「同一性」パーセントという用語は、BLASTまたはBLAST 2.0配列比較アルゴリズムを後述のデフォルトパラメータで用いて、あるいは手作業によるアラインメントおよび目視検査によって測定したときに、同じであるか、または指定されたパーセンテージの同じアミノ酸残基またはヌクレオチドを有する（すなわち、比較ウィンドウまたは指定領域にわたって比較し、最大限の一致が得られるようにアラインメントしたときの、指定領域にわたる

50

約60%の同一性、好ましくは65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれ以上の同一性)、2つ以上の配列またはサブ配列を指す。

【0086】

「治療有効量もしくは用量」または「十分な量もしくは用量」は、本明細書において、投与した目的の効果を生じる用量を意味する。正確な用量は、治療の目的によって異なり、既知の手法を用いて当業者により確定可能である(例えば、Augsburger & Hoag, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 3rd Ed., 2008)、Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (3rd Ed., 2008)、Pickar, Dosage Calculations (8th Ed., 2007)、および Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., 2005, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkinsを参照)。

10

【0087】

III. FVIIIPeptid

本発明は、FVIIIPeptidに対する免疫応答に關与するFVIIIPeptidタンパク質の領域に対応するFVIIIPeptidに關連する。一態様において、本発明は、アミノ酸配列: AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68); QANRSLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344);または TVVITLKNMASHPVSLHAVGV (SEQ ID NO:740)

20

のうちの1つにおける9個の連続するアミノ酸と少なくとも85%同一である連続する9個のアミノ酸の配列からなるFVIIIPeptidであって、9~180個のアミノ酸からなるFVIIIPeptidを提供する。

【0088】

具体的な実施形態において、FVIIIPeptidは、配列: $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pは、SEQ ID NO: 68、344、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R¹は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyはそれぞれ独立して、0または1である。一実施形態において、R¹は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

30

【0089】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31

40

50

個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【0090】

一実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0091】

一般に、本発明のFV I I I ペプチドは、特定された領域のFV I I I¹⁰²⁻¹²²、FV I I I²⁴⁶⁻²⁶⁶、またはFV I I I¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴、あるいは例えば、FV I I I¹⁰²⁻¹²²、FV I I I²⁴⁶⁻²⁶⁶、またはFV I I I¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴と類似する、または同一の保持された機能を有することができる変更された変異体中に存在する任意のアミノ酸配列を含んでもよい。とりわけ、本発明のFV I I I ペプチドは、T細胞エピトープを含むアミノ酸の配列を含む。FV I I I ペプチドは、アミノ酸配列

AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68);

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344); または TVVITLKNMASHPVSLHAVGV

(SEQ ID NO:740)

に対するパーセント同一性に幅があってもよい、少なくとも9個のアミノ酸の配列を含む。例えば、FV I I I ペプチドは、FV I I I¹⁰²⁻¹²²、FV I I I²⁴⁶⁻²⁶⁶、またはFV I I I¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴中の任意の9個の連続するアミノ酸と同一、または少なくとも50%、60%、70%、80%、もしくは85%同一である9個のアミノ酸を有してもよい。

【0092】

別の実施形態群において、FV I I I ペプチドは、9個のアミノ酸よりも長いアミノ酸配列を有してもよく、このアミノ酸配列は、FV I I I¹⁰²⁻¹²²、FV I I I²⁴⁶⁻²⁶⁶、またはFV I I I¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴中の連続するアミノ酸の配列と同一、または少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一であってもよい領域を含む。当業者は、アラニン置換などの既知の突然変異誘発技術を用いて、FV I I I¹⁰²⁻¹²²、FV I I I²⁴⁶⁻²⁶⁶、またはFV I I I¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴領域の機能を保持する変更された変異体を特定できることを理解するであろう。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 3 】

さらに、F V I I I ペプチドは、上述のF V I I I ペプチドのコア配列のいずれか一端に付加的なアミノ酸配列をさらに含んでもよい。この付加的な配列は、 $(R^1)_x$ および $(R^2)_y$ と指定される。特定の実施形態において、 R^1 および R^2 は、1 ~ 約 80 の範囲のアミノ酸長であってよい。あるいは、 R^1 および R^2 は、1 ~ 約 40 の範囲のアミノ酸長であってよい。特定の実施形態において、添字 x および y はそれぞれ独立して、0 または 1 である。一部の実施形態において、 x および y はともに 0 であってよい。他の実施形態において、 x は 1 であってよく、 y は 0 であってよい。さらに他の実施形態において、 x は 0 であってよく、 y は 1 であってよい。別の実施形態において、 x および y はともに 1 であってよい。いずれか一端の付加的なアミノ酸は、様々な目的で付加することができ、これにはペプチドの安定性の増加、MHC クラス II 分子および / または T 細胞との結合の向上、ならびに当業者が理解するであろう他の態様が含まれる。

10

【 0 0 9 4 】

一実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、 P が、表 1 において特定される第 V I I I 因子領域の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85 % の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ポリペプチドを提供する。あるいは、 R^1 および R^2 は、1 ~ 約 40 の範囲のアミノ酸長であってよい。一実施形態において、 P は、表 1 において特定される第 V I I I 因子領域の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列である。別の実施形態において、 P は、表 1 において特定される第 V I I I 因子領域の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一部の実施形態において、 x および y はともに 0 であってよい。他の実施形態において、 x は 1 であってよく、 y は 0 であってよい。他の実施形態において、 x は 0 であってよく、 y は 1 であってよい。さらに別の実施形態において、 x および y はともに 1 であってよい。一実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 150 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 100 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 50 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 25 個のアミノ酸からなる。

20

30

【 0 0 9 5 】

(表 1) T 細胞エピトープを含む F V I I I の領域

T細胞エピトープを含む領域	アミノ酸配列
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹	TVVITLKNMASHPVSLHA (SEQ ID NO:10)
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶	AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴	GEVGD TLLIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰	PTKSDPRCLTRYSSFVNMER (SEQ ID NO:250)
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵	EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵	LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰	NPPIIARYIRLHPHTYSIRST (SEQ ID NO:659)
FVIII ¹⁰²⁻¹²²	TVVITLKNMASHPVSLHAVGV (SEQ ID NO:740)

40

【 0 0 9 6 】

50

上述のように、本発明の F V I I I ペプチドは、F V I I I¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ の特定された領域、あるいは例えば、F V I I I¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ と類似する、または同一の保持された機能を有することができる改変された変異体中に存在する任意のアミノ酸配列を含んでもよい。特定の実施形態において、このペプチドは、ヒト F V I I I タンパク質の B ドメイン全体を包含してもよい。また、本発明は、アミノ酸配列：

GEVGDLLLIFKNQASRPYNI (FVIII⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴; SEQ ID NO:159),

PTKSDPRCLTRYSSFVNMER (FVIII⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰; SEQ ID NO:250),

EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (FVIII¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵; SEQ ID NO:477),

LHAGMSTLFLVYSNKCQTPGLG (FVIII²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵; SEQ ID NO:568),

NPPIIARYIRLHPHYSIRST (FVIII²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰; SEQ ID NO:659), TVVITLKNMASHPVSLSHA

(FVIII¹⁰²⁻¹¹⁹; SEQ ID NO:10), AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (FVIII²⁴⁶⁻²⁶⁶; SEQ ID NO:68),

および TVVITLKNMASHPVSLSHAVGV (FVIII¹⁰²⁻¹²²; SEQ ID NO:740)

のうちのいずれか 1 つに対するパーセント同一性に幅があってもよい、少なくとも 9 個のアミノ酸の配列を有するペプチドを含む、他の F V I I I ペプチドも含み得る。

【0097】

例えば、F V I I I⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴、F V I I I⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰、F V I I I¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵、F V I I I²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵、F V I I I²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰、F V I I I¹⁰²⁻¹¹⁹、F V I I I²⁴⁶⁻²⁶⁶、または F V I I I¹⁰²⁻¹²² 中の任意の 9 個の連続するアミノ酸と同一、または少なくとも 50%、60%、70%、80%、もしくは 85% 同一である 9 個のアミノ酸を有する、F V I I I ペプチド。別の実施形態群において、F V I I I ペプチドは、9 個のアミノ酸よりも長いアミノ酸配列を有してもよく、このアミノ酸配列は、F V I I I⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴、F V I I I⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰、F V I I I¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵、F V I I I²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵、F V I I I²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰、F V I I I¹⁰²⁻¹¹⁹、F V I I I²⁴⁶⁻²⁶⁶、または F V I I I¹⁰²⁻¹²² 中の任意の 9 個の連続するアミノ酸と同一、または少なくとも 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一であってもよい。当業者は、アラニン置換などの既知の突然変異誘発技術を用いて、F V I I I⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴、F V I I I⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰、F V I I I¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵、F V I I I²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵、F V I I I²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰、F V I I I¹⁰²⁻¹¹⁹、F V I I I²⁴⁶⁻²⁶⁶、または F V I I I¹⁰²⁻¹²² 領域の機能を保持する改変された変異体を特定できることを理解するであろう。本明細書において開示される F V I I I ペプチドは、F V I I I¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ に関連して F V I I I ペプチドについて上述した方法を用いて作成することができる。

【0098】

A. 第 V I I I 因子¹⁰²⁻¹¹⁹ ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 (R¹)_x - P - (R²)_y を有するポリペプチドであって、式中、P が、配列：

TVVITLKNMASHPVSLSHA (SEQ ID NO:10)

を有する第 V I I I 因子¹⁰²⁻¹¹⁹ ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、R¹ が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R² が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ポリペプチドを提供する。

【0099】

一実施形態において、P は、配列：

TVVITLKNMASHPVSLSHA (SEQ ID NO:10)

を有する第VII因子¹⁰²⁻¹¹⁹ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 1~55 (SEQ ID NO: 10) から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 1~55 から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 1~55 から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

10

【0100】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

【0101】

特定の実施形態において、R¹は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。一実施形態において、FVIIペプチドは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIペプチドは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、

40

50

135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、
175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0102】

(表2) 例示的 F V I I I¹⁰² - 119 ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -1	TVVITLKNM	1
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -2	TVVITLKNMA	2
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -3	TVVITLKNMAS	3
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -4	TVVITLKNMASH	4
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -5	TVVITLKNMASHP	5
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -6	TVVITLKNMASHPV	6
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -7	TVVITLKNMASHIPVS	7
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -8	TVVITLKNMASHIPVSL	8
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -9	TVVITLKNMASHIPVSLH	9
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -10	TVVITLKNMASHIPVSLHA	10
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -11	VVITLKNMA	11
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -12	VVITLKNMAS	12
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -13	VVITLKNMASH	13
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -14	VVITLKNMASHP	14
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -15	VVITLKNMASHPV	15
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -16	VVITLKNMASHPVS	16
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -17	VVITLKNMASHPVSL	17
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -18	VVITLKNMASHPVSLH	18
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -19	VVITLKNMASHPVSLHA	19
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -20	VITLKNMAS	20
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -21	VITLKNMASH	21
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -22	VITLKNMASHP	22
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -23	VITLKNMASHPV	23
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -24	VITLKNMASHPVS	24
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -25	VITLKNMASHPVSL	25
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -26	VITLKNMASHPVSLH	26
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -27	VITLKNMASHPVSLHA	27
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -28	ITLKNMASH	28
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -29	ITLKNMASHP	29
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -30	ITLKNMASHPV	30
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -31	ITLKNMASHPVS	31
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -32	ITLKNMASHPVSL	32
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -33	ITLKNMASHPVSLH	33
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -34	ITLKNMASHPVSLHA	34
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -35	TLKNMASHP	35
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -36	TLKNMASHPV	36
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -37	TLKNMASHPVS	37
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -38	TLKNMASHPVSL	38
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -39	TLKNMASHIPVSLH	39
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -40	TLKNMASHIPVSLHA	40
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -41	LKNMASHPV	41
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -42	LKNMASHPVS	42
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -43	LKNMASHPVSL	43
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -44	LKNMASHPVSLH	44
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -45	LKNMASHPVSLHA	45
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -46	KNMASHPVS	46
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -47	KNMASHPVSL	47
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -48	KNMASHPVSLH	48
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -49	KNMASHPVSLHA	49
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -50	NMASHPVSL	50
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -51	NMASHPVSLH	51
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -52	NMASHPVSLHA	52
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -53	MASHPVSLH	53
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -54	MASHPVSLHA	54
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹ -55	ASHPVSLHA	55

10

20

30

40

B. 第VIIII因子^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)

を有する第VIIII因子^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。

【0104】

一実施形態において、Pは、配列：

AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)

を有する第VIIII因子^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)

を有する第VIIII因子^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:56~146から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:56~146から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:56~146から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:56~146から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

【0105】

一実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個

10

20

30

40

50

のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【 0 1 0 6 】

一実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 1 5 0 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 1 0 0 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 5 0 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 2 5 個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 1 0 個、1 1 個、1 2 個、1 3 個、1 4 個、1 5 個、1 6 個、1 7 個、1 8 個、1 9 個、2 0 個、2 1 個、2 2 個、2 3 個、2 4 個、2 5 個、2 6 個、2 7 個、2 8 個、2 9 個、3 0 個、3 1 個、3 2 個、3 3 個、3 4 個、3 5 個、3 6 個、3 7 個、3 8 個、3 9 個、4 0 個、4 1 個、4 2 個、4 3 個、4 4 個、4 5 個、4 6 個、4 7 個、4 8 個、4 9 個、5 0 個、5 1 個、5 2 個、5 3 個、5 4 個、5 5 個、5 6 個、5 7 個、5 8 個、5 9 個、6 0 個、6 1 個、6 2 個、6 3 個、6 4 個、6 5 個、6 6 個、6 7 個、6 8 個、6 9 個、7 0 個、7 1 個、7 2 個、7 3 個、7 4 個、7 5 個、7 6 個、7 7 個、7 8 個、7 9 個、8 0 個、8 1 個、8 2 個、8 3 個、8 4 個、8 5 個、8 6 個、8 7 個、8 8 個、8 9 個、9 0 個、9 1 個、9 2 個、9 3 個、9 4 個、9 5 個、9 6 個、9 7 個、9 8 個、9 9 個、1 0 0 個、1 0 5 個、1 1 0 個、1 1 5 個、1 2 0 個、1 2 5 個、1 3 0 個、1 3 5 個、1 4 0 個、1 4 5 個、1 5 0 個、1 5 5 個、1 6 0 個、1 6 5 個、1 7 0 個、1 7 5 個、または1 8 0 個のアミノ酸からなる。

10

【 0 1 0 7 】

(表 3) 例示的 F V I I I ^{2 4 6} - ^{2 6 6} ペプチド

20

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -1	AWPKMHTVN	56
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -2	AWPKMHTVNG	57
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -3	AWPKMHTVNGY	58
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -4	AWPKMHTVNGYV	59
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -5	AWPKMHTVNGYVN	60
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -6	AWPKMHTVNGYVNR	61
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -7	AWPKMHTVNGYVNRS	62
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -8	AWPKMHTVNGYVNRSL	63
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -9	AWPKMHTVNGYVNRSLP	64
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -10	AWPKMHTVNGYVNRSLPG	65
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -11	AWPKMHTVNGYVNRSLPGL	66
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -12	AWPKMHTVNGYVNRSLPLI	67

30

FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -13	AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG	68
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -14	WPKMHTVNG	69
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -15	WPKMHTVNGY	70
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -16	WPKMHTVNGYV	71
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -17	WPKMHTVNGYVN	72
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -18	WPKMHTVNGYVNR	73
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -19	WPKMHTVNGYVNRS	74
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -20	WPKMHTVNGYVNRS	75
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -21	WPKMHTVNGYVNRS	76
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -22	WPKMHTVNGYVNRS	77
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -23	WPKMHTVNGYVNRS	78
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -24	WPKMHTVNGYVNRS	79
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -25	WPKMHTVNGYVNRS	80
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -26	PKMHTVNGY	81
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -27	PKMHTVNGYV	82
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -28	PKMHTVNGYVN	83
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -29	PKMHTVNGYVNR	84
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -30	PKMHTVNGYVNRS	85
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -31	PKMHTVNGYVNRS	86
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -32	PKMHTVNGYVNRS	87
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -33	PKMHTVNGYVNRS	88
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -34	PKMHTVNGYVNRS	89
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -35	PKMHTVNGYVNRS	90
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -36	PKMHTVNGYVNRS	91
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -37	KMHTVNGYV	92
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -38	KMHTVNGYVN	93
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -39	KMHTVNGYVNR	94
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -40	KMHTVNGYVNRS	95
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -41	KMHTVNGYVNRS	96
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -42	KMHTVNGYVNRS	97
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -43	KMHTVNGYVNRS	98
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -44	KMHTVNGYVNRS	99
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -45	KMHTVNGYVNRS	100
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -46	KMHTVNGYVNRS	101
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -47	MHTVNGYVN	102
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -48	MHTVNGYVNR	103
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -49	MHTVNGYVNRS	104
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -50	MHTVNGYVNRS	105
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -51	MHTVNGYVNRS	106
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -52	MHTVNGYVNRS	107
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -53	MHTVNGYVNRS	108
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -54	MHTVNGYVNRS	109
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -55	MHTVNGYVNRS	110
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -56	HTVNGYVNR	111
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -57	HTVNGYVNRS	112
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -58	HTVNGYVNRS	113
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -59	HTVNGYVNRS	114
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -60	HTVNGYVNRS	115
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -61	HTVNGYVNRS	116

10

20

30

40

FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -62	HTVNGYVNRSLPGLI	117
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -63	HTVNGYVNRSLPGLIG	118
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -64	TVNGYVNRS	119
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -65	TVNGYVNRSL	120
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -66	TVNGYVNRSLP	121
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -67	TVNGYVNRSLPG	122
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -68	TVNGYVNRSLPGL	123
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -69	TVNGYVNRSLPGLI	124
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -70	TVNGYVNRSLPGLIG	125
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -71	VNGYVNRSL	126
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -72	VNGYVNRSLP	127
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -73	VNGYVNRSLPG	128
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -74	VNGYVNRSLPGL	129
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -75	VNGYVNRSLPGLI	130
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -76	VNGYVNRSLPGLIG	131
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -77	NGYVNRSLP	132
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -78	NGYVNRSLPG	133
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -79	NGYVNRSLPGL	134
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -80	NGYVNRSLPGLI	135
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -81	NGYVNRSLPGLIG	136
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -82	GYVNRSLPG	137
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -83	GYVNRSLPGL	138
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -84	GYVNRSLPGLI	139
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -85	GYVNRSLPGLIG	140
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -86	YVNRSLPGL	141
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -87	YVNRSLPGLI	142
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -88	YVNRSLPGLIG	143
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -89	VNRSLPGLI	144
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -90	VNRSLPGLIG	145
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶ -91	NRSLPGLIG	146

10

20

【 0 1 0 8 】

C . 第 V I I I 因子 ^{4 7 4} - ^{4 9 4} ペプチド

30

一実施形態において、本発明は、配列 (R ¹) _x - P - (R ²) _y を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

GEVGD TLLIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)

を有する第 V I I I 因子 ^{4 7 4} - ^{4 9 4} ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R ¹ が、1 ~ 80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R ² が、1 ~ 80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。

【 0 1 0 9 】

一実施形態において、Pは、配列：

40

GEVGD TLLIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)

を有する第 V I I I 因子 ^{4 7 4} - ^{4 9 4} ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

GEVGD TLLIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)

を有する第 V I I I 因子 ^{4 7 4} - ^{4 9 4} ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 147 ~ 237から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 147 ~ 237から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有する

50

アミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 147~237から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 147~237から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

【0110】

特定の実施形態において、R¹は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。一実施形態において、FVIIIPeptidは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0111】

(表4) 例示的FVIIIPeptid⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ - 494ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -1	GEVGDTLII	147
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -2	GEVGDTLII	148
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -3	GEVGDTLIIIF	149
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -4	GEVGDTLIIIFK	150
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -5	GEVGDTLIIIFKN	151
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -6	GEVGDTLIIIFKNQ	152
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -7	GEVGDTLIIIFKNQA	153
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -8	GEVGDTLIIIFKNQAS	154
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -9	GEVGDTLIIIFKNQASR	155
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -10	GEVGDTLIIIFKNQASRP	156
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -11	GEVGDTLIIIFKNQASRPY	157
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -12	GEVGDTLIIIFKNQASRPYN	158
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -13	GEVGDTLIIIFKNQASRPYNI	159
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -14	EVGDTLII	160
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -15	EVGDTLIIIF	161

FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -16	EVGDTLLIIFK	162
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -17	EVGDTLLIIFKN	163
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -18	EVGDTLLIIFKNQ	164
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -19	EVGDTLLIIFKNQA	165
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -20	EVGDTLLIIFKNQAS	166
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -21	EVGDTLLIIFKNQASR	167
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -22	EVGDTLLIIFKNQASRP	168
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -23	EVGDTLLIIFKNQASRPY	169
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -24	EVGDTLLIIFKNQASRPYN	170
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -25	EVGDTLLIIFKNQASRPYNI	171
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -26	VGDTLLIIF	172
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -27	VGDTLLIIFK	173
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -28	VGDTLLIIFKN	174
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -29	VGDTLLIIFKNQ	175
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -30	VGDTLLIIFKNQA	176
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -31	VGDTLLIIFKNQAS	177
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -32	VGDTLLIIFKNQASR	178
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -33	VGDTLLIIFKNQASRP	179
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -34	VGDTLLIIFKNQASRPY	180
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -35	VGDTLLIIFKNQASRPYN	181
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -36	VGDTLLIIFKNQASRPYNI	182
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -37	GDTLIIFK	183
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -38	GDTLIIFKN	184
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -39	GDTLIIFKNQ	185
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -40	GDTLIIFKNQA	186
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -41	GDTLIIFKNQAS	187
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -42	GDTLIIFKNQASR	188
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -43	GDTLIIFKNQASRP	189
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -44	GDTLIIFKNQASRPY	190
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -45	GDTLIIFKNQASRPYN	191
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -46	GDTLIIFKNQASRPYNI	192
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -47	DTLLIIFKN	193
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -48	DTLLIIFKNQ	194
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -49	DTLLIIFKNQA	195
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -50	DTLLIIFKNQAS	196
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -51	DTLLIIFKNQASR	197
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -52	DTLLIIFKNQASRP	198
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -53	DTLLIIFKNQASRPY	199
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -54	DTLLIIFKNQASRPYN	200
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -55	DTLLIIFKNQASRPYNI	201
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -56	TLLIIFKNQ	202
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -57	TLLIIFKNQA	203
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -58	TLLIIFKNQAS	204
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -59	TLLIIFKNQASR	205
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -60	TLLIIFKNQASRP	206
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -61	TLLIIFKNQASRPY	207
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -62	TLLIIFKNQASRPYN	208
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -63	TLLIIFKNQASRPYNI	209
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -64	LLIIFKNQA	210
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -65	LLIIFKNQAS	211

10

20

30

40

FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -66	LLIIFKNQASR	212
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -67	LLIIFKNQASRP	213
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -68	LLIIFKNQASRPY	214
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -69	LLIIFKNQASRPYN	215
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -70	LLIIFKNQASRPYNI	216
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -71	LIIFKNQAS	217
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -72	LIIFKNQASR	218
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -73	LIIFKNQASRP	219
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -74	LIIFKNQASRPY	220
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -75	LIIFKNQASRPYN	221
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -76	LIIFKNQASRPYNI	222
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -77	IIFKNQASR	223
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -78	IIFKNQASRP	224
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -79	IIFKNQASRPY	225
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -80	IIFKNQASRPYN	226
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -81	IIFKNQASRPYNI	227
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -82	IFKNQASRP	228
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -83	IFKNQASRPY	229
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -84	IFKNQASRPYN	230
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -85	IFKNQASRPYNI	231
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -86	FKNQASRPY	232
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -87	FKNQASRPYN	233
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -88	FKNQASRPYNI	234
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -89	KNQASRPYN	235
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -90	KNQASRPYNI	236
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴ -91	NQASRPYNI	237

10

20

【 0 1 1 2 】

D . 第 V I I I 因子^{5 4 0 - 5 6 0} ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

PTKSDPRCLTRYSSFVNMER (SEQ ID NO:250)

を有する第 V I I I 因子^{5 4 0 - 5 6 0} ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ポリペプチドを提供する。

30

【 0 1 1 3 】

一実施形態において、P は、配列：

PTKSDPRCLTRYSSFVNMER (SEQ ID NO:250)

を有する第 V I I I 因子^{5 4 0 - 5 6 0} ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、P は、配列：

40

PTKSDPRCLTRYSSFVNMER (SEQ ID NO:250)

を有する第 V I I I 因子^{5 4 0 - 5 6 0} ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 238 ~ 328 から選択される配列に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 238 ~ 328 から選択される配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 238 ~ 328 から選択される配列に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 238 ~ 328 から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、 x および y はともに 0 であってよい。他の実施形

50

態において、 x は 1 であってよく、 y は 0 であってよい。他の実施形態において、 x は 0 であってよく、 y は 1 であってよい。さらに別の実施形態において、 x および y はともに 1 であってよい。

【0114】

一実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 70 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 60 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 50 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 40 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 30 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 20 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 10 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 5 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個、25 個、26 個、27 個、28 個、29 個、30 個、31 個、32 個、33 個、34 個、35 個、36 個、37 個、38 個、39 個、40 個、41 個、42 個、43 個、44 個、45 個、46 個、47 個、48 個、49 個、50 個、51 個、52 個、53 個、54 個、55 個、56 個、57 個、58 個、59 個、60 個、61 個、62 個、63 個、64 個、65 個、66 個、67 個、68 個、69 個、70 個、71 個、72 個、73 個、74 個、75 個、76 個、77 個、78 個、79 個、または 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

20

【0115】

一実施形態において、FVIIII ペプチドは、9 ~ 150 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIII ペプチドは、9 ~ 100 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIII ペプチドは、9 ~ 50 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIII ペプチドは、9 ~ 25 個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIII ペプチドは、9 ~ 10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個、25 個、26 個、27 個、28 個、29 個、30 個、31 個、32 個、33 個、34 個、35 個、36 個、37 個、38 個、39 個、40 個、41 個、42 個、43 個、44 個、45 個、46 個、47 個、48 個、49 個、50 個、51 個、52 個、53 個、54 個、55 個、56 個、57 個、58 個、59 個、60 個、61 個、62 個、63 個、64 個、65 個、66 個、67 個、68 個、69 個、70 個、71 個、72 個、73 個、74 個、75 個、76 個、77 個、78 個、79 個、80 個、81 個、82 個、83 個、84 個、85 個、86 個、87 個、88 個、89 個、90 個、91 個、92 個、93 個、94 個、95 個、96 個、97 個、98 個、99 個、100 個、105 個、110 個、115 個、120 個、125 個、130 個、135 個、140 個、145 個、150 個、155 個、160 個、165 個、170 個、175 個、または 180 個のアミノ酸からなる。

30

40

【0116】

(表5) 例示的 FVIIII⁵⁴⁰ - 560 ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -1	PTKSDPRCL	238
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -2	PTKSDPRCLT	239
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -3	PTKSDPRCLTR	240
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -4	PTKSDPRCLTRY	241
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -5	PTKSDPRCLTRY Y	242
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -6	PTKSDPRCLTRYYS	243
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -7	PTKSDPRCLTRY YSS	244
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -8	PTKSDPRCLTRY YSSF	245
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -9	PTKSDPRCLTRY YSSFV	246
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -10	PTKSDPRCLTRY YSSFVN	247
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -11	PTKSDPRCLTRY YSSFVNM	248
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -12	PTKSDPRCLTRY YSSFVNME	249
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -13	PTKSDPRCLTRY YSSFVNMER	250
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -14	TKSDPRCLT	251
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -15	TKSDPRCLTR	252
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -16	TKSDPRCLTRY	253
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -17	TKSDPRCLTRY Y	254
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -18	TKSDPRCLTRYYS	255
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -19	TKSDPRCLTRY YSS	256
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -20	TKSDPRCLTRY YSSF	257
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -21	TKSDPRCLTRY YSSFV	258
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -22	TKSDPRCLTRY YSSFVN	259
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -23	TKSDPRCLTRY YSSFVNM	260
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -24	TKSDPRCLTRY YSSFVNME	261
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -25	TKSDPRCLTRY YSSFVNMER	262
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -26	KSDPRCLTR	263
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -27	KSDPRCLTRY	264
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -28	KSDPRCLTRY Y	265
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -29	KSDPRCLTRYYS	266
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -30	KSDPRCLTRY YSS	267
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -31	KSDPRCLTRY YSSF	268
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -32	KSDPRCLTRY YSSFV	269
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -33	KSDPRCLTRY YSSFVN	270
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -34	KSDPRCLTRY YSSFVNM	271
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -35	KSDPRCLTRY YSSFVNME	272
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -36	KSDPRCLTRY YSSFVNMER	273
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -37	SDPRCLTRY	274
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -38	SDPRCLTRY Y	275
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -39	SDPRCLTRYYS	276
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -40	SDPRCLTRY YSS	277
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -41	SDPRCLTRY YSSF	278
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -42	SDPRCLTRY YSSFV	279
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -43	SDPRCLTRY YSSFVN	280
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -44	SDPRCLTRY YSSFVNM	281
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -45	SDPRCLTRY YSSFVNME	282
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -46	SDPRCLTRY YSSFVNMER	283
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -47	DPRCLTRY Y	284

10

20

30

40

FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -48	DPRCLTRYYS	285
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -49	DPRCLTRYSS	286
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -50	DPRCLTRYSSSF	287
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -51	DPRCLTRYSSSFV	288
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -52	DPRCLTRYSSSFVN	289
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -53	DPRCLTRYSSSFVNM	290
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -54	DPRCLTRYSSSFVNME	291
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -55	DPRCLTRYSSSFVNMER	292
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -56	PRCLTRYYS	293
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -57	PRCLTRYSS	294
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -58	PRCLTRYSSSF	295
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -59	PRCLTRYSSSFV	296
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -60	PRCLTRYSSSFVN	297
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -61	PRCLTRYSSSFVNM	298
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -62	PRCLTRYSSSFVNME	299
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -63	PRCLTRYSSSFVNMER	300
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -64	RCLTRYYS	301
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -65	RCLTRYSSSF	302
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -66	RCLTRYSSSFV	303
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -67	RCLTRYSSSFVN	304
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -68	RCLTRYSSSFVNM	305
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -69	RCLTRYSSSFVNME	306
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -70	RCLTRYSSSFVNMER	307
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -71	CLTRYSSSF	308
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -72	CLTRYSSSFV	309
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -73	CLTRYSSSFVN	310
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -74	CLTRYSSSFVNM	311
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -75	CLTRYSSSFVNME	312
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -76	CLTRYSSSFVNMER	313
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -77	LTRYSSSFV	314
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -78	LTRYSSSFVN	315
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -79	LTRYSSSFVNM	316
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -80	LTRYSSSFVNME	317
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -81	LTRYSSSFVNMER	318
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -82	TRYSSSFVN	319
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -83	TRYSSSFVNM	320
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -84	TRYSSSFVNME	321
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -85	TRYSSSFVNMER	322
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -86	RYSSSFVNM	323
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -87	RYSSSFVNME	324
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -88	RYSSSFVNMER	325
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -89	YSSSFVNME	326
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -90	YSSSFVNMER	327
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰ -91	YSSSFVNMER	328

10

20

30

40

【 0 1 1 7 】

E . 第 V I I I 因子 ^{1 4 0 1 - 1 4 2 4} ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第 V I I I 因子 ^{1 4 0 1 - 1 4 2 4} ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。

50

【0118】

一実施形態において、Pは、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第VII因子¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第VII因子¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:329~464から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:329~464から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:329~464から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:329~464から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

10

【0119】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

40

【0120】

一実施形態において、FVIIペプチドは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIペプチドは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個

50

、 3 6 個、 3 7 個、 3 8 個、 3 9 個、 4 0 個、 4 1 個、 4 2 個、 4 3 個、 4 4 個、 4 5 個
 、 4 6 個、 4 7 個、 4 8 個、 4 9 個、 5 0 個、 5 1 個、 5 2 個、 5 3 個、 5 4 個、 5 5 個
 、 5 6 個、 5 7 個、 5 8 個、 5 9 個、 6 0 個、 6 1 個、 6 2 個、 6 3 個、 6 4 個、 6 5 個
 、 6 6 個、 6 7 個、 6 8 個、 6 9 個、 7 0 個、 7 1 個、 7 2 個、 7 3 個、 7 4 個、 7 5 個
 、 7 6 個、 7 7 個、 7 8 個、 7 9 個、 8 0 個、 8 1 個、 8 2 個、 8 3 個、 8 4 個、 8 5 個
 、 8 6 個、 8 7 個、 8 8 個、 8 9 個、 9 0 個、 9 1 個、 9 2 個、 9 3 個、 9 4 個、 9 5 個
 、 9 6 個、 9 7 個、 9 8 個、 9 9 個、 1 0 0 個、 1 0 5 個、 1 1 0 個、 1 1 5 個、 1 2 0
 個、 1 2 5 個、 1 3 0 個、 1 3 5 個、 1 4 0 個、 1 4 5 個、 1 5 0 個、 1 5 5 個、 1 6 0
 個、 1 6 5 個、 1 7 0 個、 1 7 5 個、 または 1 8 0 個のアミノ酸からなる。

【 0 1 2 1 】

(表 6) 例示的 F V I I I ^{1 4 0 1} - 1 4 2 4 ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -1	QANRSPLPI	329
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -2	QANRSPLPIA	330
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -3	QANRSPLPIAK	331
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -4	QANRSPLPIAKV	332
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -5	QANRSPLPIAKVS	333
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -6	QANRSPLPIAKVSS	334
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -7	QANRSPLPIAKVSSF	335
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -8	QANRSPLPIAKVSSFP	336
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -9	QANRSPLPIAKVSSFPS	337
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -10	QANRSPLPIAKVSSFPSI	338
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -11	QANRSPLPIAKVSSFPSIR	339
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -12	QANRSPLPIAKVSSFPSIRP	340
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -13	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPI	341
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -14	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIY	342
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -15	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYL	343
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -16	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT	344
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -17	ANRSPLPIA	345
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -18	ANRSPLPIAK	346
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -19	ANRSPLPIAKV	347
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -20	ANRSPLPIAKVS	348
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -21	ANRSPLPIAKVSS	349
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -22	ANRSPLPIAKVSSF	350
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -23	ANRSPLPIAKVSSFP	351
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -24	ANRSPLPIAKVSSFPS	352
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -25	ANRSPLPIAKVSSFPSI	353
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -26	ANRSPLPIAKVSSFPSIR	354
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -27	ANRSPLPIAKVSSFPSIRP	355
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -28	ANRSPLPIAKVSSFPSIRPI	356
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -29	ANRSPLPIAKVSSFPSIRPIY	357

10

20

30

FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -30	ANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYL	358
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -31	ANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT	359
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -32	NRSPLPIAK	360
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -33	NRSPLPIAKV	361
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -34	NRSPLPIAKVS	362
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -35	NRSPLPIAKVSS	363
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -36	NRSPLPIAKVSSF	364
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -37	NRSPLPIAKVSSFP	365
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -38	NRSPLPIAKVSSFPS	366
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -39	NRSPLPIAKVSSFPSI	367
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -40	NRSPLPIAKVSSFPSIR	368
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -41	NRSPLPIAKVSSFPSIRP	369
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -42	NRSPLPIAKVSSFPSIRPI	370
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -43	NRSPLPIAKVSSFPSIRPIY	371
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -44	NRSPLPIAKVSSFPSIRPIYL	372
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -45	NRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT	373
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -46	RSPLPIAKV	374
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -47	RSPLPIAKVS	375
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -48	RSPLPIAKVSS	376
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -49	RSPLPIAKVSSF	377
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -50	RSPLPIAKVSSFP	378
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -51	RSPLPIAKVSSFPS	379
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -52	RSPLPIAKVSSFPSI	380
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -53	RSPLPIAKVSSFPSIR	381
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -54	RSPLPIAKVSSFPSIRP	382
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -55	RSPLPIAKVSSFPSIRPI	383
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -56	RSPLPIAKVSSFPSIRPIY	384
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -57	RSPLPIAKVSSFPSIRPIYL	385
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -58	RSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT	386
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -59	SPLPIAKVS	387
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -60	SPLPIAKVSS	388
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -61	SPLPIAKVSSF	389
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -62	SPLPIAKVSSFP	390
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -63	SPLPIAKVSSFPS	391
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -64	SPLPIAKVSSFPSI	392
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -65	SPLPIAKVSSFPSIR	393
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -66	SPLPIAKVSSFPSIRP	394
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -67	SPLPIAKVSSFPSIRPI	395
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -68	SPLPIAKVSSFPSIRPIY	396
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -69	SPLPIAKVSSFPSIRPIYL	397
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -70	SPLPIAKVSSFPSIRPIYLT	398
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -71	PLPIAKVSS	399
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -72	PLPIAKVSSF	400
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -73	PLPIAKVSSFP	401
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -74	PLPIAKVSSFPS	402
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -75	PLPIAKVSSFPSI	403
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -76	PLPIAKVSSFPSIR	404
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -77	PLPIAKVSSFPSIRP	405
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -78	PLPIAKVSSFPSIRPI	406
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -79	PLPIAKVSSFPSIRPIY	407

10

20

30

40

FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -80	PLPIAKVSSFPSIRPIYL	408
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -81	PLPIAKVSSFPSIRPIYLT	409
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -82	LPIAKVSSF	410
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -83	LPIAKVSSFP	411
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -84	LPIAKVSSFPS	412
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -85	LPIAKVSSFPSI	413
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -86	LPIAKVSSFPSIR	414
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -87	LPIAKVSSFPSIRP	415
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -88	LPIAKVSSFPSIRPI	416
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -89	LPIAKVSSFPSIRPIY	417
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -90	LPIAKVSSFPSIRPIYL	418
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -91	LPIAKVSSFPSIRPIYLT	419
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -92	PIAKVSSFP	420
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -93	PIAKVSSFPS	421
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -94	PIAKVSSFPSI	422
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -95	PIAKVSSFPSIR	423
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -96	PIAKVSSFPSIRP	424
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -97	PIAKVSSFPSIRPI	425
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -98	PIAKVSSFPSIRPIY	426
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -99	PIAKVSSFPSIRPIYL	427
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -100	PIAKVSSFPSIRPIYLT	428
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -101	IAKVSSFPS	429
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -102	IAKVSSFPSI	430
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -103	IAKVSSFPSIR	431
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -104	IAKVSSFPSIRP	432
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -105	IAKVSSFPSIRPI	433
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -106	IAKVSSFPSIRPIY	434
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -107	IAKVSSFPSIRPIYL	435
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -108	IAKVSSFPSIRPIYLT	436
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -109	AKVSSFPSI	437
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -110	AKVSSFPSIR	438
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -111	AKVSSFPSIRP	439
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -112	AKVSSFPSIRPI	440
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -113	AKVSSFPSIRPIY	441
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -114	AKVSSFPSIRPIYL	442
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -115	AKVSSFPSIRPIYLT	443
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -116	KVSSFPSIR	444
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -117	KVSSFPSIRP	445
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -118	KVSSFPSIRPI	446
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -119	KVSSFPSIRPIY	447
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -120	KVSSFPSIRPIYL	448
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -121	KVSSFPSIRPIYLT	449
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -122	VSSFPSIRP	450
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -123	VSSFPSIRPI	451
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -124	VSSFPSIRPIY	452
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -125	VSSFPSIRPIYL	453
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -126	VSSFPSIRPIYLT	454
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -127	SSFPSIRPI	455
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -128	SSFPSIRPIY	456
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -129	SSFPSIRPIYL	457
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -130	SSFPSIRPIYLT	458
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -131	SFPSIRPIY	459
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -132	SFPSIRPIYL	460
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -133	SFPSIRPIYLT	461
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -134	FPSIRPIYL	462
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -135	FPSIRPIYLT	463
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ -136	PSIRPIYLT	464

10

20

30

40

【 0 1 2 2 】

F . 第 V I I I 因子^{1 7 8 5} - ^{1 8 0 5} ペプチド

50

一実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)

を有する第VII因子¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。一実施形態において、Pは、配列：

EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)

を有する第VII因子¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。

10

【0123】

一実施形態において、Pは、配列：

EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)

を有する第VII因子¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:465~555から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:465~555から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:465~555から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:465~555から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

20

【0124】

一実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

30

40

【0125】

50

一実施形態において、FVIIペプチドは、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

10

【0126】

(表7) 例示的FVII¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -1	EVEDNIMVT	465
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -2	EVEDNIMVTF	466
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -3	EVEDNIMVTFR	467
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -4	EVEDNIMVTFRN	468
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -5	EVEDNIMVTFRNQ	469
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -6	EVEDNIMVTFRNQA	470
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -7	EVEDNIMVTFRNQAS	471
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -8	EVEDNIMVTFRNQASR	472
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -9	EVEDNIMVTFRNQASRP	473
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -10	EVEDNIMVTFRNQASRPY	474
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -11	EVEDNIMVTFRNQASRPYS	475
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -12	EVEDNIMVTFRNQASRPYSF	476
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -13	EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY	477
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -14	VEDNIMVTF	478
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -15	VEDNIMVTFR	479

20

30

FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -16	VEDNIMVTFRN	480
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -17	VEDNIMVTFRNQ	481
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -18	VEDNIMVTFRNQA	482
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -19	VEDNIMVTFRNQAS	483
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -20	VEDNIMVTFRNQASR	484
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -21	VEDNIMVTFRNQASRP	485
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -22	VEDNIMVTFRNQASRPY	486
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -23	VEDNIMVTFRNQASRPYS	487
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -24	VEDNIMVTFRNQASRPYSF	488
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -25	VEDNIMVTFRNQASRPYSFY	489
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -26	EDNIMVTFR	490
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -27	EDNIMVTFRN	491
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -28	EDNIMVTFRNQ	492
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -29	EDNIMVTFRNQA	493
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -30	EDNIMVTFRNQAS	494
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -31	EDNIMVTFRNQASR	495
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -32	EDNIMVTFRNQASRP	496
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -33	EDNIMVTFRNQASRPY	497
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -34	EDNIMVTFRNQASRPYS	498
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -35	EDNIMVTFRNQASRPYSF	499
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -36	EDNIMVTFRNQASRPYSFY	500
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -37	DNIMVTFRN	501
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -38	DNIMVTFRNQ	502
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -39	DNIMVTFRNQA	503
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -40	DNIMVTFRNQAS	504
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -41	DNIMVTFRNQASR	505
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -42	DNIMVTFRNQASRP	506
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -43	DNIMVTFRNQASRPY	507
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -44	DNIMVTFRNQASRPYS	508
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -45	DNIMVTFRNQASRPYSF	509
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -46	DNIMVTFRNQASRPYSFY	510
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -47	NIMVTFRNQ	511
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -48	NIMVTFRNQA	512
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -49	NIMVTFRNQAS	513
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -50	NIMVTFRNQASR	514
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -51	NIMVTFRNQASRP	515
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -52	NIMVTFRNQASRPY	516
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -53	NIMVTFRNQASRPYS	517
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -54	NIMVTFRNQASRPYSF	518
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -55	NIMVTFRNQASRPYSFY	519
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -56	IMVTFRNQA	520
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -57	IMVTFRNQAS	521
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -58	IMVTFRNQASR	522
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -59	IMVTFRNQASRP	523
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -60	IMVTFRNQASRPY	524
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -61	IMVTFRNQASRPYS	525
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -62	IMVTFRNQASRPYSF	526
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -63	IMVTFRNQASRPYSFY	527
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -64	MVTFRNQAS	528
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -65	MVTFRNQASR	529

10

20

30

40

FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -66	MVTFRNQASRP	530
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -67	MVTFRNQASRPY	531
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -68	MVTFRNQASRPYS	532
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -69	MVTFRNQASRPYSF	533
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -70	MVTFRNQASRPYSFY	534
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -71	VTFRNQASR	535
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -72	VTFRNQASRP	536
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -73	VTFRNQASRPY	537
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -74	VTFRNQASRPYS	538
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -75	VTFRNQASRPYSF	539
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -76	VTFRNQASRPYSFY	540
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -77	TFRNQASRP	541
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -78	TFRNQASRPY	542
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -79	TFRNQASRPYS	543
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -80	TFRNQASRPYSF	544
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -81	TFRNQASRPYSFY	545
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -82	FRNQASRPY	546
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -83	FRNQASRPYS	547
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -84	FRNQASRPYSF	548
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -85	FRNQASRPYSFY	549
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -86	RNQASRPYS	550
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -87	RNQASRPYSF	551
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -88	RNQASRPYSFY	552
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -89	NQASRPYSF	553
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -90	NQASRPYSFY	554
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ -91	QASRPYSFY	555

10

20

30

40

50

【 0 1 2 7 】

G . 第 V I I I 因子 ^{2 0 2 5} - ^{2 0 4 5} ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 (R ¹) _x - P - (R ²) _y を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)

を有する第 V I I I 因子 ^{2 0 2 5} - ^{2 0 4 5} ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 8 5 % の同一性を有するアミノ酸配列であり、R ¹ が、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R ² が、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ポリペプチドを提供する。

【 0 1 2 8 】

一実施形態において、P は、配列：

LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)

を有する第 V I I I 因子 ^{2 0 2 5} - ^{2 0 4 5} ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、P は、配列：

LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)

を有する第 V I I I 因子 ^{2 0 2 5} - ^{2 0 4 5} ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、P は、SEQ ID NO : 5 5 6 ~ 6 4 6 から選択される配列に対して少なくとも 8 5 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、P は、SEQ ID NO : 5 5 6 ~ 6 4 6 から選択される配列に対して少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、P は、SEQ ID NO : 5 5 6 ~ 6 4 6 から選択される配列に対して少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、P は、SEQ ID NO : 5 5 6 ~ 6 4 6 から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、x および y はともに 0 であってよい。他の実

施形態において、 x は 1 であってよく、 y は 0 であってよい。他の実施形態において、 x は 0 であってよく、 y は 1 であってよい。さらに別の実施形態において、 x および y はともに 1 であってよい。

【0129】

一実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 70 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 60 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 50 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 40 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 30 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 20 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 10 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 5 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1 ~ 2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個、25 個、26 個、27 個、28 個、29 個、30 個、31 個、32 個、33 個、34 個、35 個、36 個、37 個、38 個、39 個、40 個、41 個、42 個、43 個、44 個、45 個、46 個、47 個、48 個、49 個、50 個、51 個、52 個、53 個、54 個、55 個、56 個、57 個、58 個、59 個、60 個、61 個、62 個、63 個、64 個、65 個、66 個、67 個、68 個、69 個、70 個、71 個、72 個、73 個、74 個、75 個、76 個、77 個、78 個、79 個、または 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

20

【0130】

一実施形態において、FVIIIPeptid は、9 ~ 150 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptid は、9 ~ 100 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptid は、9 ~ 50 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptid は、9 ~ 25 個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIIPeptid は、9 ~ 10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個、25 個、26 個、27 個、28 個、29 個、30 個、31 個、32 個、33 個、34 個、35 個、36 個、37 個、38 個、39 個、40 個、41 個、42 個、43 個、44 個、45 個、46 個、47 個、48 個、49 個、50 個、51 個、52 個、53 個、54 個、55 個、56 個、57 個、58 個、59 個、60 個、61 個、62 個、63 個、64 個、65 個、66 個、67 個、68 個、69 個、70 個、71 個、72 個、73 個、74 個、75 個、76 個、77 個、78 個、79 個、80 個、81 個、82 個、83 個、84 個、85 個、86 個、87 個、88 個、89 個、90 個、91 個、92 個、93 個、94 個、95 個、96 個、97 個、98 個、99 個、100 個、105 個、110 個、115 個、120 個、125 個、130 個、135 個、140 個、145 個、150 個、155 個、160 個、165 個、170 個、175 個、または 180 個のアミノ酸からなる。

30

40

【0131】

(表 8) 例示的 FVIIIPeptid²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -1	LHAGMSTLF	556
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -2	LHAGMSTLFL	557
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -3	LHAGMSTLFLV	558
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -4	LHAGMSTLFLVY	559
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -5	LHAGMSTLFLVYS	560
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -6	LHAGMSTLFLVYSN	561
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -7	LHAGMSTLFLVYSNK	562
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -8	LHAGMSTLFLVYSNKC	563
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -9	LHAGMSTLFLVYSNKCQ	564
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -10	LHAGMSTLFLVYSNKCQT	565
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -11	LHAGMSTLFLVYSNKCQTP	566
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -12	LHAGMSTLFLVYSNKCQTPL	567
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -13	LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG	568
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -14	HAGMSTLFL	569
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -15	HAGMSTLFLV	570
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -16	HAGMSTLFLVY	571
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -17	HAGMSTLFLVYS	572
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -18	HAGMSTLFLVYSN	573
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -19	HAGMSTLFLVYSNK	574
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -20	HAGMSTLFLVYSNKC	575
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -21	HAGMSTLFLVYSNKCQ	576
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -22	HAGMSTLFLVYSNKCQT	577
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -23	HAGMSTLFLVYSNKCQTP	578
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -24	HAGMSTLFLVYSNKCQTPL	579
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -25	HAGMSTLFLVYSNKCQTPLG	580
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -26	AGMSTLFLV	581
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -27	AGMSTLFLVY	582
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -28	AGMSTLFLVYS	583
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -29	AGMSTLFLVYSN	584
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -30	AGMSTLFLVYSNK	585
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -31	AGMSTLFLVYSNKC	586
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -32	AGMSTLFLVYSNKCQ	587
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -33	AGMSTLFLVYSNKCQT	588
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -34	AGMSTLFLVYSNKCQTP	589
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -35	AGMSTLFLVYSNKCQTPL	590
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -36	AGMSTLFLVYSNKCQTPLG	591
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -37	GMSTLFLVY	592
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -38	GMSTLFLVYS	593
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -39	GMSTLFLVYSN	594
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -40	GMSTLFLVYSNK	595
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -41	GMSTLFLVYSNKC	596
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -42	GMSTLFLVYSNKCQ	597
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -43	GMSTLFLVYSNKCQT	598
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -44	GMSTLFLVYSNKCQTP	599
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -45	GMSTLFLVYSNKCQTPL	600
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -46	GMSTLFLVYSNKCQTPLG	601
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -47	MSTLFLVYS	602

10

20

30

40

FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -48	MSTLFLVYSN	603
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -49	MSTLFLVYSNK	604
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -50	MSTLFLVYSNKC	605
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -51	MSTLFLVYSNKCQ	606
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -52	MSTLFLVYSNKCQT	607
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -53	MSTLFLVYSNKCQTP	608
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -54	MSTLFLVYSNKCQTPL	609
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -55	MSTLFLVYSNKCQTPLG	610
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -56	STLFLVYSN	611
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -57	STLFLVYSNK	612
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -58	STLFLVYSNKC	613
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -59	STLFLVYSNKCQ	614
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -60	STLFLVYSNKCQT	615
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -61	STLFLVYSNKCQTP	616
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -62	STLFLVYSNKCQTPL	617
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -63	STLFLVYSNKCQTPLG	618
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -64	TLFLVYSNK	619
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -65	TLFLVYSNKC	620
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -66	TLFLVYSNKCQ	621
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -67	TLFLVYSNKCQT	622
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -68	TLFLVYSNKCQTP	623
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -69	TLFLVYSNKCQTPL	624
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -70	TLFLVYSNKCQTPLG	625
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -71	LFLVYSNKC	626
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -72	LFLVYSNKCQ	627
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -73	LFLVYSNKCQT	628
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -74	LFLVYSNKCQTP	629
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -75	LFLVYSNKCQTPL	630
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -76	LFLVYSNKCQTPLG	631
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -77	FLVYSNKCQ	632
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -78	FLVYSNKCQT	633
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -79	FLVYSNKCQTP	634
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -80	FLVYSNKCQTPL	635
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -81	FLVYSNKCQTPLG	636
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -82	LVYSNKCQT	637
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -83	LVYSNKCQTP	638
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -84	LVYSNKCQTPL	639
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -85	LVYSNKCQTPLG	640
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -86	VYSNKCQTP	641
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -87	VYSNKCQTPL	642
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -88	VYSNKCQTPLG	643
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -89	YSNKCQTPL	644
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -90	YSNKCQTPLG	645
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵ -91	SNKCQTPLG	646

10

20

30

40

【 0 1 3 2 】

H. 第 V I I I 因子^{2 1 6 0 - 2 1 8 0} ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

NPPIIARYIRLHPHYSIRST (SEQ ID NO:659)

を有する第 V I I I 因子^{2 1 6 0 - 2 1 8 0} ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。

50

【0133】

一実施形態において、Pは、配列：

NPPIARYIRLHPHYSIRST (SEQ ID NO:659)

を有する第VII因子²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

NPPIARYIRLHPHYSIRST (SEQ ID NO:659)

を有する第VII因子²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:647~737から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:647~737から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:647~737から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:647~737から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

【0134】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【0135】

一実施形態において、FVIIペプチドは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIペプチドは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個

10

20

30

40

50

、 3 6 個、 3 7 個、 3 8 個、 3 9 個、 4 0 個、 4 1 個、 4 2 個、 4 3 個、 4 4 個、 4 5 個
 、 4 6 個、 4 7 個、 4 8 個、 4 9 個、 5 0 個、 5 1 個、 5 2 個、 5 3 個、 5 4 個、 5 5 個
 、 5 6 個、 5 7 個、 5 8 個、 5 9 個、 6 0 個、 6 1 個、 6 2 個、 6 3 個、 6 4 個、 6 5 個
 、 6 6 個、 6 7 個、 6 8 個、 6 9 個、 7 0 個、 7 1 個、 7 2 個、 7 3 個、 7 4 個、 7 5 個
 、 7 6 個、 7 7 個、 7 8 個、 7 9 個、 8 0 個、 8 1 個、 8 2 個、 8 3 個、 8 4 個、 8 5 個
 、 8 6 個、 8 7 個、 8 8 個、 8 9 個、 9 0 個、 9 1 個、 9 2 個、 9 3 個、 9 4 個、 9 5 個
 、 9 6 個、 9 7 個、 9 8 個、 9 9 個、 1 0 0 個、 1 0 5 個、 1 1 0 個、 1 1 5 個、 1 2 0
 個、 1 2 5 個、 1 3 0 個、 1 3 5 個、 1 4 0 個、 1 4 5 個、 1 5 0 個、 1 5 5 個、 1 6 0
 個、 1 6 5 個、 1 7 0 個、 1 7 5 個、 または 1 8 0 個のアミノ酸からなる。

【 0 1 3 6 】

(表 9) 例示的 F V I I I ^{2 1 6 0} - 2 1 8 0 ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -1	NPPIARYI	647
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -2	NPPIARYIR	648
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -3	NPPIARYIRL	649
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -4	NPPIARYIRLH	650
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -5	NPPIARYIRLHP	651
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -6	NPPIARYIRLHPT	652
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -7	NPPIARYIRLHPTH	653
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -8	NPPIARYIRLHPTHY	654
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -9	NPPIARYIRLHPTHYS	655
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -10	NPPIARYIRLHPTHYSI	656
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -11	NPPIARYIRLHPTHYSIR	657
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -12	NPPIARYIRLHPTHYSIRS	658
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -13	NPPIARYIRLHPTHYSIRST	659
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -14	PPIARYIR	660
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -15	PPIARYIRL	661
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -16	PPIARYIRLH	662
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -17	PPIARYIRLHP	663
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -18	PPIARYIRLHPT	664
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -19	PPIARYIRLHPTH	665
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -20	PPIARYIRLHPTHY	666
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -21	PPIARYIRLHPTHYS	667
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -22	PPIARYIRLHPTHYSI	668
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -23	PPIARYIRLHPTHYSIR	669
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -24	PPIARYIRLHPTHYSIRS	670
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -25	PPIARYIRLHPTHYSIRST	671
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -26	PIARYIRL	672
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -27	PIARYIRLH	673
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -28	PIARYIRLHP	674
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -29	PIARYIRLHPT	675

10

20

30

FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -30	PIIARYIRLHPTH	676
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -31	PIIARYIRLHPHTHY	677
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -32	PIIARYIRLHPHTHYS	678
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -33	PIIARYIRLHPHTHYSI	679
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -34	PIIARYIRLHPHTHYSIR	680
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -35	PIIARYIRLHPHTHYSIRS	681
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -36	PIIARYIRLHPHTHYSIRST	682
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -37	PIIARYIRLH	683
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -38	PIIARYIRLHP	684
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -39	PIIARYIRLHPT	685
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -40	PIIARYIRLHPTH	686
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -41	PIIARYIRLHPHTHY	687
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -42	PIIARYIRLHPHTHYS	688
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -43	PIIARYIRLHPHTHYSI	689
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -44	PIIARYIRLHPHTHYSIR	690
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -45	PIIARYIRLHPHTHYSIRS	691
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -46	PIIARYIRLHPHTHYSIRST	692
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -47	IARYIRLHP	693
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -48	IARYIRLHPT	694
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -49	IARYIRLHPTH	695
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -50	IARYIRLHPHTHY	696
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -51	IARYIRLHPHTHYS	697
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -52	IARYIRLHPHTHYSI	698
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -53	IARYIRLHPHTHYSIR	699
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -54	IARYIRLHPHTHYSIRS	700
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -55	IARYIRLHPHTHYSIRST	701
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -56	ARYIRLHPT	702
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -57	ARYIRLHPTH	703
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -58	ARYIRLHPHTHY	704
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -59	ARYIRLHPHTHYS	705
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -60	ARYIRLHPHTHYSI	706
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -61	ARYIRLHPHTHYSIR	707
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -62	ARYIRLHPHTHYSIRS	708
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -63	ARYIRLHPHTHYSIRST	709
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -64	RYIRLHPTH	710
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -65	RYIRLHPHTHY	711
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -66	RYIRLHPHTHYS	712
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -67	RYIRLHPHTHYSI	713
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -68	RYIRLHPHTHYSIR	714
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -69	RYIRLHPHTHYSIRS	715
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -70	RYIRLHPHTHYSIRST	716
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -71	YIRLHPHTHY	717
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -72	YIRLHPHTHYS	718
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -73	YIRLHPHTHYSI	719
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -74	YIRLHPHTHYSIR	720
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -75	YIRLHPHTHYSIRS	721
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -76	YIRLHPHTHYSIRST	722
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -77	IRLHPHTHYS	723
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -78	IRLHPHTHYSI	724
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -79	IRLHPHTHYSIR	725

10

20

30

40

FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -80	IRLHPHYSIRS	726
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -81	IRLHPHYSIRST	727
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -82	RLHPHYSI	728
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -83	RLHPHYSIR	729
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -84	RLHPHYSIRS	730
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -85	RLHPHYSIRST	731
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -86	LHPHYSIR	732
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -87	LHPHYSIRS	733
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -88	LHPHYSIRST	734
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -89	HPTHYSIRS	735
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -90	HPTHYSIRST	736
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰ -91	PTHYSIRST	737

10

【0137】

I. 第VII因子¹⁰²⁻¹²²ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

TVVITLKNMASHPVS LHAVGV (SEQ ID NO:740)

を有する第VII因子¹⁰²⁻¹²²ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。

20

【0138】

一実施形態において、Pは、配列：

TVVITLKNMASHPVS LHAVGV (SEQ ID NO:740)

を有する第VII因子¹⁰²⁻¹²²ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

TVVITLKNMASHPVS LHAVGV (SEQ ID NO:740)

を有する第VII因子¹⁰²⁻¹²²ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。

30

【0139】

本発明に関して、FVII¹⁰²⁻¹²²ペプチドは、FVII¹⁰²⁻¹¹⁹ペプチドも含む。したがって、一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:1~55および738~773から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:1~55および738~773から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:1~55および738~773から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:1~55および738~773から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

40

【0140】

一実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、

50

別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

【0141】

一実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

20

30

【0142】

(表10) 例示的 F V I I I¹⁰² - I²² ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -738	TVVITLKNMASHPVSLHAV	738
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -739	TVVITLKNMASHPVSLHAVG	739
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -740	TVVITLKNMASHPVSLHAVGV	740
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -741	VVITLKNMASHPVSLHAV	741
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -742	VVITLKNMASHPVSLHAVG	742
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -743	VVITLKNMASHPVSLHAVGV	743
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -744	VITLKNMASHPVSLHAV	744
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -745	VITLKNMASHPVSLHAVG	745
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -746	VITLKNMASHPVSLHAVGV	746
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -747	ITLKNMASHPVSLHAV	747
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -748	ITLKNMASHPVSLHAVG	748
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -749	ITLKNMASHPVSLHAVGV	749
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -750	TLKNMASHPVSLHAV	750
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -751	TLKNMASHPVSLHAVG	751
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -752	TLKNMASHPVSLHAVGV	752
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -753	LKNMASHPVSLHAV	753
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -754	LKNMASHPVSLHAVG	754
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -755	LKNMASHPVSLHAVGV	755
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -756	KNMASHPVSLHAV	756
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -757	KNMASHPVSLHAVG	757
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -758	KNMASHPVSLHAVGV	758
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -759	NMASHPVSLHAV	759
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -760	NMASHPVSLHAVG	760
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -761	NMASHPVSLHAVGV	761
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -762	MASHPVSLHAV	762
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -763	MASHPVSLHAVG	763
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -764	MASHPVSLHAVGV	764
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -765	ASHPVSLHAV	765
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -766	ASHPVSLHAVG	766
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -767	ASHPVSLHAVGV	767
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -768	SHPVSLHAV	768
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -769	SHPVSLHAVG	769
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -770	SHPVSLHAVGV	770
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -771	HPVSLHAVG	771
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -772	HPVSLHAVGV	772
FVIII ¹⁰²⁻¹²² -773	PVSLHAVGV	773

10

20

30

【0143】

IV. FVIIIPeptidを生成する方法

別の態様において、本発明は、さらにFVIIIPeptidを生成する方法に関する。一部の実施形態において、本発明のFVIIIPeptidは、当分野で一般に知られる固相（例えば、Fmocまたはt-Boc）あるいは液相合成技術を用いて生成することができる。例えば、Chan & White, Eds., Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach (Oxford University Press, 2000)、Benoiton, Chemistry of Peptide Synthesis (CRC Press, 2005)、Howl, Peptide Synthesis and Applications (Humana Press, 2010)を参照されたい。

40

【0144】

一実施形態において、本発明は、FVIIIPeptidを作成する方法を含み、この方法は、(a) 固相または液相合成技術を用いてペプチドを合成するステップを含み、このFVIIIPeptidは、配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pは、SEQ ID NO: 68、344、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続す

50

るアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R¹は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyはそれぞれ独立して、0または1である。一実施形態において、R¹は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。特定の実施形態において、このペプチドは、ヒトFVIIタンパク質のBドメイン全体を包含してもよい。

【0145】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【0146】

他の実施形態において、ペプチドは、組換え技術を用いて生成することができる。一実施形態において、本発明は、FVIIペプチドを作成する方法を含み、この方法は、(a) FVIIペプチドをコードするベクターを含む細胞の培養物を供給するステップであって、該FVIIペプチドが配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、SEQ ID NO: 68、344、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R¹が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ステップを含む。一実施形態において、R¹は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。特定の実施形態において、このペプチドは、ヒトFVIIタンパク質のBドメイン全体を包含してもよい。

【0147】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形

態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

【0148】

一実施形態において、本発明は、FV I I I ペプチドを作成する方法を提供し、この方法は、(a) FV I I I ペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む細胞の培養物を供給するステップであって、該FV I I I ペプチドが配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、SEQ ID NO: 10、68、159、250、344、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 x および y がそれぞれ独立して、0または1である、ステップ、ならびに(b) 該細胞の培養物において該ペプチドを発現させるステップを含む。

20

【0149】

一実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

30

40

【0150】

FV I I I ペプチドを生成するための方法の一実施形態において、FV I I I ペプチド

50

は、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

10

【0151】

本発明のFV I I I ペプチドは、好適な原核細胞または真核細胞の宿主システムにおける発現によって生成することができる。真核細胞の例には、限定するものではないが、哺乳動物細胞、例えばCHO、COS、HEK 293、BHK、SK-Hep、およびHepG2；昆虫細胞、例えばSF9細胞、SF21細胞、S2細胞、およびHigh Five細胞；ならびに酵母細胞、例えばサッカロミセス(Saccharomyces)細胞またはシゾサッカロミセス(Schizosaccharomyces)細胞がある。一実施形態において、FV I I I ペプチドは、細菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞、鳥類細胞、哺乳動物細胞などで発現させてもよい。一部の実施形態において、ペプチドは、ヒト細胞株、ハムスター細胞株、またはマウス細胞株で発現させてもよい。特定の一実施形態において、細胞株は、CHO、BHK、またはHEK細胞株である。

20

【0152】

幅広い種類のベクターをFV I I I ペプチドの発現に使用することができ、また真核細胞および原核細胞発現ベクターから選択することができる。ベクターは、本明細書において開示されるFV I I I ペプチドのうちの少なくとも1つの発現に必要なヌクレオチド配列を含むことになる。原核細胞発現用のベクターの例には、プラスミド、例えばpRSET、pET、pBADなどがあり、原核細胞発現ベクターに使用されるプロモータには、lac、trc、trp、recA、araBADなどがある。真核細胞発現用のベクターの例には、(i)酵母における発現の場合、ベクター、例えばpAO、pPIC、pYES、pMETにプロモータ、例えばAOX1、GAP、GAL1、AUG1などを使用；(ii)昆虫細胞における発現の場合、ベクター、例えばpMT、pAc5、pIB、pMIB、pBACなどにプロモータ、例えばPH、p10、MT、Ac5、OpIE2、gp64、polhなどを使用、ならびに(iii)哺乳動物細胞における発現の場合、ベクター、例えばpSVL、pCMV、pRc/RSV、pcDNA3、pBPVなど、およびウイルス系、例えばワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、レトロウイルスなどに由来するベクターにプロモータ、例えばCMV、SV40、EF-1、UbC、RSV、ADV、BPV、および -アクチンを使用などがある。

30

40

【0153】

本発明の一部の実施形態において、FV I I I ペプチドを生成するための核酸配列は、当業者に一般に知られている、タンパク質の制御された発現に好適な他の配列、例えばプロモータ配列、エンハンサ、TATAボックス、転写開始部位、ポリリンカー、制限部位、ポリA配列、タンパク質プロセッシング配列、選択マーカなどをさらに含む。

【0154】

FV I I I ペプチドを生成する細胞に使用する培養培地は、当分野で周知の好適な基本

50

培地、例えばDMEM、Ham's F12、Medium 199、McCoy、またはRPMIに基づいてよい。基本培地は、アミノ酸、ビタミン、有機および無機塩、ならびに炭水化物源を含む、複数の成分を含んでもよい。各成分は、細胞の培養を援助する量、例えば当業者に一般に知られている量で存在してよい。培地は、補助物質、例えば緩衝物質、例えば、重炭酸ナトリウム、抗酸化剤、機械的応力の影響を軽減するための安定剤、またはプロテアーゼ阻害物質を含んでもよい。必要であれば、非イオン界面活性剤、例えばポリエチレングリコールとポリプロピレングリコールとのコポリマーおよび/または混合物を添加してもよい。

【0155】

一部の実施形態において、培養培地は、外因的に添加されたタンパク質を含まない。「タンパク質非含有」および関連する用語は、成長中にタンパク質を自然に放出する培養中の細胞に対して外因的なタンパク質、またはそのような細胞以外に起源を持つタンパク質に関する。別の実施形態において、培養培地はポリペプチドを含まない。別の実施形態において、培養培地は血清を含まない。別の実施形態において、培養培地は動物性タンパク質を含まない。別の実施形態において、培養培地は動物性要素を含まない。別の実施形態において、培養培地は、タンパク質、例えば、ウシ胎仔血清などの血清由来の動物性タンパク質を含む。別の実施形態において、培養物は、外因的に添加された組換えタンパク質を有する。別の実施形態において、このタンパク質は、認定された病原体除去動物に由来する。

10

【0156】

動物性タンパク質を含まない化学的に定義された培養培地を調製する方法は、当分野で既知であり、例えば、米国特許第2008/0009040号および米国特許第2007/0212770号に記載されており、これら両特許は、あらゆる目的で本明細書に援用される。一実施形態において、本明細書に記載の方法において使用する培養培地は、動物性タンパク質非含有培地またはオリゴペプチド非含有培地である。特定の実施形態において、培養培地は、化学的に定義されていてもよい。本明細書において使用するとき、「化学的に定義された」という用語は、培地がいかなる定義されていないサプリメント、例えば、動物性要素、器官、腺、植物、または酵母の抽出物も含まないことを意味するものである。したがって、化学的に定義された培地の各要素は正確に定義される。

20

【0157】

特定の実施形態において、本発明の方法は、例えば、回分法、半回分法、流加回分法、または連続法で操作される細胞培養システムの使用を含んでもよい。回分培養は、タンクまたは発酵槽内で細胞接種材料を最大密度まで培養し、1回分として採取および処理する大規模細胞培養であってもよい。流加回分培養は、新鮮な栄養素（例えば、増殖制限基質）または添加物（例えば、生成物の前駆体）のいずれかが供給される回分培養であってもよい。連続培養は、培養物の体積が通常は一定である、新鮮培地の流入により栄養素が連続的に供給される懸濁培養であってもよい。同様に、連続発酵とは、新鮮培地の連続的添加によって、細胞または微生物が培養物中で対数増殖期に維持され、バイオリアクタから細胞懸濁液を除去することによって正確に均衡が保たれるプロセスを指し得る。さらに、攪拌タンク反応器システムは、懸濁培養、灌流培養、ケモスタット培養、および/またはマイクロキャリア培養に使用することができる。一般に、攪拌タンク反応器システムは、Rushton、水中翼、傾斜翼、またはマリンなどの任意のタイプの攪拌装置を備える、いかなる従来の攪拌タンク反応器として操作してもよい。

30

40

【0158】

特定の実施形態において、本発明の細胞培養方法は、マイクロキャリアの使用を含んでもよい。一部の実施形態において、実施形態の細胞培養は、培養物の高い体積比表面積を提供するのに好適な条件下、大型バイオリアクタで実施して、高い細胞密度およびタンパク質発現を達成することができる。そのような成長条件を提供するための手段の1つは、攪拌タンクバイオリアクタ内での細胞培養にマイクロキャリアを使用することである。マイクロキャリア上での細胞成長の概念は、van Wezel (van Wezel, A

50

. L . , Nature 216 : 64 - 5 (1967)) によって最初に記載されたが、これは成長倍地に懸濁した小さい固形粒子の表面への細胞接着を可能にする。これらの方法は、高い表面積対体積比を提供し、それにより効率的な栄養利用を可能にする。さらに、真核細胞株での分泌タンパク質の発現について、表面積対体積比の増加は、高レベルの分泌、ひいては培養上澄み中のより高いタンパク質収量を可能にする。最後に、これらの方法は、真核細胞発現培養の容易なスケールアップを可能にする。

【0159】

F V I I I ペプチドを発現する細胞は、細胞培養成長中に球状または多孔性のマイクロキャリアに結合させてもよい。マイクロキャリアは、デキストラン、コラーゲン、プラスチック、ゼラチン、およびセルロースなどに基づくマイクロキャリアの群から選択される

10

マイクロキャリアであってよい。細胞を球状マイクロキャリア上でバイオマスに成長させ、その細胞が最終的発酵槽バイオマスに達したときに、多孔性マイクロキャリア上の発現タンパク質を生成する前に、その細胞を継代培養すること、またはその逆も可能である。好適な球状マイクロキャリアは、滑面マイクロキャリア、例えば Cytodex (商標) 1、Cytodex (商標) 2、および Cytodex (商標) 3 (GE Healthcare)、ならびにマクロ多孔性マイクロキャリア、例えば Cytopore (商標) 1、Cytopore (商標) 2、Cytoline (商標) 1、および Cytoline (商標) 2 (GE Healthcare) を含み得る。

【0160】

当業者は、上述の合成法および/または組換え法によって生成された F V I I I ペプチドが、天然アミノ酸および/または非天然アミノ酸、例えばアミノ酸類似体および/またはアミノ酸模倣体を含んでもよいことを理解するであろう。

20

【0161】

V . 免疫寛容を誘導するための第 F V I I I 因子ペプチド組成物

別の態様において、本明細書において開示される F V I I I ペプチドは、薬学的組成物に含まれていてもよい。一実施形態において、本発明は、本明細書に記載される、第 V I I I 因子^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチド、第 V I I I 因子^{1 4 0 1 - 1 4 2 4}ペプチド、または第 V I I I 因子^{1 0 2 - 1 2 2}ペプチドを含む薬学的組成物を提供する。

【0162】

一実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、第 V I I I 因子^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチドを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I^{4 7 4 - 4 9 4}ペプチド、F V I I I^{5 4 0 - 5 6 0}ペプチド、F V I I I^{1 7 8 5 - 1 8 0 5}ペプチド、F V I I I^{2 0 2 5 - 2 0 4 5}ペプチド、F V I I I^{2 1 6 0 - 2 1 8 0}ペプチド、F V I I I^{1 0 2 - 1 1 9}ペプチド、F V I I I^{1 4 0 1 - 1 4 2 4}ペプチド、F V I I I^{1 0 2 - 1 2 2}ペプチド、または第2の F V I I I^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチドをさらに含む。

30

【0163】

別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、第 V I I I 因子^{1 4 0 1 - 1 4 2 4}ペプチドを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I^{4 7 4 - 4 9 4}ペプチド、F V I I I^{5 4 0 - 5 6 0}ペプチド、F V I I I^{1 7 8 5 - 1 8 0 5}ペプチド、F V I I I^{2 0 2 5 - 2 0 4 5}ペプチド、F V I I I^{2 1 6 0 - 2 1 8 0}ペプチド、F V I I I^{1 0 2 - 1 1 9}ペプチド、F V I I I^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチド、F V I I I^{1 0 2 - 1 2 2}ペプチド、または第2の F V I I I^{1 4 0 1 - 1 4 2 4}ペプチドをさらに含む。

40

【0164】

別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される第 V I I I 因子^{1 0 2 - 1 2 2}ペプチドを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I^{4 7 4 - 4 9 4}ペプチド、F V I I I^{5 4 0 - 5 6 0}ペプチド、F V I I I^{1 7 8 5 - 1 8 0 5}ペプチド、F V I I I^{2 0 2 5 - 2 0 4 5}ペプチド、F V I I I^{2 1 6 0 - 2 1 8 0}ペプチド、F V I I I^{1 0 2 - 1 1 9}ペプチド、F V I I I^{2 4 6 - 2}

50

6⁶ ペプチド、F V I I I^{1 4 0 1} - 1^{4 2 4} ペプチド、または第 2 の F V I I I^{1 0 2} - 1^{2 2} ペプチドをさらに含む。

【0165】

具体的な実施形態において、本発明は、配列：(R¹)_x - P - (R²)_y を有し、式中、P が、SEQ ID NO：68、344、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R¹が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ペプチドを含む薬学的組成物を提供する。一実施形態において、R¹は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

【0166】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

【0167】

一実施形態において、F V I I I ペプチドは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160

40

50

個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0168】

具体的な実施形態において、薬学的組成物は第2のポリペプチドをさらに含み、該第2のポリペプチドは、配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pは、SEQ ID NO: 10、68、159、250、344、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R¹は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyはそれぞれ独立して、0または1である。一実施形態において、R¹は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

【0169】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

【0170】

一実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145

40

50

個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0171】

A. 投与

組成物をヒトまたは試験動物に投与するために、一態様において、組成物は1つまたは複数の薬学的に許容可能な担体を含んでもよい。「薬学的に」または「薬理的に」許容可能なという表現は、安定であり、タンパク質またはペプチド分解、例えば凝集および切断産物を抑制し、さらに後述のように当分野で周知の経路を用いて投与したときにアレルギー反応または他の有害反応を生じない、分子実体および組成物を指す。「薬学的に許容可能な担体」には、あらゆる臨床的に有用な溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などが含まれる。

10

【0172】

薬学的組成物は、経口的に、局所的に、経皮的に、非経口的に、吸入噴霧によって、経腔的に、直腸に、または頭蓋内注射によって投与することができる。本明細書において使用するとき、非経口という用語は、皮下注射、静脈内、筋肉内、大槽内注射または注入手法を含む。静脈内、皮内、筋肉内、乳房内、腹腔内、髄腔内、球後、肺内注射による投与、および/または特定の部位における外科的移植も想定されている。一般に、組成物は、発熱因子、およびレシipientに害を与え得る他の不純物を本質的に含まない。

【0173】

投薬量および投与頻度は、例えば、患者の血友病の重症度、および/またはより高用量またはより低用量を用いて免疫寛容がより有効に誘導されるかどうかを含む、当業者に一般に認識されている様々な因子に応じて異なる。通常の日用量は、約0.01~100mg/kgであってよい。1週間当たりFVIIIPeptid0.07~700mgの範囲の用量は、有効であり、かつ良好な耐容性を示すが、さらに高い1週間の用量も適切であり得、および/または良好な耐容性を示し得る。適切な用量を規定する際の主な決定要素は、特定の状況で治療上有効であるために必要な特定のFVIIIPeptidの量である。より長く持続する免疫寛容を達成するためには、反復投与が必要となり得る。この組成物の単回または複数回投与は、治療する医師によって選択された用量レベルおよびパターンで実施することができる。

20

【0174】

一態様において、本発明の組成物をボラス投与してもよい。別の例として、FVIIIPeptidを1回のみ用量として投与してもよい。当業者は、適正な医療行為および個々の患者の臨床症状によって決定された有効な投薬量および投与計画を容易に最適にするであろう。投与頻度は、投与経路により異なる。最適な薬学的組成物は、投与経路および所望の投薬量に応じて当業者が決定する。例えば、開示内容が参照により本明細書に援用される、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Remington the Science and Practice of Pharmacy), 21st Ed. (2005, Lippincott Williams & Wilkins)を参照されたい。このような組成物は、投与した薬剤の物理的状态、安定性、インピボ放出速度、およびインピボクリアランス速度に影響を与える。投与経路に応じて、好適な用量は、体重、体表面積、または器官の大きさによって算出される。適切な投薬量は、適切な用量反応データと併せて、投薬量の血中レベルを決定するための確立されたアッセイを使用することによって確定することができる。最終的な投薬計画は、薬物の作用を変化させる様々な要素、例えば薬物の比活性、損傷の重症度および患者の反応性、患者の年齢、状態、体重、性別、および食習慣、あらゆる感染症の重症度、投与時間、ならびに他の臨床的要素を考慮して、担当医師が決定する。

30

40

【0175】

一部の実施形態において、本明細書において開示されるFVIIIPeptidを含む組成物は、投与前に凍結乾燥される。凍結乾燥は、当分野で一般的な技術を用いて実施し、例

50

えば、Tang et al., Pharm Res. 21:191-200 (2004) および Chang et al., Pharm Res. 13:243-9 (1996) に記載されているように、作製する組成物に対して最適化すべきである。薬学的組成物を調製する方法は、凍結乾燥前に混合物に安定化剤を添加するステップ、増量剤、浸透圧調節剤、および界面活性剤のうち少なくとも1つの作用剤を凍結乾燥前に混合物に添加するステップ、のうちの1つまたは複数のステップを含んでもよい。凍結乾燥製剤は、一態様において、緩衝剤、増量剤、および安定剤のうち1つまたは複数から少なくとも構成される。この態様において、凍結乾燥ステップ中または再構成中に凝集が問題になる場合には、界面活性剤の有用性を評価し、選択する。凍結乾燥中に、製剤を安定領域のpH内に維持するために、適切な緩衝剤が含まれる。

10

【0176】

凍結乾燥材料の標準的再構成技法は、ある体積の注射用純水または滅菌水(WFI)(通常は凍結乾燥時に除去された体積と等しい)を追加して戻すものであるが、非経口投与用の医薬品の製造時には抗菌剤の希薄溶液を使用する場合もある。したがって、凍結乾燥FVIIIPeptid組成物に希釈剤を添加するステップを含む、再構成FVIIIPeptid組成物の調製のための方法が提供される。

【0177】

一部の実施形態において、凍結乾燥材料を水溶液として再構成してもよい。様々な水性担体、例えば、注射用滅菌水、複数回投与用の場合の保存料を含む水、または適切な量の界面活性剤を含む水(例えば、水性懸濁液の製造に好適な賦形剤と混合された活性化化合物を含有する水性懸濁液)。種々の態様において、そのような賦形剤は、懸濁剤、例えば、限定するものではないが、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガントガム、およびアカシアガムであり;分散剤または湿潤剤は、天然に存在するリン脂質、例えば、限定するものではないが、レシチン、またはアルキレンオキシドと脂肪酸との縮合物、例えば、限定するものではないが、ポリオキシエチレンステアレート、またはエチレンオキシドと長鎖脂肪族アルコールとの縮合物、例えば、限定するものではないが、ヘプタデカエチル-エネオキシセタノール(eneoxy cetanol)、またはエチレンオキシドと、脂肪酸とヘキシトールとから得られる部分エステルとの縮合物、例えばポリオキシエチレンソルビトールモノオレエート、またはエチレンオキシドと、脂肪酸とヘキシトール無水物とから得られる部分エステルとの縮合物、例えば、限定するものではないが、ポリエチレンソルビタンモノオレエートである。種々の態様において、水性懸濁液は、1つまたは複数の保存料、例えば、限定するものではないが、エチル、またはn-プロピル、p-ヒドロキシ安息香酸を含有する。

20

30

【0178】

VI. 治療方法

本発明は、さらに、FVIIITank質に関連する疾患、例えば、血友病Aまたは後天性血友病を有する患者を治療する方法に関する。このような方法は、本明細書において開示されるFVIIIPeptidのうち少なくとも1つの投与を含んでもよい。とりわけ、該FVIIIPeptidのうち少なくとも1つを含む薬学的組成物は、患者においてFVIIITank質に対する免疫寛容を誘導するために投与することができる。

40

【0179】

一部の実施形態において、FVIIITank質に対する免疫寛容を誘導するための方法は、FVIIITank質投与後の、FVIIITank質阻害物質発生の防止を含んでもよい。「防止すること」という用語は、実質的に検出可能なFVIIITank質に対する免疫応答が生じないようにすることを指す。例えば、FVIIITank質投与前の患者は、いかなる検出可能な抗FVIIITank質抗体も有さないかもしれない。しかしながら、FVIIITank質による投与療法後、免疫寛容を誘導するためにFVIIIPeptidを投与しなかった場合、検出可能な抗FVIIITank質抗体のレベルが増加する可能性がある。本明細書において開示されるFVIIIPeptidの投与は、免疫寛容を誘導し、それによって血友病を有する患者を治療することが

50

できる。

【0180】

他の実施形態において、F V I I I タンパク質に対する免疫寛容を誘導するための方法は、すでに確立されたF V I I I 阻害物質を有する患者の治療を含んでもよい。これらの実施形態において、F V I I I ペプチドの投与により、抗F V I I I 抗体を減少させる、またはその存在を排除することができる。「減少/低下させる」という用語は、F V I I I タンパク質に対する免疫応答の部分的低下を意味する。特定の実施形態において、免疫応答を低下させることは、F V I I I ペプチドの投与前の患者における免疫応答のレベルと比較して、免疫応答の10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%の低下を含み得る。例えば、低下率は、F V I I I ペプチドの投与前後の血液中に存在する抗F V I I I 抗体の量を、存在するF V I I I 抗体の量を特定するための標準的方法を用いて測定することによって分析することができる。他の実施形態において、免疫応答の低下は、F V I I I に対して特異的なC D 4 + T細胞、またはF V I I I 抗体を分泌するF V I I I 特異的B細胞、あるいはT細胞、B細胞、および抗F V I I I 抗体の3つ全ての組み合わせのレベルの減少を測定することを含み得る。免疫細胞、例えばF V I I I に対して特異的なT細胞およびB細胞は、当分野で一般に知られている方法を用いて単離することができる。

10

【0181】

一態様において、本発明は、対象においてF V I I I に対する免疫寛容を誘導する方法を含み、この方法は、本明細書に記載されるF V I I I ペプチドを含む治療有効量の薬学的組成物を該対象に投与するステップを含む。具体的な実施形態において、本明細書に記載される、F V I I I ペプチドは、第V I I I 因子^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチド、第V I I I 因子^{1 4 0 1 - 1 4 2 4}ペプチド、または第V I I I 因子^{1 0 2 - 1 2 2}ペプチドである。

20

【0182】

一実施形態において、方法は、本明細書に記載される、第V I I I 因子^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチドを含む治療有効量の薬学的組成物を対象に投与するステップを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I ^{4 7 4 - 4 9 4}ペプチド、F V I I I ^{5 4 0 - 5 6 0}ペプチド、F V I I I ^{1 7 8 5 - 1 8 0 5}ペプチド、F V I I I ^{2 0 2 5 - 2 0 4 5}ペプチド、F V I I I ^{2 1 6 0 - 2 1 8 0}ペプチド、F V I I I ^{1 0 2 - 1 1 9}ペプチド、F V I I I ^{1 4 0 1 - 1 4 2 4}ペプチド、F V I I I ^{1 0 2 - 1 2 2}ペプチド、または第2のF V I I I ^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチドをさらに含む。

30

【0183】

別の実施形態において、方法は、本明細書に記載される第V I I I 因子^{1 4 0 1 - 1 4 2 4}ペプチドを含む治療有効量の薬学的組成物を対象に投与するステップを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I ^{4 7 4 - 4 9 4}ペプチド、F V I I I ^{5 4 0 - 5 6 0}ペプチド、F V I I I ^{1 7 8 5 - 1 8 0 5}ペプチド、F V I I I ^{2 0 2 5 - 2 0 4 5}ペプチド、F V I I I ^{2 1 6 0 - 2 1 8 0}ペプチド、F V I I I ^{1 0 2 - 1 1 9}ペプチド、F V I I I ^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチド、F V I I I ^{1 0 2 - 1 2 2}ペプチド、または第2のF V I I I ^{1 4 0 1 - 1 4 2 4}ペプチドをさらに含む。

40

【0184】

別の実施形態において、方法は、本明細書に記載される第V I I I 因子^{1 0 2 - 1 2 2}ペプチドを含む治療有効量の薬学的組成物を対象に投与するステップを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I ^{4 7 4 - 4 9 4}ペプチド、F V I I I ^{5 4 0 - 5 6 0}ペプチド、F V I I I ^{1 7 8 5 - 1 8 0 5}ペプチド、F V I I I ^{2 0 2 5 - 2 0 4 5}ペプチド、F V I I I ^{2 1 6 0 - 2 1 8 0}ペプチド、F V I I I ^{1 0 2 - 1 1 9}ペプチド、F V I I I ^{2 4 6 - 2 6 6}ペプチド、F V I I I ^{1 4 0 1 - 1 4 2 4}ペプチド、または第2のF V I I I ^{1 0 2 - 1 2 2}ペプチドをさらに含む。

【0185】

一実施形態において、本発明は、F V I I I タンパク質に対する免疫寛容を誘導する方

50

法を提供し、この方法は、配列：(R¹)_x - P - (R²)_y を有し、式中、Pが、SEQ ID NO: 68、344、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R¹が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1であるペプチドを含む、治療有効量の薬学的組成物を対象に投与し、それによって該対象においてFVIIITタンパク質に対する免疫寛容を誘導するステップを含む。特定の実施形態において、R¹は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【0186】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【0187】

一実施形態において、FVIIIPeptidは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0188】

10

20

30

40

50

免疫寛容を誘導する方法は、免疫寛容を誘導するためにいくつかのペプチドを投与することができる併用療法をさらに含んでもよい。一実施形態において、免疫寛容を誘導する方法は、配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、SEQ ID NO：10、68、159、250、344、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R¹が、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²が、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である少なくとも第2のペプチドの治療有効量を投与し、それによって対象においてFV I I Iタンパク質に対する免疫寛容を誘導するステップをさらに含んでもよい。特定の実施形態において、R¹は、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R²は、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。特定の実施形態において、第2のペプチドは、9～80個のアミノ酸からなる。別の特定の実施形態において、第2のペプチド中のいかなる付加的なアミノ酸も天然アミノ酸である。別の特定の実施形態において、第2のペプチドは、9～40アミノ酸長からなる。具体的な実施形態において、第2のペプチドは、9～80アミノ酸長からなり、第2のペプチド中のいかなる付加的なアミノ酸も天然アミノ酸である。

10

【0189】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

【0190】

一実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、このFV I I Iペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、このFV I I Iペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、このFV I I Iペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、このFV I I Iペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、

40

50

63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0191】

投与される薬学的組成物が、PがSEQ ID NO: 68、344、または740の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であるペプチドを含む、免疫寛容を誘導するための方法の具体的な実施形態において、この組成物は、第2のポリペプチドをさらに含み、該第2のポリペプチドは、配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pは、SEQ ID NO: 10、68、159、250、344、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R1は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R2は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyはそれぞれ独立して、0または1である。

10

【0192】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

40

【0193】

一態様において、本発明は、FVIIII補充療法に対して生じた免疫応答の治療用の薬剤を製造するための本明細書に記載されるFVIIIIの使用を提供する。具体的な実施形態において、FVIIIIペプチドはFVIIII¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ペプチドである。関連する態様において、本発明は、FVIIII補充療法に対して生じた免疫応答の防止用の薬剤を製造するための本明細書に記載されるFVIIIIペプチドの使用を提供する。具体的な実施形態において、FVIIIIペプチドはFVIIII¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴ペプチドである。

【0194】

50

一態様において、本発明は、薬剤として使用するためのF V I I Iペプチドを提供する。具体的な実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第V I I I因子 $1^4 0^1 - 1^4 2^4$ ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、薬剤として使用するためのポリペプチドを提供する。

【0195】

一態様において、本発明は、F V I I I補充療法に対して生じた免疫応答の治療用のF V I I Iペプチドを提供する。具体的な実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第V I I I因子 $1^4 0^1 - 1^4 2^4$ ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、F V I I I補充療法に対して生じた免疫応答の治療用のポリペプチドを提供する。

【0196】

一態様において、本発明は、F V I I I補充療法に対して生じた免疫応答の防止用のF V I I Iペプチドを提供する。具体的な実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第V I I I因子 $1^4 0^1 - 1^4 2^4$ ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 R^1 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、F V I I I補充療法に対して生じた免疫応答の防止用のポリペプチドを提供する。

【0197】

V I I . 免疫診断

一態様において、本発明は、対象から採取した生物試料におけるF V I I I阻害抗体またはF V I I Iに対して特異的なC D 4 + T細胞の存在またはレベルを特定することによって、F V I I I補充療法またはF V I I I免疫寛容誘導療法をそれを必要とする該対象においてモニターするための方法を提供する。

【0198】

一実施形態において、方法は、それを必要とする対象においてF V I I I補充療法をモニターするための方法を含み、この方法は、本明細書に記載される、F V I I I $^{2 4 6 - 2 6 6}$ ペプチド、F V I I I $^{1 4 0 1 - 1 4 2 4}$ ペプチド、またはF V I I I $^{1 0 2 - 1 2 2}$ ペプチドに、該対象からの生物試料を接触させるステップ、および、F V I I Iペプチドと試料中に存在するF V I I I阻害抗体との間で形成された複合体を検出するステップを含む。一実施形態において、方法は、試料中のF V I I I阻害抗体のレベルを測定するステップを含む。さらに別の実施形態において、方法は、異なる時期に対象から採取した少なくとも2つの試料中のF V I I I阻害抗体のレベルを測定するステップ、および、これら2つの試料間のF V I I I阻害抗体のレベルを比較するステップを含み、経時的な抗体レベルの増加は、F V I I I補充療法の過程で該対象に投与されたF V I I Iに対する免疫応答の成立を示す。

【0199】

別の実施形態において、方法は、それを必要とする対象においてF V I I I免疫寛容誘導療法をモニターするための方法を含み、この方法は、本明細書に記載される、F V I I

10

20

30

40

50

I²⁴⁶-2⁶⁶ ペプチド、F V I I I¹⁴⁰¹-1⁴²⁴ ペプチド、または F V I I I¹⁰²-1²² ペプチドに、該対象からの生物試料を接触させるステップ、および、F V I I I ペプチドと試料中に存在する F V I I I 阻害抗体との間で形成された複合体を検出するステップを含む。一実施形態において、方法は、試料中の F V I I I 阻害抗体のレベルを測定するステップを含む。さらに別の実施形態において、方法は、異なる時期に対象から採取した少なくとも2つの試料中の F V I I I 阻害抗体のレベルを測定するステップ、および、これら2つの試料間の F V I I I 阻害抗体のレベルを比較するステップを含み、経時的な抗体レベルの減少は、該対象における F V I I I タンパク質に対する免疫寛容の成立を示す。

【0200】

一実施形態において、方法は、それを必要とする対象において F V I I I 補充療法をモニターするための方法を含み、この方法は、本明細書に記載される、F V I I I²⁴⁶-2⁶⁶ ペプチド、F V I I I¹⁴⁰¹-1⁴²⁴ ペプチド、または F V I I I¹⁰²-1²² ペプチドに、該対象からの生物試料を接触させるステップ、および、F V I I I ペプチドと試料中に存在する F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞との間で形成された複合体を検出するステップを含む。一実施形態において、方法は、試料中の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを測定するステップを含む。さらに別の実施形態において、方法は、異なる時期に対象から採取した少なくとも2つの試料中の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを測定するステップ、および、これら2つの試料間の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを比較するステップを含み、経時的な抗体レベルの増加は、F V I I I 補充療法の過程で該対象に投与された F V I I I に対する免疫応答の成立を示す。具体的な実施形態において、F V I I I ペプチドは、M H C クラス I I 多量体と複合体を形成している。

【0201】

別の実施形態において、方法は、それを必要とする対象において F V I I I 免疫寛容誘導療法をモニターするための方法を含み、この方法は、本明細書に記載される、F V I I I²⁴⁶-2⁶⁶ ペプチド、F V I I I¹⁴⁰¹-1⁴²⁴ ペプチド、または F V I I I¹⁰²-1²² ペプチドに、該対象からの生物試料を接触させるステップ、および、F V I I I ペプチドと試料中に存在する F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞との間で形成された複合体を検出するステップを含む。一実施形態において、方法は、試料中の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを測定するステップを含む。さらに別の実施形態において、方法は、異なる時期に対象から採取した少なくとも2つの試料中の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを測定するステップ、および、これら2つの試料間の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを比較するステップを含み、経時的な抗体レベルの減少は、該対象における F V I I I タンパク質に対する免疫寛容の成立を示す。具体的な実施形態において、この F V I I I ペプチドは、M H C クラス I I 多量体と複合体を形成している。

【0202】

当業者に理解されるように、免疫モニタリングを用いて、例えば血友病患者の治療を促進できる。例えば、免疫モニタリングを用いて、本発明のペプチドおよび/または組成物が、F V I I I 製剤に対する免疫応答を予防しているかどうかまたは低下させているかどうかを特定することができる。投与量および/または投与間隔は、免疫モニタリングによって最適化することができる。一部の実施形態において、免疫モニタリングからの抗 F V I I I 抗体の阻止または減少の結果に基づいて、投与量を特別に適合させることができる。さらに、投与間隔は、投与量と同様に、個々の患者または患者群に対して決定することができる。

【0203】

A. F V I I I 特異的 T 細胞を特定する方法

別の態様において、本発明は、抗原特異的 T 細胞、より具体的には、本明細書に記載される F V I I I タンパク質および F V I I I ペプチドに対して特異的な T 細胞を特定する

10

20

30

40

50

方法を含む。そのような方法は、例えば、患者の免疫モニタリングなどの免疫診断に使用することができる。一実施形態において、本発明は、F V I I I ペプチド特異的 T 細胞を特定する方法を含み、この方法は、(a) M H C クラス I I 多量体と複合体を形成した F V I I I ペプチドと複数の C D 4 + T 細胞を混合するステップであって、該 F V I I I ペプチドが配列：(R ¹)_x - P - (R ²)_y を有し、式中、P が、S E Q I D N O : 6 8、3 4 4、および 7 4 0 から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 8 5 % の同一性を有するアミノ酸配列であり、R 1 が、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R 2 が、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ステップ、ならびに (b) 該 M H C クラス I I 多量体と複合体を形成した該ペプチドに対して特異的な該複数の C D 4 + T 細胞のメンバーのうち少なくとも 1 つを特定するステップを含む。一部の実施形態において、R ¹ は、1 ~ 4 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R ² は、1 ~ 4 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【0204】

特定の実施形態において、本明細書において開示される F V I I I ペプチドは、F V I I I 特異的 T 細胞の直接染色に好適な試薬を作製するために使用することができる。例えば、本発明の F V I I I ペプチド中に存在する M H C クラス I I 多量体は、M H C クラス I I 四量体などの様々な形態を含み得る。これらの M H C クラス I I 分子をさらに改変して、診断用薬を含めてもよい。あるいは、M H C クラス I I 多量体と複合体を形成する F V I I I ペプチドが、診断用薬を含んでもよい。本発明において使用される診断用薬（すなわち、検出可能部分）は、当分野で一般に知られる免疫モニタリング用のものを含み得る。例えば、F V I I I 特異的 T 細胞は、M H C クラス I I 四量体によって提示される、本明細書に記載される F V I I I ペプチドと関連した診断用薬の検出に基づいて、特定および/または単離することができる。好適な診断用薬には、蛍光剤、化学発光剤、放射性物質、造影剤などを含み得る。好適な蛍光剤には、通常フローサイトメトリーに使用されるものが含まれ、フルオレセインイソチオシアネート、R - フィコエリトリン、テキサスレッド、C y 3、C y 5、C y 5 . 5、C y 7、およびそれらの誘導体を含み得るが、これらに限定されない。

【0205】

特定の実施形態において、この F V I I I ペプチドを用いて、インビトロで C D 4 + F V I I I 特異的 T 細胞を再刺激することができる。これらの実施形態において、T 細胞の再刺激は、増殖、サイトカインもしくはケモカインの分泌、当業者に既知の特定の活性化マーカーの上方もしくは下方制御の検出によってモニターできるであろう。

【0206】

一部の実施形態において、診断用薬の検出を用いて、本明細書に記載される F V I I I ペプチドに対して特異的な T 細胞を特定および/または単離することができる。例えば、上記の試薬（例えば、ペプチド、M H C クラス I I 四量体、および診断用薬）を用いて、インビトロまたはエクスピボで F V I I I 特異的 T 細胞を追跡することができる。特定の実施形態において、当分野で一般に知られる様々な手法、例えば、フローサイトメトリー、例えば蛍光標識細胞分取（F A C S）、および/または P C R、例えば単一細胞 P C R を用いて、T 細胞をさらに単離し、特徴付けることができる。

【0207】

免疫モニタリング分析を実施する目的で、F V I I I ペプチド - M H C クラス I I 多量体複合体に結合する T 細胞は C D 4 + T 細胞を含み、これは当分野で一般に知られる種々の方法を用いて患者から単離することができる。例えば、T 細胞は、患者の血液、器官、または他の組織から単離し、精製することができる。F V I I I 特異的 T 細胞の単離および特定は、種々の免疫診断用途で使用可能である。特定の実施形態において、F V I I I ペプチドまたは関連する試薬は、新しい F V I I I 製剤の臨床開発時に、F V I I I 特異的 T 細胞の免疫モニタリングに使用することができる。他の実施形態において、この F V I I I ペプチドは、免疫寛容誘導療法中に、F V I I I 特異的 T 細胞の免疫モニタリング

10

20

30

40

50

に使用することができる。また他の実施形態において、このF V I I Iペプチドは、F V I I I治療中に、F V I I I特異的T細胞の免疫モニタリングに使用することができる。

【0208】

V I I I . 本発明のキット

また、本発明は、本発明によって提供される組成物の使用を容易にするため、および/または標準化するため、また本発明の方法を容易にするためのキットも提供する。これらの様々な方法を実施するための材料および試薬をキットとして提供し、方法の実行を容易にすることができる。本明細書において使用するとき、「キット」という用語は、プロセス、アッセイ、分析、または操作を容易にする物品の組み合わせに関して用いられる。

【0209】

キットは、化学試薬（例えば、F V I I IペプチドまたはF V I I Iペプチドをコードするポリヌクレオチド）、ならびに他の要素を含んでもよい。さらに、本発明のキットは、例えば、試料の回収および/または精製のための器具および試薬、生成物の回収および/または精製のための器具および試薬、細菌細胞形質転換のための試薬、真核細胞トランスフェクションのための試薬、すでに形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞、試料管、ホルダー、トレイ、ラック、ディッシュ、プレート、キット使用者に対する使用説明、溶液、緩衝剤、または他の化学試薬、標準化、正規化、および/または対照試料に使用するのに好適な試料も含んでもよいが、これらに限定されない。本発明のキットは、便利に保管し、安全に輸送するために、例えば蓋付きの箱に包装してもよい。

【0210】

一部の実施形態において、例えば、本発明のキットは、本発明のF V I I Iペプチド、本発明のF V I I Iペプチドをコードするポリヌクレオチドベクター（例えば、プラスミド）、ベクターの増殖に好適な細菌細胞株、および発現した融合タンパク質の精製のための試薬を提供してもよい。あるいは、本発明のキットは、F V I I Iペプチドの突然変異誘発を実施して、F V I I Iペプチドの保存的に改変された変異体を作製するために必要な試薬を提供してもよい。

【0211】

キットは、本発明の1つまたは複数の組成物、例えば、1つまたは複数のF V I I Iペプチド、あるいはF V I I Iペプチドをコードする1つまたは複数のポリヌクレオチドを含んでもよい。あるいは、キットは、患者の免疫モニタリングを実施するための試薬（例えば、ペプチド、MHCクラスII四量体、および診断用薬）を含んでもよい。

【0212】

また、本発明のキットは、同じでも異なってもよいF V I I Iペプチドをコードする1つまたは複数の組換え核酸分子を含んでもよく、また例えば、制限エンドヌクレアーゼ認識部位またはリコンビナーゼ認識部位を含むまたはコードする、作用可能に連結した第2のポリヌクレオチド、または任意の対象ポリペプチドをさらに含んでもよい。さらに、キットの構成要素、特にキットに含まれる本発明の組成物を使用するための使用説明を含んでもよい。

【0213】

I X . 具体的な実施形態

一実施形態において、本発明は、アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

中の9個の連続するアミノ酸と少なくとも85%同一である連続する9個のアミノ酸の配列からなるF V I I Iペプチドを提供し、このペプチドは、式：(R1)_x-ペプチド-(R2)_yを有し、式中、R1は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R2は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字xおよびyはそれぞれ独立して、0または1である。

【0214】

一実施形態において、R¹およびR²は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R¹およびR²は、別個に、ま

10

20

30

40

50

たはともに、1～70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 R^1 および R^2 は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

20

【0215】

上述のペプチドの具体的な実施形態において、 x および y はともに0である。

【0216】

上述のペプチドの具体的な実施形態において、 x は1であり、 y は0である。

【0217】

上述のペプチドの具体的な実施形態において、 x は0であり、 y は1である。

【0218】

上述のペプチドの具体的な実施形態において、 x および y はともに1である。

【0219】

上述のペプチドの具体的な実施形態において、9個のアミノ酸の連続する配列は、アミノ酸配列：

30

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

中の9個の連続するアミノ酸と同一である。

【0220】

一実施形態において、本発明は、アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

中の9個の連続するアミノ酸と少なくとも85%同一である連続する9個のアミノ酸の配列からなるFV I I Iペプチドを含む薬学的組成物を提供し、このペプチドは、式： $(R^1)_x$ -ペプチド- $(R^2)_y$ を有し、式中、 R^1 は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 R^2 は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字 x および y はそれぞれ独立して、0または1である。

40

【0221】

上述の組成物の具体的な実施形態において、 x および y はともに0である。

【0222】

上述の組成物の具体的な実施形態において、 x は1であり、 y は0である。

【0223】

上述の組成物の具体的な実施形態において、 x は0であり、 y は1である。

【0224】

上述の組成物の具体的な実施形態において、 x および y はともに1である。

【0225】

50

上述の組成物の具体的な実施形態において、組成物は、
 GEVGDTHLLIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159),
 PTKSDPRCLTRYSSSFVNMER (SEQ ID NO:250), EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ
 ID NO:477), LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568),
 NPPIIARYIRLHPHTHSIRST (SEQ ID NO:659), TVVITLKNMASHPVSLSHA (SEQ ID
 NO:10), AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68), および
 TVVITLKNMASHPVSLSHAVGV (SEQ ID NO:740)

からなる群から独立して選択されたアミノ酸配列中の 9 個の連続するアミノ酸と少なくとも 85% 同一である連続する 9 個のアミノ酸の配列からなる少なくとも 1 つのペプチドをさらに含み、この少なくとも 1 つのペプチドは、最大 80 アミノ酸長であり、この少なくとも 1 つのペプチド中のいかなる付加的なアミノ酸も天然アミノ酸である。

【0226】

一実施形態において、本発明は、対象において F V I I I に対する免疫寛容を誘導する方法を提供し、この方法は、アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO: 344)

中の 9 個の連続するアミノ酸と少なくとも 85% 同一である連続する 9 個のアミノ酸の配列からなり、かつ式：(R1) x - ペプチド - (R2) y を有し、式中、R1 は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R2 は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字 x および y はそれぞれ独立して、0 または 1 である F V I I I ペプチドを含む治療有効量の薬学的組成物を該対象に投与し、それによって、該対象における F V I I I タンパク質に対する免疫寛容を誘導するステップを含む。

【0227】

上述の方法の具体的な実施形態において、薬学的組成物は、
 GEVGDTHLLIFKNQASRPYNI

(SEQ ID NO:159), PTKSDPRCLTRYSSSFVNMER (SEQ ID NO:250),
 EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477), LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ
 ID NO:568), NPPIIARYIRLHPHTHSIRST (SEQ ID NO:659), TVVITLKNMASHPVSLSHA
 (SEQ ID NO:10), AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68), および
 TVVITLKNMASHPVSLSHAVGV (SEQ ID NO:740)

からなる群から独立して選択されたアミノ酸配列中の 9 個の連続するアミノ酸と少なくとも 85% 同一である連続する 9 個のアミノ酸の配列からなる少なくとも 1 つのペプチドをさらに含み、この少なくとも 1 つのペプチドは、最大 80 アミノ酸長であり、この少なくとも 1 つのペプチド中のいかなる付加的なアミノ酸も天然アミノ酸である。

【0228】

上述の方法の具体的な実施形態において、薬学的組成物の投与は、対象における抗 F V I I I 抗体の発生を防止する。

【0229】

上述の方法の具体的な実施形態において、薬学的組成物の投与は、対象中に存在する抗 F V I I I 抗体の量を減少させる。

【0230】

上述の方法の具体的な実施形態において、x および y はともに 0 である。

【0231】

上述の方法の具体的な実施形態において、x は 1 であり、y は 0 である。

【0232】

上述の方法の具体的な実施形態において、x は 0 であり、y は 1 である。

【0233】

10

20

30

40

50

上述の方法の具体的な実施形態において、 x および y はともに 1 である。

【0234】

一実施形態において、本発明は、F V I I I ペプチドを作成する方法を提供し、この方法は、(a) アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO: 344)

中の 9 個の連続するアミノ酸と少なくとも 85% 同一である連続する 9 個のアミノ酸の配列からなる F V I I I ペプチドをコードするベクターを含む細胞の培養物を供給するステップであって、該ペプチドが、式： $(R1)_x$ - ペプチド - $(R2)_y$ を有し、式中、 $R1$ が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R2$ が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字 x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ステップ、ならびに (b) 該細胞の培養物において該ペプチドを発現させるステップを含む。

10

【0235】

上述の方法の具体的な実施形態において、 x および y はともに 0 である。

【0236】

上述の方法の具体的な実施形態において、 x は 1 であり、 y は 0 である。

【0237】

上述の方法の具体的な実施形態において、 x は 0 であり、 y は 1 である。

【0238】

上述の方法の具体的な実施形態において、 x および y はともに 1 である。

20

【0239】

一実施形態において、本発明は、F V I I I ペプチドを作成する方法を提供し、この方法は、(a) 固相または液相合成技術を用いてペプチドを合成するステップを含み、このペプチドは、アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO: 344)

中の 9 個の連続するアミノ酸と少なくとも 85% 同一である連続する 9 個のアミノ酸の配列からなり、このペプチドは、式： $(R1)_x$ - ペプチド - $(R2)_y$ を有し、式中、 $R1$ は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R2$ は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字 x および y はそれぞれ独立して、0 または 1 である。

30

【0240】

上述の方法の具体的な実施形態において、 x および y はともに 0 である。

【0241】

上述の方法の具体的な実施形態において、 x は 1 であり、 y は 0 である。

【0242】

上述の方法の具体的な実施形態において、 x は 0 であり、 y は 1 である。

【0243】

上述の方法の具体的な実施形態において、 x および y はともに 1 である。

【0244】

一実施形態において、F V I I I ペプチド特異的 T 細胞を特定する方法を提供し、この方法は、(a) M H C クラス I I 多量体と複合体を形成した F V I I I ペプチドと複数の C D 4 + T 細胞を混合するステップであって、該 F V I I I ペプチドが、アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO: 344)

中の 9 個の連続するアミノ酸と少なくとも 85% 同一である連続する 9 個のアミノ酸の配列からなり、該ペプチドが、式： $(R1)_x$ - ペプチド - $(R2)_y$ を有し、式中、 $R1$ が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R2$ が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字 x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ステップ、ならびに (b) M H C クラス I I 多量体と複合体を形成した該ペプチドに対して特異的な複数の C D 4 + T 細胞のメンバーのうち少なくとも 1 つを特定するステップを含む。

40

50

【0245】

上述の方法の具体的な実施形態において、MHCクラスII多量体はMHCクラスII四量体である。

【0246】

上述の方法の具体的な実施形態において、ペプチドまたはMHCクラスII多量体は、診断用薬をさらに含む。

【0247】

上述の方法の具体的な実施形態において、診断用薬は、当該ペプチドに対して特異的な複数のCD4+T細胞のうち少なくとも1つのメンバーを特定する。

【0248】

上述の方法の具体的な実施形態において、方法は、診断用薬の検出に基づいて、複数のCD4+T細胞のうち少なくとも1つのメンバーが当該ペプチドに対して特異的である、該少なくとも1つのメンバーを単離するステップをさらに含む。

10

【0249】

上述の方法の具体的な実施形態において、複数のCD4+T細胞のうち少なくとも1つのメンバーは、フローサイトメトリーにより単離される。

【0250】

上述の方法の具体的な実施形態において、xおよびyはともに0である。

【0251】

上述の方法の具体的な実施形態において、xは1であり、yは0である。

20

【0252】

上述の方法の具体的な実施形態において、xは0であり、yは1である。

【0253】

上述の方法の具体的な実施形態において、xおよびyはともに1である。

【0254】

次に、以下の実施例において、それらに限定することなく、本発明をさらに説明する。

【実施例】

【0255】

X. 実施例

実施例 1

30

FVIIIPeptidを特定するためにヒトMHCクラスII分子をより適切に模倣する目的で、ヒトHLA-DRB1*1501特異的結合部位を含むキメラMHCクラスII分子を用いて血友病Aのマウスモデルが開発された。このマウスを全てのマウスMHCクラスII遺伝子が完全に欠損したマウスに戻し交配した(Reipert et al., J. Thromb. Haemost. 7 Suppl. 1: 92-97 (2009))。この新規のトランスジェニックマウスモデルでは、全てのCD4+T細胞応答がヒトMHCクラスII分子によって引き起こされる。このマウスモデルを用いて、これらのマウスにおいて抗FVIIII免疫応答を引き起こす、HLA-DRB1*1501によって提示されるFVIIIIペプチドを特定した。

40

【0256】

材料および方法

FVIIII:

組換えヒトFVIIII(rFVIIII)は、アルブミンを含まないバルク製剤(Baxter Neuchatel)、および臨床用スクロース配合FVIIII製剤(Advate, Baxter, Westlake Village, CA)として製造された。

【0257】

血友病HLA-DRB15 E17マウス:

Reipert et al., J. Thromb. Haemost. 7 Suppl. 1: 92-97 (2009)に記載されているようなHLA-DRB1*1501+/E17+/マウス。マウスは、全て雄で、実験開始時に生後8~12週間であった。

50

【0258】

ヒト組換えFV I I Iによる免疫化：

H L A - D R B 1 * 1 5 0 1 + / - E 1 7 - / - マウスに、0.2 μg または 1 μg のヒト r F V I I I を 1 週間間隔で 4 ~ 8 回 静脈内または皮下投与した。r F V I I I は、元の製剤緩衝液またはカルシウムおよびマグネシウムを含有するダルベッコリン酸緩衝食塩水 (D P B S ; S i g m a A l d r i c h , S t . L o u i s , M i s s o u r i , U S A) で希釈した。

【0259】

細胞調製：

r F V I I I による最後の免疫化の 3 ~ 7 日後に、脾臓を摘出した。脾臓細胞を細分化して、70 μm の細胞ストレーナー (B e c t o n D i c k i n s o n , F r a n k l i n L a k e s , N J) に通した。培養培地：10% 事前選択したウシ胎仔血清 (F C S ; H y c l o n e , L o g a n , U T) と、2 m M L - グルタミン (G i b c o) と、100 U / m L ペニシリン/ストレプトマイシン (G i b c o) と、 5×10^{-5} M メルカプトエタノール (S i g m a - A l d r i c h) とを補充した R P M I 1 6 4 0 培地 (G i b c o , I n v i t r o g e n , L i f e T e c h n o l o g i e s , C a r l s b a d , C A) で単細胞を回収した。0.15 M 塩化アンモニウム (M e r c k , D a r m s t a d t , G e r m a n y) と、10 m M 重炭酸カリウム (M e r c k , D a r m s t a d t , G e r m a n y) と、0.1 m M エチレン - ジアミンテトラ酢酸 (S i g m a - A l d r i c h) とから構成される低張緩衝液 (p H 7 . 2) を用いて、赤血球を溶解した。細胞を洗浄し、C o u l t e r C o u n t e r Z 1 を用いて計数した。

10

20

【0260】

F V I I I ペプチドを特定するための T 細胞ハイブリドーマの作製

ヒト r F V I I I による脾臓細胞のインビトロ再刺激：

濃度 1.5×10^6 細胞 / m L で、培養培地中 20 μg / m L のヒト F V I I I の存在下、脾臓細胞を 3 日間または 10 日間再刺激した。10 日間培養のための培養培地を 6 日後に取り替えた。

【0261】

マウス T 細胞の B W 細胞との融合：

インビトロで再刺激した脾臓細胞培養物と B W 細胞 (- -) とを無血清培地で 2 回洗浄し、その後 1 : 3 ~ 1 : 10 (T 細胞 : B W 細胞) の比率で混合した。B W 細胞株は、マウス A K R / J T 細胞リンパ腫由来であった。これらの細胞は、T 細胞受容体をその表面に有さず (- -)、そのためマウス脾臓細胞との融合後のあらゆる T 細胞受容体は、融合パートナーに由来する。3 回目の洗浄ステップ後、上澄みを除去した。1 m L のポリエチレングリコール (P E G ; 50% H y b i M a x , S i g m a - A l d r i c h) を 45 秒以内に添加することによって、融合条件を達成した。さらに 45 秒間のインキュベーション後、続いて P E G の毒性作用を防止するために無血清培地 50 m L を添加した。細胞を 1300 r p m で 5 分間連続的に遠心分離して、非常に堅いペレットを形成した。上澄みを廃棄し、新しい無血清培地 50 m L をペレットが移動しないように極めてゆっくり添加した。細胞が再懸濁するまで試験管をゆっくりと逆さにし、前回同様に遠心分離した。これを 2 回行って残留 P E G を除去した。培養培地での最後の洗浄ステップを行った。次に細胞を希釈し、96 ウェルプレートで培養した。48 時間に培養培地を選択培地 (H A T 培地サプリメント , S i g m a A l d r i c h) に交換し、成長しているクローンを選択した。選択培地を 2 週間維持した後、続いて培地を交換して通常の培養培地に戻した。

30

40

【0262】

F V I I I 特異的 T 細胞ハイブリドーマのペプチド特異性：

T 細胞ハイブリドーマをその抗原特異性について試験した。この目的で、 1×10^5 の細胞を抗原提示細胞と共培養した。 5×10^4 の M g a r 細胞 (H L A - D R B 1 * 1 5

50

01を発現)または未感作HLA-DRB1*1501-E17マウス由来の 1×10^5 の全脾臓細胞のいずれかを使用した。10 μ g/mLのヒトFVIIまたは1 μ g/mLのペプチド/ペプチドプールとともに、細胞を37°C、5%CO₂で24時間インキュベートした。上澄みを回収し、製造者の指示に従ってIL-2 ELISA (BioLegend, San Diego, CA)またはIL-2 Bio-Plex (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)を用い、培養上澄み中へのIL-2放出を測定した。FVII(またはペプチド)の存在下で20pg/mL以上でありFVII不在下ではそうではないIL-2放出を陽性とみなすが、あるいはFVII不在下と比較してFVII存在下でのIL-2放出の10倍増加を陽性とみなした。

10

【0263】

T細胞ハイブリドーマのサブクローニング:

各クローンが1種類のみT細胞を示すことを確実にするために、全てのハイブリドーマクローンをサブクローニングした。ハイブリドーマクローンを0.3細胞/ウェルの限界希釈まで希釈し、200フィーダー細胞/ウェルと共培養した。フィーダー細胞は、融合パートナー細胞であるBW細胞のマイトマイシンC処理によって生成した。2 $\times 10^8$ のBW細胞をストレプトミセス・カエスピトサス(*Streptomyces caespitosus*, Sigma Aldrich)由来のマイトマイシンCを0.1mg用いて、室温で10分間、およびインキュベーター中、37°C、5%CO₂で25分間処理した。クローン1個当たり5個の成長しているサブクローンを選択し、そのFVII特異性について試験した。

20

【0264】

T細胞ハイブリドーマの特異性を特定するために使用したFVIIペプチドプール:

FVIIペプチドプールをAy et al. (Biopolymers 88:64-75 (2007))によって記載されるSPOT合成法を用いて作製した。簡潔に述べると、15量体ペプチドを2つの同一のセルロース膜上で合成した。膜を縦および横の条片に切断した。ペプチドをその膜条片から放出させ、上述のような特異性試験においてペプチドプールとして使用した。ペプチドをDMSO (Hybrimax, Sigma Aldrich)に溶解し、PBSでさらに希釈した。

30

【0265】

結果

181個のFVII特異的ハイブリドーマクローンが生成された。これらのクローンをヒトFVII全体にわたるペプチドライブラリーに対してスクリーニングした。3個のアミノ酸が異なる15量体ペプチドを使用した。この手法を用いて、HLA-DRB1*1501に結合したペプチドを含む6つの異なるFVII領域を特定した。ヒトFVIIのA1ドメイン内に2つのペプチドドメイン、A2ドメイン内に2つのペプチド、Bドメイン内に1つ、A3ドメイン内に2つ、C1ドメイン内に1つのペプチドドメインを発見した。FVIIペプチド¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴は、これまでに記載されていない(表11)。ペプチドFVII⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴、FVII⁵⁴⁵⁻⁵⁵⁹、FVII¹⁷⁸⁸⁻¹⁸⁰²、およびFVII²¹⁶¹⁻²¹⁷⁵は、コンピュータ予測プログラムに続いてT細胞ハイブリドーマ技術を用いるW009/071886において、すでに特定されている。ペプチドFVII²⁰³⁰⁻²⁰⁴⁴は、W003/087161に開示されている。ペプチドFVII²¹⁶¹⁻²¹⁸⁰は、Jacquemin et al., Blood 101(4):1351-8 (2003)によってすでに公表されている。

40

【0266】

(表11) T細胞エピトープを含むFVIIの領域

T細胞エピトープを含む領域	アミノ酸配列	開示
FVIII ¹⁰²⁻¹²²	TVVITLKNMASHPVSLSLHAVGV (SEQ ID NO:740)	WO2003/087161に開示されている FVIII ¹⁰⁷⁻¹²¹ WO/2009/095646に開示されている FVIII ¹⁰⁰⁻¹¹⁸
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶	AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)	WO/2009/095646に開示されている FVIII ²⁵³⁻²⁶⁸
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴	GEVGDTHLLIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)	WO 2009/071886に開示されている FVIII ⁴⁷⁵⁻⁴⁹⁵ WO/2009/095646に開示されている FVIII ⁴⁷⁷⁻⁴⁹⁵
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰	PTKSDPRCLTRYYSFVNMER (SEQ ID NO:250)	WO 2009/071886に開示されている FVIII ⁵⁴²⁻⁵⁶² WO/2009/095646に開示されている FVIII ⁵⁴⁵⁻⁵⁶⁹
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)	本発明のペプチド
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵	EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)	WO 2009/071886に開示されている FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵ WO/2009/095646に開示されている FVIII ¹⁷⁸⁷⁻¹⁸⁰⁵
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵	LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)	WO 2003/087161に開示されている FVIII ²⁰³⁰⁻²⁰⁴⁴
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰	NPPIIARYIRLHPHYSIRST (SEQ ID NO:659)	WO 2009/071886に開示されている FVIII ²¹⁵⁸⁻²¹⁷⁸ Jacquemin et al. (上記) のFVIII ²¹⁶¹⁻²¹⁸⁰ WO 2003/087161号に 開示されているFVIII ²¹⁶⁴⁻²¹⁸³ WO/2009/095646号に 開示されているFVIII ²¹⁶⁴⁻²¹⁸⁸

10

20

30

40

【 0 2 6 7 】

本明細書に記載される実施例および実施形態が例示目的に過ぎないこと、ならびにこれらを踏まえて様々な修正または変更が当業者に示唆され、それらは本出願の精神および範囲、ならびに添付される「特許請求の範囲」の範囲に含まれるものであることは理解される。本明細書において引用する全ての刊行物、特許、および特許出願は、参照により全体があらゆる目的で本明細書に援用される。

【 手続補正書 】

【 提出日 】平成25年10月21日(2013.10.21)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】明細書

【 補正対象項目名 】配列表

【 補正方法 】追加

【 補正の内容 】

【 配列表 】

2014505014000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2011/058165

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K38/37 C07K14/755 A61P7/04 ADD.		
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) A61K C07K		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, FSTA, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/087161 A1 (MERCK PATENT GMBH [DE]; JONES TIM [GB]; BAKER MATTHEW [GB]; CARR FRANC) 23 October 2003 (2003-10-23) page 23, lines 14-21 page 29, line 11-page 30, line 2claims 12-14, 16; figure 1; example 1; sequences 640, 641	1-40
A	WO 2009/095646 A2 (CIRCASSIA LTD [GB]; HAFNER RODERICK PETER [GB]) 6 August 2009 (2009-08-06) claim 1	1-40
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" 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 *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 5 March 2012		Date of mailing of the international search report 09/03/2012
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Habedanck, Robert

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/058165

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03087161	A1	23-10-2003	AT 412671 T 15-11-2008
			AU 2003232482 A1 27-10-2003
			BR 0308860 A 04-01-2005
			CA 2482926 A1 23-10-2003
			CN 1646564 A 27-07-2005
			EP 1495052 A1 12-01-2005
			ES 2319758 T3 12-05-2009
			JP 2005538694 A 22-12-2005
			MX PA04010061 A 13-12-2004
			US 2005256304 A1 17-11-2005
			WO 03087161 A1 23-10-2003

WO 2009095646	A2	06-08-2009	NONE

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 33/53 (2006.01) G 0 1 N 33/53 K
G 0 1 N 33/566 (2006.01) G 0 1 N 33/566

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

(74)代理人 100119507

弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100130845

弁理士 渡邊 伸一

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889

弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ステイニツ キャサリーナ ノラ

オーストリア共和国 シーゲンフェルド カーウエグ 1 4

(72)発明者 ウィルヘルミナ ヴァン ヘルデン ポーラ マリア

オランダ王国 デン ボッシュ アイメレン 5 4

(72)発明者 レイパート バージット マリア

オーストリア共和国 ドイチェ - ワグラム ハイネガッセ 2

(72)発明者 シュバルツ ハンス - ペーター

オーストリア共和国 ウィーン ワイマラー シュトラッセ 7 6

(72)発明者 エーリッヒ ハートムット

オーストリア共和国 ウィーン ピエネンウエグ 1

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA80 CA07 DA02 DA05 DA11 DA12 EA02 EA04 FA02

FA06 GA11 HA03

4B063 QA01 QQ08 QR48 QR66 QS36 QX02

4C084 AA01 AA02 AA03 BA04 BA44 DC20 NA06 ZA541 ZA542

4H045 AA10 AA20 AA30 BA15 BA16 BA17 BA18 BA41 CA40 DA66

EA20 EA50 FA20 FA74

专利名称(译)	用于免疫耐受诱导和免疫诊断的FVIII肽		
公开(公告)号	JP2014505014A	公开(公告)日	2014-02-27
申请号	JP2013536845	申请日	2011-10-27
[标]申请(专利权)人(译)	巴克斯特国际公司 巴克斯特医疗保健股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	巴克斯特国际公司 百特医疗上课.二.		
[标]发明人	ステイニッツキャサリーナノラ ウィルヘルミナヴァンヘルデンポーラマリア レイパートバージットマリア シュバルツハンスペーター エーリッヒハートムット		
发明人	ステイニッツ キャサリーナ ノラ ウィルヘルミナ ヴァン ヘルデン ポーラ マリア レイパート バージット マリア シュバルツ ハンス-ペーター エーリッヒ ハートムット		
IPC分类号	C07K14/755 C07K19/00 C12N15/09 C12Q1/02 A61K38/36 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/37 C07K14/755 C07K2319/00 C12P21/00 G01N33/505 G01N33/56977 A61P7/00 A61P7/04 A61P37/02 A61P37/06		
FI分类号	C07K14/755.ZNA C07K19/00 C12N15/00.A C12Q1/02 A61K37/46 G01N33/53.K G01N33/566		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA80 4B024/CA07 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/DA12 4B024 /EA02 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/FA06 4B024/GA11 4B024/HA03 4B063/QA01 4B063/QQ08 4B063/QR48 4B063/QR66 4B063/QS36 4B063/QX02 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084 /BA04 4C084/BA44 4C084/DC20 4C084/NA06 4C084/ZA541 4C084/ZA542 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/BA17 4H045/BA18 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045 /DA66 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA20 4H045/FA74		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 渡边真一 正人大关 五十嵐弘		
优先权	61/407402 2010-10-27 US 61/502476 2011-06-29 US 61/467894 2011-03-25 US		
其他公开文献	JP2014505014A5 JP6122780B2		
外部链接	Espacenet		
摘要(译)			

本发明涉及可用于降低针对FVIII的免疫应答或在例如血友病A的患者中诱导对人FVIII的耐受性的肽。此外，所述肽可用于免疫诊断目的以检测FVIII特异性CD4⁺ T细胞用于在替代治疗期间和免疫耐受诱导治疗期间监测血友病A患者。

アミノ酸配列の位置	アミノ酸配列
FVIII ¹⁰²⁻¹¹⁹	TVVITLKNMASHPVSLSHA (SEQ ID NO:10)
FVIII ²⁴⁶⁻²⁶⁶	AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)
FVIII ⁴⁷⁴⁻⁴⁹⁴	GEVGDTLIIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)
FVIII ⁵⁴⁰⁻⁵⁶⁰	PTKSDPRCLTRYYSFVNMER (SEQ ID NO:250)
FVIII ¹⁴⁰¹⁻¹⁴²⁴	QANRSPPLIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)
FVIII ¹⁷⁸⁵⁻¹⁸⁰⁵	EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)
FVIII ²⁰²⁵⁻²⁰⁴⁵	LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)
FVIII ²¹⁶⁰⁻²¹⁸⁰	NPPIARYIRLHPHYSIRST (SEQ ID NO:659)
FVIII ¹⁰²⁻¹²²	TVVITLKNMASHPVSLSHAGV (SEQ ID NO:740)

【 0 0 9 6 】