

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A) (11)特許出願公表番号

特表2002 - 543090

(P2002 - 543090A)

(43)公表日 平成14年12月17日(2002.12.17)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 0 7 K 14/56		C 0 7 K 14/56	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/00		A 6 1 P 29/00	4 H 0 4 5
A 6 1 P 29/00		31/00	
31/00		35/00	
35/00		35/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 (全 28数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 614285(P2000 - 614285)

(86)(22)出願日 平成12年4月19日(2000.4.19)

(85)翻訳文提出日 平成13年10月26日(2001.10.26)

(86)国際出願番号 PCT/DE00/01234

(87)国際公開番号 W000/64936

(87)国際公開日 平成12年11月2日(2000.11.2)

(31)優先権主張番号 199 19 149.2

(32)優先日 平成11年4月27日(1999.4.27)

(33)優先権主張国 ドイツ(DE)

(71)出願人 ヴィーザー, ライムント, ヨット.
ドイツ連邦共和国 アーヘン - コルネーリ
ミュンスター デー - 52076 コルネーリウ
スシュトラーセ 21

(72)発明者 ヴィーザー, ライムント, ヨット.
ドイツ連邦共和国 アーヘン - コルネーリ
ミュンスター デー - 52076 コルネーリウ
スシュトラーセ 21

(74)代理人 弁理士 細田 芳徳

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 インターフェロン 2 に由来するペプチドホモダイマーおよびペプチドヘテロダイマー

(57)【要約】

本発明は、アミノ酸配列WDE T L L K F Y T E L Y Q Q L (モノマーI)、S L F S C L K D R H D F G F P Q E E F G N Q (モノマーII)またはQ G V G V T E T P L M K E D S I L A V (モノマーIII)を有するペプチドモノマーからなるホモダイマーおよびヘテロダイマーまたはそれらのバリエーションに関する。ホモダイマーまたはヘテロダイマーは、インターフェロン 2 レセプターに結合し、任意に細胞シグナルを誘発しうる。該ダイマーは、免疫系疾患、増大または減少した細胞増殖に関連した疾患、感染過程または炎症過程を治療するか、または例えば、インターフェロン 2 レセプターの改変された発現、または高すぎるもしくは低すぎる発現に関連する疾患を検出するのに適切である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アミノ酸配列WDETL L KFYTELYQQL (モノマーI)、SLF SCLKDRHDFGF PQEEFGNQ (モノマーII) または QGVGVTE TPLMKEDSILAV (モノマーIII) またはそれらのバリエーションを有してなり、インターフェロン 2レセプターに結合する、ペプチドモノマーの合成のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項2】 モノマーがそれらのC末端もしくはN末端を介して結合してなるか、または一方のモノマーのN末端が他方のモノマーのC末端と結合してなる、請求項1記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項3】 モノマーIのC末端がモノマーIIのN末端もしくはC末端と結合してなるか、またはモノマーIのN末端がモノマーIIのN末端もしくはC末端と結合してなることを特徴とする、請求項2記載のヘテロダイマー。

【請求項4】 モノマーが、ポリエチレングリコール、ペプチド、活性化ベンゾジアゼピン、オキサゾロン、アザラクトン、アミンイミド、ジケトピペラジン、または単糖を介して互いに共有結合してなることを特徴とする、請求項1～3いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項5】 モノマーが、1つまたはそれ以上のアミノ酸の欠失、付加または置換および/または修飾アミノ酸を有してなり、ホモダイマーまたはヘテロダイマーが本来の形態と比較して同様のまたはより良好な様式で(a)インターフェロン 2レセプターに結合し、および/または(b)細胞シグナルを誘発しうることを特徴とする、請求項1～4いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項6】 モノマーが、1つまたはそれ以上のアミノ酸の欠失、付加または置換および/または修飾アミノ酸を有してなり、ホモダイマーまたはヘテロダイマーがインターフェロン 2レセプターに結合しうるが、アンタゴニスト効果を有することを特徴とする、請求項1～4いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項7】 1つまたはそれ以上のアミノ酸が、脂肪酸、単糖および/またはオリゴ糖により共有結合的に修飾されてなることを特徴とする、請求項1～

6いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項8】 請求項1～7いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマーに特異的に結合する抗体またはそのフラグメント。

【請求項9】 モノクローナル抗体またはそのフラグメントである請求項8記載の抗体。

【請求項10】 モノマーの固相合成およびそれに続く二量体化を含む、請求項1～7記載のホモダイマーまたはヘテロダイマーの製造方法。

【請求項11】 免疫系疾患、増大した細胞増殖に関連する疾患、感染または炎症過程を治療するための、請求項1～5および7いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項10記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーの使用。

【請求項12】 疾患が癌疾患である請求項11記載の使用。

【請求項13】 癌疾患が、ヘアリーセル白血病、転移性腎細胞癌、エイズ関連カポジ肉腫、リンパ腫または肉腫である請求項12記載の使用。

【請求項14】 免疫系疾患またはインターフェロンの増大した合成もしくはインターフェロンレセプターの増大した発現に関連する疾患を治療するための、請求項1～4、6および7いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項10記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーの使用。

【請求項15】 修飾されたインターフェロン α 2レセプターまたは過剰にもしくは不十分に発現したインターフェロン α 2レセプターまたは過剰に高いもしくは過剰に低いインターフェロン α 2濃度に関連する疾患の診断のための、請求項1～7いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項10記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項8もしくは9記載の抗体またはそのフラグメントの使用。

【請求項16】 請求項1～7いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー、請求項10記載の方法により製造されたホモダイマーまたはヘテロダイマー、または請求項8もしくは9記載の抗体またはそのフラグメントを含んでなる、請求項15記載の診断方法を行なうためのキット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、WDETL L K F Y T E L Y Q Q L (モノマーI)、S L F S C L K D R H D F G F P Q E E F G N Q (モノマーII)、またはQ G V G V T E T P L M K E D S I L A V (モノマーIII)のアミノ酸配列、もしくはそれらの変異配列をもつペプチドモノマーのホモダイマーまたはヘテロダイマーであって、インターフェロン 2レセプターに結合するとともに、任意に、細胞シグナル (zellulaeres Signal) を誘発する (ausloesen) ことができるホモダイマーまたはヘテロダイマーに関する。また、本発明は、これらのホモダイマーまたはヘテロダイマーを含む薬剤にも関する。さらに、本発明は、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマー、もしくはこれらに対する抗体を用いる診断用組成物および診断方法に関する。

【0002】

腫瘍の治療は、いまだに、手術、化学療法および放射線治療という三本柱に実質的に基づいている。しかしながら、過去数年の間に、サイトカインを用いる一次的 (すなわち、独占的な) または補助的 (支援的) な治療が、頻繁に平均余命を延長し、しばしば完全な治癒をもたらすという洞察が、一般的に認められるようになった。サイトカインは、さまざまな細胞によって合成された後分泌される内因的なメッセンジャー物質 (Botenstoffe) である。これらサイトカインが果たす生物学的な役割は多様で、今のところ一部しか分かっていない。いずれの場合にも、サイトカインは、主に基礎的免疫調節作用を有する。腫瘍治療において広く使用されているサイトカインはインターフェロンであり、156~166アミノ酸、または172アミノ酸 (aa) からなる、少なくとも23種類のさまざまな変種で構成されるファミリーであって、分子量が19~26kDAであるファミリーからなる (WeissmanとWeber、Progr. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. 33 (1986), 251-300、およびHencoら、J. Mol. Biol. 185 (1985), 227-260)。それらは、特異的なレセプターに結合することによって、細胞内を誘発し (Uzeら、EMBO J. 4 (1985), 65-70)、それにより抗ウイルス作用、細胞分裂の阻害、および免疫系NK細胞の活性を上昇させるという、インターフェロンの本質

的な作用を生じさせる (Dolyら、Cell. Mol. Life Sci. 54 (1998), 1109-1121)。
)。また、そこから、肝炎の治療だけでなく、ヘアリーセル白血病、転移性腎細胞癌、エイズ関連カポジ肉腫、ならびにさまざまな形態のリンパ腫および黒色腫の治療という、インターフェロンが適用される重要な分野も生じている。

【0003】

インターフェロンファミリーの中で、治療に用いられるのは、主に、166アミノ酸からなるインターフェロン α 2であるが、その理由は、それが、ヒトのインターフェロンレセプターに対して最大の親和性をもつためである。インターフェロン α 2のアミノ酸配列の中には、レセプター結合に関与し、それにより、生物活性に関与するさまざまなドメインがある。これらは、アミノ酸1-12、25-38、70-74、および103-113のループである (Raj、J. Biol. Chem. 263 (1988), 8943-8952)。

【0004】

所望の細胞性効果 (例えば、抗増殖性作用または免疫賦活性作用など) を得るには、しばしば、レセプターと相互作用する短いインターフェロンドメインを投与するだけで十分である。しかしながら、インターフェロン α 2については、これまでインターフェロン α 2の一部に相当する合成ペプチドを用いた研究 (Danilkovitchら、Hybridoma 16, (1997), 69-75) しか行われたことがなく、また、このペプチドはモノマーとして、インビトロ試験でしか用いられたことがない。さらに、このペプチドのアミノ酸配列は、C-末端 (aa 124-144) の一部に相当するものであった。残念ながら、所望の結果を得ることはできなかった。

【0005】

サイトカインは、一般的には、血清中に極めて少量しか存在しないため、この媒体から治療上有効な量を単離することはできない。その結果、今までのところ、治療に使用されるサイトカインは、細菌や酵母の中で遺伝子組換えによって産生されている。しかしながら、この方法には、数多くの重大な欠点が伴う。

【0006】

(1) 準備の段階で、サイトカイン組換え体の製造は時間がかかる上に手間も

かかる。例えば、次のことを明確にしなければならない。宿主細胞は正確に、すなわち、正確に元通りの立体構造をもつようにタンパク質を発現するか、実際のところ、最適な宿主細胞または発現ベクターはどれか、また、どのような条件下でなら、タンパク質がタンパク質分解を受けないのか。一般的に、組換えによって作出されたタンパク質は本来のタンパク質とは異なった三次元構造をもつため、ヒトの免疫系によって「異物」とであると認識されることに留意すべきである。これによって誘導される抗体は、サイトカインなどのタンパク質を中和するため、その有効性が失われる結果になる。

【0007】

(2) どのようにすれば、タンパク質の分解および/または単離後の沈殿を防止できるかという、原則として、全ての新しい産物に特有の同一の問題が常に生じるため、組換えタンパク質を分離し、精製するのは困難である。概して、組換えによって産生されたタンパク質は、プロテアーゼに対して顕著に不安定である。このことは、頻繁かつ/または大量の投与を必要とし、患者に深刻な負担をかける一方で、治療費用を非常に高くしている。

【0008】

(3) 治療においては、通常、一定期間をおいてサイトカインを投与しなければならないため、宿主細胞の成分からの、コンタミネーションが絶対がないことが保証されていなければならない。このような理由で、費用に好ましくない影響を与える複雑な方法が用いられなければならない。

【0009】

(4) 一方では、メッセンジャー物質(例えばサイトカイン)が、レセプター結合部位をもつだけでなく、さらに、現在のところまだ十分には理解されていないが、実際に対象となっているシグナル経路以外のシグナル経路を誘導する可能性のあるドメインが存在するという推察が広く採用されている。この推察は、とりわけ、これまでに使用されてきたサイトカインで頻繁に副作用が生じ、その結果、時によってはそれを用いた治療が不可能になることの説明となる。

【0010】

従って、本発明の技術的課題は、主に、インターフェロン 2 の生物活性を持

つ化合物を提供して、先行技術がもつ前者の欠点を回避すること、すなわち、薬剤として投与したときに、より少ない副作用、より長い半減期、および強い生物活性を得ることである。

【0011】

この技術的課題は、本特許請求の範囲において特徴づけられている実施態様を提供することによって解決された。

【0012】

本発明の実施態様は、WDETL L K F Y T E L Y Q Q L (モノマーI)、S L F S C L K D R H D F G F P Q E E F G N Q (モノマーII)、またはQ G V G V T E T P L M K E D S I L A V (モノマーIII)のアミノ酸配列を有するペプチドモノマーの合成ホモダイマーまたはヘテロダイマーであって、インターフェロン α 2レセプターに結合でき、細胞シグナルを誘発させることのできる合成ホモダイマーまたはヘテロダイマーに関する。本発明のこれらのダイマーは、レセプターが細胞内シグナルを誘発させるには2つが一緒になる必要があることから、ペプチドが生物学的作用をもつためには、二量体化した形で使用される必要があるという洞察に基づく。また、これらのダイマーには、常法によって簡単に合成したり精製することができ、必要な試験(例えば、構造研究、生物学的研究、前臨床研究および臨床研究)に直接用いることができるという長所がある。これらのペプチドは、それぞれのサイトカインが生物学的な有効性を有するために必要とされる最小の構造を表わしている。これによって、副作用を最小にしつつ、最大限の特異性と強い生物活性が保証される。ペプチドは非常に小さいため、マイクロカプセル化して、カプセルの各々の孔径に応じて、さまざまに長期間にわたる効果をもつ持効性形態を得ることができる。持効性形態(Depot form)は、局所的に適用され、長期間にわたって所望の部位(例えば、癌の病巣)で、活性物質の濃度が最大になるのを確実にすることができる。

【0013】

本発明のペプチドは、通常、例えば下記の実施例1に記載するように、既知の固相合成法にしたがって合成される。生物活性(レセプターへの結合、細胞シグナルの誘発、および増殖刺激作用)は、当業者に親しまれている方法、例えば、

Lewis、J. Immunol. Methods 185 (1995)、9-17 ; Grander ら、Eur. J: Cancer 28A (1992)、815-818)などに記載されている方法、または下記の実施例に記載されている方法によって調査される。

【0014】

本発明の好ましい実施態様において、上記ペプチドは、モノマーがC末端またはN末端を介して結合してなるか、または一方のモノマーのN末端が他方のモノマーのC末端と結合してなるホモダイマーまたはヘテロダイマーである。好ましくは、モノマーIのC末端がモノマーIIのN末端もしくはC末端と結合してなるか、またはモノマーIのN末端がモノマーIIのN末端もしくはC末端と結合してなる。一例として、所望のN末端側ペプチドは、例えばピペリジン処理によって保護基(好ましくはFmoc)を除去した後の側鎖官能基保護形態において架橋剤によって活性化され、その生成物はHPLCで精製される。別の以前に合成されたモノマーも、結合しているペプチドのN末端基とだけ反応する基をもつ側鎖官能基保護形態で(所望のダイマーに応じて、C末端かN末端で)提供される。このモノマーを、活性化されたモノマーに添加した後、側鎖保護基を除去してから、溶出挙動に関してモノマーとは顕著に異なるダイマーを常法に従って逆相HPLCによって精製単離する。アミノ酸組成によって可能であるならば、賦活基および架橋剤も、遊離したモノマーによる二量体化を、側鎖保護基を除去した後に溶液の中で直接行なうことができるように選択することができる。あるいは、側鎖保護基を維持し、水溶液中で二量体化を行なうために、実施例に記載されているようにHYCHRONアンカーで合成ストラテジーを行なうことができる。

【0015】

レセプター対への有効な結合が依然として可能なように二量体化が起きるという事実を注意を払いつつ、この架橋を、例えば下記の実施例に記載されている方法によって、または別の常法によって行なうことができる。例えば、枝分かれ部位としてリジン残基を用いて二量体化を行なうことができる(Wrightonら、Nature Biotechnology 15 (1997)、1261-1265)。本発明のダイマーの成分は、好ましくは、ポリエチレングリコール、ペプチド、活性化ビンゾジアゼピン、オキサ

ゾロン、アザラクトン、アミンイミド (Aminimide)、ジケトピペラジン、または単糖などのリンカーを介して、互いに共有結合的に連結している。同様に行なうことができる化学反応は当業者に知られており、本分野において実施されている (例えば、サンディエゴにあるアカデミックプレス社刊 (Academic Press, San Diego)、Hermannson、生体分子結合技術 (Bioconjugate Techniques) (1996); Peeters ら、J.Immunol.Methods 120、(1989)、133-144; Imman ら、Bioconjugate Chem.2 (1991)、458-463)。

【0016】

本発明は、また、モノマーが、対応する出発物質のモノマー I、II および III に 1 個以上のアミノ酸の欠失、付加、または置換および/または修飾アミノ酸をもつ点に特徴があるホモダイマーまたはヘテロダイマーに関する。これに関連して、(a) 本来の形態と比較すると、同様またはより良好な様式でインターフェロン 2 レセプターに結合し、および/または細胞シグナルを誘発することができるホモダイマーまたはヘテロダイマー、または (b) インターフェロン 2 レセプターに結合することはできるが、投与された際に、生物学的活性形態が、レセプターへの結合後に細胞シグナルを誘発しないこの形態により置き換えられるというアンタゴニスト作用を有するホモダイマーまたはヘテロダイマーが得られる。下の実施例に記載されている方法、または上記の方法によって、どの程度まで、これらの改変ホモダイマーまたはヘテロダイマーが所望の生物学的特性をもつのかを調べることができる。アミノ酸置換または付加においては、修飾アミノ酸を除外することはないが、天然のアミノ酸を導入するのが好適である。好適な修飾には、セリン、スレオニン、およびアスパラギンの単糖または二糖によるグリコシル化、システインのファルネシル化およびパルミトイル化、スレオニン、セリン、およびチロシンのリン酸化、中心アミノ酸に関する修飾で、通常、アンタゴニスト形態をもたらすものなどが含まれる。本発明の上記修飾ホモダイマーまたはヘテロダイマーの欠失、付加、置換、および/または修飾は、モノマー当たり、多くとも 10 個、好ましくは、多くとも 7 個、さらに好ましくは、多くとも 3 個、もっとも好ましくは、多くとも 1 個のアミノ酸である。改変モノマーからなる、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーは、レセプター結合に

関与するドメイン以外には、天然のサイトカインに特徴的なドメインを含まない。

【0017】

本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーは、それだけで利用することもできるが、例えば(ポリ)ペプチドなど、別の化合物と結合させることもできる。例えば、身体によって異物と認識されないトランスフェリンやアルブミンなどのキャリアタンパク質が、そのような(ポリ)ペプチドに含まれる。また、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーは、例えば、本発明のペプチドが細胞の中に貫入するのを可能にするかまたは支持するリーダーペプチドなどの他の(ポリ)ペプチドと融合させることもできる。このようなリーダーペプチドの例は、シヨウジョウバエのペネトラトリン(Penetratrin)である。

【0018】

さらに別の実施態様において、本発明は、1個以上のアミノ酸が、脂肪酸、単糖、および/またはオリゴ糖によって共有結合的に修飾されているという特徴をさらにもつ上記のホモダイマーまたはヘテロダイマーに関する。これは、例えば、上記の修飾が既になされているアミノ酸を用いたモノマー合成など、公知の方法によって行なうことができる。修飾は、後で行なうこともできる。これらの修飾によって、例えば、タンパク質分解に対する抵抗性を高めたり、それによって、さらに生物学的半減期を長くしたりすることができる。

【0019】

本発明は、また、本発明の上記ダイマーに対する抗体またはその断片にも関する。これらの抗体は、例えば、診断アッセイ法に用いることもできる。

【0020】

抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、または合成抗体、もしくは、それらの断片でもよい。これに関して、「断片」という用語は、完全な抗体のエピトープ特異性と同一の特異性をもつモノクローナル抗体のすべての部分(例えば、Fab、Fv、または単鎖Fv断片)を意味する。当業者は、このような断片の製造には慣れている。本発明の抗体は、好ましくは、モノクローナル抗体である。本発明の抗体は、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーを免

疫原として使用し、常法にしたがって製造することができる。モノクローナル抗体を取得する方法は、当業者に知られている。

【0021】

特に好適な実施態様において、本発明のモノクローナル抗体は、動物（例えばマウス）由来の抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体、もしくはそれらの断片である。キメラヒト抗体またはヒト化抗体に類似した抗体は、潜在的な抗原性が低下している。しかし、標的に対するそれらの親和性は低下していない。キメラ抗体およびヒト化抗体の製造、またはヒト抗体に類似した抗体の製造については、詳述されている（例えば、Queen ら、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 86 (1989)、10029、およびVerhoeyan ら、Science 239 (1988)、1534）。ヒト化免疫グロブリンには、実質的にヒト免疫グロブリンに由来する多様なフレームワーク領域（アクセプター免疫グロブリンと呼ばれる）、および非ヒト（例えばマウス）免疫グロブリンに実質的に由来する相補性決定領域（ドナー免疫グロブリンと呼ばれる）がある。定常領域が存在する場合には、実質的にヒト免疫グロブリンにも由来する。人間の患者に投与する場合には、ヒト化（およびヒト）抗体は、マウスや他の動物種の抗体に対して、次のようないくつかの長所がある。（a）ヒトの免疫系は、ヒト化抗体のフレームワークまたは定常領域を異物であるとは認識しないので、注射されたこのような抗体に対する抗体反応は、全くの外来マウス抗体、または部分的な外来キメラ抗体に対する抗体反応よりも小さいはずである。（b）ヒト化抗体のエフェクター領域はヒト由来であるため、ヒト免疫系の他の部分と良好な相互作用をする。（c）注射されたヒト化抗体は、天然のヒト抗体と実質的に等しい半減期を有するため、他の生物種に由来する抗体に較べて、少量かつ少ない頻度で投与することが可能になる。本発明は、また、上記モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマに関する。

【0022】

また、本発明は、本発明のホモダイマーおよび/またはヘテロダイマーを含む薬剤、および、それらを、免疫系の疾患、例えば、癌疾患などの細胞増殖の増加に関連する疾患、感染または炎症過程を治療するために使用することに関する。これらの癌疾患には、例えば、ヘアリーセル白血病、転移性腎細胞癌、エイズ関

連カポーシ肉腫、リンパ腫、および肉腫が含まれる。本発明のダイマーの所定の改変形態はまた、アンタゴニスト作用を有しうる。すなわち、本発明は、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーを含む薬剤、および、それらを、関節炎過程、アレルギー反応、および、乾癬などの所定の形態の皮膚疾患など、インターフェロン産生の増加、またはインターフェロンレセプターの発現増加に関連する疾患を治療するために使用することに関する。

【0023】

本発明の薬剤は、任意的に、適切な薬剤担体とともに利用することができる。適切な担体、およびかかる薬剤の処方当業者には知られている。適切な担体は、例えば、リン酸によって緩衝された通常の塩溶液、水、例えば、油/水エマルジョンなどのエマルジョン、湿潤剤、滅菌溶液などである。本発明の薬剤は、注射用溶液、錠剤、軟膏、懸濁剤、エマルジョン、坐薬などの形で利用することができる。また、持効性形態（マイクロカプセル、亜鉛塩、リポソームなど）で投与することもできる。薬剤の投与法は、とりわけ、含まれている活性物質の形態がどのようなものであるかにより、経口または非経口で投与することができる。非経口投与する方法には、局所的、動脈内（例えば、直接腫瘍に対して）、筋肉内、髄内、髄腔内（intrathekale）、脳室内、静脈内、腹腔内、経皮的、または経粘膜（鼻、膣、直腸、舌下からの）投与が含まれる。適当な投薬量は主治医が決定するが、例えば、患者の年齢、性別、および体重、病気の種類および段階、投薬方法など、さまざまな要因に依存する。

【0024】

本発明は、また、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマー、もしくは本発明の抗体を含み、修飾されたインターフェロン α 2レセプター、過剰または不十分に発現したインターフェロン α 2、もしくは過度に高い濃度か低い濃度のインターフェロン α 2に関連する疾患を診断するために使用することができる診断用組成物にも関わる。これに関連して、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーは、普通一般的なアッセイ方式において（抗体と同じように）、診断検出を行なうために利用することができる。この検出法は、例えば、（a）患者から細胞試料を採集すること、（b）集めた細胞試料を本発明のホモダイマーまたはヘテ

ロダイマーまたは抗体をプローブとして、標的に特異的に結合できる条件下で接触させること、および(c)標的への結合を検出することを含む。この検出法は、当業者に既知の標準的な技術を用いて実施することができる。これに関連して、本発明の化合物は、例えば、液相内で、または固形担体に結合し得、さまざまな方法で標識することができる。適当なマーカールおよび標識方法は、当業者に知られている。当業者は、インターフェロン α 2またはそのレセプターが、本発明の抗体またはホモダイマーまたはヘテロダイマーと特異的に接触することができるような細胞破碎法にも精通している。

【0025】

レセプター数を測定するために、ダイマーにビオチン化された別のリンカーを持たせることができる(Foxallら、Anal. Biochem. 231 (1995)、266-373)。ダイマーのリンカーを、アルカリホスファターゼ(Ishikawarら、J. Immunoassay 4 (1983)、209-327)またはホースラディッシュ・パーオキシダーゼ(Imagawarら、J. Appl. Biochem. 4 (1982)、41-75)で直接標識することも可能で、それぞれ、さらに、ELISA法やスポットプロット法によって発色させることができる(Paffardら、J. Immunol. Meth. 192 (1992)、133-136)。ダイマーの結合は、調査対象の細胞(例えば、患者の血液から単離した後の免疫系細胞)を、この構築物とインキュベーションした後、さらに、ストレプトアビジンフルオレセインイソチオシアネート結合体とともにインキュベートすることによって、例えば、フローサイトメトリーの中で間接的に定量することができる。

【0026】

最後に、本発明は、上記診断法を実施するための診断用キットで、本発明のダイマー、または本発明の抗体もしくはその断片を含むものに関する。診断用キットの開発に応じて、ダイマー、または抗体もしくはその断片を固定することができる。

【0027】

以下、実施例によって本発明を説明する。

【0028】

実施例1：WDE T L L K F Y T E L Y Q Q L (モノマーI)、S L F S C L K

DRHDFGF PQEEFGNQ (モノマーII)、およびQGVGVTEPL
LMKEDSILAV (モノマーIII) の固相合成

標準的な固相合成法にしたがってモノマーI～IIIを作製した(Seitzら、Angew. Chem. 107 (1995)、901)。この合成は、HYCHRONアンカーにおいて、Fmoc保護されたアミノ酸を用いて行われ、C末端を經由して出発した。グルタミン酸およびアスパラギン酸のカルボキシキル基は、第三ブチルエステルの形で保護されていた。Tyrの側鎖の保護基は、テトラヒドロピラニル基、第三ブチル基(Boc)、およびトリチル基を含んでいた。セリンおよびスレオニンの側鎖保護基は、アセチル基、ベンゾイル基、およびベンジルオキシカルボニル基(=Cbz)を含んでいた。アルギニンの側鎖保護基は、Cbz、メチレン-2-スルホニル基(=Mts)、または第三ブチルオキシカルボニル基(=Boc)を含んでいた。リジンの側鎖は、トシル基(=Tos)またはBocで保護されていた。アミノ保護基を除去して、関連する洗浄工程を終えた後、次のアミノ酸のカルボキシキル基の活性化を行ってから、後者を前のアミノ酸に連結させた。この順序で完全なモノマーを合成した。パラジウム(0)触媒によるアリル基転移によって、側鎖の保護基を維持しつつ、調製したモノマーをカラムから取り出した。その後、Fmoc基をモルホリンによって除去し、残りの保護基をTFAで処理して切断した。

【0029】

実施例2：モノマーIのポリエチレングリコールによる二量体化

25mgの活性化二機能性ポリエチレングリコール(PEGスクシンイミジルプロピオン酸、分子量約3,400;ドイツのトーフキルヒェン(Taufkirchen、Germany)にあるシグマ社(Sigma)製)を4mlのPBS、pH値7.5に溶解し、それから、3倍モル濃度過剰のモノマーを1mlの0.1%トリフルオロ酢酸に溶解して加え、モノマーIを二量体化した。氷上で3時間インキュベートした後、凍結乾燥したモノマーを再び加え、1モルのPEGに対して3.5molのモノマーという最終比率にした。混合液を氷上でさらに17時間インキュベートした。1Mのトリス/HCl、pH値7.5を加えて(最終濃度:50mMトリス)(インキュベーション:氷上1時間)PEGを不活性化させた。この

混合液に分析用HPLCと調製用HPLCを行なった(実施例8を参照)。

【0030】

実施例3：モノマーIIのポリエチレングリコールによる二量体化

25mgの活性化二機能性ポリエチレングリコール(PEGスクシンイミジルプロピオン酸、分子量約3,400;トーフキルヒエン(Taufkirchen)にあるシグマ社(Sigma)製)を4mlのPBS、pH値7.5に溶解し、それから、3倍モル濃度過剰のモノマーを1mlの0.1%トリフルオロ酢酸に溶解して加え、モノマーIIを二量体化した。氷上で3時間インキュベートした後、凍結乾燥したモノマーを再び加え、1モルのPEGに対して3.5molのモノマーという最終比率にした。混合液を氷上でさらに17時間インキュベートした。1Mのトリス/HCl、pH値7.5を加えて(最終濃度:50mMトリス)(インキュベーション:氷上1時間)PEGを不活性化させた。この混合液に分析用HPLCと調製用HPLCを行なった(実施例8を参照)。

【0031】

実施例4：モノマーIIIのポリエチレングリコールによる二量体化

25mgの活性化二機能性ポリエチレングリコール(PEG-スクシンイミジルプロピオン酸、分子量約3,400;トーフキルヒエン(Taufkirchen)にあるシグマ社(Sigma)製)を4mlのPBS、pH値7.5に溶解し、その後、3倍モル濃度過剰のモノマーを1mlの0.1%トリフルオロ酢酸に溶解して加え、モノマーIIIを二量体化した。氷上で3時間インキュベートした後、凍結乾燥したモノマーを再び加え、1モルのPEGに対して3.5molのモノマーという最終比率にした。混合液を氷上でさらに17時間インキュベートした。1Mのトリス/HCl、pH値7.5を加えて(最終濃度:50mMトリス)(インキュベーション:氷上1時間)PEGを不活性化させた。この混合液に分析用HPLCと調製用HPLCとを行なった(実施例8を参照)。

【0032】

これらのモノマーは、1:1の比率で使用し、逆相HPLCによって分離する

。

【0033】

実施例5：モノマーIIとIのポリエチレングリコールによる二量体化

25 mgの活性化二機能性ポリエチレングリコール(PEGスクシンイミジルプロピオン酸、分子量約3,400;トーフキルヒエン(Taufkirchen)にあるシグマ社(Sigma)製)を4 mlのPBS、pH値7.5に溶解し、それから、3倍モル濃度過剰のモノマーを1 mlの0.1%トリフルオロ酢酸に溶解して加え、これらモノマーを二量体化した。氷上で3時間インキュベートした後、凍結乾燥したモノマーを再び加え、1モルのPEGに対して3.5 molのモノマーという最終比率にした。混合液を氷上でさらに17時間インキュベートした。1 Mのトリス/HCl、pH値7.5を加えて(最終濃度:50 mMトリス)(インキュベーション:氷上1時間)PEGを不活性化させた。この混合液に分析用HPLCと調製用HPLCを行なった(実施例8を参照)。

【0034】

これらのモノマーは、1:1の比率で使用し、逆相HPLCによって分離する。

【0035】

実施例6：モノマーIIIとIのポリエチレングリコールによる二量体化

25 mgの活性化二機能性ポリエチレングリコール(PEG-スクシンイミジルプロピオン酸、分子量約3,400;トーフキルヒエン(Taufkirchen)にあるシグマ社(Sigma)製)を4 mlのPBS、pH値7.5に溶解し、それから、3倍モル濃度過剰のモノマーを1 mlの0.1%トリフルオロ酢酸に溶解して加え、モノマーを二量体化した。氷上で3時間インキュベートした後、凍結乾燥したモノマーを再び加え、1モルのPEGに対して3.5 molのモノマーという最終比率にした。混合液を氷上でさらに17時間インキュベートした。1 Mのトリス/HCl、pH値7.5を加えて(最終濃度:50 mMトリス)(インキュベーション:氷上1時間)PEGを不活性化させた。この混合液に分析用HPLCと調製用HPLCを行なった(実施例8を参照)。

【0036】

これらのモノマーは、1:1の比率で使用し、逆相HPLCによって分離する。

【0037】

実施例7：モノマーIIIとIIのポリエチレングリコールによる二量体化

25 mgの活性化二機能性ポリエチレングリコール(PEG-スクシンイミジルプロピオン酸、分子量約3,400; トーフキルヒエン(Taufkirchen)にあるシグマ社(Sigma)製)を4 mlのPBS、pH値7.5に溶解し、それから、3倍モル濃度過剰のモノマーを1 mlの0.1%トリフルオロ酢酸に溶解して加え、これらモノマーを二量体化した。氷上で3時間インキュベートした後、凍結乾燥したモノマーを再び加え、1モルのPEGに対して3.5 molのモノマーという最終比率にした。混合液を氷上でさらに17時間インキュベートした。1 Mのトリス/HCl、pH値7.5を加えて(最終濃度: 50 mMトリス)(インキュベーション: 氷上1時間)PEGを不活性化させた。この混合液に分析用HPLCと調製用HPLCを行なった(実施例8を参照)。

【0038】

これらのモノマーは、1:1の比率で使用し、逆相HPLCによって分離する。

【0039】

実施例8：分析用および調製用HPLC

上記実施例で説明したダイマー形成を分析用逆相HPLCによってチェックした。Vydac-c18タンパク質ペプチドカラム(0.46 x 25 cm)(米国、セパレーショングループ(Separation Group, U. S. A.))、バイオラド(BioRad)HPLC装置、およびパーキン-エルマー社(Perkin-Elmer)製の二波長検出装置によって分析を行なった。蒸留水中0.1% TFAを用いてカラムを平衡し、10分後に試料(原則として6 ml)を注入し、0.1% TFAを含むアセトニトリルの45分の直線勾配(0~100)にした。流速を1 ml/分という速度に連続的に保った。これらの条件下で、架橋剤が流下液の中に現れた。反応生成物は、37分後に溶出されたが、未結合のモノマーは既に32分後に溶出されていたので、これによって、ダイマーから明確に分離することができた。このダイマーを、同じHPLC装置によって、調製用逆相HPLCカラム(2.2 x 25 cm)上でさらに精製した。80:20の蒸留水:アセトニトリル

(どちらも0.1% TFAを含む)を用い、8 ml /分の一定流速でカラムを平衡させた。20分後に試料(6 ml)を注入し、100%アセトニトリル/0.1% TFAの60分の直線勾配にした。主要ピークを回収して、凍結乾燥させた。モノマーIIには、よりなだらかな勾配(60%を超える、20~80%アセトニトリル/0.1% TFA)を用いて、より良好な分離を得た。単離されたダイマーと本来のモノマーを結合実験(実施例10参照)、および増殖テスト(実施例11参照)に用いた。

【0040】

実施例9：ダイマーの放射活性標識

以下に記載したように、ダイマーをヨード化した。20 μ lのクロラミンT(0.5 mg/ml)を20 μ lのNa¹²⁵I(2 mCi、ドイツのブラウンシュバイク(Braunschweig, Germany)にあるアマーシャム・ブハラー(Amersham Buchler))に加え、2分後、この混合液を50 μ lのダイマー(PBS中5 μ g)に加えて、15秒間インキュベートした。反応を完了させるために、30 μ lのメタ重亜硫酸ナトリウム(PBS中1 mg/ml)と、30秒後に50 μ lのKI(PBS中10 mg/ml)を加えた。ゼラチン(50 μ l、蒸留水中1 mg/ml)を担体として加え、該溶液をPBS中0.25%ゼラチン/0.02%アジ化ナトリウムによって平衡化したBioSil SEC125-5カラム(BioRad、10 ml)上に直ちに注入した。放射性生成物を含む画分を合わせて、実施例8で説明したようにして、逆相HPLCカラム上でさらに精製・単離した。精製したダイマーは、50~100 μ Ci/ μ gの特異的放射活性を示し、トリシン-SDS-PAGEで単一のバンドを回収し、95~100%の放射活性をクロロホルム/メタノール法で沈殿させることができた(Wesselら、Anal. Biochem. 138 (1984)、141-143)。これらの結果は、放射性標識生成物が純粋なダイマーからなり、放射活性が専らダイマーだけに帰属しうることを示している。

【0041】

実施例10：細胞結合試験

これらの実験は、本発明のダイマーがインターフェロン α 2レセプターを発現

する細胞に特異的に結合するか否かを明らかにするものである。本実施例では、モノマーIIからなる実施例3のホモダイマーを用いた。実験の一日前に、対数増殖期にあるDauidi細胞(1×10^5 細胞/ml) $200 \mu\text{l}$ を、24ウェルプレートの中に入れた15%FCS入りのRPMI1640培地の中に接種した。細胞の平均分裂速度が21時間であるため、対数増殖している細胞を、約 4×10^4 の細胞密度を用いて実験を行なった。25mM HEPES、pH値7.3でさらに緩衝した培養培地 $200 \mu\text{l}$ の中で、二重バッチで結合実験を行なった。飽和濃度のヨード化ダイマーを、4で4時間インキュベートした。インキュベートした後、1.5mlのPBS/10mM MgCl_2 、1mM CaCl_2 、0.25%ゼラチンを用いて、細胞を4で2回洗浄した。この後、同一のバッファーであるが、ゼラチンを含まないバッファーで洗浄工程を行なった。洗浄した細胞を、60で30分間、0.5mlの1N NaOHの中で可溶化し、シンチレーションカウンターで、可溶化物を計測した。100倍濃度のインターフェロン γ 2存在下で、標識ホモダイマーとインターフェロン γ 2を同時に細胞に加えて、非特異的結合の程度を測定した。結果を表1に示す。

【0042】

【表1】

試験物質	相対的な抗増殖作用 (%)
インターフェロン α 2	100
SLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQ	7
[SLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQ]2	102

【0043】

実施例11：増殖実験

これらの実験は、本来のインターフェロン γ 2と同じように、本発明のダイマーが抗増殖作用をもつか否かを明らかにするはずである。これらの実験も、Dauidi細胞を用いて行なわれ、モノマーIIからなる実施例3のホモダイマーについて一例として、ここに記載する。微量滴定用プレート中 $200 \mu\text{l}$ の15%

FCS入りRPMI 1640の中に 1×10^4 個の細胞を接種した。24時間後に、ホモダイマーを 10^{-4} から 10^{-7} まで10倍希釈して加え、72時間後にコールターカウンター (Coulter-Counter) で細胞数を計測した。測定値を、インターフェロン $\alpha 2$ (10^{-7} M) のID50を100%としたときの活性割合にして表2に示す。

【0044】

【表2】

試験物質	結合 (最大結合%)
インターフェロン $\alpha 2$	100
SLFSLKDRHDFGFPQEEFGNQ	3
[SLFSLKDRHDFGFPQEEFGNQ] $\alpha 2$	98

【0045】

実施例12：本発明の抗体の製造と検出

実施例5で製造されたヘテロダイマーに対して18% SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動を行なった。4Mの酢酸ナトリウムを用いてゲルを染色した後、約7k Bのバンドをゲルから切り出して、リン酸緩衝した通常の塩溶液の中でインキュベートした。このダイマーを電気溶出装置 (Electroelutors) (BioRad) によって、ゲルから溶出し、一晚k B透析してから凍結乾燥する。濃度5mg/mlのPBSの中にペプチドを取り出し、全部で2mlのPBSにおいて、担体タンパク質であるアルブミンと1molペプチド/0.02mol担体という比率になるよう混合した。混合液を攪拌しながら、2mlのグルタルジアルデヒド (PBS中0.2%) を一滴ずつ添加し、室温で1時間インキュベートする。そして、混合物を20k B透析ホースに入れて、PBSに対して12時間のバッファーサイクルで48時間透析してから凍結乾燥した。100 μ g (ウサギとニワトリ) または30 μ g (マウス) のダイマーとBSAの複合体、BSA-BSA複合体、およびダイマー複合体からなる混合液で動物を免疫する。

【0046】

ウサギにおけるポリクローナル抗体のための免疫プロトコル

0.7 mlのPBS中100 µgのゲル精製したヘテロダイマー、および0.7 mlの完全または不完全なフロイントアジュバントを各免疫毎に用いた：

0日目：初回免疫（フロイント完全アジュバント）

14日目：第2回目免疫（フロイント不完全アジュバント；i c F A）

28日目：第3回目免疫（i c F A）

56日目：第4回目免疫（i c F A）

80日目：失血死

【0047】

免疫プロットでウサギ血清を試験した。この目的のため、本発明の実施例4のヘテロダイマーについて、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動を行ない、ニトロセルロース膜に移した（Khyse-Andersen, J., J. Biochem. Biophys. Meth. 10 (1984)、203-209）。Bock, C. - T.ら、Virus Genes 8、(1994)、215-229に記載されているとおりにウエスタンプロット解析を行なった。この目的のため、37℃で1時間、一次抗体とともにニトロセルロース膜をインキュベートした。この抗体はウサギ血清であった（PBS中1：10000）。PBSを用いて数回洗浄工程を繰り返した後、二次抗体とともにニトロセルロース膜をインキュベートした。この抗体は、PBS中でアルカリホスファターゼを結合したヤギの抗ウサギIgGモノクローナル抗体（ダイアノバ（Dianova社））（1：5000）であった。37℃で30分間インキュベートした後、PBSで何度か洗浄工程を繰り返し、その後、バンドが見えるまで室温で展開液（36 µMの5'-ブromo-4-クロロ-3-インドリルリン酸、400 µMのニトロブルーテトラゾリウム、100 mMのTris-HCl、pH 9.5、100 mM NaCl、5 mM MgCl₂）を用いてアルカリホスファターゼ検出反応を行なった。

【0048】

本発明のポリクローナル抗体が調製できることが明らかになった。

【0049】

ニワトリにおけるポリクローナル抗体のための免疫プロトコル

0.8 mlのPBS中100 µgのゲル精製したヘテロダイマー、および0.8

m l の完全または不完全なフロイントアジュバントを各免疫毎に用いた。

【0050】

0日目：初回免疫（フロイント完全アジュバント）

28日目：第2回目免疫（フロイント不完全アジュバント；i c F A）

50日目：第3回目免疫（i c F A）

【0051】

抗体は、卵黄から抽出し、ウエスタンブロットで試験した。本発明のポリクローナル抗体が検出された。

【0052】

マウスにおけるモノクローナル抗体のための免疫プロトコル

0.25 ml の P B S 中 30 μ g のゲル精製した融合タンパク質、および 0.25 ml の完全または不完全なフロイントのアジュバントを各免疫毎に用いた。4回目に免疫するとき、融合タンパク質を 0.5 ml に（アジュバントなしで）溶解した。

【0053】

0日目：初回免疫（フロイント完全アジュバント）

28日目：第2回目免疫（フロイント不完全アジュバント；i c F A）

56日目：第3回目免疫（i c F A）

84日目：第4回目免疫（P B S）

87日目：融合

【0054】

ハイブリドーマの上清をウエスタンブロットで試験した。本発明のモノクローナル抗体を同定した。

【手続補正書】特許協力条約第34条補正の翻訳文提出書

【提出日】平成13年6月18日(2001.6.18)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アミノ酸配列WDETL L KFYTELYQQL(モノマーI)、SLF SCLKDRHDFGFPQEEFGNQ(モノマーII)またはQGVGVTE TPLMKEDSILAV(モノマーIII)を有してなり、インターフェロン 2レセプターに結合する、ペプチドモノマーの合成のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項2】 モノマーがそれらのC末端もしくはN末端を介して結合してなるか、または一方のモノマーのN末端が他方のモノマーのC末端と結合してなる、請求項1記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項3】 モノマーIのC末端がモノマーIIのN末端もしくはC末端と結合してなるか、またはモノマーIのN末端がモノマーIIのN末端もしくはC末端と結合してなることを特徴とする、請求項2記載のヘテロダイマー。

【請求項4】 モノマーが、ポリエチレングリコール、ペプチド、活性化ベンゾジアゼピン、オキサゾロン、アザラクトン、アミンイミド、ジケトピペラジン、または単糖を介して互いに共有結合してなることを特徴とする、請求項1～3いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項5】 モノマーが、モノマー当たり多くとも3つのアミノ酸の欠失、付加または置換および/またはモノマー当たり多くとも3つの修飾アミノ酸を有してなり、ホモダイマーまたはヘテロダイマーが本来の形態と比較して同様のまたはより良好な様式で(a)インターフェロン 2レセプターに結合し、および/または(b)細胞シグナルを誘発することを特徴とする、請求項1～4いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項6】 モノマーが、モノマー当たり多くとも3つのアミノ酸の欠失、付加または置換および/またはモノマー当たり多くとも3つの修飾アミノ酸を有してなり、ホモダイマーまたはヘテロダイマーがインターフェロン 2レセプターに結合しうるが、アンタゴニスト効果を有することを特徴とする、請求項1～4いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項7】 モノマー当たり少なくとも3つのアミノ酸が、脂肪酸、単糖および/またはオリゴ糖により共有結合的に修飾されてなることを特徴とする、請求項5または6記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項8】 モノマーの固相合成およびそれに続く二量体化を含む、請求項1～7記載のホモダイマーまたはヘテロダイマーの製造方法。

【請求項9】 免疫系疾患、増大した細胞増殖に関連する疾患、感染または炎症過程を治療するための、請求項1～5および7いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項8記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーの使用。

【請求項10】 疾患が癌疾患である請求項9記載の使用。

【請求項11】 癌疾患が、ヘアリーセル白血病、転移性腎細胞癌、エイズ関連カポジ肉腫、リンパ腫または肉腫である請求項10記載の使用。

【請求項12】 免疫系疾患またはインターフェロンの増大した合成もしくはインターフェロンレセプターの増大した発現に関連する疾患を治療するための、請求項1～4、6および7いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項8記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーの使用。

【請求項13】 修飾されたインターフェロン 2レセプターまたは過剰にもしくは不十分に発現したインターフェロン 2レセプターまたは過剰に高いもしくは過剰に低いインターフェロン 2濃度に関連する疾患の診断のための、請求項1～7いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項8記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーの使用。

【請求項14】 請求項1～7いずれかに記載のホモダイマーまたはヘ

テロダイマー、請求項8記載の方法により製造されたホモダイマーまたはヘテロダイマーを含んでなる、請求項13記載の診断方法を行なうためのキット。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0042

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0042】

【表1】

試験物質	結合（最大結合％）
インターフェロン α 2	100
SLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQ	3
[SLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQ] 2	98

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0044

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0044】

【表2】

試験物質	相対的な抗増殖作用（％）
インターフェロン α 2	100
SLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQ	7
[SLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQ] 2	102

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Internat. Application No. PCT/DE 00/01234
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07K14/52 C07K16/24 A61P35/00 G01N33/68		
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) IPC 7 C07K G01N		
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, STRAND, WPI Data, PAJ, MEDLINE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 076 489 A (CIBA GEIGY AG) 13 April 1983 (1983-04-13) page 53, paragraph 2 -page 54, paragraph 2; claim 39	1,11
A	WO 91 03251 A (CALIFORNIA INST BIOLOG RES) 21 March 1991 (1991-03-21) page 3, line 21 -page 5, line 30 page 20, line 4 -page 33, line 2; claims; examples	1,11
A	WO 94 01457 A (FISH ELEANOR N) 20 January 1994 (1994-01-20) page 2, paragraph 3 -page 4, paragraph 1; claims; examples; table 1	1,11
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 21 November 2000		Date of mailing of the international search report 28/11/2000
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentplan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Fuhr, C

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/DE 00/01234

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0076489 A	13-04-1983	GB 2108510 A,B	18-05-1983
		AT 52797 T	15-06-1990
		AU 561104 B	30-04-1987
		AU 8895882 A	14-04-1983
		DD 204266 A	23-11-1983
		DE 3280174 D	21-06-1990
		DK 170714 B	18-12-1995
		ES 516154 D	16-04-1985
		ES 8504936 A	16-07-1985
		ES 528141 D	01-11-1985
		ES 8601237 A	16-02-1986
		FI 823356 A,B,	04-04-1983
		GR 76992 A	04-09-1984
		HU 197047 B	28-02-1989
		IE 54051 B	24-05-1989
		JP 2612149 B	21-05-1997
		JP 7173195 A	11-07-1995
		JP 1985903 C	08-11-1995
		JP 6104066 B	21-12-1994
		JP 58090596 A	30-05-1983
		KR 9207665 B	14-09-1992
		NO 823314 A,B,	05-04-1983
		NZ 202058 A	09-05-1986
		PH 21524 A	16-11-1987
		PH 23119 A	05-05-1989
		PT 75643 A,B	01-11-1982
		US 5089400 A	18-02-1992
ZA 8207216 A	31-08-1983		
WO 9103251 A	21-03-1991	US 5331090 A	19-07-1994
		US 5310729 A	10-05-1994
WO 9401457 A	20-01-1994	AU 4554493 A	31-01-1994
		US 5684129 A	04-11-1997

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)
A 6 1 P 35/02		A 6 1 P 35/04	
35/04		37/02	
37/02		43/00	1 1 1
43/00	1 1 1	C 0 7 K 1/06	
C 0 7 K 1/06		16/24	
16/24		17/08	
17/08		G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/53		33/531	A
33/531		A 6 1 K 37/02	
F タ-ム(参考) 4C084	AA02 AA06 AA07 BA01 BA08		
	BA18 BA23 CA53 DA50 NA14		
	ZB072 ZB112 ZB262 ZB272		
	ZB322 ZC022		
4H045	AA10 AA11 AA20 AA30 BA17		
	BA62 DA16 EA28 FA33 FA58		
	FA81		

专利名称(译)	肽同源二聚体和肽异二聚体衍生自干扰素 $\alpha 2$		
公开(公告)号	JP2002543090A	公开(公告)日	2002-12-17
申请号	JP2000614285	申请日	2000-04-19
[标]申请(专利权)人(译)	V型希瑟石灰水泥游艇		
申请(专利权)人(译)	Viza, 莱蒙德, 游艇.		
[标]发明人	ヴィーザーライムントヨット		
发明人	ヴィーザー, ライムント, ヨット.		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P35/04 A61P37/00 A61P37/02 A61P43/00 C07K1/06 C07K14/56 C07K16/24 C07K17/08 G01N33/531		
CPC分类号	A61K38/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 C07K14/56		
FI分类号	C07K14/56 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P35/04 A61P37/02 A61P43/00.111 C07K1/06 C07K16/24 C07K17/08 G01N33/53.D G01N33/531.A A61K37/02		
F-TERM分类号	4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA18 4C084/BA23 4C084/CA53 4C084/DA50 4C084/NA14 4C084/ZB072 4C084/ZB112 4C084/ZB262 4C084/ZB272 4C084/ZB322 4C084/ZC022 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA17 4H045/BA62 4H045/DA16 4H045/EA28 4H045/FA33 4H045/FA58 4H045/FA81		
优先权	19919149 1999-04-27 DE		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及由具有氨基酸序列WDETLKFKYTELYQQL (单体I), SLFSLCLKDRHDFGFPQEEFGNQ (单体II) 或 QGVGVTEPLMKEDSILAV (单体III) 或其变体的肽单体组成的同二聚体和异二聚体。同型二聚体或异二聚体可以与干扰素 $\alpha 2$ 受体结合并任选地触发细胞信号。二聚体治疗免疫系统疾病, 与细胞增殖增加或减少有关的疾病, 传染性或炎性过程, 或与例如干扰素 $\alpha 2$ 受体表达改变或表达过高或过低有关。它适用于检测已发生的疾病。

試験物質	相対的な抗増殖作用 (%)
インターフェロン $\alpha 2$	100
SLFSLCLKDRHDFGFPQEEFGNQ	7
[SLFSLCLKDRHDFGFPQEEFGNQ] ₂	102