

(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2010-535488

(P2010-535488A)

(43) 公表日 平成22年11月25日(2010.11.25)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 ZNAA	4B024
C07K 14/56 (2006.01)	C07K 14/56	4B065
C07K 19/00 (2006.01)	C07K 19/00	4C084
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4H045
C12N 1/19 (2006.01)	C12N 1/19	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2010-519514 (P2010-519514)
 (86) (22) 出願日 平成20年8月5日 (2008.8.5)
 (85) 翻訳文提出日 平成22年4月8日 (2010.4.8)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2008/002638
 (87) 国際公開番号 WO2009/019456
 (87) 国際公開日 平成21年2月12日 (2009.2.12)
 (31) 優先権主張番号 0715383.6
 (32) 優先日 平成19年8月8日 (2007.8.8)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)
 (31) 優先権主張番号 60/956, 343
 (32) 優先日 平成19年8月16日 (2007.8.16)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 502452978
 アステリオン・リミテッド
 イギリス国, エス10 2ティーエヌ シ
 エフィールド, ウェスタン・バンク, ファ
 ース・コート
 (74) 代理人 100149294
 弁理士 内田 直人
 (74) 代理人 100137512
 弁理士 奥原 康司
 (72) 発明者 アーティミュック, ピーター
 イギリス国, シェフィールド エス10
 2ティーエヌ, ファース コート, ウェス
 タンバンク, アステリオン・リミテッド

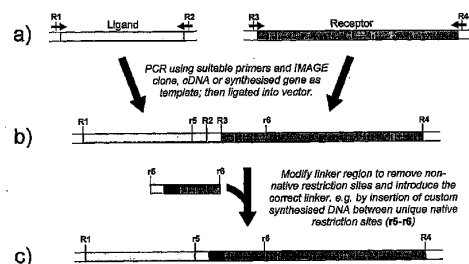
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インターフェロン融合タンパク質

(57) 【要約】

本開示は、インターフェロン融合ポリペプチドおよび二量体、上述のポリペプチドをコードする核酸分子、ならびに上述のポリペプチド/二量体を使用する治療の方法に関する。

Figure 16



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

インターフェロン 2 b の活性を有するポリペプチドをコードする核酸配列を含む核酸分子であって、前記ポリペプチドは、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインに直接または間接的に連結されるインターフェロン 2 b またはその部分を含む核酸分子。

【請求項 2】

インターフェロン受容体の結合ドメインに直接または間接的に連結されるインターフェロン 2 b のアミノ酸配列またはその活性結合部分を含む融合ポリペプチド。

【請求項 3】

配列番号 3 4 もしくは 3 5、または配列番号 3 4 もしくは 3 5 で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてまたは一部に関して少なくとも 7 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 4】

配列番号 3 4 もしくは 3 5、または配列番号 3 4 もしくは 3 5 で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてまたは一部に関して少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 5】

配列番号 3 4 もしくは 3 5、または配列番号 3 4 もしくは 3 5 で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてまたは一部に関して少なくとも 8 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 6】

配列番号 3 4 もしくは 3 5、または配列番号 3 4 もしくは 3 5 で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてまたは一部に関して少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 7】

配列番号 3 4 もしくは 3 5、または配列番号 3 4 もしくは 3 5 で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてまたは一部に関して少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 8】

配列番号 3 4 または 3 5 を含む、請求項 2 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 9】

少なくとも 1 つのフィブロネクチン I I I 結合ドメインを含む、請求項 2 から 8 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 10】

2 つのフィブロネクチン I I I 結合ドメインを含む、請求項 9 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 11】

3 つのフィブロネクチン I I I 結合ドメインを含む、請求項 9 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 12】

配列番号 5 のアミノ酸残基 2 8 から 4 3 6 を含む、請求項 9 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 13】

配列番号 6 のアミノ酸残基 2 7 から 2 4 3 を含む、請求項 9 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 14】

インターフェロン 2 b は、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインに連結され、前記インターフェロン 2 b は、前記融合ポリペプチドにおいて前記結合ドメインのアミノ末端側に位置する、請求項 2 から 13 のいずれか一項に記載の融合ポリペ

10

20

30

40

50

プチド。

【請求項 15】

インターフェロン 2 b は、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインに連結され、前記インターフェロン 2 b は、前記融合ポリペプチドにおいて前記結合ドメインのカルボキシル末端側に位置する、請求項 2 から 13 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 16】

前記インターフェロン 2 b は、ペプチドリinkerによって、インターフェロン受容体の結合ドメインに連結される、請求項 2 から 15 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 17】

前記ペプチド連結分子は、ペプチド Gly Gly Gly Gly Ser の少なくとも 1 コピーを含む、請求項 16 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 18】

前記ペプチド連結分子は、ペプチド Gly Gly Gly Gly Ser の 2、3、4、5 または 6 コピーを含む、請求項 17 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 19】

前記ペプチド連結分子は、ペプチド Gly Gly Gly Gly Ser の 5 コピーから成る、請求項 18 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 20】

ペプチド連結分子を含まず、インターフェロン 2 b およびインターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインの直接的な融合物である、請求項 2 から 15 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 21】

2 つのポリペプチドから成るホモ二量体であって、前記ポリペプチドはそれぞれ、
i) インターフェロン 2 b またはその受容体結合ドメインを含む第 1 の部分と、ペプチド連結分子によってそれと任意選択で連結される
ii) インターフェロン受容体の少なくとも 1 つのインターフェロン結合ドメインまたはその部分を含む第 2 の部分と
を含むホモ二量体。

【請求項 22】

前記ホモ二量体は、配列番号 34 または 35 を含む 2 つのポリペプチドを含む、請求項 21 に記載のホモ二量体。

【請求項 23】

請求項 1 に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項 24】

請求項 1 または 23 に記載の核酸分子またはベクターを用いて形質移入または形質転換される細胞。

【請求項 25】

真核細胞である、請求項 24 に記載の細胞。

【請求項 26】

原核細胞である、請求項 24 に記載の細胞。

【請求項 27】

賦形剤または担体を含む、請求項 2 から 20 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む医薬組成物。

【請求項 28】

さらなる治療薬と組み合わせられる、請求項 27 に記載の医薬組成物。

【請求項 29】

癌に罹患しているヒト対象を治療するための方法であって、請求項 2 から 20 のいずれか一項に記載のポリペプチドの有効量を投与するステップを含む方法。

10

20

30

40

50

- 【請求項 30】
前記癌は、黒色腫である、請求項 29 に記載の方法。
- 【請求項 31】
前記ポリペプチドは、2 日間隔で投与される、請求項 29 または 30 に記載の方法。
- 【請求項 32】
前記ポリペプチドは、1 週間隔で投与される、請求項 29 または 30 に記載の方法。
- 【請求項 33】
前記ポリペプチドは、2 週間隔で投与される、請求項 29 または 30 に記載の方法。
- 【請求項 34】
前記ポリペプチドは、1 か月間隔で投与される、請求項 29 または 30 に記載の方法。 10
- 【請求項 35】
癌の治療のための医薬の製造のための、請求項 2 から 20 のいずれか一項に記載のポリペプチドの使用。
- 【請求項 36】
前記癌は、黒色腫である、請求項 35 に記載の使用。
- 【請求項 37】
請求項 2 から 20 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたは二量体に結合するモノクローナル抗体。
- 【請求項 38】
ポリペプチドまたは二量体に結合するが、インターフェロンまたはインターフェロン受容体にそれぞれ特異的に結合しない抗体である、請求項 37 に記載のモノクローナル抗体。 20
- 【請求項 39】
本発明によるモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞株を調製するための方法であって、
i) 請求項 2 から 20 のいずれか一項に記載の少なくとも 1 つのポリペプチドを含む免疫原を用いて免疫応答性哺乳動物を免疫するステップ、
ii) 免疫された免疫応答性哺乳動物のリンパ球を骨髓腫細胞と融合して、ハイブリドーマ細胞を形成するステップ、
iii) ステップ (ii) のハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体を、(i) のポリペプチドに対する結合活性についてスクリーニングするステップ、
iv) ハイブリドーマ細胞を培養して、前記モノクローナル抗体を量産および/または分泌するステップ、ならびに
v) 培養上清からモノクローナル抗体を回収するステップを含む方法。 30
- 【請求項 40】
前記免疫応答性哺乳動物は、マウスまたはラットである、請求項 39 に記載の方法。
- 【請求項 41】
請求項 39 または 40 に記載の方法によって得られるまたは入手可能なハイブリドーマ細胞株。
- 【請求項 42】
生体試料において、請求項 2 から 20 のいずれか一項に記載のポリペプチドを検出するための診断試験であって、
i) 試験対象となる単離試料を提供するステップ、
ii) 前記試料を、本発明によるポリペプチドまたは二量体に結合するリガンドと接触させるステップ、および
iii) 前記試料において前記リガンドの結合を検出するステップを含む診断試験。 40
- 【請求項 43】
前記リガンドは、抗体、好ましくはモノクローナル抗体である、請求項 42 に記載の試験。
- 【発明の詳細な説明】 50

【技術分野】

【0001】

本発明は、インターフェロン融合ポリペプチドおよび二量体、上述のポリペプチドをコードする核酸分子、ならびに上述のポリペプチド/二量体を使用する治療の方法に関する。

【背景技術】

【0002】

サイトカイン受容体は、2つの別個のクラスに分類することができる。クラス1（造血ホルモンファミリーまたは成長ホルモンファミリーと呼ばれる）受容体は、それらの細胞外ドメインのアミノ末端部分における4つの保存システイン残基およびC末端部分における保存Trp-Ser-Xaa-Trp-Serモチーフの存在によって特徴づけられる。受容体は、2つのポリペプチド鎖から成る。クラスI受容体は、GM-CSFサブファミリー（IL-3、IL-5、GM-CSF、GCSFを含む）ならびにIL-6サブファミリー（IL-6、IL-11、およびIL-12を含む）に細分することができる。IL-6サブファミリーにおいて、1つまたは2つの異なるサイトカインサブユニットと結合する、共通の伝達サブユニット（gp130）がある。IL-2サブファミリー（IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、およびIL-15を含む）と呼ばれる、さらなるサブファミリーがある。繰り返しCysモチーフはまた、リガンドが、 、 、およびインターフェロンであるが、保存Trp-Ser-Xaa-Trp-Serモチーフを欠くクラス2（インターフェロン受容体ファミリー）においても存在する。

10

20

【0003】

インターフェロンは、サイトカインのうちの一般的なグループを表し、3つのグループ；I型、II型、およびIII型に分類される。インターフェロングループのそれぞれは関連する抗ウイルスおよび抗増殖活性を有し、そのため、組換え形態は、ウイルス感染症および癌の両方を治療するために使用される。

1型インターフェロンは、インターフェロン 、インターフェロン 、インターフェロン 、インターフェロン 、および インターフェロンを含む。インターフェロン（IFNA）は、Bリンパ球によって主に産生されるが、マクロファージによっても産生され、13種のサブタイプ（IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17、およびIFNA21）に細分することができ、ヒト第9染色体上にクラスター形成していることが分かっている。IFNA1アイソタイプの間の相同性のレベルは高度であり、アミノ酸レベルで約75～80%の同一性である。インターフェロンは、抗ウイルス応答または抗腫瘍応答を誘発するためにマクロファージおよびナチュラルキラー（NK）細胞の活性を刺激する。インターフェロン およびインターフェロン の組み合わせは、アポトーシス促進性タンパク質p53の誘発をもたらし、ストレスに対するp53応答を高めると考えられるという証拠がある。

30

【0004】

II型インターフェロンは、1種のメンバー、インターフェロン を含み、免疫および炎症応答の調節に関与する。ヒトにおいて、インターフェロン は、単一遺伝子によってコードされ、活性化されたT細胞およびNK細胞によって産生される。インターフェロン は、抗ウイルスおよび抗腫瘍活性を有するが、これは、通常、インターフェロン と比較した場合、弱い。インターフェロン の機能は、感染症の部位に白血球を動員することによっておよび感染の間に、侵入する細菌を貪食するためにマクロファージを刺激することによってI型インターフェロンの効果を増強することである。インターフェロン および自己免疫疾患の過剰産生の関連性もまたある。

40

III型インターフェロンは、IFN-1、IFN-2、およびIFN-3と呼ばれる3種のインターフェロン分子を含む。III型インターフェロンもまた、抗ウイルス活性を有することが知られている。

【0005】

50

すべてのヒト I 型インターフェロンは、インターフェロンアルファ受容体 1 (I F N A R 1) およびインターフェロンアルファ受容体 2 (I F N A R 2) を含む共通の細胞表面受容体を共有する。これらの両方の受容体は、クラス II サイトカイン受容体ファミリーに属する。 I F N A R 2 は、高度な親和性結合構成成分であり、 I F N A R 1 の非存在下においてインターフェロンに結合することができる。 I F N A R 1 は、特異的なインターフェロンに I F N A R 2 が結合した後にのみ、インターフェロン I F N A R 2 複合体に動員される。構造的に、 I F N A R 1 は、膜貫通ドメインを介して短い細胞質ドメイン (1 0 0 個のアミノ酸) に連結される 3 つのフィブロネクチンドメインを含む。 I F N A R 2 は、 2 つのフィブロネクチン I I I ドメインおよび 1 つのより長い細胞質ドメイン (2 5 0 個のアミノ酸) を含む限り、 I F N A R 1 と異なる。 I I 型インターフェロン 受容体は、 2 つのサブユニットを含む ; I F N - R 1 は、リガンド結合ポリペプチドであり、インターフェロン に結合し、 I F N - R 2 は、シグナル伝達のために、 J a n u s キナーゼ J A K 1 および J A K 2 を活性化するシグナル変換ポリペプチドである。 I I I 型インターフェロンは、そのメンバーが、 I L 1 0 受容体 2 およびインターロイキン 2 8 受容体とも呼ばれる I F N L R 1 受容体を含む受容体複合体を通してシグナル伝達する限り、他と異なる。

【発明の概要】

【 0 0 0 6 】

インターフェロンの治療活性は、ウイルス感染症および癌のコントロールにおける組換えタンパク質としてそれらの開発に至った。本開示は、薬物動態および活性が改善されたインターフェロン組換え形態の同定に関する。新しいインターフェロン分子は、生物学的に活性であり、二量体を形成し、安定性が改善されている。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 0 7 】

【図 1】ヒト I F N A 1 のアミノ酸配列を示す図である (シグナル配列は太字の大文字、成熟タンパク質は太字ではない大文字)。

【図 2】ヒトインターフェロンベータのアミノ酸配列を示す図である (シグナル配列は太字の大文字、成熟タンパク質は太字ではない大文字)。

【図 3】ヒト I F N R 1 受容体のアミノ酸配列を示す図である (シグナル配列は太字の大文字 (s s)、成熟タンパク質の細胞外ドメインは太字ではない大文字、膜貫通ドメインは小文字のイタリック体、細胞質ドメインは太字の小文字)。

【図 4】ヒト I F N R 2 受容体のアミノ酸配列を示す図である。

【図 5】インターフェロンガンマのアミノ酸配列を示す図である。

【図 6】インターフェロンガンマ受容体 I F N ガンマ R 1 のアミノ酸配列を示す図である。

【図 7】インターフェロンラムダ 1 のアミノ酸配列を示す図である。

【図 8】インターフェロンラムダ 2 のアミノ酸配列を示す図である。

【図 9】インターフェロンラムダ 3 のアミノ酸配列を示す図である。

【図 10】インターフェロンラムダ受容体 I L 1 0 受容体 2 のアミノ酸配列を示す図である。

【図 11】インターフェロンラムダ受容体 I F N L R 1 のアミノ酸配列を示す図である。表 1 は L R 名称の概要である。

【図 12】 a は L R 7 A 1 の核酸配列を示す図であり、 b は L R 7 A 1 のアミノ酸配列を示す図である。

【図 13】 a は L R 7 B 1 の核酸配列を示す図であり、 b は L R 7 B 1 のアミノ酸配列を示す図である。

【図 14】 a は L R 7 C 1 の核酸配列を示す図であり、 b は L R 7 C 1 のアミノ酸配列を示す図である。

【図 15】 a は L R 7 D 1 の核酸配列を示す図であり、 b は L R 7 D 1 のアミノ酸配列を示す図である。

10

20

30

40

50

【図16】a) PCRは、適した制限部位(プライマーR1~4内に含有される)が側面に位置する、興味のある遺伝子から成るDNAを生成するために使用した。b) PCR産物は、リンカー領域の両側に、適したベクターの中にライゲーションした。c) 構築物は、その後、適切なリンカーを導入するために修飾した。リンカーは、いかなる不要な配列(つまり非天然制限部位)も含有しなかった。

【図17】a) オリゴヌクレオチドは、特有のオーバーラップを有する部分的に二本鎖の領域を形成するように設計し、アニールし、処理した場合、リガンドおよび受容体にアニールするであろう隣接領域を有するリンカーをコードするであろう。b) PCRは、LR融合遺伝子を産生するために「メガプライマー」ならびに末端プライマー(R1およびR2)を使用して行った。R1およびR2プライマーは、標的ベクターの中へのライゲーションに有用な隣制限部位を導入するように設計した。

【図18】aはLRa7B1の核酸配列を示す図であり、bはLRa7B1のアミノ酸配列を示す図である。

【図19】CHO細胞発現a7B1のウェスタンブロットを示す図である。試料は、DTTの存在下において記載されるように調製した。レーン1: 段階、レーン2: a7B1(安定細胞株からの10x濃縮培地)、レーン3: GAP、レーン4: ポジティブコントロール、250ng rh-IFNアルファ2B。A7B1は、約MW75~100kDaの別個のバンドとして分かれる。非グリコシル化MW=45.5kDa。IFNコントロールは、19.2kDaのMWを有する。

【図20】インターフェロン 2bの生物学的活性を示す図である。

【図21】インターフェロン 2bキメラA7B1の生物学的活性を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0008】

本発明の一態様によれば、インターフェロンの活性を有するポリペプチドをコードする核酸配列を含む核酸分子であって、上述のポリペプチドは、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインに直接または間接的に連結されるインターフェロンまたはその部分を含む核酸分子が提供される。

本発明の好ましい実施形態において、上述の核酸分子は、インターフェロン 2bの活性を有するポリペプチドをコードし、上述のポリペプチドは、インターフェロン受容体インターフェロン結合ドメインに直接または間接的に連結されるインターフェロン 2bまたはその部分を含む。

【0009】

本発明の一態様によれば、インターフェロン受容体の結合ドメインに直接または間接的に連結されるインターフェロンのアミノ酸配列またはその活性結合部分を含む融合ポリペプチドが提供される。

本発明は、I、II、およびIII型インターフェロンならびに配列変異体を含むそのアイソタイプを含む。

インターフェロン配列変異体は、たとえば参照ポリペプチド(たとえばIFNA1)と異なる変異体であり、任意の組み合わせで存在してもよい1つまたは複数の置換、付加、欠失、切断によって、アミノ酸配列が異なってもよい。好ましい変異体の中には、保存的アミノ酸置換によって参照ポリペプチドと異なるものがある。そのような置換は、類似の特徴の他のアミノ酸によって所与のアミノ酸を置換するものである。アミノ酸の以下の非限定的なリストは、保存的置き換え(類似した)と考えられる: a) アラニン、セリン、およびトレオニン、b) グルタミン酸およびアスパラギン酸、c) アスパラギンおよびグルタミン、d) アルギニンおよびリシン、e) イソロイシン、ロイシン、メチオニン、およびバリン、ならびにf) フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファン。変異体と異なる参照ポリペプチドと同じ生物学的機能および活性を保持する変異体が最も好ましい。

【0010】

機能的に等価なポリペプチドは、1つもしくは複数のアミノ酸残基が保存もしくは非保

10

20

30

40

50

存アミノ酸残基と置換または1つもしくは複数のアミノ酸残基が置換基を含む変異体である。保存的置換は、脂肪族アミノ酸Ala、Val、Leu、およびIleの中の一方向から他方への置き換え、ヒドロキシル残基SerおよびThrの交換、酸性残基AspおよびGluの交換、アミド残基AsnおよびGlnの間の置換、塩基性残基LysおよびArgの交換、ならびに芳香族残基PheおよびTyrの中の置き換えである。

さらに、本発明は、配列番号1もしくは2において示されるポリペプチド配列またはその断片および機能的に等価なポリペプチドと少なくとも75%の同一性を有するポリペプチド配列を特徴とする。一実施形態において、ポリペプチドは、少なくとも85%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性、さらに好ましくは少なくとも97%の同一性、および最も好ましくは少なくとも99%の同一性を配列番号1または2において示されるアミノ酸配列と有する。

本発明の好ましい実施形態において、上述のインターフェロンは、I型インターフェロンである。好ましくは、上述のI型インターフェロンは、インターフェロン α 、インターフェロン β 、インターフェロン γ 、およびインターフェロン δ から成る群から選択される。

【0011】

本発明の好ましい実施形態において、上述のインターフェロンは、IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17、およびIFNA21から成る群から選択される。

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号1もしくは2、または配列番号1もしくは2で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてもしくは一部に関して少なくとも75%同一であるアミノ酸配列を含む。

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号1もしくは2、または配列番号1もしくは2で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてもしくは一部に関して少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含む。

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号1もしくは2、または配列番号1もしくは2で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてもしくは一部に関して少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0012】

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号1もしくは2、または配列番号1もしくは2で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてもしくは一部に関して少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号1もしくは2、または配列番号1もしくは2で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてもしくは一部に関して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む。

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号1または2を含む。

本発明の好ましい実施形態において、インターフェロン受容体の結合ドメインに直接または間接的に連結されるインターフェロン α 2bのアミノ酸配列またはその活性結合部分を含む融合ポリペプチドが提供される。

【0013】

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号34もしくは35、または配列番号34もしくは35で表されるアミノ酸配列に、その全長のうちのすべてもしくは一部に関して少なくとも75%、80%、85%、90%、もしくは95%同一であるアミノ酸配列を含む。

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号34または35を含む。

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、少なくとも1つ、2つ、または3つのフィブロネクチンIII結合ドメインを含む。

10

20

30

40

50

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号5のアミノ酸残基28～436を含む。

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号6のアミノ酸残基27～243を含む。

【0014】

本発明の好ましい実施形態において、インターフェロン 2bは、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインに連結され、上述のインターフェロン 2bは、上述の融合ポリペプチドにおいて上述の結合ドメインのアミノ末端側に位置する。

本発明の代替の好ましい実施形態において、インターフェロン 2bは、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインに連結され、上述のインターフェロン 2bは、上述の融合ポリペプチドにおいて上述の結合ドメインのカルボキシル末端側に位置する。

本発明の好ましい実施形態において、上述のインターフェロン 2bは、ペプチドリッカーによってインターフェロン受容体の結合ドメインに連結される。

好ましくは、上述のペプチド連結分子は、ペプチドGly Gly Gly Gly Serの少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6コピーを含む。

本発明の好ましい実施形態において、上述のペプチド連結分子は、ペプチドGly Gly Gly Serの5コピーから成る。

本発明の代替の好ましい実施形態において、上述のポリペプチドは、ペプチド連結分子を含まず、インターフェロン 2bおよびインターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインの直接的な融合物である。

【0015】

本発明の代替の好ましい実施形態において、上述のインターフェロンは、インターフェロン である。

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号3または4を含む。

本発明の好ましい実施形態において、少なくとも1つのフィブロネクチンIII結合ドメインを含む融合ポリペプチドが提供される。

本発明の好ましい実施形態において、2つのフィブロネクチンIII結合ドメインを含むまたはそれから成る融合ポリペプチドが提供される。

本発明の好ましい実施形態において、3つのフィブロネクチンIII結合ドメインを含むまたはそれから成る融合ポリペプチドが提供される。

本発明のさらなる好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号5のアミノ酸残基28～436を含む。

本発明のさらなる好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号6のアミノ酸残基27～243を含む。

【0016】

本発明の代替の好ましい実施形態において、上述のインターフェロンは、II型インターフェロンである。好ましくは、上述のII型インターフェロンは、インターフェロン である。

本発明の好ましい実施形態において、インターフェロン は、配列番号7または8によって表される。

本発明の好ましい実施形態において、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインは、配列番号9または10を含むインターフェロン 受容体結合ドメインである。

本発明のさらに好ましい実施形態において、上述のインターフェロンは、III型インターフェロンである。好ましくは、上述のIII型インターフェロンは、IFN- 1、IFN- 2、およびIFN- 3から成る群から選択される。本発明の好ましい実施形態において、IFN- 1は、配列番号11または12によって表される。

【0017】

本発明の好ましい実施形態において、IFN-2は、配列番号13または14によって表される。

本発明の好ましい実施形態において、IFN-3は、配列番号15または16によって表される。

本発明の好ましい実施形態において、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインは、配列番号17または18を含むインターフェロン受容体結合ドメインである。

本発明の好ましい実施形態において、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインは、配列番号19または20を含むインターフェロン受容体結合ドメインである。

10

【0018】

本発明の好ましい実施形態において、インターフェロンは、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインに連結され、上述のインターフェロンは、上述の融合ポリペプチドにおいて上述の結合ドメインのアミノ末端側に位置する。

本発明の代替の好ましい実施形態において、インターフェロンは、インターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインに連結され、上述のインターフェロンは、上述の融合ポリペプチドにおいて上述の結合ドメインのカルボキシル末端側に位置する。

本発明の好ましい実施形態において、上述のインターフェロンは、ペプチドリンカー、好ましくは柔軟なペプチドリンカーによって、インターフェロン受容体の結合ドメインに連結される。

20

本発明の好ましい実施形態において、上述のペプチド連結分子は、ペプチドGly Gly Gly Serの少なくとも1コピーを含む。

本発明の好ましい実施形態において、上述のペプチド連結分子は、ペプチドGly Gly Gly Serの2、3、4、5または6コピーを含む。

好ましくは、上述のペプチド連結分子は、ペプチドGly Gly Gly Gly Serの5コピーから成る。

本発明のさらなる代替の実施形態において、上述のポリペプチドは、ペプチド連結分子を含まず、インターフェロンおよびインターフェロン受容体のインターフェロン結合ドメインの直接的な融合物である。

30

【0019】

本発明の一態様によれば、

- i) 配列番号21で表される核酸配列、
- ii) 配列番号24で表される核酸配列、
- iii) 配列番号27で表される核酸配列、
- iv) 配列番号30で表される核酸配列、

から選択される核酸配列を含む核酸分子、または

配列番号21、24、27、30または33とストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズし、インターフェロン調節活性を有するポリペプチドをコードする核酸配列を含む核酸分子が提供される。

本発明の好ましい実施形態において、上述の核酸分子は、アゴニスト活性を有するポリペプチドをコードする。

40

本発明の好ましい実施形態において、上述の核酸分子は、アンタゴニスト活性を有するポリペプチドをコードする。

【0020】

核酸分子のハイブリダイゼーションは、2つの相補的な核酸分子が、互いに、かなりの量の水素結合を起こす場合に起こる。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、核酸を取り囲む環境条件、ハイブリダイゼーション方法の性質、ならびに使用される核酸分子の組成および長さによって変動し得る。特定の程度のストリンジェンシーを達成するのに必要とされるハイブリダイゼーション条件に関する計算は、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Col

50

d Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001) および Tijssen, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology - Hybridization with Nucleic Acid Probes 第I部、第2章 (Elsevier, New York, 1993) において説明される。 T_m は、核酸分子の所与の鎖の50%が、その相補鎖にハイブリダイズする温度である。以下は、ハイブリダイゼーション条件の例示的なセットであり、限定的なものではない。

【0021】

非常に高度なストリンジェンシー (少なくとも90%の同一性を共有する配列がハイブリダイズすることを可能にする)

ハイブリダイゼーション: 16時間、65 で $5 \times S S C$

2度洗浄: それぞれ15分間、室温 (RT) で $2 \times S S C$

2度洗浄: それぞれ20分間、65 で $0.5 \times S S C$

高度なストリンジェンシー (少なくとも80%の同一性を共有する配列がハイブリダイズすることを可能にする)

ハイブリダイゼーション: 16 ~ 20時間、65 ~ 70 で $5 \times \sim 6 \times S S C$

2度洗浄: それぞれ5 ~ 20分間、RTで $2 \times S S C$

2度洗浄: それぞれ30分間、55 ~ 70 で $1 \times S S C$

低度なストリンジェンシー (少なくとも50%の同一性を共有する配列がハイブリダイズすることを可能にする)

ハイブリダイゼーション: 16 ~ 20時間、RT ~ 55 で $6 \times S S C$

少なくとも2度洗浄: それぞれ20 ~ 30分間、RT ~ 55 で $2 \times \sim 3 \times S S C$ 。

【0022】

本発明の好ましい実施形態において、上述の核酸分子は、配列番号21で表される核酸配列を含むまたはそれから成る。

本発明の好ましい実施形態において、上述の核酸分子は、配列番号24で表される核酸配列を含むまたはそれから成る。

本発明の好ましい実施形態において、上述の核酸分子は、配列番号27で表される核酸配列を含むまたはそれから成る。

本発明の好ましい実施形態において、上述の核酸分子は、配列番号30で表される核酸配列を含むまたはそれから成る。

本発明の好ましい実施形態において、上述の核酸分子は、配列番号33における核酸配列を含むまたはそれから成る。

本発明の一態様によれば、本発明による核酸によってコードされるポリペプチドが提供される。

本発明のさらなる態様によれば、配列番号22、23、25、26、28、29、31、32、34または35から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むまたはそれから成るポリペプチドが提供される。

【0023】

本発明の一態様によれば、2つのポリペプチドから成るホモ二量体であって、上述のポリペプチドはそれぞれ、

i) インターフェロンまたはその受容体結合ドメインを含む第1の部分と、ペプチド連結分子によってそれと任意選択で連結される

ii) インターフェロン受容体の少なくとも1つのインターフェロン結合ドメインまたはその部分を含む第2の部分と

を含むホモ二量体が提供される。

本発明の好ましい実施形態において、上述のホモ二量体は、配列番号22、23、25、26、28、29、31、32、34または35を含むまたはそれから成る2つのポリペプチドを含む。

10

20

30

40

50

本発明のさらなる態様によれば、本発明による核酸分子を含むベクターが提供される。

【0024】

本発明の好ましい実施形態において、上述のベクターは、本発明による核酸分子を発現するように適合された発現ベクターである。

本発明による（1つまたは複数の）核酸を含むベクターは、特に、ベクターが、安定した形質移入のための、ゲノムの中への組換えのために細胞の中に核酸を導入するために使用されることになっている場合、プロモーターまたは他の調節配列を含む必要はない。好ましくは、ベクターにおける核酸は、適切なプロモーターまたは宿主細胞における転写のための他の調節エレメントに作動可能に連結される。ベクターは、複数の宿主において機能する二機能性発現ベクターであってもよい。「プロモーター」によって、転写開始部位から上流の、転写に必要とされる調節領域をすべて含有するヌクレオチド配列が意味される。適したプロモーターは、真核細胞または原核細胞における発現のための構成的、組織特異的、誘発性、発生的、または他のプロモーターを含む。「作動可能に連結される」は、転写がプロモーターから開始されるように適切に位置し、配向する同じ核酸分子の一部としてつながれていることを意味する。プロモーターに作動可能に連結されるDNAは、プロモーターの「転写開始調節下に」ある。

10

【0025】

好ましい実施形態において、プロモーターは、構成的、誘発性、または調節可能プロモーターである。

本発明のさらなる態様によれば、本発明による核酸分子またはベクターを用いて形質移入または形質転換される細胞が提供される。好ましくは、上述の細胞は、真核細胞である。その代わりに、上述の細胞は、原核細胞である。

20

本発明の好ましい実施形態において、上述の細胞は、真菌細胞（たとえばピキア種、サッカロミセス種、アカパンカビ種）、昆虫細胞（たとえばスポドプテラ種）、哺乳動物細胞（たとえばCOS細胞、CHO細胞）、植物細胞から成る群から選択される。

本発明のさらなる態様によれば、賦形剤または担体を含む、本発明によるポリペプチドを含む医薬組成物が提供される。

本発明の好ましい実施形態において、上述の医薬組成物は、さらなる治療薬と組み合わせられる。

投与される場合、本発明の医薬組成物は、薬学的に許容できる調製物で投与される。そのような調製物は、薬学的に許容できる濃度の塩、緩衝剤、防腐剤、適合性の担体、および任意選択で他の治療薬を規定どおりに含有していてもよい。

30

本発明の医薬組成物は、注射を含む、任意の通常の経路によって投与することができる。投与および適用は、たとえば経口、静脈内、腹腔内、筋肉内、腔内、関節内、皮下、局所（目）、皮膚（たとえば皮膚または粘膜へのクリーム状の脂質可溶性挿入物）、経皮、鼻腔内であってもよい。

【0026】

本発明の医薬組成物は、有効量で投与される。「有効量」は、単独でまたはさらなる薬もしくは共力性の薬剤と共に所望の応答をもたらす医薬品/組成物の量である。これは、一時的に疾患の進行を単に遅らせることを伴ってもよいが、より好ましくは、それは、持続的に疾患の進行を食い止めることを伴う。これは、ルーチン的な方法によってモニターすることができるまたは診断方法に従ってモニターすることができる。

40

対象に投与される医薬組成物の用量は、異なるパラメーターに従って、特に、使用される投与のモードおよび対象の状態（つまり年齢、性別）に従って選ぶことができる。投与される場合、本発明の医薬組成物は、薬学的に許容できる量および薬学的に許容できる組成物で適用される。医薬で使用される場合、塩は、薬学的に許容できるはずであるが、薬学的に許容できない塩は、その薬学的に許容できる塩を調製するために好都合に使用されてもよく、本発明の範囲から除外されない。そのような薬理的におよび薬学的に許容できる塩は、以下の酸から調製されるものを含むが、これらに限定されない：塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、マレイン酸、酢酸、サリチル酸、クエン酸、ギ酸、マロン酸

50

、コハク酸、およびその他同種のもの。さらに、薬学的に許容できる塩は、ナトリウム塩、カリウム塩、またはカルシウム塩などのようなアルカリ金属塩またはアルカリ土類塩として調製することができる。

【0027】

医薬組成物は、所望される場合、薬学的に許容できる担体と組み合わせられてもよい。本明細書において使用されるような用語「薬学的に許容できる担体」は、ヒトへの投与に適した1つまたは複数の適合性の固体または液体の増量剤、希釈剤、またはカプセル化する物質を意味する。用語「担体」は、適用を容易にするために有効成分が組み合わせられる天然または合成の有機または無機成分を示す。医薬組成物の構成成分はまた、所望の医薬品効力を実質的に損なうであろう相互作用がない方法で本発明の分子とおよび互いに混合することもできる。

10

医薬組成物は、塩中の酢酸、塩中のクエン酸、塩中のホウ酸、および塩中のリン酸を含む適した緩衝剤を含有していてもよい。

医薬組成物はまた、任意選択で、塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、パラベン、およびチメロサルなどのような適した防腐剤を含有していてもよい。

医薬組成物は、単位剤形で好都合に与えられてもよく、薬学の技術分野においてよく知られている方法のいずれかによって調製されてもよい。方法はすべて、活性作用物質を、1つまたは複数の補助成分を構成する担体と結合させるステップを含む。一般に、組成物は、活性化化合物を、液体の担体、微粉化した固体の担体、またはその両方と均一におよび完全に結合させることならびにその後、必要であれば、産物を成形することによって調製される。

20

【0028】

経口投与に適した組成物は、カプセル、錠剤、ロゼンジなどのように、別々の単位として与えられてもよく、それぞれが、所定の量の活性化化合物を含有する。他の組成物は、シロップ剤、エリキシル剤、または乳剤などのような、水性の液体または非水系の液体中の懸濁剤を含む。

非経口投与に適した組成物は、好ましくは、レシピエントの血液と等張である滅菌した水性または非水系の調製物を好都合に含む。この調製物は、適した分散剤または湿潤剤および懸濁剤を使用して、知られている方法に従って製剤されてもよい。滅菌注射調製物はまた、たとえば1, 3-ブタンジオール中の液剤のように、無毒性の非経口的に許容できる希釈剤または溶剤中の滅菌注射液剤または懸濁剤であってもよい。用いられてもよい許容できる溶剤の中には、水、リンガー溶液、および等張食塩水がある。さらに、滅菌した不揮発性油は、溶剤または懸濁化剤として慣習的に用いられる。この目的のために、合成モノグリセリドまたは合成ジグリセリドを含む任意の無刺激の不揮発性油が用いられてもよい。さらに、オレイン酸などのような脂肪酸は、注射剤の調製物において使用されてもよい。経口、皮下、静脈内、筋肉内などの投与に適した担体制剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences、Mack Publishing Co.、Easton、PAにおいて見つけることができる。

30

【0029】

本発明の一態様によれば、本発明による核酸分子またはポリペプチドおよび抗原分子を含むワクチン組成物が提供される。

40

本発明のポリペプチドが強力なアジュバントとなることは当業者に明らかであろう。アジュバントは、免疫細胞の活性を調節することによって、抗原に対する特異的な免疫応答を増大する物質または手順である。アジュバントの例は、フロインドアジュバント、ムラミルジペプチド、またはリボソームを含む。そのため、アジュバントは、免疫調節薬である。本発明の融合ポリペプチドは、ポリペプチドアジュバントまたはDNAワクチン接種の例における核酸分子として投与されてもよい。ワクチン組成物はまた、担体を含んでもよい。いくつかのポリペプチド抗原またはペプチド抗原は、B細胞エピトープを含有するが、T細胞エピトープを含有しない。免疫応答は、ポリペプチド/ペプチドにおけるT細胞エピトープの包含によってまたはキーホールリンペットヘモシアニンもしくは複数

50

のT細胞エピトープを含有する破傷風トキソイドなどのような免疫原性「担体」タンパク質へのポリペプチド/ペプチドの抱合によって非常に増強することができる。

【0030】

本発明の好ましい実施形態において、上述の抗原分子は、ウイルスポリペプチド抗原である。

ウイルス病原体は、ヒトおよび動物、たとえば家畜動物における疾患の主な原因である。ウイルス抗原は、ヒト免疫不全ウイルス、ヒトT細胞白血病ウイルス、エボラウイルスまたは他の出血熱ウイルス、子宮頸癌および他の癌を引き起こすヒトパピローマウイルス（HPV）、パポバウイルス、ライノウイルス、ポリオウイルス、ヘルペスウイルス、アデノウイルス、エプスタインバーウイルス、インフルエンザウイルスA、B、もしくははC、B型およびC型肝炎ウイルス、痘瘡ウイルス、ロタウイルス、またはSARSコロナウイルスなどのようなウイルス病原体に由来する。

本発明の代替の好ましい実施形態において、上述の抗原分子は、癌抗原である。

【0031】

用語「抗原分子」は、標的細胞において発現されると、免疫系によって認識することができる細胞表面抗原タンパク質が産生されるヌクレオチド配列を指す。抗原分子は、腫瘍細胞特異的抗原、理想的には腫瘍拒絶抗原に由来する。腫瘍拒絶抗原は、当技術分野において十分に知られており、たとえば、腫瘍拒絶抗原のMAGE、BAGE、GAGE、およびDAGEファミリーを含む。Schulzら Proc Natl Acad Sci USA、1991、88、991~993ページを参照されたい。腫瘍細胞は、多くの腫瘍細胞特異的抗原を産生し、これらのうちのいくつかは、腫瘍細胞表面に提示されることが長年知られている。これらは、通常、腫瘍拒絶抗原と呼ばれ、腫瘍拒絶抗原前駆体と呼ばれる、より大きなポリペプチドに由来する。腫瘍拒絶抗原は、HLAを介して免疫系に提示される。免疫系は、外来のものとしてこれらの分子を認識し、これらの抗原を発現する細胞を自然に選択し、破壊する。形質転換細胞が検出を逃れて、定着するようになると、腫瘍は発症する。ワクチンは、腫瘍の定着に対する前もって形成された防御力を個体に提供するために、主要な腫瘍拒絶抗原に基づいて開発されてきた。

本発明のさらなる態様によれば、ウイルス感染に罹患しているヒト対象を治療するための方法であって、本発明によるポリペプチドの有効量を投与するステップを含む方法が提供される。

【0032】

本発明のさらなる態様によれば、癌に罹患しているヒト対象を治療するための方法であって、本発明によるポリペプチドの有効量を投与するステップを含む方法が提供される。

本明細書において使用されるように、用語「癌」は、自律的増殖のための能力を有する細胞、つまり、異常な状態または急速に増殖する細胞の成長によって特徴づけられる状態を指す。用語は、組織病理学的タイプまたは侵襲性のステージに関係なく、すべてのタイプの癌成長もしくは発癌プロセス、転移組織、または悪性形質転換細胞、組織、もしくはは器官を含むように意味される。用語「癌」は、たとえば、肺、乳房、甲状腺、リンパ、胃腸、および生殖泌尿器系に影響を与えるものなどのような、様々な器官系の悪性腫瘍ならびにほとんどの結腸癌、腎細胞癌、前立腺癌および/または精巣腫瘍、肺の非小細胞癌、小腸癌、ならびに食道癌などのような悪性腫瘍を含む腺癌を含む。用語「癌腫」は、当技術分野において認識されており、呼吸器系癌腫、胃腸系癌腫、泌尿生殖器系癌腫、精巣癌腫、乳房癌腫、前立腺癌腫、内分泌系癌腫、および黒色腫を含む、上皮組織または内分泌組織の悪性腫瘍を指す。例示的な癌腫は、頸部、肺、前立腺、乳房、頭頸部、結腸、および卵巣の組織から形成されるものを含む。用語「癌腫」はまた、癌肉腫をも含み、たとえば、これは、癌性および肉腫性組織から構成される悪性腫瘍を含む。「腺癌」は、腺組織に由来するまたは腫瘍細胞が認識可能な腺構造を形成する癌腫を指す。用語「肉腫」は、当技術分野において認識され、間葉由来の悪性腫瘍を指す。

【0033】

本発明の好ましい方法において、上述の癌は、黒色腫である。

本発明のさらなる態様によれば、多発性硬化症に罹患しているヒト対象を治療するための方法であって、本発明による融合ポリペプチドの有効量を投与するステップを含む方法が提供される。

本発明の代替の好ましい方法において、上述の融合ポリペプチドは、インターフェロンを含む。

本発明の好ましい方法において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号 3 または 4 を含む。

本発明のさらなる好ましい実施形態において、上述のポリペプチドは、2 日間隔で投与され、好ましくは、上述のポリペプチドは、1 週、2 週、または 1 か月間隔で投与される。

10

【0034】

本発明の一態様によれば、ウイルス感染の治療のための医薬の製造のための、本発明によるポリペプチドの使用が提供される。

本発明の一態様によれば、癌の治療のための医薬の製造のための、本発明によるポリペプチドの使用が提供される。

本発明の好ましい実施形態において、上述の癌は、黒色腫である。

本発明の一態様によれば、多発性硬化症の治療のための医薬の製造のための、本発明によるポリペプチドの使用が提供される。

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、インターフェロンを含む。

20

本発明の好ましい実施形態において、上述の融合ポリペプチドは、配列番号 3 または 4 を含む。

【0035】

本発明のさらなる態様によれば、本発明によるポリペプチドまたは二量体に結合するモノクローナル抗体が提供される。

好ましくは、上述のモノクローナル抗体は、ポリペプチドまたは二量体に結合するが、インターフェロンまたはインターフェロン受容体にそれぞれ特異的に結合しない抗体である。

モノクローナル抗体は、本発明のポリペプチドまたは本発明のポリペプチドを含む二量体のいずれかによって提示される立体構造抗原 (conformational antigen) に結合する。

30

【0036】

本発明のさらなる態様において、本発明によるモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞株を調製するための方法であって、

i) 本発明による少なくとも 1 つのポリペプチドを含む免疫原を用いて免疫応答性哺乳動物を免疫するステップ、ii) 免疫された免疫応答性哺乳動物のリンパ球を骨髓腫細胞と融合して、ハイブリドーマ細胞を形成するステップ、

iii) ステップ (ii) のハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体を、(i) のポリペプチドに対する結合活性についてスクリーニングするステップ、

iv) ハイブリドーマ細胞を培養して、上述のモノクローナル抗体を量産および/または分泌するステップ、ならびに

40

v) 培養上清からモノクローナル抗体を回収するステップを含む方法が提供される。

好ましくは、上述の免疫応答性哺乳動物は、マウスである。その代わりに、上述の免疫応答性哺乳動物は、ラットである。

【0037】

ハイブリドーマ細胞を使用するモノクローナル抗体の産生は、当技術分野においてよく知られている。モノクローナル抗体を産生するために使用される方法は、Nature 256、495~497 ページ (1975) における Kohler および Milstein ならびに Donilard および Hoffman、Compendium of Immunology V. II、Schwartz 編、1981 における「Basic

50

Facts about Hybridomas」によって開示され、これらは、参照によって組み込まれる。

本発明のさらなる態様によれば、本発明による方法によって得られるまたは入手可能なハイブリドーマ細胞株が提供される。

本発明のさらなる態様によれば、生体試料において、本発明によるポリペプチドを検出するための診断試験であって、

i) 試験対象となる単離試料を提供するステップ、

ii) 上述の試料を、本発明によるポリペプチドまたは二量体に結合するリガンドと接触させるステップ、および

iii) 上述の試料において上述のリガンドの結合を検出するステップを含む診断試験が提供される。

10

【0038】

本発明の好ましい実施形態において、上述のリガンドは、抗体、好ましくはモノクローナル抗体である。

本明細書の説明および請求項の全体にわたって、その用語「~を含む (comprise)」および「~を含有する (contain)」および用語の変化形、たとえば「~を含む (comprising)」および「~を含む (comprises)」は、「~を含むが、これらに限定されない」を意味し、他の部分、添加剤、構成成分、整数、またはステップを除外することを意図しない (および除外しない)。

本明細書の説明および請求項の全体にわたって、文脈上、他の意味に解すべき場合を除き、単数形は複数形を包含する。特に、不定冠詞が使用される場合、明細書は、文脈上、他の意味に解すべき場合を除き、複数および単数を企図するものとして理解されたい。

20

本発明の特定の態様、実施形態、または実施例に関連して記載される特色、整数、特徴、化合物、化学的部分、または化学基は、矛盾しない限り、本明細書において記載される他の態様、実施形態、または実施例に適用可能であることが理解されたい。

【実施例】

【0039】

本発明の実施形態は、ここで、ほんの一例として、添付の図に関連して記載することとする。

材料および方法

30

インターフェロンバイオアッセイ

市販で入手可能なバイオアッセイは、インターフェロンを試験するために使用することができる。http://www.sbhsciences.com/index.asp、SBH Sciences Incおよびhttp://www.biocompare.com/index.asp、Biocompare Incを参照されたい。さらに、インターフェロンの活性をアッセイする方法は、Leonartら (Nature Biotech (1990) 8: 1263~1267ページ、SedmkおよびGrossberg (J. Gen Virology (1973) 21: 1~7ページ、ならびにBaumgarthおよびKelso (J of Virology (1996) 70(7): 4411~4418ページにおいて記載されている。

40

【0040】

免疫試験

ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体へのリガンドまたは受容体の結合を測定するイムノアッセイは、当技術分野において知られている。市販で入手可能な抗体は、試料におけるリガンドまたは受容体を検出するためおよびまた競合的阻害研究における使用のためにも入手可能である。たとえばhttp://www.abcam.com/index.html、Abcam PLCを参照されたい。

【0041】

融合タンパク質の組換え産生

融合タンパク質の構成成分は、リガンドまたは受容体にアニールし、標的ベクターの中

50

にクローニングするための適した制限部位を導入するように設計したプライマーを使用して、PCRによって生成した(図16a)。PCRのための鋳型は、標的遺伝子を含み、IMAGEクローン、cDNAライブラリー、または特注合成遺伝子から得た。適切な隣接制限部位を有するリガンドおよび受容体の遺伝子を合成したら、これらは、その後、標的ベクターにおけるリンカー領域の両側にライゲーションした(図16b)。構築物は、その後、リンカー領域の両側の2つの特有の制限部位の間への特注合成長のDNAの挿入によって、ssDNA修飾技術によるリンカー領域の変更によって、適した制限部位の間へのプライマーデュプレックス/マルチプレックスの挿入によって、またはPCR修飾によって、隣接制限部位を有していない適切なリンカーを含有するように修飾した(図16c)。

10

【0042】

その代わりに、最適ナリガンドまたは受容体のドメインにアニールするように設計した隣接配列を有するリンカーを、オリゴヌクレオチドデュプレックスを作製することによって、最初に合成し、これを、二本鎖のDNAを生成するように処理した(図17a)。その後、「メガプライマー」としてのリンカー配列、「メガプライマー」がアニールするリガンドおよび受容体の反対側の末端に対して設計したプライマーを使用し、鋳型としてのリガンドおよび受容体を用いてPCRを行った。末端プライマーは、最適な発現ベクターへのライゲーションに適した制限部位を用いて設計した(図17b)。

【0043】

融合タンパク質の発現および精製

20

発現は、適した系(たとえば哺乳動物CHO細胞および大腸菌)において実行し、これは、LR融合遺伝子を生成したベクターに依存した。発現は、その後、1つまたは複数のSDS-PAGE、未変性PAGE、ウェスタンブロッティング、ELISAを含むことができる多種多様の方法を使用して分析した。

適したレベルの発現が達成されたら、RL融合物は、精製および後の分析のための十分なタンパク質を産生するためにより大規模で発現させた。

精製は、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、硫酸アンモニウム沈殿、ゲル濾過、サイズ排除、および/またはアフィニティークロマトグラフィーなどのような1つまたは複数のクロマトグラフィー手順の適した組み合わせを使用して実行した(ニッケル/コバルト樹脂、抗体固定化樹脂、および/またはリガンド/受容体固定化樹脂を使用)。

30

精製タンパク質は、1つまたは複数のブラッドフォードアッセイ、SDS-PAGE、未変性PAGE、ウェスタンブロッティング、ELISAを含むことができる、多種多様の方法を使用して分析した。

【0044】

LR融合物の特徴づけ

変性PAGE、未変性PAGEゲル、およびウェスタンブロッティングは、融合ポリペプチドを分析するために使用し、ウェスタンブロッティングは、LR融合物に対して非立体構造感受性の抗体を用いて行った。未変性溶液状態の分子量情報は、Superose G200分析カラムを使用するサイズ排除クロマトグラフィーおよび分析超遠心法などのような技術から得ることができる。

40

キメラクローンの構築

クローンはすべて、哺乳動物発現プラスミドpSecTag-linkの中に、制限酵素Nhe1/HindIIIを使用してライゲーションした。クローンは、細胞培地への効率的な分泌のためにヒトインターフェロンの分泌シグナルに付着させた。a7B1の全遺伝子(図18a)は、遺伝子合成を使用してクローニングし、哺乳動物発現ベクターpSecTag-linkの中にクローニングして、pIFNsecTag-a7B1を形成した。

【0045】

IFNキメラクローンの哺乳動物発現

50

哺乳動物発現系は、InvitrogenベクターpSecTag-V5/FRT-Histの改良を使用して確立した。

InvitrogenのFlp-In系

この系は、高度な発現のための、宿主ゲノム内の特異的な部位への安定したクローンの迅速な生成を可能にする。これは、分泌または細胞質発現タンパク質で使用することができる。Flp-In宿主細胞株(flp-In CHO)は、転写活性ゲノム座に位置する単一のFlpリコンビナーゼ標的(FRT)部位を有する。

安定細胞株は、Flp-In細胞株の中へのベクター(FRT標的部位を含有)およびpOG44(flpリコンビナーゼを一時的に発現するプラスミド)の同時形質移入によって生成する。選択はハイグロマイシンBを用いる。DNAの統合が指示されるので、クローン選択の必要はない。

Flp-In細胞株の培養：基本的な細胞培養技術を使用するメーカーの指示に従う。

【0046】

Fugene-6を使用するCHO Flp-In細胞の安定した形質移入

形質移入の前日、CHO Flp-In細胞を、10% (v/v) ウシ胎仔血清、1% ペニシリン/ストレプトマイシン、および4 mM L-グルタミンを含有する10 mlのHams F12培地の全容量で100 mmペトリ皿当たり 6×10^5 で接種した。翌日、1.5 mlポリプロピレンチューブに570 μ lの無血清培地(抗生物質を含有せず)を追加した。その後、30 μ lのfugene-6を追加し、緩やかな回転によって混合した。プラスミドの別個の混合物は、興味のある2 μ gプラスミドを18 μ g pOG44(プラスミドは、宿主ゲノムの中へのプラスミドの適切な統合に必要なリコンビナーゼ酵素を含有する)と組み合わせるそれぞれの形質移入のために準備した。コントロールプレートにはプラスミドを加えなかった。これは、緩やかな回転によってfugene-6と混合し、15分間、室温に置き、その後、F12培地+10% FC中にCHO Flp-In細胞を含有するそれぞれのペトリ皿の表面に液滴をかけた。プレートは、十分な混合を確実にするために穏やかに回転させ、37 / 5% CO₂で24時間置いた。翌日、培地は、600 μ g/mlのハイグロマイシンBを含有する選択培地と交換した。細胞は、60%以下の培養密度にルーチン的に保った。コントロールプレート細胞(非形質移入細胞)が死滅する(つまり非ハイグロマイシン抵抗性)まで、細胞は、600 μ g/mlハイグロマイシンBの存在下において置いて、成長させた。

【0047】

SDS-PAGE分析

安定CHO細胞株からの発現の試験

興味のあるタンパク質を発現するコンフルエントなCHO Flp-In細胞株を、無血清培地において約3~4日間、75 cm²フラスコにおいて成長させ、この時点で、試料を採取し、アセトン沈殿を使用して濃縮した。試料を、25 mM DTTの存在下または非存在下において等容量のlaemmliローディングバッファと混合し、5分間、沸騰させた。試料は、SDS-PAGEによって分析し、PVDF膜に転写した。PBS-0.05% (v/v) Tween 20中の5% (w/v) 牛乳タンパク質中でブロックした後に、試料検出は、ホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)抱合二次抗体と共に特異的抗IGF-1抗体を使用して実行した。視覚化は、HRP検出キットを使用する、写真用フィルム上での化学発光によるものとした。

【0048】

CHO flpInの一時的な形質移入からの発現の試験

CHO Flp-In細胞は、2 ml培地(DMEM、F12、10% FCS + P/S + L-グルタミン + Zeocin)の全容量において6枚のウェルプレートのウェル当たり 0.25×10^6 細胞で接種した。細胞は、o/nで成長させた。その後、細胞は、表1に示す、指定した試薬比率でTransIT-CHO試薬(Mirus)またはfugene-6のいずれかを使用して形質移入した。コントロール形質移入は、1B7stop(GH含有キメラ分子)を使用して準備した。手短かに言えば、TransIT試薬

を使用する場合、200 μ lの無血清培地(OPTI MEM)を形質移入当たり1.5 mlエッペンドルフに追加し、その後、2 μ g DNAを追加した。チューブは、室温で15分間、置いた。その後、1 μ lのCHO Mojo試薬を追加し、混合し、さらに15分間、置いた。培地を無血清に交換し、形質移入混合物は、適切なウェルの表面上に液滴でピペットで移した。手短かに言えば、Fugene-6試薬を使用する場合、94 μ lの無血清培地(OPTI MEM)を形質移入当たり1.5 mlエッペンドルフに追加し、その後、2 μ g DNAを追加した。チューブは、室温で15分間、置いた。形質移入混合物は、その後、無血清培地を含有する適切なウェルの表面上に液滴でピペットで移した。プレートはすべて、2~3日間、37 / 5%CO₂で置いた。

【0049】

10

プラスミド	mg/ml	2 μ g の DNA を含有する容量	形質移入1		形質移入2	形質移入3
			CHO Mojo 試薬 (5 μ g/ μ l ストック)	TransIT-CHO 試薬 (A)	DNA に対する Fugene-6 比率=3:2	DNA に対する Fugene-6 比率=3:1
A7b1	1.6	1.25 μ l	1 μ l	4 μ l	—	—
1B7 Stop	1	2 μ l	1 μ l	4 μ l	3 μ l	6 μ l

【0050】

統計

20

2つのグループは、それらの分散が正常に分布した場合、スチューデント検定を用いてまたは正常に分布しなかった場合、スチューデント-サタースウェイト検定(Student-Satterthwaite's test)によって比較した。分布は、F検定を用いて試験した。一元配置ANOVAは、3つ以上のグループの平均値を比較するために使用し、有意水準が $p < 0.05$ であった場合、個々の比較はダネット検定を用いて行った。統計的検定はすべて、5%の有意水準で両側とし、欠測値に対するインピュテーションは行わなかった。

【0051】

インターフェロンバイオアッセイ

30

可溶性インターフェロンアルファキメラタンパク質を発現する安定CHO FlpIn細胞株:A7b1(AS-80)をARCBioservによって成長させた。非形質移入CHO細胞から成るコントロール培地もまた同時に成長させ、同じ方法で処理した。それぞれの試料の生物活性は、ヒト1型インターフェロン活性検出キットを使用して検出した(Neutekbio iLite AlphaBeta Kit:Galway,Ireland、カタログ#46-88R、ロット#0810601)。両方の培地を濃縮し、試料の階段希釈を行うのに先立って過滅菌した。キット使用法についてのメーカーの指示に全部従った。

結果は、A7b1が生物活性を有し、コントロールが生物活性を示さないことを明確に示す。

40

1:1から1:128までの希釈溶液は、アッセイについて最大のRLUに達した。図20および21を参照されたい。さらなる希釈溶液は、生物活性の好適な用量応答曲線を示す。これは、約16~20,000のIU/ml範囲に関する。

【 ㊦ 1 】

MASPFALLMVLVVLSCSKSSCSLG

CDLPETHSLDNRRTLMLLAQMSRISPSSCLMDRHDGFGFPQEEFDGNQFQKAPAISVLHELIQQIFNLFTTKDSSAAW
DEDLLDKFCTELYQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFRRITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIMRSLSL
STNLQERLRRKE

【 ㊦ 2 】

MTNKCLLQIA LLLCFSTTALS

MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQDSSST
GWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNF
YFINRLTGYLRLN

【 ㊦ 3 】

MMVLLGATTLVLVAVAPWVLSAAAGG

KNLKSPQKVEVDIIDDNFILRWNRSDSVGNVTFSDYQKTGMDNWIKLSGCQNTSTKCNFSSLKLNVYEEIKLRI
RAEKENTSSWYEVDSFTPFKAQIGPPEVHLEAEDKAIVIHISPGTKDSVMWALDGLSFTYSLVIWKNSSGVEERIE
NIYSRHKIYKLSPETTYCLKVKAALLTSWKIGVYSPVHCIKTTVENELPPPENIEVSVQONQNYVLKWDYTYANMTFQ
VQWLHAFKRNPNGNHLYKWQIQPCENVKTTQCVFPQNVFQKGIYLLRVQASDGNNTSFWSEEIKFDTEIQAFLLPP
VFNIRLSLDSFHIYIGAPKQSGNTPVIQDYPLIYEIIFWENTSNAERKIEKKTDTVVPNLKPLTVYCVKARAHTMD
EKLKSSVFSDAVCEKTKPGNTSK
iwlivgicialfalpfviyaa
kvflrcinyvffpslkpsssideyffseqplknlllstseeqiekcfiienistiatveetnqtdedhkkyssqtsqd
sgnysnedesesktseelqqdfv

【 ㊦ 4 】

MLLSQNAFIFRSLNLVIMVYISLVFGI

SYDSPDYTDESCTFKISLRNFRSILSWELKNHSIVPTHYTLTYTIMSKPEDLKVVKNCANTTRSFCDLTDEWRSTHE
AYVTVLEGFSGNTLFCSHNFWLAIDMSFEPPEFEIVGFTNHINVMVKFPSIVEEELQFDLSLVIEEQSEGIKKH
KPEIKGNMSGNFYIIDKLIPTNYCVSVYLEHSDEQAVIKSPLKCTLLPPGQESESAESAK
iggliitvflialvltstivtl
kwigyiclrnslpkvlnfhnflawpfnlppleamdmveviyinrkkkvwdynyddesdsdteaaprtsgggytmhg
ltvrplgqasatstesqlidpeseepdlpevdvelptmpkdspqqlellsqpcerrksplqdpfeedysstegsg
gritfnvdlnsvflrvlddedsdleaplmlsshleemvdpdpdvqsnhllasgegtqptfppspsegllwsedap
sdqsdtsesdvdldgdyimr

【 ㊦ 5 】

MKYTSYILAFQLCIVLGSGLCYC

QDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKSVETIKEDM
NVKFFNSNKKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELIQVMAELSPAAKTGKRKRSQMLFRGRRASQ

【 ㊦ 6 】

MALLFLLPLVMQGVSR

EMGTADLGPSSVPTPTNVTIESYNMNPVYWEYQIMPQVPVFTVEVKNYGVKNSEWIDACINISHHYCNISDHVGD
SNSLWVRVKARVGQKESAYAKSEEFVAVCRDGIKPPKLDIRKEEKQIMIDIFHPSVFNVDGDEQEVYDYPETTCYIRV
YNVYVRMNGSEIQYKILTQKEDDCDEIQQLAIPVSSLNSQYCVSAEGLVHVWGVVTEKSKEVCITIFNSSIKG
slwipvvaalllflvlslvfi
cfyikkinplkeksiilpkslisvvrstletkpeskyvslitsyqpfslskevceepvspatvpgmhtednpgkv
ehteelssitevtteentipdvpgshltpieresssplssnqsepgsialnsyhsrncsesdhsrngfdtdsscle
shsslsdsefppnkggeikteqgelitvikaptsfygdkphvlvdllddsgkesligyrptedskefs

【 ㊦ 7 】

MAAAWTVVLVTLVGLAVA

GPVPTSKPTTTGKGGCHIGRFKSLSPQELASFKKARDALEESLKLKNWSCSSPVFPGNWDLRLLQVRERPVALEAELA
LTLKVLAAAGPALEDVLDQPLHTLHHILSQLQACIQPQPTAGPRPRGRLLHHLHRLQEAPKKESAGCLEASVTFNL
FRLLRDLKYVADGNLCLRTSTHPEST

【 図 8 】

MKLDMTGDCTPVLVLMMAAVLTVTGA

VPVARLHGALPDARGCHIAQFKSLS PQELQAFKRAKDALEESLLLKDCRCHSRLFPRTWDLRQLQVRERPMALAEAL
ALTLKVLEATADTDPALVDVLDQPLHTLHHILSQFRACIQPOPTAGPRTRGRLHHWLYRLQEAPKKESPGCLEASVT
FNLFRLLTRDLNLCVASGDLCV

【 図 9 】

MKLDMTGDCMPVLVLMMAAVLTVTGA

VPVARLRGALPDARGCHIAQFKSLS PQELQAFKRAKDALEESLLLKDCRCHSRLFPRTWDLRQLQVRERPVALEAEL
ALTLKVLEATADTDPALGVDVLDQPLHTLHHILSQLRACIQPOPTAGPRTRGRLHHWLHRLQEAPKKESPGCLEASVT
FNLFRLLTRDLNLCVASGDLCV

【 図 1 0 】

MAWSLGSWLGGCLLVSALG

MVPPPENVRMNSVNFKNILQWESPAFAKGNLTFQAQYLSYRIFQDKCMNTLLETCDFSSLSKYGDHTLRVRAEFADE
HSDWVNITFCPVDDTIIGPPGMQVEVLADSLHMRFLAPKIENEYETWTMKNVYNSWTYNVQYWKNGTDEKFQITPQY
DFEVLRLNLEPWTTCVQVRGFLPDRNKAGEWSEPVCEQTTTHDETVPS

wmvavilmasvfmvclallg

*cfallwcvykktkyafsprnslpqhlkeflghphhntllffsfplsdendvfdklsviaedsesgkqnpqgdsclgt
ppgqgpps*

【 図 1 1 】

MAGPERWGFLLLCLLQAAPG

RPRLAPPQNVTLLSQNFVYLTWLPGLGNPQDVITYFVAYQSSPTRRRWREVEECAGTKELLCSMMCLKKQDLYNKFK
GRVRTVSPSSKSPWVESEYLDYLFVEVEPAPPVLVLTQTEEILSANATYQLPPCMPPLDLKYEVAFWKEGAGNKTLPF
VTPHGQPQITLQPAASEHHCLSAARTIYTFVSPKYSKFSKPTCFLLEVPEANWA

flvlpsllllllviaaggviv

*ktlmgnpwfqrakmpraldfsgthpvtfqpsrpesvndlflcpqkeltrgvrtprvrapatqqtrwkkdlaede
eeedeedtgdvsfqpyieppsflgqehqapghseaggvdsgrpraplvpsegssawdssdrswastvdsswdrags
sgylaekgpgqgpggdghqeslpppefskdsfleelpednlsswatwgtlpppeplvpqgppvsqtlftfcwessp
eeeeareseiedsdagswgaestqrtdrgrtlghymar*

表 1

コード	構築物の構造
7A1	IFNb-link-IFNabR1
7B1	IFNb-linkIFNabR2
7C1	IFNabR1-link-IFNb
7D1	IFNabR2-link-IFNb

【 図 1 2 】

Figure 12A

ATGACCAACAAGTGTCTCCTCCAAATTGCTCTCCTGTTGTGCTTCTCCACTACAGCTCTTTCC
 ATGAGCTACAAC TTGCTTGGATTCCTACAAAGAAGCAGCAATTTTCAGTGT CAGAAGCTCCTGTGGCAAT
 TGAATGGGAGGCTTGAATACTGCCTCAAGGACAGGATGAAC TTTGACATCCCTGAGGAGATTAAGCAGCT
 GCAGCAGTTCAGAAGGAGGACGCCGCATTGACCATCTATGAGATGCTCCAGAACATCTTTGCTATTTTC
 AGACAAGATTCATCTAGCACTGGCTGGAATGAGACTATTGTTGAGAACCTCCTGGCTAATGTCTATCATC
 AGATAAACCATCTGAAGACAGTCC TGGAAAGAAAACTGGAGAAAGAAGATTTACCAGGGGAAAACTCAT
 GAGCAGTCTGCACCTGAAAAGATATTATGGGAGGATTCTGCATTACCTGAAGGCCAAGGAGTACAGTCAC
 TGTGCCTGGACCATAGTCAGAGTGGAAATCCTAAGGAAC TTTTACTTCATTAACAGACTTACAGGTTACC
 TCCGAAAC
GGTGGCGGAGGTAGTGGTGGCGGAGGTAGCGGTGGCGGAGGTTCTGGTGGCGGAGGTTCCGGTGGCGGAG
GTAGTGGTGGCGGAGGTAGC
 aaaaatctaaaatctcctcaaaaagtagaggtcgacatcatagatgacaactttatcctgaggtggaaca
 ggagc gatgagtctgtcgggaatgtgactttttcattcgattatcaaaaaactgggatggataattggat
 aaaattgtctgggtgtcagaatattactagtaccaa atgcaacttttcttcaactcaagctgaatgtttat
 gaagaaataaattg cgtataagagcagaaaaagaaaacacttcttcatggatgaggttgactcattta
 caccatttcgcaaagctcagattggtcctccagaagtacatttagaagctgaagataaggcaatagtgat
 acacatctctcctggaacaaaagatagtgttatgtgggctttggatggtttaagctttacatatagctta
 ctatctggaaaaactcttcaggtgtagaagaaaggattgaaaatatttattccagacataaaaatttata
 aactctcaccagagactacttattgtctaaaagttaaagcagcactacttacgtcatggaaaattgggtgt
 ctatagtc cagtacattgtataaagaccacagttgaaaatgaactacctccaccagaaaatatagaagtc
 agtgtccaaaatcagaactatgttcttaaatgggattatacatatgcaaacatgacctttcaagttcagt
 ggctccacgccttttttaaaaaggaatcctggaaaccatttgtataaatggaaacaaatacctgactgtga
 aaatgtcaaaaactaccagtggtgtctttcctcaaaaacgttttccaaaaaggaatttaccttctccgcgta
 caagcatctgatggaaataacacatctttttgggtctgaagagataaagtttgatactgaaatacaagctt
 tctacttctccagtccttaacattagatcccttagtgattcattccatatctatatcgggtgctccaaa
 acagctctggaaacacgcctgtgatccaggattatccactgatttatgaaattatTTTTTGGGAAAACT
 tcaaatgctgagagaaaaattatcgagaaaaaaaactgatgttacagttcctaatttgaaaccactgactg
 tatattgtgtgaaagccagagcacacacatggatgaaaagctgaataaaaagcagtgTTTTTtagtgacgc
 tgtatgtgagaaaaacaaaaccaggaaatacctctaaataatga

Figure 12b

MTNKLLQIALLLCFSTTALS
 MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNI FAI F
 RQDSSSTGWN ETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLKAKEYSH
 CAWTIVRVEILRN FYFINRLTG YLRNGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSknlkspqkvevdi
 ddnfilrwnrsdesvgnvtf sfdyqktgmdnwiklsgcqnitstkc n fsslklnvyeeiklriraekent
 sswyevdsftpfrkaqigppevhleaedkaivihispgtkdsvmwaldglsftyslliwknssgveerie
 niysrhkiyklspettyclkvkaalltswkigvyspvhckttvenelpppenievsqngnyvlkwdyt
 yanmtfqvqwlhaf lkrnpgnhlykwkqipdcenvkttqcvfpqnvfqkgyllrvqasdgnnts fwsee
 ikfdteiqafllppvfnirslsdsfhiyigapkqsgntpvigdypliyeeiifwentsnaerkiiekkt dv
 tvpnlkpltvycvkarahmdeklnkssv fsdavcektkpgntsk

【 図 1 3 】

Figure13a

ATGACCAACAAGTGTCTCCTCCAAATTGCTCTCCTGTTGTGCTTCTCCACTACAGCTCTTTCC
 ATGAGCTACAACCTTGCTTGGATTCCCTACAAAGAAGCAGCAATTTTTCAGTGTCAGAAGCTCCTGTGGCAAT
 TGAATGGGAGGCTTGAATACTGCCCTCAAGGACAGGATGAACTTTGACATCCCTGAGGAGATTAAGCAGCT
 GCAGCAGTTCAGAAAGGAGGACGCCGCATTGACCATCTATGAGATGCTCCAGAACATCTTTGCTATTTTC
 AGACAAGATTCATCTAGCACTGGCTGGAATGAGACTATGTTGAGAACCTCCTGGCTAATGTCTATCATC
 AGATAAACCATCTGAAGACAGTCTGGAAGAAAACTGGAGAAAGAAGATTTACCAGGGGAAAACTCAT
 GAGCAGTCTGCACCTGAAAAGATATTATGGGAGGATTCTGCATTACCTGAAGGCCAAGGAGTACAGTCAC
 TGTGCCTGGACCATAGTCAGAGTGGAATCCTAAGGAACTTTTACTTCATTAACAGACTTACAGGTTACC
 TCCGAAAC
GGTGGCGGAGGTAGTGGTGGCGGAGGTAGCGGTGGCGGAGGTTCTGGTGGCGGAGGTTCCGGTGGCGGAG
GTAGT
 Atttcatatgattcgctgattacacagatgaatcttgaccttcaagatatcattgcaaatttccggt
 ccatcttcatggaattaaaaaacctccattgtaccaactcactatacattgctgtatacaatcat
 gagtaaacagaagatttgaagggtgtaagaactgtgcaaatacacaagatcatthttgtgacctaca
 gatgagtgagaagcacacacgagcctatgtcacctctagaaagattcagcgggaacacaacgctgtg
 tcagttgctcacacaatttctggctggccatagacatgtcttttgaaccaccagagtttgagattgtgg
 tttaccaaccacattaatgtgggtgtaaaattccatctattgttgaggagaattacagtttgattta
 tctctcgtcattgaagaacagtcagaggggaattgttaagaagcataaaacccgaaataaaagaaacatga
 gtggaatttcacctatattgacaagtaattcacaacacgaactactgtgtatctggttatttaga
 gcacagtgatgagcaagcagtaataaagtctcccttaaagtgcacctccttcacctggccaggaatca
 gaatcagcagaatctgccaaataatga

Figure 13b

MTNKCLLQIALLLCFSTALS
 MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNI F A I F
 RQDSSSTGWNENIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHYLKAKEYSH
 CAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLNRNGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGiSydspdytdesctfkisl
 rnf rsilswelknhsivphtyllytimskpedlkvvkncanttrs fcdltdewrsth eayvtvlegfsg
 nttl fscshnfwlaidms feppefeivgftnhinvvkfpsiveeelqfdls lvieeqsegivkkhkpei
 kgnmsgnftyiidk lipntnycvsvylehsdeqavik splkctllppg gesesaesak

【 図 1 4 】

Figure 14a

**ATGATGGTCGTCCTCCTGGGCGCGACGACCCTAGTGCTCGTCGCCGTGGGCCCATGGGTGTTGTCCGCAG
CCGCAGGTGGA**

aaaaatctaaaatctcctcaaaaagtagaggctcgacatcatagatgacaactttatcctgagggtggaaca
ggagcgatgagctctgtcgggaatgtgactttttcattcgattatcaaaaaactgggatggataattggat
aaaattgtctgggtgtcagaatattactagtaccaaagcaacttttcttcaactcaagctgaatgttat
gaagaaattaaattgctataagagcagaaaaagaaaacacttcttcatgggatgagggtgactcatta
caccatttcgaaaagctcagattggctcctccagaagtagacatttagaagctgaagataaggcaatagtgat
acacatctctcctggaacaaaagatagtggtatgtgggctttggatggtttaagctttacatatagctta
cttatctggaaaaactcttcagggtgtagaagaaggattgaaaataattattccagacataaaaattata
aactctcaccagagactacttattgtctaaaagttaaagcagcactacttacgtcatggaaaattgggtg
ctatagtcaggtacattgtataaagaccacagttgaaaatgaactacctccaccagaaaatatagaagtc
agtgtccaaaatcagaactatggttcttaaattgggattatacatatgcaacatgacctttcaagttcagt
ggctccacgcctttttaaagggaatcctggaaaccatttgtataaatggaacaaaatacctgactgtga
aatgtcaaaaactaccagtggtcttttctcaaaacgttttccaaaaggaatttaccttctccgcgta
caagcatctgatggaaataacacatcttttggctctgaagagataaagtttgataactgaaatacaagctt
tctacttctcctcagctctttaacattagatcccttagtgattcattccatatctataatcggtgctccaaa
acagtctggaaacacgcctgtgatccaggattatccactgatttatgaaattatTTTTGGGAAAACACT
tcaaattgctgagagaaaaattatcgagaaaaaaactgatttacagttcctaatttgaaaccactgactg
tatattgtgtgaaagccagagcacacacattggtgaaaagctgaataaaagcagtgTTTTtagtgacgc
tgtatgtgagaaaaaaaaccaggaaatacctctaaa

GGTGGCGGAGGTAGTGGTGGCGGAGGTAGCGGTGGCGGAGGTTCTGGTGGCGGAGGTTCCGGTGGCGGAG
GTAGTGGTGGCGGAGGTAGC

ATGAGCTACAACCTTGCTTGGATTCTTACAAAGAAGCAGCAATTTTCAGTGTCAGAAGCTCCTGTGGCAAT
TGAATGGGAGGCTTGAATACTGCCTCAAGGACAGGATGAACTTTGACATCCCTGAGGAGATTAAGCAGCT
GCAGCAGTTCAGAAAGGAGGACGCCGCATTGACCATCTATGAGATGCTCCAGAACATCTTTGCTATTTTC
AGACAAGATTCTACTGACTGGCTGGAATGAGACTATTGTTGAGAACCTCCTGGCTAATGTCTATCATC
AGATAAACCATCTGAAGACAGTCTTGAAGAAAAACTGGAGAAAAGAAGATTTACCAGGGGAAAACCTCAT
GAGCAGTCTGCACCTGAAAAGATATTATGGGAGGATTCTGCATTACCTGAAGGCCAAGGAGTACAGTCAC
TGTGCCTGGACCATAGTCAGAGTGGAAATCCTAAGGAACTTTACTTCATTAACAGACTTACAGGTTACC
TCCGAAACTaatga

Figure 14b

MMVLLGATTLVAVGFWVLSAAAGG

knkspqkvevdiiddnfilrwnrsdesvgnvtfsfdyqktgmdnwiklsgcqnitstkcfnsslklnvy
eeiklriraekentsswyevdsftprkaqigppevhleaedkaivihispgtkdsvmwaldglsftysl
liwknssgveerieniyshrkiyklspettyclkvkaalltswkigvyspvhckttvenelpppeniev
svqngnyvlkwdytyanmtfqvqwlhflkrnpgnhlykwkqipdcenvkttqcvfpqnvfqkgyllrv
qasdgnntsfwseeikfdteiqafllppvfniirslsdsfhiyigapkqsgntpviqdypliyeiifwent
snaerkiiekktvdvtpnlkpltvycvkarahmdeklnkssvfsdavcektkpgntskGGGGSGGGGSG
GGGGSGGGSGGGGSSMSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQ
KEDAALTIYEMLQNI FAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLH
LKRYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGyLRN

【 図 15 】

Figure 15a

**ATGCTTTTGAGCCAGAAATGCCTTCATCTTCAGATCACTTAATTTGGTTCTCATGGTGTATATCAGCCTCG
TGTTGGT**

atttcatatgattcgcctgattacacagatgaatcttgcactttcaagatatcattgcgaaatttccggt
ccatcttatcatgggaattaaaaaaccactccattgtaccaactcactatacattgctgtatacaatcat
gagtaaaccagaagatttgaaggtgggtaagaactgtgcaaataccacaagatcattttgtgacctcaca
gatgagtgaggagaagcacacagaggcctatgtcaccgtcctagaaggattcagcgggaacacaacgttgt
tcagttgctcacacaatttctggctggccatagacatgtcttttgaaccaccagagtttgagattgttgg
ttttaccaaccacattaatgtgggtgggtaaatttccatctattgttgaggaagaattacagtttgattta
tctctcgtcattgaagaacagtcagaggggaattgttaagaagcataaaccgaaataaaaggaaacatga
gtggaaatttcacctatcattgacaagttaattccaacacgaactactgtgtatctgtttatttaga
gcacagtgatgagcaagcagtaataaagtctcccttaaaatgcaccctccttccacctggccaggaatca
gaatcagcagaatctgccaaa

GGTGGCGGAGGTAGTGCTGGCGGAGGTAGCGGTGGCGGAGGTTCTGGTGGCGGAGGTTCCGGTGGCGGAG
GTAGT

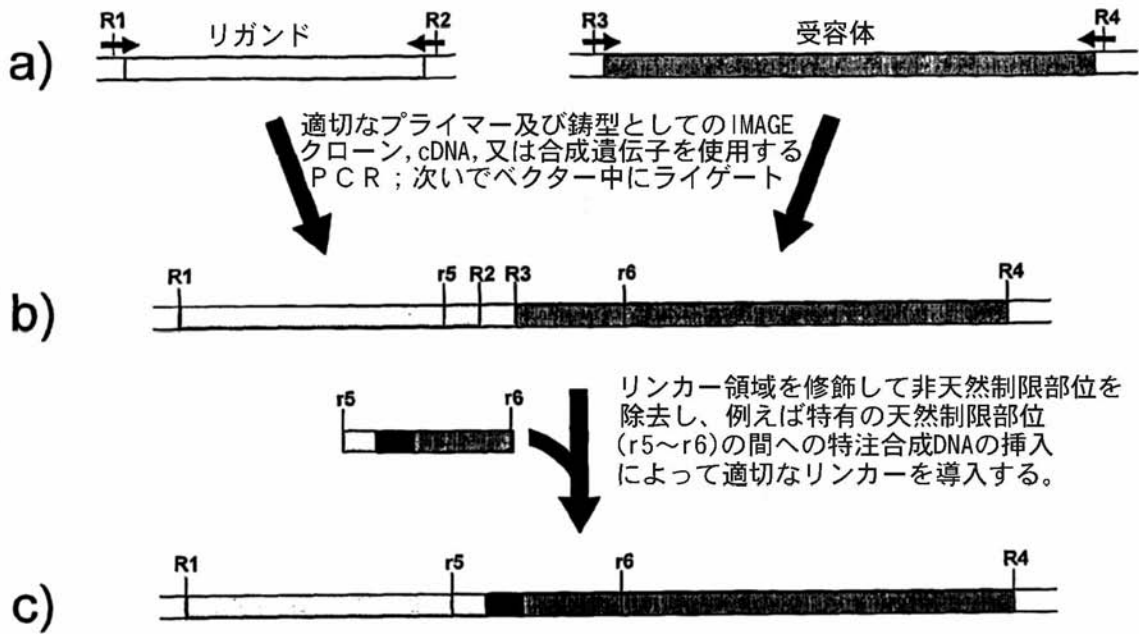
ATGAGCTACAACCTTGCTTGGATTCTTACAAAGAAGCAGCAATTTTCAGTGTGAGAAGCTCCTGTGGCAAT
TGAATGGGAGGCTTGAATACTGCCTCAAGGACAGGATGAACTTTGACATCCCTGAGGAGATTAAGCAGCT
GCAGCAGTTCAGAAGGAGGACGCCGATTGACCATCTATGAGATGCTCCAGAACATCTTTGCTATTTTC
AGACAAGATTCTAGCACTGGCTGGAATGAGACTATTGTTGAGAACCCTCCTGGCTAATGTCTATCATC
AGATAAACCATCTGAAGACAGTCTGGAAGAAAACTGGAGAAAGAAGATTTACCAGGGGAAAACCTCAT
GAGCAGTCTGCACCTGAAAAGATATTATGGGAGGATTCTGCATTACCTGAAGGCCAAGGAGTACAGTCAC
TGTGCCTGGACCATAGTCAGAGTGGAAATCCTAAGGAACTTTTACTTCATTAACAGACTTACAGGTTACC
TCCGAAACtaatga

Figure 15b

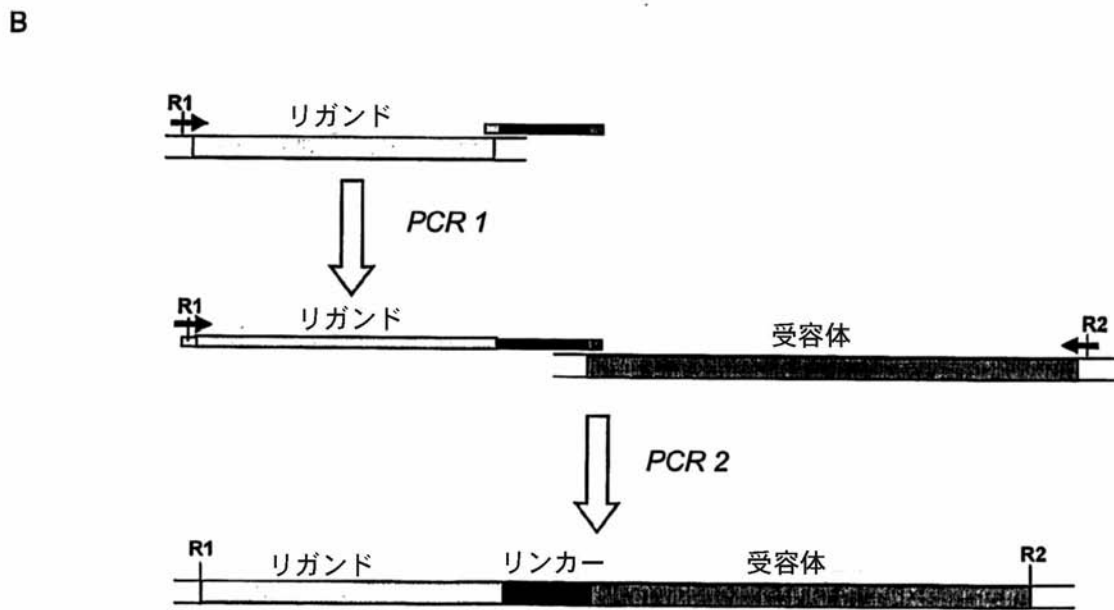
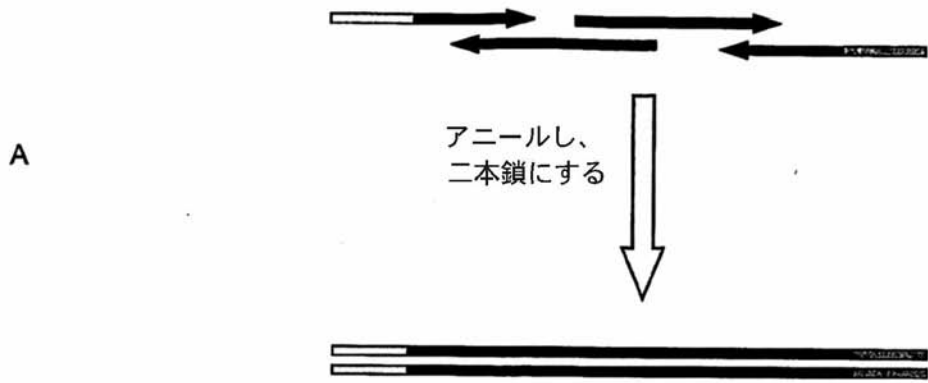
MLLSQNAFIFRSLNLVLMVYISLVFG

isydspdytdesctfkislrnfrsilswelknhsivpthytllytimskpedlkvvkncanttrsfcdlt
dewrstheayvtvlegfsgnttlfscshnfwlaidmsfeppefeivgftnhinvvkvpsiveeelqfdl
slvieeqsegivkkhkpeikgnmsgnftyiidkclipntnycvsvylehsdeqaviksplkctllppgqes
esaesakGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSSMSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNF
DIPEEIKQLQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEK
EDFTRGKLMSSHLKRYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGILRN

【 図 1 6 】



【 図 1 7 】



【 図 1 8 】

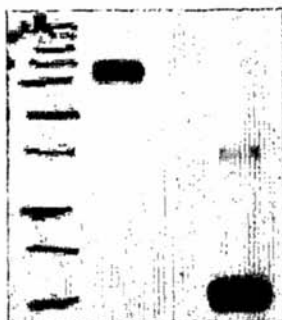
Figure 18a

ATGGCCTTGACCTTTGCTTTACTGGTGGCCCTCCTGGTGCTCAGCTGCAAGTCAAGCTGCTCTGTGGGC
 TGTGATCTGCCTCAAACCCACAGCCTGGGTAGCAGGAGGACCTTGATGCTCCTGGCACAGATGAGGAGAATCTCTCT
 TTTCTCCTGCTTGAAGGACAGACATGACTTTGGATTTCCCCAGGAGGAGTTTGGCAACCAGTTCCAAAAGGCTGAAA
 CCATCCCTGTCTCCATGAGATGATCCAGCAGATCTTCAATCTCTTCAGCACAAAGGACTCATCTGCTGCTTGGGAT
 GAGACCTCCTAGACAAATTCTACACTGAACTCTACCAGCAGCTGAATGACCTGGAAGCCTGTGTGATACAGGGGGT
 GGGGGTGACAGAGACTCCCCTGATGAAGGAGGACTCCATTCTGGCTGTGAGGAAATACTTCCAAAGAATCACTCTCT
 ATCTGAAAGAGAAGAAATACAGCCCTTGTGCCTGGGAGGTTGTGAGAGCAGAAATCATGAGATCTTTTTCTTTGTCA
 ACAACTTGCAAGAAAGTTTAAGAAGTAAGGAAGGTGGCGGAGGTAGTGGTGGCGGAGGTAGCGGTGGCGGAGGTTT
TGGTGGCGGAGGTTCCGGTGGCGGAGGTAGTatctcatatgattcgctgattacacagatgaatcttgactttca
 agatattcattgcgaaatttcggtccatcttatcatgggaattaaaaaacctccattgtaccaactcactataca
 ttgctgtatacaatcatgagtaaaccagaagattgaagggtggttaagaactgtgcaaataccacaagatcattttg
 tgacctcacagatgagtggaagcacacacgaggcctatgtcacctcctagaaggattcagcgggaacacaacgt
 tgttcagttgctcacacaatttctggctggccatagacatgtcttttgaaccaccagagtttgagattggtggtttt
 accaaccacattaatgtggtggtgaaatttccatctattggtgaggaagaattacagtttgatttatctctcgcat
 tgaagaacagtcagaggggaattgtaagaagcataaacccgaaataaaaggaaacatgagtggaatttcacctata
 tcattgacaagttaattccaaacacgaactactgtgtatctgtttatttagagcacagtgatgagcaagcagtaata
 aagtctcccttaaaatgcaccctcctccacctggccaggaatcagaatcagcagaatctgccaataatga

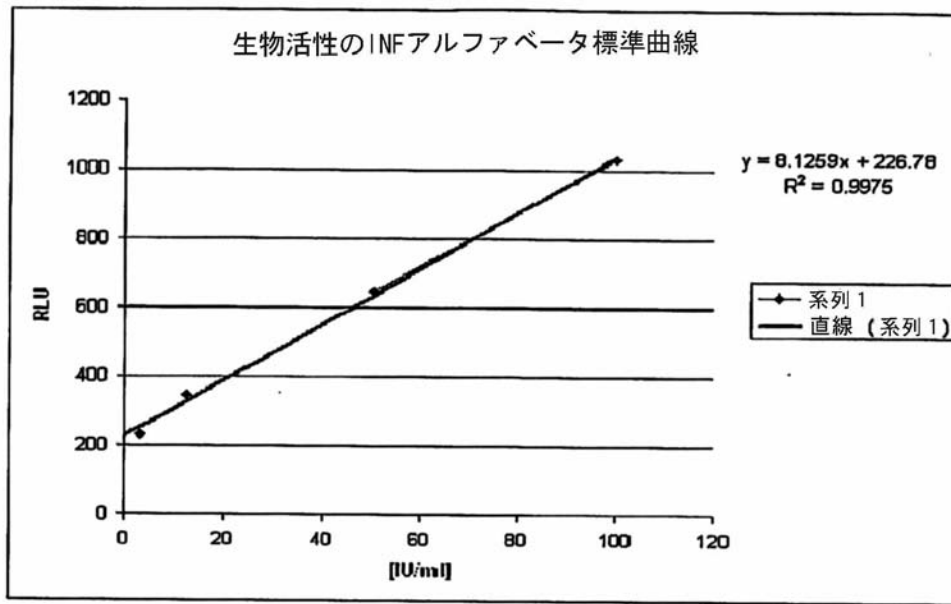
Figure 18b

MALTFALLVALLVLSCKSSCSVGCGLDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIP
 VLHEMIQQIFNLFSTKDSAAWDETLDDKIFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK
 EKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG
 Isydsdpdydesctfkis
 lrnfrsilswelknhsivphtyllytimskpedlkvvkncanttrsfcdltdewrstheayvtvlegfsgnttlfs
 cshnfwlaidmsfeppefeivgftnhinvvkfpsiiveelqfdlslvieeqsegivkhhkpeikgnmsgnftyiid
 klipntnycvsvylehsdeqavikspkctllppgqesesaesak

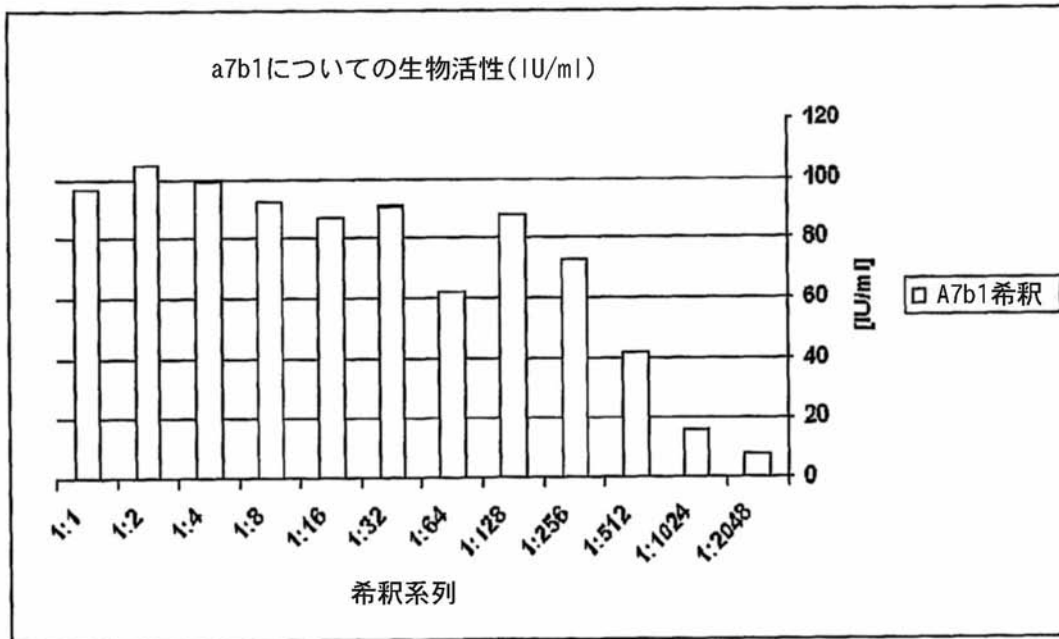
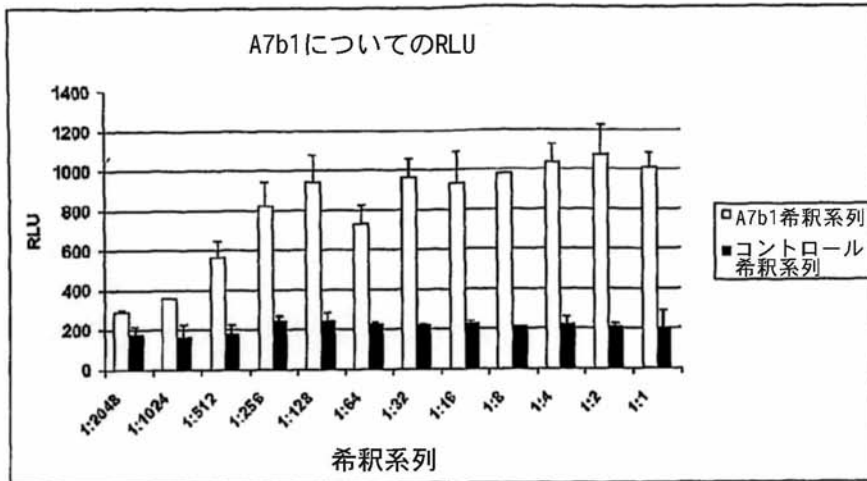
【 図 1 9 】



【 図 2 0 】



【 図 2 1 】



【 配 列 表 】

[2010535488000001.app](#)

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2008/002638

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV: C07K14/56	C07K14/565	C07K14/715 C12N15/62
ADD: A61K38/21	C07K16/00	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) 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, EMBASE, BIOSIS, WPI Data, Sequence Search		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99/32141 A (APPLIED RESEARCH SYSTEMS [NL]; MCINNIS PATRICIA G [US]) 1 July 1999 (1999-07-01) the whole document	1-43
X	WO 01/96565 A (ASTERION LTD [GB]; ROSS RICHARD [GB]; ARTYMIUK PETER [GB]; SAYERS JON) 20 December 2001 (2001-12-20) the whole document	1-14, 16-19, 21-43
-/--		
<input checked="" 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	Date of mailing of the international search report	
12 November 2008	01/12/2008	
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 Wiame, Ilse	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2008/002638

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RADHAKRISHNAN R ET AL: "Zinc Mediated Dimer of Human Interferon- α 2b Revealed by X-Ray Crystallography" STRUCTURE, CURRENT BIOLOGY LTD., PHILADELPHIA, PA, US, vol. 4, no. 12, 1 December 1996 (1996-12-01), pages 1453-1463, XP003013146 ISSN: 0969-2126 the whole document	
A	BEDANE C ET AL: "Toxicity and feasibility of adjuvant high dose interferon alpha-2b in patients with melanoma" JEADV. JOURNAL OF THE EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEREOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 11, 1 September 1998 (1998-09-01), pages S145-S146, XP004555561 ISSN: 0926-9959 abstract	30,36
X	BLANK V C ET AL: "Identification of a linear epitope of interferon-[α]2b recognized by neutralizing monoclonal antibodies" EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY 19991001 GB, vol. 265, no. 1, 1 October 1999 (1999-10-01), pages 11-19, XP002503091 ISSN: 0014-2956 abstract	37,41
T	WILKINSON IAN R ET AL: "A ligand-receptor fusion of growth hormone forms a dimer and is a potent long-acting agonist" NATURE MEDICINE, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 13, no. 9, 1 September 2007 (2007-09-01), pages 1108-1113, XP009089546 ISSN: 1078-8956 the whole document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2008/002638

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9932141	A	01-07-1999	AT 218362 T 15-06-2002
			AU 755078 B2 05-12-2002
			AU 1926999 A 12-07-1999
			BG 64920 B1 29-09-2006
			BR 9813753 A 10-10-2000
			CA 2311648 A1 01-07-1999
			CN 1282255 A 31-01-2001
			DE 69805844 D1 11-07-2002
			DE 69805844 T2 24-10-2002
			DK 1037658 T3 30-09-2002
			EA 3635 B1 28-08-2003
			EE 200000355 A 15-10-2001
			EP 1037658 A1 27-09-2000
			ES 2174530 T3 01-11-2002
			HK 1032914 A1 09-06-2006
			HU 0100456 A2 28-06-2001
			JP 2001526242 T 18-12-2001
			NO 20002691 A 18-08-2000
			NZ 504771 A 27-09-2002
			PL 341423 A1 09-04-2001
			PT 1037658 T 31-10-2002
			SK 9222000 A3 18-01-2001
			TR 200001961 T2 21-11-2000
ZA 9811634 A 22-06-1999			
WO 0196565	A	20-12-2001	AU 7423401 A 24-12-2001
			CA 2447632 A1 20-12-2001
			EP 1290170 A2 12-03-2003
			JP 2004503243 T 05-02-2004
			US 2004071655 A1 15-04-2004

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/00	1 0 1
A 6 1 K	38/21 (2006.01)	C 1 2 N 5/00	1 0 2
A 6 1 K	38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/66	F
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
G 0 1 N	33/577 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	M
		G 0 1 N 33/53	D
		G 0 1 N 33/577	B

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

(72)発明者 ロス, リチャード

イギリス国, シェフィールド エス 1 0 2 ティーエヌ, ファース コート, ウェスタンバンク, アステリオン・リミテッド

(72)発明者 セイヤーズ, ジョン

イギリス国, シェフィールド エス 1 0 2 ティーエヌ, ファース コート, ウェスタンバンク, アステリオン・リミテッド

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA23 CA04 CA20 DA02 DA06 EA04 GA11
 4B065 AA90X AA90Y AB01 AB04 AC14 BA02 BA08 CA24 CA44
 4C084 AA02 AA07 BA01 BA02 BA08 BA20 BA22 BA23 BA41 CA53
 DA21 NA14 ZA022 ZB262 ZB332
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 CA40 DA16 EA20 FA74 GA23 GA26

专利名称(译)	干扰素融合蛋白		
公开(公告)号	JP2010535488A	公开(公告)日	2010-11-25
申请号	JP2010519514	申请日	2008-08-05
申请(专利权)人(译)	Asuterion有限公司		
[标]发明人	アーティミュークピーター ロスリチャード セイヤーズジョン		
发明人	アーティミューク,ピーター ロス,リチャード セイヤーズ,ジョン		
IPC分类号	C12N15/09 C07K14/56 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K38/21 A61K38/00 A61P35/00 A61P31/12 A61P25/00 G01N33/53 G01N33/577		
CPC分类号	A61K2039/55522 A61P25/00 A61P31/12 A61P35/00 C07K14/56 C07K14/565 C07K14/7156		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K14/56 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 C12N5/00.102 A61K37/66.F A61K37/02 A61P35/00 A61P31/12 A61P25/00 G01N33/53.M G01N33/53.D G01N33/577.B		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA23 4B024/CA04 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA04 4B024/GA11 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AB04 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA08 4B065/CA24 4B065/CA44 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA08 4C084/BA20 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/BA41 4C084/CA53 4C084/DA21 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZB262 4C084/ZB332 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA16 4H045/EA20 4H045/FA74 4H045/GA23 4H045/GA26		
代理人(译)	内田直人		
优先权	2007015383 2007-08-08 GB 60/956343 2007-08-16 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及干扰素融合多肽和二聚体。编码所述多肽的核酸分子和使用所述多肽/二聚体的治疗方法。

Figure 16

