

(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2020-505060
(P2020-505060A)

(43) 公表日 令和2年2月20日(2020.2.20)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード(参考)
C12N 15/12 (2006.01)	C12N 15/12	4C076
C07K 7/06 (2006.01)	C07K 7/06 ZNA	4C084
C07K 7/08 (2006.01)	C07K 7/08	4H045
C07K 14/00 (2006.01)	C07K 14/00	
A61K 38/10 (2006.01)	A61K 38/10	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全16頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-559138 (P2019-559138)
 (86) (22) 出願日 平成30年1月11日(2018.1.11)
 (85) 翻訳文提出日 令和1年8月15日(2019.8.15)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2018/072194
 (87) 国際公開番号 W02018/130170
 (87) 国際公開日 平成30年7月19日(2018.7.19)
 (31) 優先権主張番号 201710019149.8
 (32) 優先日 平成29年1月12日(2017.1.12)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 中国(CN)

(71) 出願人 519253959
 朱乃碩
 ZHU, Naishuo
 中華人民共和国上海市崑崙路2005号生
 物樓A307室
 (74) 代理人 110001508
 特許業務法人 津国
 (72) 発明者 朱乃碩
 中華人民共和国上海市崑崙路2005号生
 物樓A307室
 (72) 発明者 胡昌武
 中華人民共和国上海市崑崙路2005号生
 物樓A305室
 Fターム(参考) 4C076 AA11 CC05 CC29 FF11

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】腫瘍壊死因子αの高親和性ペプチド及びその適用

(57) 【要約】

ペプチドのアミノ酸配列は、配列番号1及び配列番号3に示されるとおりであるか又は配列番号1及び配列番号3の単一リピート又は複数リピートを有するタンデム又は分岐ペプチド分子配列であり、配列番号4に示されるアミノ酸配列を有する。このペプチドは、高親和性で腫瘍壊死因子と結合することができ、腫瘍壊死因子の機能をアンタゴナイズすることができる。動物に直接注入したとき、このペプチドは、動物体の炎症の発生度を有意に低下させ、炎症性障害に対する動物体の抵抗性を改善することができる。このペプチドは、腫瘍壊死因子アンタゴニストを開発するために、及び物理的、化学的および生物学的因子によって引き起こされる、炎症性傷害、自己免疫損傷およびストレス傷害のような、急性および慢性炎症によって引き起こされる身体障害を処置するために用いることができ、極めて広範な適用の見込みがあるさらに、このペプチドは、低分子量及び低免疫原性を特徴とし、合成が容易であり、従来のモノクローナル抗体薬剤アンタゴニストの副作用及び欠点を回避することができる。

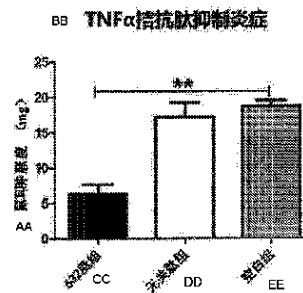


図3

AA MOUSE EAR SWELLING DEGREE
 BB TNFA ANTAGONISTIC PEPTIDE INHIBITS INFLAMMATIONS
 CC 632 PEPTIDE GROUP
 DD IRRELEVANT PEPTIDE GROUP
 EE BLANK GROUP

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

T N F - に高親和性を有するペプチドであって、該ペプチドは、配列番号 1 又は配列番号 3 のアミノ酸配列を有するか、又は該ペプチドは、配列番号 1 及び配列番号 3 の単一リピート又は複数リピートを有するタンデム又は分岐ペプチドであり、配列番号 4 のアミノ酸配列を有する、該ペプチド。

【請求項 2】

T N F - に高親和性を有するペプチドをコードする遺伝子であって、該ペプチドは、配列番号 1 のアミノ酸配列を有し、該遺伝子は、配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を有する、該遺伝子。

【請求項 3】

コア配列として請求項 1 に記載の T N F - に高親和性を有するペプチドを含み、抗原又は薬物と連結するか又はその C 末端、N 末端又は側鎖基において P E G によって修飾されるか又は他の分子基によって共有結合によって修飾された構造的に特徴のある分子である、生物学的材料又は化学基によって修飾されたペプチド。

【請求項 4】

請求項 1 に記載の T N F - に高親和性を有するペプチドを含む、修飾されたペプチドであって、該修飾されたペプチドが、T N F - 検出のための F I T C フルオロフォア、アイソトープ、化学発光基又は酵素試薬でラベルされている、該修飾されたペプチド。

【請求項 5】

T N F - アンタゴニストの調製における、請求項 1 に記載の T N F - に高親和性を有するペプチドの使用。

【請求項 6】

T N F - 発現の検出のための薬剤又は臨床試験薬剤の調製における、請求項 1 に記載の T N F - に高親和性を有するペプチドの使用。

【請求項 7】

T N F - アンタゴニストの調製又はトレーサー検出における、請求項 2 に記載の T N F - に高親和性を有するペプチドをコードする遺伝子の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生物学の分野に属する。本発明は、特に、腫瘍壊死因子アルファ (T N F -) に高親和性を有するペプチド、T N F - アンタゴニストペプチド、及びその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

1975年にエンドトキシン注射によって最初に誘導された腫瘍壊死因子は、マウスに移植した腫瘍のアポトーシスを誘導する血清活性因子として同定され、それゆえに腫瘍壊死因子と命名される。研究が進むにつれて、T N F - は、極めて重要な炎症性因子であることが見出された。免疫介在性疾患において、組織における T N F - の発現は、増加し、一連の病原性反応及び関連する炎症性因子の発現を誘導し、究極的には、組織損傷 (たとえば、骨破壊、軟骨分解、線維芽細胞増殖、ケラチノサイト増殖等) をもたらす。よって、T N F - は、多様な炎症性疾患の処置のために重要な標的である。

【0003】

現存する T N F - アンタゴニストは、主にモノクローナル抗体及びその誘導体に焦点を合わせている。しかしながら、モノクローナル抗体ベースの薬物は、高度に免疫原性であり、薬物の治療有効性に疑いの余地なく影響する、インビボで抗薬物抗体 (すなわち、抗 - 抗体) の産生を誘導することができる。一方、モノクローナル抗体ベース薬物は、抗 - 抗体の産生によって生じる有効性の減少に加えて身体に対する損傷や副作用を生じ得る、抗体依存性細胞介在性細胞傷害 (A D C C) 及び補体依存性抗体介在性細胞傷害を誘導

10

20

30

40

50

し得る。異なる分子構造が、分子の免疫原性を決定する。抗体と比べて、ペプチドは、その分子サイズが小さいために、免疫原性が小さく、より組織透過性である。したがって、ペプチドは、より有利なTNF-アンタゴニストである。ペプチドが配列特異的ペプチドを合成し、ELISAを用いてTNF-に対するアンタゴニストペプチドの親和性を検出し、そして炎症を有する動物内にアンタゴニストペプチドを注入することによって炎症に対する阻害効果を有するか否かを観察することは好都合である。

【発明の概要】

【0004】

本発明の課題は、腫瘍壊死因子に高い結合親和性を有するペプチド及び腫瘍壊死因子の機能をアンタゴナイズすることにおけるペプチドの使用を提供することである。本開示は、配列番号1に記載のアミノ酸配列を有する、TNF-に高親和性を有するペプチドを提供する。該ペプチドは、ペプチド632又はTNF-アンタゴニストペプチドと呼ばれる。該ペプチドは、以下の機能的特徴を有する：(1)TNF-に高い親和性、及び138nMの解離定数Kd(Kd値は、レセプターの半分がリガンドによって結合されたときのリガンドの濃度を示し、Kd値が小さければ小さいほど、リガンドに対するレセプター親和性が高くなる)；(2)炎症の動物モデル内に注入された後の炎症の発症を有効に阻害し、炎症障害を予防することができる。

10

【0005】

本開示は、また、配列番号2に記載のヌクレオチド配列を有する、(対応するアミノ酸の縮重コドンからなる)TNF-に高親和性を有するペプチドをコードする遺伝子も提供する。

20

【0006】

本開示は、また、配列番号3に記載のアミノ酸配列を有し、ペプチド636と呼ばれる、生物工学的修飾によってTNF-に高親和性を有するペプチドと同一の機能を有するペプチドを得る。

【0007】

本開示は、また、配列番号1及び配列番号3に記載のTNF-に高親和性のペプチドのアミノ酸配列を含む、ペプチドであって、該ペプチドは、単一リピート又は複数リピートのタンデム又は分岐ペプチド分子配列であり、これらのコア配列特徴を含む分子(すなわち、70%を超える相同性を有する)であり、該分子は、配列番号4に記載のアミノ酸配列を有する、該ペプチドを提供する。

30

【0008】

本開示は、また、コア配列としてTNF-に高親和性を有する配列番号1及び配列番号3のペプチドを含む生物学的材料又は化学基によって修飾され、抗原又は薬物と連結した構造的特徴分子であるか、又はPEGで修飾されるか又はそのC末端(又はN末端、又は側鎖)基上の他の分子基によって共有結合で修飾されたペプチドも提供する。

【0009】

本開示は、また、TNF-に高親和性を有する上記ペプチドを含む、修飾ペプチドであって、該修飾ペプチドが、TNF-検出のためのFITCフルオロフォア、アイソトープ、化学発光基又は酵素試薬でラベルされている、該修飾ペプチドも提供する。

40

【0010】

本開示は、また、TNF-アンタゴニストの調製におけるTNF-に高親和性を有する上記ペプチドの使用も提供する。

【0011】

本開示は、また、TNF-発現の検出のための薬剤又は臨床試験試薬の調製におけるTNF-に高親和性を有する上記ペプチドの使用も提供する。

【0012】

本開示は、TNF-アンタゴニストの調製におけるか又はトレーサー検出における配列番号2に記載のヌクレオチド配列を有する遺伝子の使用も提供する。

【0013】

50

配列番号1のアミノ酸配列を有する本発明のペプチドは、TNF-アンタゴニスト薬物として用いることができる。

【0014】

配列番号1のアミノ酸配列を有する本発明のペプチドは、TNF-アンタゴニスト薬物として用いることができる。このペプチドは、TNF-に高親和性を有し、TNF-の生物学的活性を阻害し、そしてTNF-誘導炎症傷害を予防する。配列番号3のアミノ酸配列を有する本発明のペプチドは、また、有望なTNF-アンタゴニスト薬物として用いることができ、また、TNF-に高親和性を有し、TNF-の生物学的活性を阻害する。

【0015】

TNF-に対するペプチドの親和性アッセイ

【0016】

96ウェルELISAプレートに2 μ g/ml TNF-溶液を用いて、4で、一晚コートした。FITCでラベルした異なる濃度のペプチド632を各ウェルに加え、2時間インキュベーションした。インキュベーション後に、HRPコンジュゲート抗FITCモノクローナル抗体を加え、1時間インキュベーションし、次に、ABTSコントロール溶液を加えた。1時間の発色の後、410nmでのODをマイクロプレートリーダーを用いて測定し、GraphPad Prism 5をプロットング及びアナリシのために用いた。この結果は、ペプチド632が138nMの解離定数を有し、TNF-タンパク質に強い親和性を有することを立証した。

【0017】

炎症の動物モデルにおける炎症インデックスに対するペプチドの効果

【0018】

実験動物をブランク群、非関連ペプチド対照群及びアンタゴニストペプチド(ペプチド632)群の3群に分けた。実施例としてマウスを用い、6週齢、雄の昆明マウスに連続3日間、右腹部に皮下注射した。最後の注射の後、各群のマウスの右の耳介の両側にp-キシレンをスミアした。処理の1時間後に、マウスを屠殺し、マウスの左右の耳を切断した。耳膨張パンチャーを用いて、耳を切り詰め、耳断片を得た。マウス耳の膨張度を右耳断片の重量から左耳断片の重量を減算することによって得た。異なる群間の差を比較すると、アンタゴニストペプチドがマウス耳の膨張を有意に阻害することができることが見出され、このペプチドが炎症誘導障害を予防することができることを示した。

【0019】

本願で提供されるペプチドは、TNF-タンパク質に強い親和性を有し、TNF-誘導炎症性障害を予防することができることが分かる。よって、このペプチドは、TNF-の生物学的活性を阻害するために用いることができ、TNF-と強く関連する炎症性疾患を治療することができる。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】図1は、TNF-タンパク質へのペプチド632の結合親和性を示す。

【図2】図2は、TNF-タンパク質へのペプチド636の結合親和性を示す。

【図3】図3は、炎症の昆明マウスモデルにおける炎症をペプチド632が阻害する程度を示す。

【0021】

実施態様の詳細な説明

1. ペプチド配列の取得と修飾

TNF-タンパク質に親和性を有する所望のペプチドを化学的方法によって人工的に合成した。

【0022】

LYS(Dde)ワングレジンにDCM中に10分間浸漬し、DCMを排出した。3倍体積の25%ピペリジン(ピペリジン/DMF)をレジンに加え、20分間窒素を通気し

10

20

30

40

50

た後にピペリジンを排出した。DMFを加え、1分間ブローした。6サイクル後、DMFを排出し、レジンはニンヒドリンによって青であることが検出された。この生成物は、H-Lys(Dde)ワングレジンである。DMF中の3つの等価物Fmoc-Val-OH、HATU、DIEAをレジンに加えた。窒素で20分間ブローした後、DMF反応溶液を排出した。DMFを加え、排出の前に窒素で1分間ブローした。3サイクル後、レジンはニンヒドリンによって青であることが検出された。この生成物は、Fmoc-Val-Lys(Dde)ワングレジンである。この粗生成物を同様の方法によって得た。アセトニトリル及びMilli-Q水を用いるハンバン(Hanbang)YCM C18カラムで精製を行った。このように、高親和性及び高活性を有するペプチドを得た。

【0023】

3. TNF- α へのペプチド632の親和性アッセイ及びその動物モデルの炎症性インデックスに対する効果

(1) TNF- α タンパク質へのペプチド632の親和性の実験結果

96ウェルELISAプレートを48で一晚、2 μ g/ml TNF- α タンパク質でコートした。BSAでブロッキングした後、異なる濃度のFITCでラベルしたペプチド632を各ウェルに加え、2時間インキュベーションした。

インキュベーション後、HRP結合抗FITCモノクローナル抗体を加え、1時間インキュベーションし、ABTS着色溶液を加えた。1時間発色展開の後、410nmでのOD値をマイクロプレートリーダーを用いて測定し、GraphPad Prism5をプロット及び解析のために用いた。この結果は、ペプチド632が138nMの解離定数(Kd)を有し、TNF- α タンパク質に高親和性を有することを立証した。

【0024】

(2) 炎症の動物モデルにおける炎症インデックスに対するペプチド632の効果

実験動物を3群：ブランク群、非関連ペプチド対照群、及びアンタゴニストペプチド(ペプチド632)群に分けた。6週齢の雄の昆明マウスに3日間連続で、ペプチドを右腹部に皮下注射した。最後の注射から30分後、各群のマウスの右の耳介の両側をp-キシレン(0.03ml/マウス)でスミアし炎症を誘導し、左の耳介は正常コントロールとした。炎症1時間後、動物を屠殺し、マウスの耳を完全に切断し、同一マウスの左右の耳を識別するためにマークした。マウスの耳の両側を同一の紙片でコートした。直径8mmの耳膨張パンチャーを用いて、左右の耳の同一部分を切断し、耳断片を得た。この耳断片を紙と一緒に重量を測定し、その結果を記録した。マウス耳の膨張度 = 炎症の誘導されている耳断片の重量 - 炎症のない耳断片の重量

【産業上の利用可能性】

【0025】

4. 産業適用性

重要な炎症性因子として、TNF- α は、炎症の発生及び発達に重要な役割を奏している。炎症によって誘導された免疫疾患において、TNF- α の増加したレベルは、組織損傷を生じる、一連の病原性反応及び関連サイトカインの発現を誘導する。TNF- α の拮抗作用は、関節リウマチ及び乾癬のような種々の炎症性疾患における有効な処置であることが証明されている。しかしながら、現在のアンタゴニストは、モノクローナル抗体及びその誘導体に焦点を併せている。モノクローナル抗体及びその誘導体は、強い副作用、特に薬剤における用途を制限する高い免疫原性を有する。したがって、ここで提供されるTNF- α に高い親和性を有するペプチドは、TNF- α に強い親和性を有するのみならず、TNF- α の生物学的活性も阻害する。よって、本発明のペプチドは、関連する炎症性損傷を予防することができ、有望なTNF- α アンタゴニスト薬として用いることができる。さらに、修飾ペプチド632は、TNF- α タンパク質の発現を検出するための検出試薬として用いることができる。

【0026】

配列リスト

配列番号1(N末端 C末端): HYIDFRW

10

20

30

40

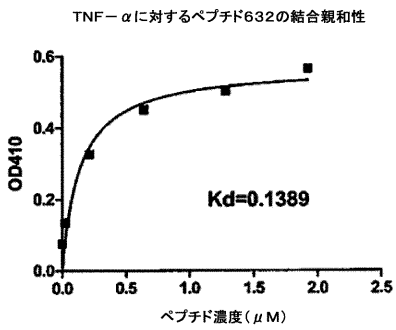
50

配列番号 2 : CATTATATTGATTTTAGGTGG

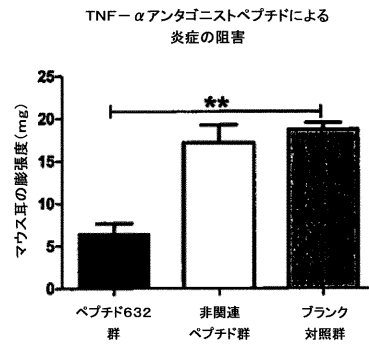
配列番号 3 (N末端 C末端) : KASGSPSGFWPS

配列番号 4 (N末端 C末端) : HYIDFRWDMKASGSPSGFWPS

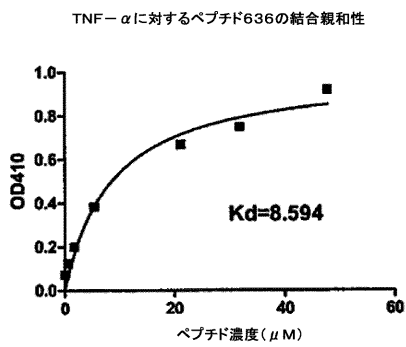
【 図 1 】



【 図 3 】



【 図 2 】



【配列表】

2020505060000001.app

【誤訳訂正書】

【提出日】令和1年10月17日(2019.10.17)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0024

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0024】

10

(2) 炎症の動物モデルにおける炎症インデックスに対するペプチド632の効果

実験動物を3群：ブランク群、非関連ペプチド対照群、及びアンタゴニストペプチド（ペプチド632）群に分けた。6週齢の雄の昆明マウスに3日間連続で、ペプチドを右腹部に皮下注射した。最後の注射から30分後、各群のマウスの右の耳介の両側をp-キシレン（0.03ml/マウス）でスミアし炎症を誘導し、左の耳介は正常コントロールとした。炎症1時間後、動物を屠殺し、マウスの耳を完全に切断し、同一マウスの左右の耳を識別するためにマークした。マウスの耳の両側を同一の紙片でコートした。直径8mmの耳膨張パンチャーを用いて、左右の耳の同一部分を切断し、耳断片を得た。この耳断片を紙と一緒に重量を測定し、その結果を記録した。マウス耳の膨張度 = 炎症の誘導されている耳断片の重量 - 炎症のない耳断片の重量

20

図1及び図2に示されるとおり、ペプチド632は、TNF-タンパク質に高い結合親和性を有する。動物実験は、ペプチド632を注射した実験群の耳膨張度が対照群に比べて有意に低かったことを示した。上記の結果は、ペプチド632がTNF-の活性をアンタゴナイズすることによって炎症ダメージを防止する効果を達成することができることを示している。

【 国际调查报告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2018/072194
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K 7/06 (2006.01) i; C07K 14/00 (2006.01) i; C07K 7/08 (2006.01) i; C12N 15/11 (2006.01) i; A61K 38/08 (2006.01) i; G01N 33/68 (2006.01) i 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; C12N; A61K; 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 practicable, search terms used) CNABS, DWPI, VEN, CNKI, PubMed, ISI Web of Knowledge, Genbank: 朱乃硕, 胡昌武, 复旦大学, 肿瘤坏死因子 α , 亲和肽, 拮抗, tumor necrosis factor α , tnf α , tnf-alpha, affinity, inhibit, antagonism, SEQ ID NO: 1-4		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 106831944 A (FUDAN UNIVERSITY), 13 June 2017 (13.06.2017), claims 1-7	1-7
PX	胡昌武等, “7 肽和 12 肽两种 M13 噬菌体展示库筛选肿瘤坏死因子 α 拮抗肽的比较”, 中国生物工程杂志, 37(5), 31 December 2017 (31.12.2017), pages 1-8, (HU, Changwu et al., “Comparison of the Inhibitory Efficiency of M13 Based 7-mer and 12-mer Phage Display Libraries Derived Peptides as Tumor Necrosis Factor Alpha Antagonist”, China Biotechnology)	1-7
PX	US 2017101442 A1 (CHENG, K. et al.), 13 April 2017 (13.04.2017), description, paragraph 71, SEQ ID NO: 5	1, 3, 4
X	CN 106518968 A (EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY), 22 March 2017 (22.03.2017), claim 1, and description, paragraphs 11 and 100, SEQ ID NO: 6	1-4
X	CN 104804069 A (ZHONG, Yingqiang et al.), 29 July 2015 (29.07.2015), claims 1 and 6, description, paragraphs 9-12, and table 3	1-4
X	刘思雪等, “应用噬菌体展示肽库技术淘选大鼠 CCR5 膜外第一、二胞外环特异性结合的活性拮抗肽与初步鉴定”, 中国病理生理杂志, 31(7), 31 December 2015 (31.12.2015), pages 1225-1230, (LIU, Sixue et al., “Panning and Identification of Antagonistic Active Peptides Specifically Bin-Ding to the First and Second Extracellular Membrane Loops of Rat CCR5 by Technique of Phage Display Peptide Library”, Chinese Journal of Pathophysiology)	1-4
<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 application or patent 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 23 March 2018	Date of mailing of the international search report 04 April 2018	
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer MAO, Ying Telephone No. (86-10) 53961979	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/072194

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YOU, F. et al., "Biopanning and Characterization of Peptides with Fe ₃ O ₄ Nanoparticles-Binding Capability via Phage Display Random Peptide Library Technique", <i>Colloids and Surfaces B: Biointerfaces</i> , no. 141, 02 February 2016 (02.02.2016), pages 537-545	1-4
X	CHEN, Z.J. et al., "Discovery of Peptide Ligands for Hepatic Stellate Cells Using Phage Display", <i>Mol. Pharm.</i> , 12(6), 01 June 2015 (01.06.2015), pages 2180-2188	1, 3, 4
A	CN 101747414 A (HUAZHONG UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY), 23 June 2010 (23.06.2010), claims 1, 3, 10, 11 and 14, and description, paragraphs 16-19 and 26-29	1-7
A	US 6344443 B1 (UNIV. SOUTH FLORIDA), 05 February 2002 (05.02.2002), claim 1, description, column 2, line 41 to column 3, line 3, and embodiments 1-5	1-7
A	WO 9526744 A1 (CENTOCOR INC.), 12 October 1995 (12.10.1995), claims 1-15, and description, page 4, line 5 to page 6, line 37	1-7
A	WO 0021981 A2 (BIOSERV AG), 20 April 2000 (20.04.2000), claims 1, 2, 5 and 8-10	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/072194

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing filed or furnished:
- a. (means)
- on paper
- in electronic form
- b. (time)
- in the international application as filed
- together with the international application in electronic form
- subsequently to this Authority for the purposes of search
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2018/072194

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 106831944 A	13 June 2017	None	
US 2017101442 A1	13 April 2017	None	
CN 106518968 A	22 March 2017	None	
CN 104804069 A	29 July 2015	None	
CN 101747414 A	23 June 2010	CN 101747414 B	25 January 2012
US 6344443 B1	05 February 2002	None	
WO 9526744 A1	12 October 1995	US 5506340 A	09 April 1996
		US 5519000 A	21 May 1996
		US 5486595 A	23 January 1996
WO 0021981 A2	20 April 2000	WO 0021981 A3	20 July 2000
		DE 19948867 A1	17 August 2000

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/072194

A. 主题的分类		
C07K 7/06(2006.01)i; C07K 14/00(2006.01)i; C07K 7/08(2006.01)i; C12N 15/11(2006.01)i; A61K 38/08(2006.01)i; G01N 33/68(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
C07K; C12N; A61K; G01N		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNABS, DWPI, VEN, CNKI, PubMed, ISI Web of Knowledge, Genbank; 朱乃硕, 胡昌武, 复旦大学, 肿瘤坏死因子 α , 亲和, 肽, 拮抗, tumor necrosis factor α , tnf α , tnf-alpha, affinity, inhibit, antagonism, SEQ ID NO:1-4		
C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 106831944 A (复旦大学) 2017年 6月 13日 (2017-06-13) 权利要求1-7	1-7
PX	胡昌武等. "7肽和12肽两种M13噬菌体展示库筛选肿瘤坏死因子 α 拮抗肽的比较" 中国生物工程杂志, 第37卷, 第5期, 2017年 12月 31日 (2017-12-31), 第1-8页	1-7
PX	US 2017101442 A1 (CHENG, K.等) 2017年 4月 13日 (2017-04-13) 说明书第71段, SEQ ID NO:5	1, 3, 4
X	CN 106518968 A (华东理工大学) 2017年 3月 22日 (2017-03-22) 权利要求1, 说明书第11, 100段, SEQ ID NO:6	1-4
X	CN 104804069 A (钟英强等) 2015年 7月 29日 (2015-07-29) 权利要求1, 6, 说明书第9-12段, 表3	1-4
X	刘思雪等. "应用噬菌体展示肽库技术筛选大鼠CCR5膜外第一、二胞外环特异性结合的 活性拮抗肽与初步鉴定" 中国病理生理杂志, 第31卷, 第7期, 2015年 12月 31日 (2015-12-31), 第1225-1230页	1-4
<input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。		<input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "B" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件		"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件
国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期	
2018年 3月 23日	2018年 4月 4日	
ISA/CN的名称和邮寄地址	受权官员	
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	毛颖 电话号码 (86-10)53961979	

表 PCT/ISA/210 (第2页) (2009年7月)

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/072194

c. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	YOU, F. 等. "Biopanning and characterization of peptides with Fe3O4 nanoparticles-binding capability via phage display random peptide library technique" Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 第141期, 2016年 2月 2日 (2016 - 02 - 02), 第537-545页	1-4
X	CHEN, Z.J. 等. "Discovery of Peptide Ligands for Hepatic Stellate Cells Using Phage Display" Mol. Pharm., 第12卷, 第6期, 2015年 6月 1日 (2015 - 06 - 01), 第2180 - 2188页	1, 3, 4
A	CN 101747414 A (华中科技大学) 2010年 6月 23日 (2010 - 06 - 23) 权利要求1, 3, 10, 11, 14, 说明书第16-19, 26-29段	1-7
A	US 6344443 B1 (UNIV. SOUTH FLORIDA) 2002年 2月 5日 (2002 - 02 - 05) 权利要求1, 说明书第2栏第41行-第3栏第3行, 实施例1-5	1-7
A	WO 9526744 A1 (CENTOCOR INC.) 1995年 10月 12日 (1995 - 10 - 12) 权利要求1-15, 说明书第4页第5行-第6页第37行	1-7
A	WO 0021981 A2 (BIOSERV AG) 2000年 4月 20日 (2000 - 04 - 20) 权利要求1, 2, 5, 8-10	1-7

表 PCT/ISA/210 (第2页) (2009年7月)

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/072194

第I栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何对要求保护的发明必要的核苷酸和/或氨基酸序列，国际检索是在下列基础上进行的：
- a. (提交提供)
- 纸件形式
- 电子形式
- b. (提交时间)
- 含在申请提交时的国际申请中
- 以电子形式与国际申请一起提交
- 为检索之用随后提交本单位
2. 另外，在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下，提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的申请中的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围（如适用）的所需声明。
3. 补充意见：

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/072194

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	106831944	A	2017年 6月 13日	无	
US	2017101442	A1	2017年 4月 13日	无	
CN	106518968	A	2017年 3月 22日	无	
CN	104804069	A	2015年 7月 29日	无	
CN	101747414	A	2010年 6月 23日	CN	101747414 B 2012年 1月 25日
US	6344443	B1	2002年 2月 5日	无	
WO	9526744	A1	1995年 10月 12日	US	5506340 A 1996年 4月 9日
				US	5519000 A 1996年 5月 21日
				US	5486595 A 1996年 1月 23日
WO	0021981	A2	2000年 4月 20日	WO	0021981 A3 2000年 7月 20日
				DE	19948867 A1 2000年 8月 17日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K	9/08		
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00		
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02		
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/06		
G 0 1 N 33/532 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1	
	G 0 1 N	33/532		A

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

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA03 BA01 BA08 BA18 BA23 MA17 MA66 NA14 ZA89
 ZA96 ZB11 ZB15 ZC41
 4H045 AA10 AA30 BA14 BA16 BA17 EA50 FA10

专利名称(译)	肿瘤坏死因子 α 高亲和力肽及其应用		
公开(公告)号	JP2020505060A	公开(公告)日	2020-02-20
申请号	JP2019559138	申请日	2018-01-11
[标]申请(专利权)人(译)	朱乃硕		
[标]发明人	胡昌武		
发明人	朱乃硕 胡昌武		
IPC分类号	C12N15/12 C07K7/06 C07K7/08 C07K14/00 A61K38/10 A61K9/08 A61P29/00 A61P19/02 A61P17/06 A61P43/00 G01N33/532		
CPC分类号	A61K38/00 C07K7/06 C07K7/08 C07K14/001 G01N33/532 G01N33/6863 G01N2333/525		
FI分类号	C12N15/12 C07K7/06.ZNA C07K7/08 C07K14/00 A61K38/10 A61K9/08 A61P29/00 A61P19/02 A61P29/00.101 A61P17/06 A61P43/00.111 G01N33/532.A		
F-TERM分类号	4C076/AA11 4C076/CC05 4C076/CC29 4C076/FF11 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA18 4C084/BA23 4C084/MA17 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA89 4C084/ZA96 4C084/ZB11 4C084/ZB15 4C084/ZC41 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA14 4H045/BA16 4H045/BA17 4H045/EA50 4H045/FA10		
优先权	201710019149.8 2017-01-12 CN		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

该肽的氨基酸序列如SEQ ID NO : 1和SEQ ID NO : 3所示, 或者是具有SEQ ID NO : 1和SEQ ID NO : 3以及SEQ ID NO : 4的一个或多个重复的串联或分支肽分子序列。它具有所示的氨基酸序列。该肽可以高亲和力结合肿瘤坏死因子 α , 并且可以拮抗肿瘤坏死因子 α 的功能。当直接注射到动物体内时, 这种肽可以显著降低动物体内炎症的发生率, 并提高人体对炎症性疾病的抵抗力。该肽是由急性和慢性炎症(例如炎症损伤, 自身免疫损伤和应激损伤)引起的, 以发展为肿瘤坏死因子 α 拮抗剂, 并且是由物理, 化学和生物学因素引起的。此外, 它还可以用于治疗多种生理疾病, 具有广泛应用的前景, 而且该肽的特点是分子量低, 免疫原性低, 易于合成, 是常规的单克隆抗体药物。可以避免拮抗剂的副作用和缺点。

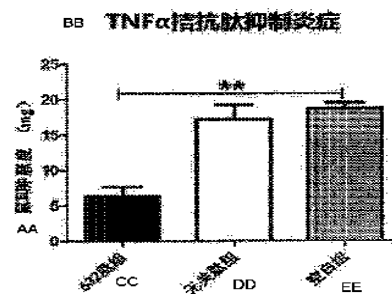


图 3

AA MOUSE EAR SWELLING DEGREE
 BB TNF α ANTAGONISTIC PEPTIDE INHIBITS INFLAMMATIONS
 CC 632 PEPTIDE GROUP
 DD IRRELEVANT PEPTIDE GROUP
 EE BLANK GROUP