

(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2011-523550

(P2011-523550A)

(43) 公表日 平成23年8月18日(2011.8.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00 Z N A A	2 G O 4 5
<b>C O 7 K 16/18 (2006.01)</b>	C O 7 K 16/18	4 B O 2 4
<b>C O 7 K 16/28 (2006.01)</b>	C O 7 K 16/28	4 B O 6 5
<b>C 1 2 N 1/15 (2006.01)</b>	C 1 2 N 1/15	4 C O 8 4
<b>C 1 2 N 1/19 (2006.01)</b>	C 1 2 N 1/19	4 H O 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 253 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2011-508949 (P2011-508949)	(71) 出願人	505166225 アブリンクス エン. ヴェー. ベルギー, ベー-9052 ヘントーツヴ ィナールデ, テヒノロジーパルク 21
(86) (22) 出願日	平成21年5月18日 (2009.5.18)	(74) 代理人	100088904 弁理士 庄司 隆
(85) 翻訳文提出日	平成23年1月13日 (2011.1.13)	(74) 代理人	100124453 弁理士 資延 由利子
(86) 国際出願番号	PCT/EP2009/056026	(74) 代理人	100135208 弁理士 大杉 卓也
(87) 国際公開番号	W02009/138519	(74) 代理人	100152319 弁理士 首我 亜紀
(87) 国際公開日	平成21年11月19日 (2009.11.19)	(74) 代理人	100163544 弁理士 平田 縁
(31) 優先権主張番号	61/053, 847		
(32) 優先日	平成20年5月16日 (2008.5.16)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/102, 142		
(32) 優先日	平成20年10月2日 (2008.10.2)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 C X C R 4 及び他の G P C R に指向性を有するアミノ酸配列及びそれを含む化合物

## (57) 【要約】

本発明は、Gタンパク質共役受容体(GPCR)、特にCXCR4及びCXCR7に(本明細書で規定されるように)指向性を有するアミノ酸配列、並びにこのようなアミノ酸配列を1つ又は複数含むか、又はこれから本質的に成る、化合物又は構築物、特にタンパク質及びポリペプチド(本明細書中でそれぞれ、「本発明のアミノ酸配列」、「本発明の化合物」及び「本発明のポリペプチド」とも称される)に関する。さらに本発明は、膜貫通タンパク質、特に天然立体構造が他の「in vitro」系では再現することができない多重膜貫通タンパク質(例えば一般的にGPCR)に指向性を有するアミノ酸配列を作製する新規の方法を提供している。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ヒトCXCR4（配列番号254）と特異的に結合する1つ又は複数のナノボディ、及び可能性としては血清タンパク質と特異的に結合する1つ又は複数のナノボディを含むポリペプチドであって、

ヒトCXCR4と特異的に結合する該ナノボディ（単数又は複数）が、

a) 生きた状態でかつ細胞表面で該ヒトCXCR4を発現する細胞全体を、ラマに免疫付与する工程と、

b) ヒトCXCR4との結合に関して選択する工程と、

c) 任意で該選択工程において、洗浄剤を用いずにPBS等のバッファーで穏やかに洗浄する工程とを少なくとも含む方法により生成され、並びに

a) 該ポリペプチドが、競合結合アッセイでヒトCXCR4と結合する場合、高濃度（100nM以上）でヒトCXCL12（配列番号267）の50%超、より好ましくは60%超、さらにより好ましくは70%超、さらにより好ましくは80%超、さらにより好ましくは90%超、最も好ましくは95%超を置換する、及び/又は

b) 該ポリペプチドが、100nM以下、より好ましくは10nM以下、より好ましくは1nM以下、及び最も好ましくは0.1nM以下の濃度でヒトCXCR4に対するヒトCXCL12の化学誘因物質の効果を完全にアンタゴナイズする、

並びに該ポリペプチドがナノボディを2つ以上含む場合、該ポリペプチドが任意でペプチドリンカーをさらに1つ又は複数含む、ポリペプチド。

## 【請求項 2】

ヒトCXCR4と特異的に結合するナノボディを2つ以上含む、請求項1に記載のポリペプチド。

## 【請求項 3】

ヒトCXCR4と特異的に結合する2つのナノボディを含む、請求項1又は2に記載のポリペプチド。

## 【請求項 4】

少なくとも1つのナノボディが4つのフレームワーク領域（それぞれ、FR1～FR4）と、3つの相補性決定領域（それぞれ、CDR1～CDR3）とから本質的に成り、CDR1が、

a) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；

b) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

c) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ又は1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR2が、

d) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；

e) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

f) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ又は1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR3が、

g) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列；

h) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

i) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ又は1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択される、請求項1～3のいずれか一項に記載のポリペプチド。

## 【請求項 5】

ヒトCXCR4と特異的に結合する該2つのナノボディが4つのフレームワーク領域（

10

20

30

40

50

それぞれ、FR1～FR4)と、3つの相補性決定領域(それぞれ、CDR1～CDR3)とから本質的に成り、CDR1が、

a) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；  
b) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

c) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ又は1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR2が、

d) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；

e) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

f) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ又は1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR3が、

g) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列；

h) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

i) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ又は1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択される、請求項1～4のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項6】

ヒトCXCR4と特異的に結合するナノボディの1つが4つのフレームワーク領域(それぞれ、FR1～FR4)と、3つの相補性決定領域(それぞれ、CDR1～CDR3)とから本質的に成り、CDR1が、

a) 配列番号142のアミノ酸配列；

b) 配列番号142のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

c) 配列番号142のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ又は1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR2が、

d) 配列番号174のアミノ酸配列；

e) 配列番号174のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

f) 配列番号174のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ又は1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR3が、

g) 配列番号206のアミノ酸配列；

h) 配列番号206のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

i) 配列番号206のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ又は1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、

ヒトCXCR4と特異的に結合する別のナノボディが4つのフレームワーク領域(それぞれ、FR1～FR4)と、3つの相補性決定領域(それぞれ、CDR1～CDR3)とから本質的に成り、CDR1が、

j) 配列番号143のアミノ酸配列；

k) 配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

l) 配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ又は1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR2が、

10

20

30

40

50

- m) 配列番号 175 のアミノ酸配列；
- n) 配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- o) 配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ又は 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ CDR3 が、
- p) 配列番号 207 のアミノ酸配列；
- q) 配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- r) 配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ又は 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択される、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

10

## 【請求項 7】

ナノボディが、配列番号 238、配列番号 239 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80 % のアミノ酸同一性を有するナノボディから成る群から選択される、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

## 【請求項 8】

配列番号 261 ~ 配列番号 264、好ましくは配列番号 263、配列番号 264 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80 % のアミノ酸同一性を有するポリペプチドから成る群から選択される、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

20

## 【請求項 9】

4 つのフレームワーク領域（それぞれ、FR1 ~ FR4）と、3 つの相補性決定領域（それぞれ、CDR1 ~ CDR3）とから本質的に成るナノボディであって、CDR1 が、

- a) 配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列；
- b) 配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- c) 配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ又は 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ CDR2 が、

30

- d) 配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列；
- e) 配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- f) 配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ又は 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ CDR3 が、

- g) 配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列；
- h) 配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- i) 配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ又は 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択される、ナノボディ。

40

## 【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド又はナノボディをコードする、核酸又はヌクレオチド配列。

## 【請求項 11】

好適な状況下で請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド又はナノボディを発現することが可能である宿主細胞。

## 【請求項 12】

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド又はナノボディを含む薬学的組成物。

50

## 【請求項 1 3】

少なくとも 1 つの薬学的に許容可能な担体、希釈剤又は賦形剤、及び / 又はアジュバントをさらに含み、任意で 1 つ又は複数のさらなる薬学的に活性のあるポリペプチド及び / 又は化合物を含む、請求項 1 2 に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 1 4】

a) アミノ酸配列をコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリを準備する工程と、

b) ヒト CXCR4 と結合することができ、及び / 又はヒト CXCR4 に対する親和性を有し、並びに、ヒト CXCR4 が交差遮断されるか又は請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド若しくはナノボディを交差遮断する、アミノ酸配列をコードする核酸配列に関して、核酸配列の前記セット、コレクション又はライブラリをスクリーニングする工程と、

c) 前記核酸配列を単離し、その後前記アミノ酸配列を発現する工程とを少なくとも含む、ヒト CXCR4 (配列番号 254) に指向性を有するアミノ酸配列をスクリーニングする方法。

## 【請求項 1 5】

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の少なくとも 1 つのポリペプチド又はナノボディを、治療を必要とする被験体に薬学的に活性のある量投与することを含む、癌又は AIDS を治療するための方法 / 使用。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、Gタンパク質共役受容体(GPCR)、特にCXCR4及びCXCR7に(本明細書で規定されるように)指向性を有するアミノ酸配列、並びにこのようなアミノ酸配列を1つ又は複数含むか、又はこれから本質的に成る、化合物又は構築物、特にタンパク質及びポリペプチド(本明細書中でそれぞれ、「本発明のアミノ酸配列」、「本発明の化合物」及び「本発明のポリペプチド」とも称される)に関する。さらに本発明は、膜貫通タンパク質、特に天然立体構造が他の「in vitro」系では再現することができない多重貫通膜(multiple spanning transmembrane)タンパク質(例えば一般的にGPCR)に指向性を有するアミノ酸配列を作製する新規の方法を提供している。

## 【0002】

本発明は、このようなアミノ酸配列及びポリペプチドをコードする核酸(本明細書中で「本発明の核酸」又は「本発明のヌクレオチド配列」とも称される);このようなアミノ酸配列及びポリペプチドを調製する方法;このようなアミノ酸配列又はポリペプチドを発現するか、又は発現することが可能な宿主細胞;このようなアミノ酸配列、ポリペプチド、核酸及び / 又は宿主細胞を含む組成物、特に薬学的組成物;並びに特に予防目的、治療目的又は診断目的の、例えば本明細書中で言及される予防目的、治療目的又は診断目的のこのようなアミノ酸配列又はポリペプチド、核酸、宿主細胞及び / 又は組成物の使用にも関する。

## 【0003】

本発明の他の態様、実施の形態、利点及び用途は、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

## 【背景技術】

## 【0004】

GPCRは既知の群の受容体である。例えば以下の概説を参照する:非特許文献1、非特許文献2及び非特許文献3、並びに例えば非特許文献4、非特許文献5、非特許文献6、非特許文献7、及び非特許文献8、及びまた例えば非特許文献9及び非特許文献10、並びにこれらの文献で引用されたさらなる参考文献。

## 【0005】

Gタンパク質共役受容体(GPCR)は最も大きい群の細胞表面受容体である(100

10

20

30

40

50

0個を超える遺伝子がヒトゲノムに存在する)。GPCRは多様な刺激、例えばホルモン、ペプチド、アミノ酸、光量子によって活性化することができ、これらの受容体は中枢神経系及び末梢において大きな役割を果たす。GPCRは、強く保存された7回膜貫通ドメインを有するタンパク質である。

#### 【0006】

全ての既知の薬物の半分以上がGタンパク質共役受容体を介して働くので、このタンパク質ファミリーに対するナノボディを選択することは商業的に非常に魅力的である。2000年には、全ての最新薬物の半分以上、及び最も良く売れている上位200個の薬物の大体4分の1がGPCR標的に指向性を有するか又はこれらを調節すると推定されていた(全部でおよそ30個)。しかしながら、GPCR標的の7回膜貫通ヘリックスのアーキテクチャ

10

#### 【0007】

GPCRは配列相同性に基づき幾つかの異なるファミリーにグループ分けすることができる。全てのGPCRが7回膜貫通ヘリックスの同様のアーキテクチャを有するが、この受容体群内の異なるファミリーは互いに配列相同性を示さず、このためGPCRの膜貫通ドメイン構造の類似性が共通の機能的要件を規定し得ることが示唆されている。細胞外ドメインのサイズに応じて、3つのファミリーに分けられる。

#### 【0008】

ファミリー1(ファミリーA又はロドプシン様ファミリーとも呼ばれる)の成員は小さい細胞外ループしか有せず、リガンドの相互作用は膜貫通間隙(cleft)内の残基と共に起こる。このファミリーははるかに大きい群であり(GPCRの90%超)、嗅覚受容体と、カテコールアミン及びアミン等の小分子と、(神経)ペプチドと、糖タンパク質ホルモンとを含有する。このファミリーに属するロドプシンは、その構造が解明されている唯一のGPCRである。

20

#### 【0009】

ファミリー2又はファミリーBのGPCRは、リガンド結合に関与する比較的長いアミノ末端細胞外ドメインを特徴とする。膜貫通ドメインの配向に関してはほとんど知られていないが、ロドプシンのものとはかなり異なると思われる。これらのGPCRに対するリガンドはホルモン、例えばグルカゴン、ゴナドトロピン放出ホルモン及び副甲状腺ホルモンである。

30

#### 【0010】

ファミリー3の成員も大きい細胞外ドメインを有し、内部で結合するアゴニストに応じて開閉し得るので、「ハエトリグサ(Venus fly trap)」のように機能する。ファミリー3の成員は代謝型グルタミン酸受容体、 $Ca^{2+}$ 感知受容体及びGABA<sub>B</sub>受容体である。

#### 【0011】

従来、小分子は、製薬会社にはこれらを扱う歴史的な理由があるというだけでなく、より重要なことに膜貫通間隙内にリガンド結合部位を有するファミリー1のGPCRの構造的制約のために、GPCRに指向性を有する薬物の開発に使用されている(非特許文献11)。この理由から、この標的群に対するモノクローナル抗体を生成することは困難又は不可能であることが分かっている。本発明のアミノ酸配列(特に本発明のナノボディ)は、(本明細書中でさらに記載のように)伸長したCDRLループを介してキャビティ(cavities)に結合するという固有の特性によってこの特有の課題を解決することができる。

40

#### 【0012】

治療的に関連のあるGPCRの非限定的な例の幾つかは例えば以下の通りであり、これらは全て承認されているか又は臨床開発中である既知の薬物の標的である。括弧内の文字は本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドの所望の(即ちアゴニスト又はアンタゴニストとしての)作用を示す：

A群のGPCR

50

ムスカリン性 M 1 受容体	
アドレナリン受容体	
ヒスタミン受容体	
5 - H T G P C R	
カンナビノイド受容体	
A 群ホルモンタンパク質 G P C R	
ケモカイン	
ガラニン	
メラノコルチン	
神経ペプチド Y 受容体	10
ニューロテンシン受容体	
オピオイド	
ソマトスタチン	
バソプレシン様受容体	
プロスタノイド受容体	
B 群の G P C R	
A C T H 放出因子受容体 (モジュレータ)	
C 群の G P C R	
G A B A B 受容体 (アゴニスト)	
代謝型グルタミン酸受容体	20
【 0 0 1 3 】	
治療的に関連のある G P C R の他の非限定的な例の幾つかが表 C に言及されている。ヒト G P C R のより広範なリストが表 D に与えられている。	
【 0 0 1 4 】	
フュージンとも呼ばれる C X C ケモカイン受容体 ( C X C R 4 ) は、リンパ球に対する強力な走化能が与えられた分子である、ストロマ細胞由来因子 1 ( S D F - 1 、 C X C L 1 2 と呼ばれる ) に特異的な - ケモカイン受容体である。	
【 0 0 1 5 】	
この受容体は、 H I V 分離株が C D 4 + T 細胞に感染するのに使用することができる幾つかのケモカイン受容体の 1 つである。従来、 C X C R 4 を使用する H I V 分離株は T 細胞指向性分離株として知られている。通常、これらのウイルスは感染の後期で見られる。 C X C R 4 を使用する H I V の発生が免疫不全の結果又は原因のいずれであるかは不明である。	30
【 0 0 1 6 】	
C X C R 4 のリガンドである S D F - 1 は、骨髄への造血幹細胞のホーミング ( homing ) 及び造血幹細胞休止に重要であることが知られている。	
【 0 0 1 7 】	
通常ケモカインに関して、 S D F - 1 と C X C R 4 とは比較的「一対一の ( monogamous ) 」リガンド - 受容体対である ( 他のケモカインは、極めて「無差別に ( promiscuous ) 」幾つかの異なるケモカイン受容体を利用する傾向にある ) 。	40
【 0 0 1 8 】	
S D F - 1 と C X C R 4 との間の相互作用は、骨髄において造血幹細胞を保持するのに重要な役割を果たすため、 C X C R 4 受容体を遮断する薬物が末梢血幹細胞として造血幹細胞を血流に「動員する」ことが可能であると考えられる。末梢血幹細胞動員は ( 外科的に採取された骨髄の移植の最近の代替法である ) 造血幹細胞移植に非常に重要であり、現在 G - C S F 等の薬物を使用して行われている。 G - C S F は好中球 ( 白血球の一般的な型 ) に対する成長因子であり、骨髄において好中球エラストラーゼ等の好中球由来のプロテアーゼの活性を増大することにより作用させることができ、それにより S D F - 1 のタンパク質分解が起こる。	
【 先行技術文献 】	50

## 【非特許文献】

【0019】

【非特許文献1】Surgand et al., Proteins 62:509-538 (2006)

【非特許文献2】Vassilatis et al., Proc Natl Acad Sci U S A 100:4903-4908 (2003)

【非特許文献3】Pierce et al., Nat Rev Mol Cell Biol 3:639-650 (2002)

【非特許文献4】George et al., Nat Rev Drug Discov 1:808-820 (2002)

【非特許文献5】Kenakin, Trends Pharmacol Sci 25:186-192 (2002)

【非特許文献6】Rios et al., Pharmacol Ther 92:71-87 (2001)

【非特許文献7】Jacoby et al., ChemMedChem 2006, 1, 760-782

10

【非特許文献8】Schlyer and Horuk, Drug Discovery Today, 11, 11/12. June 2006, 481

【非特許文献9】Rosenkilde, Oncogene (2001), 20, 1582-1593

【非特許文献10】Sadée et al., AAPS PharmSci 2001; 3; 1-16

【非特許文献11】Nat Rev Drug Discov. (2004) The state of GPCR research in 2004. Nature Reviews Drug Discovery GPCRQuestionnaire Participants 3(7):575,577-626

## 【発明の概要】

【0020】

概して本発明のポリペプチド及び組成物を、GPCRにより媒介されるシグナル伝達を調節、特に阻害及び/又は予防するのに、及び/又はGPCRが関与する生物学的経路を調節するのに、及び/又はこのようなシグナル伝達又はこれらの経路に関連する生物学的な機構、応答及び効果を調節するのに使用することができる。

20

【0021】

このため、本発明のポリペプチド及び組成物を、(本明細書中で規定のように)GPCR関連の疾患及び障害の予防及び治療に使用することができる。一般的に、「GPCR関連の疾患及び障害」は、本発明のポリペプチド又は組成物のいずれかを(特にその薬学的に活性のある量)、及び/又はGPCR、又はGPCRが関与する生物学的な経路若しくは機構に対して活性のある既知の活性成分を(特にその薬学的に活性のある量)、それを必要とする(即ち疾患若しくは障害、又はそれらの症状の少なくとも1つを有する、及び/又は疾患又は障害を誘発又は発症する危険性がある)被験体に好適に投与することにより、それぞれ予防及び/又は治療することができる疾患及び障害として定義することができる。このようなGPCR関連の疾患及び障害の例は本明細書中の開示に基づき当業者にとって明らかである。

30

【0022】

したがってこれらに限定されないが、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドを、例えば現在GPCR媒介性シグナル伝達を調節することができる活性成分により予防又は治療されている疾患及び障害、例えば上記で引用された従来技術で言及されるものを全て予防及び/又は治療するのに使用することができる。また本発明のポリペプチドを、このような活性成分による治療が現在開発されている、提案されている、又は将来提案若しくは展開される疾患及び障害を全て予防及び/又は治療するのに使用することができることも予測される。さらに、本明細書中にさらに記載のそれらの有利な特性のために、本発明のポリペプチドを、これらの既知の活性成分が使用されているか、又は提案若しくは開発される疾患及び障害以外の他の疾患及び障害の予防及び治療にも使用してもよいこと、及び/又は本発明のポリペプチドが本明細書に記載の疾患及び障害を治療するのに新規の方法及びレジメンを提供し得ることが予測される。

40

【0023】

本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドの他の用途及び使用は、本明細書のさらなる開示から当業者にとって明らかになる。

【発明が解決しようとする課題】

50

## 【0024】

概して、本発明の目的は、GPCR関連の疾患及び障害、並びに本明細書で言及されるさらなる疾患及び障害の診断、予防及び/又は治療に使用することができる、薬理的に活性な作用物質、及びこれを含む組成物を提供すること、並びにこのような作用物質及び組成物の投与及び/又は使用を伴う、このような疾患及び障害を診断、予防及び/又は治療する方法を提供することである。

## 【0025】

具体的には本発明の目的は、現在当該技術分野で使用されている、及び/又は当該技術分野で既知の作用物質、組成物及び/又は方法に比べて或る特定の利点を有するような薬理的に活性な作用物質、組成物及び/又は方法を提供することである。これらの利点は、以下のさらなる記載から明らかになる。

10

## 【0026】

より具体的には本発明の目的は、GPCR関連の疾患及び障害、並びに本明細書で言及されるさらなる疾患及び障害の診断、予防及び/又は治療に、薬理的に活性な作用物質、及びこれを含む組成物として使用することができる治療タンパク質を提供すること、並びにこのような治療タンパク質及び組成物の投与及び/又は使用を伴うこのような疾患及び障害を診断、予防及び/又は治療する方法を提供することである。

## 【0027】

したがって本発明の特定の目的は、(本明細書に規定のように)GPCR、具体的には温血動物由来のGPCR、より具体的には哺乳動物由来のGPCR、特にヒトGPCRに指向性を有するアミノ酸配列を提供すること、並びに少なくとも1つのこのようなアミノ酸配列を含むか、又はこれから本質的に成るタンパク質及びポリペプチドを提供することである。

20

## 【0028】

具体的には本発明の特定の目的は、温血動物、具体的に哺乳動物、より具体的にヒトにおいて予防的用途、治療的用途及び/又は診断的用途に好適であるこのようなアミノ酸配列及びこのようなタンパク質及び/又はポリペプチドを提供することである。

## 【0029】

より具体的には本発明の特定の目的は、温血動物、具体的に哺乳動物、より具体的にヒトにおいてGPCRに関連する、及び/又はGPCRで媒介される1つ又は複数の疾患、障害又は症状(本明細書中で言及される疾患、障害及び症状等)の予防、治療、緩和及び/又は診断に使用することができるこのようなアミノ酸配列及びこのようなタンパク質及び/又はポリペプチドを提供することである。

30

## 【0030】

本発明の特定の目的は、温血動物、具体的に哺乳動物、より具体的にヒトにおいてGPCRに関連する、及び/又はGPCRで媒介される1つ又は複数の疾患、障害又は症状(本明細書中で言及される疾患、障害及び症状等)の予防及び/又は治療のための薬学的組成物又は獣医学的組成物の調製に使用することができるこのようなアミノ酸配列及びこのようなタンパク質及び/又はポリペプチドを提供することでもある。

## 【0031】

本発明において、概してこれらの目的は、本明細書に記載のアミノ酸配列、タンパク質、ポリペプチド及び組成物の使用によって達成される。

40

## 【課題を解決するための手段】

## 【0032】

概して本発明は、(本明細書に規定のように)GPCRに指向性を有する、及び/又は(本明細書に規定のように)GPCRと特異的に結合することができるアミノ酸配列、並びにこのようなアミノ酸配列を少なくとも1つ含む化合物及び構築物、特にタンパク質及びポリペプチドを提供する。

## 【0033】

より具体的には、本発明は本明細書に規定の(さらに本明細書に記載されるような(実

50

際又は見掛けの)  $K_D$  値、( 実際又は見掛けの)  $K_A$  値、 $k_{on}$  速度及び/又は  $k_{off}$  速度、又は代替的に  $IC_{50}$  値として好適に測定される、及び/又は表される) 親和性で GPCR と結合することができるアミノ酸配列、並びにこのようなアミノ酸配列を少なくとも 1 つ含む化合物及び構築物、特にタンパク質及びポリペプチドを提供する。

#### 【0034】

特に、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドが、 $10^{-5}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下、及び好ましくは  $10^{-7}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下、及びより好ましくは  $10^{-8}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L の解離定数 ( $K_D$ ) で (即ち  $10^5$  L/モル ~  $10^{12}$  L/モル以上、及び好ましくは  $10^7$  L/モル ~  $10^{12}$  L/モル以上、及びより好ましくは  $10^8$  L/モル ~  $10^{12}$  L/モルの結合定数 ( $K_A$ ) で) GPCR と結合するようなもの、及び/又は

$10^2$   $M^{-1} s^{-1}$  ~ 約  $10^7$   $M^{-1} s^{-1}$ 、好ましくは  $10^3$   $M^{-1} s^{-1}$  ~  $10^7$   $M^{-1} s^{-1}$ 、より好ましくは  $10^4$   $M^{-1} s^{-1}$  ~  $10^7$   $M^{-1} s^{-1}$  ( $10^5$   $M^{-1} s^{-1}$  ~  $10^7$   $M^{-1} s^{-1}$  等) の  $k_{on}$  速度で GPCR と結合するようなもの、及び/又は

$1 s^{-1}$  ( $t_{1/2} = 0.69 s$ ) ~  $10^{-6} s^{-1}$  ( $t_{1/2}$  が数日である略不可逆的な複合体の場合)、好ましくは  $10^{-2} s^{-1}$  ~  $10^{-6} s^{-1}$ 、より好ましくは  $10^{-3} s^{-1}$  ~  $10^{-6} s^{-1}$  ( $10^{-4} s^{-1}$  ~  $10^{-6} s^{-1}$  等) の  $k_{off}$  速度で GPCR と結合するようのものであるのが好ましい。

#### 【0035】

好ましくは、本発明の一価のアミノ酸配列 (又は本発明のアミノ酸配列を 1 つだけ含有するポリペプチド) が、500 nM 未満、好ましくは 200 nM 未満、より好ましくは 10 nM 未満 (500 pM 未満等) の親和性で GPCR と結合するようのものであるのが好ましい。

#### 【0036】

本発明のアミノ酸配列又はポリペプチドと GPCR との結合に関する幾つかの好ましい及び  $IC_{50}$  値は、本明細書のさらなる記載及び実施例から明らかになる。

#### 【0037】

GPCR との結合のために、本発明のアミノ酸配列は通常、そのアミノ酸配列内に 1 つ又は複数のアミノ酸残基若しくは 1 つ又は複数のアミノ酸残基のストレッチ (即ちそれぞれの「ストレッチ」が、(即ちアミノ酸配列の一次構造又は三次構造で) 互いに隣接しているか、又は互いに密接している 2 つ以上のアミノ酸残基を含む) を含有し、これを介して本発明のアミノ酸配列は GPCR と結合することができ、このようにしてアミノ酸残基又はアミノ酸残基のストレッチは、GPCR と結合する「部位」(本明細書で「抗原結合部位」とも称される) を形成する。

#### 【0038】

本発明で与えられるアミノ酸配列は、(本明細書で規定のように) 本質的に単離形態であるか、又は (本明細書で規定のように) 本発明のタンパク質若しくはポリペプチド (1 つ又は複数の本発明のアミノ酸配列を含むか、又は本質的にこれから成ってもよく、任意でさらに 1 つ又は複数のさらなるアミノ酸配列 (全て任意で 1 つ又は複数の好適なリンカーを介して連結される) を含んでもよい) の一部を形成するのが好ましい。例えば、これに限定されないが、1 つ又は複数の本発明のアミノ酸配列は、全て本明細書に記載される一価、多価、又は多重特異性の本発明のポリペプチドをそれぞれ提供するように、このようなタンパク質又はポリペプチドにおける結合単位として使用してもよい (任意で (即ち GPCR 以外の 1 つ又は複数の他の標的に対する) 結合単位としての役割を果たし得る 1 つ又は複数のさらなるアミノ酸配列を含有してもよい)。このようなタンパク質又はポリペプチドは、(本明細書に規定のように) 本質的に単離形態でもあり得る。

#### 【0039】

本発明のアミノ酸配列及びポリペプチド自体が、ジスルフィド架橋を介して任意の他のアミノ酸配列又はアミノ酸鎖と連結しない (が、1 つ又は複数の分子内ジスルフィド架橋

10

20

30

40

50

を含有しても又は含有しなくてもよい。例えば本明細書中に記載のナノボディは、CDR3とCDR1又はFR2との間にジスルフィド架橋を含有し得ることもあることが知られている)単一のアミノ酸鎖から本質的に成るのが好ましい。しかしながら、1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列は、互いに及び/又は他のアミノ酸配列と(例えばジスルフィド架橋を介して)連結し、本発明に有用でもあり得るペプチド構築物(例えばFab'断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、ScFv構築物、「ダイアボディ(diabodies)」及び他の多重特異性の構築物)を提供し得ることに留意されたい。例えばHolliger and Hudson, Nat Biotechnol. 2005 Sep; 23(9): 1126-36による概説を参照する。

#### 【0040】

概して、本発明のアミノ酸配列(又はこれを含む化合物、構築物若しくはポリペプチド)は、(例えば本明細書に記載の治療目的及び/又は診断目的のための)被験体への投与を目的とする場合、上記被験体において自然発生しないアミノ酸配列であるか、又は上記被験体において自然発生する場合は、(本明細書に規定のように)本質的に単離形態であるのが好ましい。

#### 【0041】

薬学的用途の場合、本発明のアミノ酸配列(並びにこれを含む化合物、構築物及びポリペプチド)はヒトGPCRに指向性を有するのが好ましく、一方で獣医学目的の場合は、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは治療する種由来のGPCRに指向性を有するか、又は治療する種由来のGPCRと少なくとも交差反応性を有するのが好ましいことも、当業者にとって明らかである。

#### 【0042】

さらに、本発明のアミノ酸配列は、任意でかつGPCRとの結合のための少なくとも1つの結合部位の他に、他の抗原、タンパク質又は標的との結合のための1つ又は複数のさらなる結合部位を含有し得る。関与する特定の疾患又は障害に応じて、任意の好適なin vitroアッセイ、細胞ベースのアッセイ、in vivoアッセイ及び/又はそれ自体が既知の動物モデル、又はこれらの任意の組合せを使用して、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチド、並びにこれを含む組成物の有効性を試験することができる。好適なアッセイ及び動物モデルは当業者に明らかであり、例えばアフリカツメガエル卵母細胞(Xenopus oocytes)における受容体の発現を含み、その後多くのGPCRとイオンチャネルとの共役により、これらのGPCRの活性化又は阻害を電圧制限技法(voltage clamping techniques)により卵母細胞においてモニタリングすることが可能になる。異種GPCRは、外因性のGPCRをコードするmRNAを卵母細胞に注入し、それから卵母細胞の内因性細胞機構に翻訳させると共に、受容体を細胞膜に挿入することにより、卵母細胞で機能的に発現させることができる(例えばHouamed et al., Science 252:1318-21, 1991、Dahmen et al., J. Neurochem. 58:1176-79, 1992を参照されたい)。受容体の機能的な発現に従い、リガンドの膜コンダクタンス変化を誘導する能力を、膜電位の脱分極又は過分極のいずれかを検出することができる二電極電圧固定システム(Dahmen et al., 同上)により観察することができる。

#### 【0043】

GPCRをスクリーニングする他の技法は、例えばハンドブック、概説及び本明細書で引用される従来技術から当業者にとって明らかである。これらとしては、例えばHovius et al., (1998) J Neurochem 70:824に記載されるように作製することができる膜調製物を使用する、例えばLundstrom et al., J Struct Funct Genomics. 2006 Nov 22 [Epub ahead of print]で使用されるような、並びに例えばAndre' et al., Protein Sci 5:1115 (2006)、Hassaine et al., (2006) Prot Purif Expr 45:343、Nicholson et al. JPharmacol Exp Ther. 2006 May;317(2):771-7. [Epub 2006 Jan 25]、及びVillardaga et al., J Biol Chem. 2001 Sep 7;276(36):33435-43. Epub 2001 May 31に記載されるような放射性リガンド結合アッセイが挙げられる。GPCRをスクリーニングするHTS技法の幾つかがJacoby et al.による概説の表4で言及される。

#### 【0044】

また本発明によれば、第1の種の温血動物由来のGPCRに指向性を有するアミノ酸配列及びポリペプチドは、1つ又は複数の他の種の温血動物由来のGPCRと交差反応性を示しても又は示さなくてもよい。例えば、ヒトGPCRに指向性を有するアミノ酸配列及びポリペプチドは、1つ又は複数の他の種の霊長類（例えば、これらに限定されないが、マカク属のサル（例えば特にカニクイザル（マカク・ファシクラリス（*Macaca fascicularis*））及び/又はアカゲザル（マカク・ムラット（*Macacamulatta*）））及びヒヒ（パピオ・ウルジヌス（*Papio ursinus*））由来のGPCR、及び/又は疾患のための動物モデル（例えばマウス、ラット、ウサギ、ブタ又はイヌ）、特にGPCRに関連がある疾患及び障害のための動物モデルで使用されることが多い、1種又は複数種の動物（例えば本明細書で言及される種及び動物モデル）由来のGPCRと交差反応性を示しても又は示さなくともよい。この観点では、このような疾患モデルでヒトGPCRに対するアミノ酸配列及びポリペプチドを試験することが可能であるので、存在する場合、このような交差反応性は薬剤開発の観点から都合がよいことがあることが当業者にとって明らかである。

10

20

30

40

50

**【0045】**

より一般的には、複数種の哺乳動物由来のGPCRと交差反応性を有する本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは、同じアミノ酸配列又はポリペプチドを複数種にわたって使用することが可能であるので、通常、獣医学用途に使用するのに有利である。したがって、或る種の動物由来のGPCRに指向性を有するアミノ酸配列及びポリペプチド（例えばヒトGPCRに対するアミノ酸配列及びポリペプチド）は、アミノ酸配列及び/又はポリペプチドの使用によって治療する種において所望の効果が提供されれば、別の種の動物の治療に使用することができることも本発明の範囲内に包含される。

**【0046】**

本発明は最も広範な意味でも、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドが指向性を有するGPCRの特定の抗原決定基、エピトープ、部分、ドメイン、サブユニット又は立体構造（適用可能な場合）に特に限定されないか、又はこれらによって規定されない。例えば、本発明のアミノ酸配列は、哺乳動物（例えばラクダ科動物）に好適な発現系において発現している又は好適な細胞若しくは細胞画分から単離されているGPCRを好適に免疫付与することにより誘起し得る。特に本発明のアミノ酸配列は、（例えばKiefer, *Biochim. Biophys. Acta*, 1610 (2003), 57-62による概説に記載の技法を使用して）リフォールディングしているGPCR（又はそれらの好適な部分若しくは断片）に対して誘起させることができ、リフォールディングしたGPCRに指向性を有する、及び/又はこれに対して誘起されているアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドが本発明のさらなる態様を形成する。

**【0047】**

本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは概して、任意の所望のGPCR、特に細胞外のループ又はドメインを少なくとも1つ有するGPCRに指向性を有し得る。このようなGPCRの例は、本明細書で引用される従来技術に基づき当業者にとって明らかである。

**【0048】**

本発明の特定の態様によれば、本発明のアミノ酸配列又はポリペプチドは、（本明細書で規定のように）細胞表面上で発現しているGPCR及び/又は少なくとも1つのGPCRの細胞外の領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープに指向性を有し得る。例えばこのようなアミノ酸配列は、哺乳動物（例えばラクダ科動物）に、表面上にGPCRを有する細胞又は細胞画分を好適に免疫付与することにより誘起し得る。

**【0049】**

具体的にこの態様によれば、本発明のアミノ酸配列又はポリペプチドは、（本明細書で規定のように）少なくとも1つのGPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7の細胞外の領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープに指向性を有し、好ましくはさらに本発明の上記アミノ酸配列又はポリペプチドは、（本明細書で規定のように）上記GPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7を調節することが可能であるようなものである。より具体的にはこの態様によれば、本発明のアミノ酸配列又は

ポリペプチドは、(本明細書で規定のように)少なくとも1つのGPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7の細胞外の領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープに指向性を有し、好ましくはさらに本発明の上記アミノ酸配列又はポリペプチドは、(本明細書で規定のように)上記GPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7を(完全に又は一部)遮断することが可能であるようなものである。

#### 【0050】

本発明のこの態様によれば、本発明のアミノ酸配列又はポリペプチドは、GPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7の任意の好適な細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープに指向性を有し得るが、好ましくは膜貫通ドメインの細胞外部分の1つに、又はより好ましくは膜貫通ドメインと連結する細胞外ループの1つに指向性を有する。

10

#### 【0051】

このような好適な細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又はエピトープのアミノ酸配列は、関連(pertinent)GPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7のアミノ酸配列のKyte-Doolittle解析、同じ(サブ)ファミリーに属するGPCRをアラインメントすると共に、様々な膜貫通ドメイン及び細胞外の部分、領域、ドメイン若しくはループを同定すること、TMAP解析、又はそれらの任意の好適な組合せにより得ることができる。本発明は、(本明細書でさらに規定されるような)このような細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又はエピトープに指向性を有する及び/又はこれらに対して誘起されている(及び/又はこのような細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又はエピトープの好適な部分又は断片に、及び/又はこのような細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又はエピトープに由来する若しくはこれらに基づく合成又は半合成のペプチドに指向性を有する及び/又はこれらに対して誘起されている)アミノ酸配列にも関する。

20

#### 【0052】

特に、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドが、 $10^{-5}$ モル/L $\sim 10^{-12}$ モル/L以下、及び好ましくは $10^{-7}$ モル/L $\sim 10^{-12}$ モル/L以下、及びより好ましくは $10^{-8}$ モル/L $\sim 10^{-12}$ モル/Lの解離定数( $K_D$ )で(即ち $10^5$ L/モル $\sim 10^{12}$ L/モル以上、及び好ましくは $10^7$ L/モル $\sim 10^{12}$ L/モル以上、及びより好ましくは $10^8$ L/モル $\sim 10^{12}$ L/モルの結合定数( $K_A$ )で)(本明細書で記載のように)GPCRの細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ、又はこれに由来するペプチドと結合するようなもの、及び/又は

30

$10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim \text{約} 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、好ましくは $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、より好ましくは $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ( $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 等)の $k_{on}$ 速度で(本明細書で記載のように)GPCRの細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ、又はこれに由来するペプチドと結合するようなもの、及び/又は

$1 \text{ s}^{-1}$ ( $t_{1/2} = 0.69 \text{ s}$ ) $\sim 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ ( $t_{1/2}$ が数日である略不可逆的な複合体の場合)、好ましくは $10^{-2} \text{ s}^{-1} \sim 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 、より好ましくは $10^{-3} \text{ s}^{-1} \sim 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ ( $10^{-4} \text{ s}^{-1} \sim 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 等)の $k_{off}$ 速度で(本明細書で記載のように)GPCRの細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ、又はこれに由来するペプチドと結合するようなものであるのが好ましい。

40

#### 【0053】

好ましくは、本発明の一価のアミノ酸配列(又は本発明のアミノ酸配列を1つだけ含有するポリペプチド)が、500nM未満、好ましくは200nM未満、より好ましくは10nM未満(500pM未満等)の親和性で(本明細書で記載のように)GPCRの細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープと結合するようなものであるのが好ましい。

#### 【0054】

50

またこの態様によれば、本発明の任意の（本明細書で規定されるような）多価又は多重特異性のポリペプチドは好適には、同一の抗原上の2つ以上の異なる細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープに、例えば2つの異なる細胞外ループに、膜貫通ドメインの2つの異なる細胞外部分に、又は1つの細胞外ループ（one extracellular loops）と1つの細胞外ループとも指向性を有し得る。本発明のこのような多価又は多重特異性のポリペプチドは、所望のGPCR、及び/又はこのような多価又は多重特異性のポリペプチドの使用により得ることができる任意の他の所望の特性又は所望の特性の組合せに対する増大した結合活性（avidity：親和力）又は改善した選択性を有していてもよい（又はこれらに関して遺伝子操作していても（engineered）及び/又は選択されていてもよい）。

10

#### 【0055】

概して、GPCRの細胞外ループ又はドメイン（又はこれに由来する若しくはこれに基づく小ペプチド）に指向性を有する、及び/又はGPCRの細胞外ループ又はドメイン（又はこれに由来する若しくはこれに基づく小ペプチド）に関してスクリーニングされている、これを使用して選択されている、及び/又はこれに対して誘起されている、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドが、細胞表面上に存在するGPCR（又は少なくとも1つのそのサブユニット）の一部を形成するこのような細胞外ループ又はドメイン（又はこれに由来するペプチド）と結合する（特に本明細書で規定のように特異的に結合する）ことも可能であることが予測される。このため、このような細胞外ループ又はドメイン（に由来するペプチド）に、（本明細書で規定のように）本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドを生成する方法での特定の利用法を見出すことができ、このような方法及び使用は、このような細胞外ループ、ドメイン又はこれに由来するペプチドに指向性を有する及び/又はこれに対して誘起されている、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドと同様に、本発明のさらなる態様を形成する。

20

#### 【0056】

例えばこのような方法は以下を含み得る：

a) 所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）に対する免疫応答が誘起されるように、ラクダ科動物に所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）を含む好適な抗原、又はこれに由来する若しくはこれに基づく好適なペプチドを好適に免疫付与する工程。抗原は、所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）に対する免疫応答を誘起することが可能な任意の好適な抗原；例えば例示的でありこれに限定されないが、生きた状態で、かつ天然立体構造における表面上で所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）を過剰発現する全細胞；この細胞壁断片若しくはこのような細胞に由来する任意の他の好適な調製物；その表面上に所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）を有する小胞；所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）を含む、GPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7のサブユニット若しくはサブユニットの断片；又は所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）（のアミノ酸配列）を含む及び/又はこれに基づく合成若しくは半合成のペプチド；より好ましくは生きた状態で、かつ天然立体構造における表面上で所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）を過剰発現する全細胞（例えばHEK293）であり得る。

30

40

b) 上記GPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7を過剰発現する異なる（免疫付与に使用したもの以外の）幾つかの細胞型の細胞膜調製物を使用して、所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）との結合に関して選択する工程。これは、表面上で重鎖抗体を発現する細胞（例えば好適に免疫付与したラクダ科動物から得られたB細胞）のセット、コレクション若しくはライブラリから選択すると共に、1回目の選択で例えばCHO等の第1型の細胞、及び例えば2回目の選択で例えばCOS-7細胞等の第2の細胞型の細胞膜調製物を使用すること、例えば1

50

回目の選択で例えばC H O等の第1型の細胞、及び例えば2回目の選択で例えばC O S - 7細胞等の第2の細胞型の細胞膜調製物を使用することによってV<sub>H H</sub>配列若しくはナノボディ配列の(ナイーブ(naive)又は免疫)ライブラリから選択すること、又は例えば1回目の選択で例えばC H O等の第1型の細胞、及び例えば2回目の選択で例えばC O S - 7細胞等の第2の細胞型の細胞膜調製物を使用することによってV<sub>H H</sub>配列若しくはナノボディ配列をコードする核酸配列の(ナイーブ又は免疫)ライブラリから選択することにより実施することができ、これらは全てそれ自体が既知の方法で実施してもよい。

c) 任意で洗浄剤を用いずにP B S等のバッファーで穏やかに洗浄する工程。この方法はさらに任意でそれ自体が既知の他の好適な工程、例えば例示的でありこれに限定されないが、親和性成熟工程、所望のアミノ酸配列を発現する工程、所望の抗原(この場合、G P C R)との結合及び/又はこれに対する活性に関してスクリーニングする工程、所望のアミノ酸配列又はヌクレオチド配列を決定する工程、(例えば本明細書でさらに記載のように)1つ又は複数のヒト置換を導入する工程、好適な多価及び/又は多重特異性フォーマットでフォーマットする工程、所望の生物学的及び/又は生理学的特性に関してスクリーニングする(即ち本明細書に記載されるような好適なアッセイを使用する)工程、及び/又は1つ又は複数のこのような工程の任意の好適な組合せを1つ又は複数任意の好適な順番で含んでいてもよい。

#### 【0057】

このような方法及びこのような方法で得られたアミノ酸配列、並びにこれらを含むか又はこれらから本質的に成るタンパク質及びポリペプチドは本発明のさらなる態様を形成する。

#### 【0058】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、受容体シグナル伝達を活性化若しくは増大するように又は代替的には受容体シグナル伝達を低減若しくは阻害するように、内因性アゴニストと同じ部位で(即ちオルソステリック(orthosteric)部位で)G P C Rと結合することもできる。

#### 【0059】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、G P C Rの構成的活性を遮断するようにG P C Rと結合することもできる。

#### 【0060】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、アロステリック調節を媒介するようにG P C Rと結合する(例えばアロステリック部位でG P C Rと結合する)こともできる。このように、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、受容体における異なる領域と(例えばアロステリック部位で)結合することにより受容体機能を調節することができる。例えばGeorge et al., Nat Rev Drug Discov 1:808-820(2002)、Kenakin, Trends Pharmacol Sci 25:186-192(2002)及びRios et al., Pharmacol Ther 92:71-87(2001)を参照する。

#### 【0061】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、G P C R機能的ホモ二量体又はヘテロ二量体のアセンブリを阻害又は増強するようにG P C Rと結合することもできる。

#### 【0062】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、G P C R媒介性のシグナル伝達の期間を延長するようにG P C Rと結合することもできる。

#### 【0063】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、受容体-リガンド親和性を増大することにより受容体シグナル伝達を増強することもできる。

#### 【0064】

G P C R及びそのリガンドに指向性を有する本発明のポリペプチドは、リガンドとオルソステリック部位とを架橋させることによるリガンドとG P C Rとの結合の増強、及び/

10

20

30

40

50

又はリガンドとオルソステリック部位との結合の安定化を提供することもできる。このため本発明のさらなる態様は、少なくとも1つのGPCRプロテイナーゼに対する本発明のアミノ酸配列（例えばナノボディ）と、少なくとも1つのその天然リガンドに指向性を有する結合単位とを含む（本明細書で規定のような）本発明の多重特異性ポリペプチドに関する。このような多重特異性タンパク質はさらに本明細書に記載されるようなものであり得る。

【0065】

また本明細書中のさらなる開示から明らかなように、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドが指向性を有するGPCR及びそれらの所望の（治療）効果に応じて、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、GPCR（及び/又はGPCRのリガンド）及び/又はそれらに関連する生物学的機能、経路、機構、効果、シグナル伝達又は応答の（完全又は部分）アゴニスト、（完全又は部分的な、競合又は非競合）アンタゴニスト、又はインバースアゴニストとして作用し得る。これらは不可逆的に作用してもよいが、可逆的に作用するのが好ましい。

10

【0066】

好ましい実施の形態において、本発明のアミノ酸配列又はポリペプチドは、本発明のGPCRの（完全又は部分的な、競合又は非競合）アンタゴニスト、又はインバースアゴニストであり、より好ましくは本発明のアミノ酸配列又はポリペプチドは、本発明のGPCRの（完全又は部分的な、競合又は非競合）アンタゴニスト、又はインバースアゴニストであるナノボディである。

20

【0067】

本発明者らの結果は、一価及び/又は多価フォーマットのナノボディ、及び可能性としては本発明のアミノ酸配列又はポリペプチドも、構成的に活性のあるGPCR上でニュートラル（neutral）アンタゴニスト又はインバースアゴニストとして作用させることができることを示し、ナノボディプラットフォームの広範な適用性を示す。最も良く売れているGPCR薬物のかなりの数がニュートラルアンタゴニストではなくインバースアゴニストとして働き（Milligan G. (2003) .Mol. Pharmacol. 64:1271-1276）、インバースアゴニストは癌を含む幾つかの疾患に対して、ニュートラルアンタゴニストと比較して特異的な治療効果を有し得ることが主張されている（Kenakin T. (2004) .Mol. Pharmacol. 65:2-11）。さらにインバースアゴニストは、他の機能を阻害することに関してニュートラルアンタゴニストよりも優れている。

30

【0068】

好ましい実施の形態において、本発明のアミノ酸配列又はポリペプチドは「モノクローナル」アミノ酸配列又はポリペプチドであり、これは上記タンパク質又はポリペプチドに存在するGPCRに指向性を有する1つ又は複数のアミノ酸配列の少なくともそれぞれ（好ましくは上記タンパク質又はポリペプチドに存在する免疫グロブリン配列の全て）が当業者に一般的に理解されるような「モノクローナル」であることを意味する。しかしながらこの点において、本明細書でさらに記載のように、本発明は、同一のGPCRの異なる部分、領域、ドメイン、ループ又はエピトープに、特に同一のGPCRの異なる細胞外部分、領域、ドメイン、ループ又はエピトープに指向性を有する免疫グロブリン配列（特にモノクローナル免疫グロブリン配列）を2つ以上含む、多価又は多重特異性のタンパク質を明確に包含することに留意すべきである。

40

【0069】

また適用可能な場合、本発明のアミノ酸配列が、GPCRの2つ以上の抗原決定基、エピトープ、部分、ドメイン、サブユニット又は立体構造と結合することができることは、本発明の範囲内である。このような場合、本発明のアミノ酸配列及び/又はポリペプチドが結合する、GPCRの抗原決定基、エピトープ、部分、ドメイン、又はサブユニットは、本質的に同じであり得るか（例えば、GPCRが反復構造モチーフを含有するか、又は多量体形態で生じる場合）、又は異なり得る（後者の場合、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドが、同じであり得るか、若しくは異なり得る親和性及び/又は特異性で、GP

50

C Rのこのような異なる抗原決定基、エピトープ、部分、ドメイン、サブユニットと結合し得る)。また、例えば、GPCRが活性な立体構造及び不活性な立体構造で存在する場合、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは、これらの立体構造のいずれか一方に結合しても、又はこれらの立体構造の両方に(即ち、同じであり得る又は異なり得る親和性及び/又は特異性で)結合してもよい。また、例えば、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは、関連リガンドと結合するGPCRの立体構造と結合しても、関連リガンドと結合していないGPCRの立体構造と結合しても、又はこのような立体構造の両方と(また同じであり得る又は異なり得る親和性及び/又は特異性で)結合してもよい。

#### 【0070】

また本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは概して、GPCRの天然又は合成の類似体、変異体、突然変異体、対立遺伝子、部分及び断片全て;又は少なくとも、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドがGPCR(例えば野生型のGPCR)で結合する抗原決定基(複数可)又はエピトープ(複数可)と本質的に同じである抗原決定基又はエピトープを1つ又は複数含有する、GPCRのこれらの類似体、変異体、突然変異体、対立遺伝子、部分及び断片と少なくとも結合することが期待される。また、このような場合、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは、本発明のアミノ酸配列が(野生型)GPCRと結合する親和性及び特異性と同一か、又は異なる(即ちこれより高いか、又は低い)親和性及び/又は特異性で、このような類似体、変異体、突然変異体、対立遺伝子、部分及び断片と結合し得る。本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは、GPCRの類似体、変異体、突然変異体、対立遺伝子、部分及び断片によっては結合するものもあれば、結合しないものもあることも本発明の範囲内に含まれる。

10

20

#### 【0071】

GPCRが単量体形態及び1つ又は複数の多量体形態で存在する場合、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは、単量体形態のGPCRのみと結合するか、多量体形態のGPCRのみと結合するか、又は単量体及び多量体形態の両方のGPCRと結合することが本発明の範囲内である。同様に、このような場合、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは、本発明のアミノ酸配列が多量体形態のGPCRと結合する親和性及び特異性と同一か、又は異なる(即ちこれより高いか、又は低い)親和性及び/又は特異性で単量体形態のGPCRと結合し得る。

#### 【0072】

また、GPCRが、タンパク質複合体を形成するように他のタンパク質又はポリペプチドと(例えば複合サブユニットと)会合することができる場合、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドが、会合していない状態でGPCRと結合するか、会合した状態でGPCRと結合するか、又はその両方でGPCRと結合することが本発明の範囲内である。これら全ての場合で、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドが単量体で会合していない状態でGPCRと結合する親和性及び/又は特異性と同一か、又は異なり得る(即ちこれより高いか、又は低い)親和性及び/又は特異性でこのような多量体又は会合したタンパク質複合体と結合し得る。

30

#### 【0073】

また、当業者にとって明らかなように、GPCRに指向性を有するアミノ酸配列を2つ以上含有するタンパク質又はポリペプチドは、対応する単量体アミノ酸配列(複数可)よりも高い結合活性でGPCRと結合し得る。例えば、これらに限定されないが、GPCRの異なるエピトープに指向性を有するアミノ酸配列を2つ以上含有するタンパク質又はポリペプチドは、異なる単量体それぞれよりも高い結合活性で結合することができ(通常結合し)、GPCRに指向性を有するアミノ酸配列を2つ以上含有するタンパク質又はポリペプチドも、より高い結合活性でGPCRの多量体と結合することができる(通常結合する)。

40

#### 【0074】

概して、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドは、当業者にとって明らかなように、生物学的及び/又は治療的観点から最も関連がある形態のGPCR(単量体、多量体及び

50

会合している形態を含む)と少なくとも結合する。

【0075】

本明細書で想定される使用に好適である限り、本発明のアミノ酸配列及びポリペプチドの部分、断片、類似体、突然変異体、変異体、対立遺伝子及び/又は誘導体を使用すること、及び/又はこのような部分、断片、類似体、突然変異体、変異体、対立遺伝子及び/又は誘導体を1つ又は複数含むか、又はこれから本質的に成るタンパク質又はポリペプチドを使用することも本発明の範囲内である。このような部分、断片、類似体、突然変異体、変異体、対立遺伝子及び/又は誘導体は通常、GPCRとの結合に機能的な抗原結合部位(の少なくとも一部)を含有し、より好ましくはGPCRと特異的に結合することができ、さらにより好ましくは本明細書に規定のように(さらに本明細書に記載されるような(実際又は見掛けの) $K_D$ 値、(実際又は見掛けの) $K_A$ 値、 $k_{on}$ 速度及び/又は $k_{off}$ 速度、又は代替的に $IC_{50}$ 値として好適に測定される、及び/又は表される)親和性でGPCRと結合することができる。このような部分、断片、類似体、突然変異体、変異体、対立遺伝子、誘導体、タンパク質及び/又はポリペプチドの幾つかの非限定的な例は、本明細書のさらなる記載から明らかになる。また本発明のさらなる断片又はポリペプチドは、本明細書に記載の1つ又は複数の(より小さい)部分又は断片を好適に組み合わせることによって(即ち連結又は遺伝子融合によって)提供され得る。

10

【0076】

本明細書でさらに記載される、本発明の具体的であるが非限定的な一態様において、このような類似体、突然変異体、変異体、対立遺伝子、誘導体は、これらが由来する元となるアミノ酸配列に比べて(本明細書にさらに記載されるように)増大した血清半減期を有する。例えば、本発明のアミノ酸配列は、本発明のアミノ酸配列の誘導体の半減期が増大するように、半減期を延長する1つ又は複数の基又は部分(例えばPEG)と(化学的に又は別の方法で)連結し得る。

20

【0077】

具体的ではあるが非限定的な一態様では、本発明のアミノ酸配列は、免疫グロブリンフォールドを含むアミノ酸配列であり得るか、又は好適な条件(例えば生理的条件)下で(即ちフォールディングによって)免疫グロブリンフォールドを形成することができるアミノ酸配列であり得る。特にHalaby et al., J. (1999) Protein Eng. 12, 563-71による概説を参照する。好ましくは、免疫グロブリンフォールドを形成するように適切にフォールディングする場合、このようなアミノ酸配列は、GPCRと(本明細書に規定のように)特異的に結合することができ、より好ましくは本明細書に規定のように(さらに本明細書に記載されるような(実際又は見掛けの) $K_D$ 値、(実際又は見掛けの) $K_A$ 値、 $k_{on}$ 速度及び/又は $k_{off}$ 速度、又は代替的に $IC_{50}$ 値として好適に測定される、及び/又は表される)親和性でGPCRと結合することができる。また、このようなアミノ酸配列の部分、断片、類似体、突然変異体、変異体、対立遺伝子及び/又は誘導体は、免疫グロブリンフォールドを含むか、又は好適な条件下で免疫グロブリンフォールドを形成することができるようなものであるのが好ましい。

30

【0078】

具体的であるが、非限定的に、本発明のアミノ酸配列は、4つのフレームワーク領域(それぞれ、FR1~FR4)と、3つの相補性決定領域(それぞれ、CDR1~CDR3)とから本質的に成るアミノ酸配列、又はこのようなアミノ酸配列の任意の好適な断片(したがって通常、本明細書でさらに記載されるように、CDRの少なくとも1つを形成するアミノ酸残基の少なくとも幾つかを含有する)であり得る。

40

【0079】

本発明のアミノ酸配列は、具体的に免疫グロブリン配列又はその好適な断片、より具体的には免疫グロブリン可変ドメイン配列又はその好適な断片(例えば軽鎖可変ドメイン配列(例えば $V_L$ 配列)若しくはその好適な断片、又は重鎖可変ドメイン配列(例えば $V_H$ 配列)若しくはその好適な断片)であり得る。本発明のアミノ酸配列は、重鎖可変ドメイン配列である場合、従来 of 四本鎖抗体由来の重鎖可変ドメイン配列(例えば、これに限定

50

されないが、ヒト抗体由来の  $V_H$  配列) 又はいわゆる (本明細書に規定の) 「重鎖抗体」由来のいわゆる (本明細書に規定の)  $V_{HH}$  配列であり得る。

【0080】

しかし本発明が、本発明のアミノ酸配列 (又はこれを発現するのに使用される本発明のヌクレオチド配列) の起源に関しても、また本発明のアミノ酸配列又はヌクレオチド配列を生成又は入手する (又は生成若しくは入手した) 方法に関しても限定されないことに留意すべきである。したがって本発明のアミノ酸配列は、(任意の好適な種由来の) 天然アミノ酸配列、又は合成若しくは半合成のアミノ酸配列であり得る。本発明の具体的ではあるが非限定的な態様では、アミノ酸配列は (任意の好適な種由来の) 天然免疫グロブリン配列、又は合成若しくは半合成の免疫グロブリン配列であり、これにはこれらに限定されないが、(本明細書に規定の) 「ヒト化」免疫グロブリン配列 (例えば部分又は完全ヒト化マウス又はウサギ免疫グロブリン配列、特に部分又は完全ヒト化  $V_{HH}$  配列又はナノボディ)、(本明細書に規定の) 「ラクダ化」免疫グロブリン配列、並びに親和性成熟 (例えば、合成、ランダム又は天然免疫グロブリン配列から開始する)、CDR グラフト化、ベニヤリング (veneering)、異なる免疫グロブリン配列由来の断片の結合 (combining)、重複プライマーを使用した PCR アセンブリ、及び当業者に既知の免疫グロブリン配列を遺伝子操作する同様の技法、又は上記のいずれかの任意の好適な組合せ等の技法によって得られる免疫グロブリン配列が含まれる。例えば標準的なハンドブック、並びに本明細書に言及されるさらなる記載及び従来技術を参照する。

10

【0081】

同様に、本発明のヌクレオチド配列は、天然ヌクレオチド配列、又は合成若しくは半合成の配列であってもよく、例えば PCR によって好適な天然鑄型から単離される配列 (例えば細胞から単離される DNA 又は RNA)、ライブラリ (特に発現ライブラリ) から単離されたヌクレオチド配列、(それ自体が既知の任意の好適な技法 (例えばミスマッチ PCR) を使用して) 天然ヌクレオチド配列に突然変異を導入することによって調製されたヌクレオチド配列、重複プライマーを使用して PCR によって調製されたヌクレオチド配列、又はそれ自体が既知の DNA 合成のための技法を使用して調製されたヌクレオチド配列であり得る。

20

【0082】

本発明のアミノ酸配列は特に、ドメイン抗体 (又はドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列)、単一ドメイン抗体 (又は単一ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列)、「dAb」(又は dAb としての使用に好適なアミノ酸配列)、又はナノボディ (商標) (本明細書に規定のように、 $V_{HH}$  配列を含むが、これに限定されない)、他の単一可変ドメイン、又はこれらのいずれか 1 つの任意の好適な断片であり得る。(単一)ドメイン抗体の概説に関しては、上記で言及された従来技術、及び欧州特許第 0368684 号も参照する。「dAb」という用語に関しては、例えば Ward et al. (Nature 1989 Oct 12; 341 (6242): 544-6)、Holt et al. (Trends Biotechnol., 2003, 21 (11): 484-490)、及び例えば国際公開第 06/030220 号、国際公開第 06/003388 号、及び Domantis Ltd. の他の公開特許出願を参照する。哺乳動物起源ではないため、本発明に関してはあまり好ましくはないが、単一ドメイン抗体又は単一可変ドメインは、或る特定種のサメ由来である可能性があることにも留意すべきである (例えばいわゆる「IgNAR ドメイン」、例えば国際公開第 05/18629 号を参照されたい)。

30

40

【0083】

特に本発明のアミノ酸配列は、(本明細書で規定の) ナノボディ (商標) 又はその好適な断片 (備考: ナノボディ (商標) (Nanobody<sup>TM</sup>, Nanobodies<sup>TM</sup>) 及び ナノクローン (商標) は、Ablynx N. V. の商標である) であり得る。GPCR に指向性を有するこのようなナノボディは、本明細書中で「本発明のナノボディ」とも称される。

【0084】

ナノボディの概説に関しては、以下のさらなる記載、及び本明細書で引用される従来技術を参照する。しかしこれに関して、本明細書及び従来技術は主に、いわゆる「 $V_H$  3 群

50

」のナノボディ（即ちDP-47、DP-51又はDP-29等のV<sub>H</sub>3群のヒト生殖細胞系列の配列との高度な配列相同性を有するナノボディ）を説明し、このナノボディは本発明の好ましい態様を形成することに留意すべきである。しかし概して、本発明は最も広範な意味で、GPCRに指向性を有する任意種のナノボディを包含し、例えば2006年4月14日付けでAblynxN.V.により出願された「DP-78様ナノボディ（DP-78-like Nanobodies）」と題する米国仮特許出願第60/792,279号に記載されるように、例えばいわゆる「V<sub>H</sub>4群」に属するナノボディ（即ちDP-78等のV<sub>H</sub>4群のヒト生殖細胞系列の配列との高度な配列相同性を有するナノボディ）も包含することに留意すべきである。

【0085】

10

概して、ナノボディ（特にV<sub>H</sub>H配列及び部分ヒト化ナノボディ）は特に、（また本明細書にさらに記載される）1つ又は複数のフレームワーク配列における（本明細書に記載される）1つ又は複数の「特徴的な（Hallmark：ホールマーク）残基」の存在を特徴とし得る。

【0086】

したがって概して、ナノボディは、（一般）構造：

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

（ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～フレームワーク領域4を表し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～相補性決定領域3を表し、1つ又は複数の特徴的な残基は本明細書にさらに規定されるようなものである）を有するアミノ酸配列として定義することができる。

20

【0087】

具体的にナノボディは、（一般）構造：

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

（ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～フレームワーク領域4を表し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～相補性決定領域3を表し、フレームワーク配列は本明細書にさらに規定されるようなものである）を有するアミノ酸配列であり得る。

【0088】

より具体的に、ナノボディは、（一般）構造：

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

（ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～フレームワーク領域4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～相補性決定領域3を指す）を有するアミノ酸配列であり得る；ここで

30

i) 好ましくは、カバットナンバリング（Kabat numbering）による11位、37位、44位、45位、47位、83位、84位、103位、104位及び108位のアミノ酸残基の1つ又は複数は、以下の表A-3で言及する特徴的な残基から選択され、

ii) 上記アミノ酸配列は、配列番号1～配列番号22のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有し、ここでアミノ酸同一性の程度を決定するためにCDR配列を形成するアミノ酸残基（配列番号1～配列番号22の配列においてXで示す）は無視する。

40

【0089】

これらのナノボディにおいて、CDR配列は概して、本明細書中にさらに規定されるようなものである。

【0090】

したがって、本発明は、GPCRと（本明細書に規定のように）結合することができる、及び/又はGPCRに指向性を有するこのようなナノボディ、その好適な断片、及びこのようなナノボディ及び/又は好適な断片を1つ又は複数含むか、又はこれらから本質的に成るポリペプチドにも関する。

【0091】

50

配列番号 238 ~ 配列番号 253 はヒト CXCR4 に対して誘起されている多くの V<sub>H</sub> 配列のアミノ酸配列を与える (表 1)。

【 0 0 9 2 】

表 1 : ヒト CXCR4 (配列番号 254) に指向性を有するナノボディ :

【 表 1 】

配列番号	名称	アミノ酸配列
238	238C1,D 2382	EVQLVESGGGLVQTTGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNKNMMLYLQMY SLKPEDTAVYYCAKSRVSRRTGLTYDNRGQGTQVTVSS
239	238D4,G 2393	EVQLMESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFNNYAMGWFRRAP GKEREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYL QMNSLKPEDTAVYTCASAIGSGALRRFEYDYSGGGTQVTVSS
240	237B5	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSIHTMSWVRQAPG KGP EWVSTIKPSGDTTNYANAVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLKPEDTAVYYCAKDYFGTGVRRGQGTQVTVSS
241	237B6,A 5,D2,D3, E4,F4,G 2,G4,xH 5,237F1, C5,G1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISWNGGSTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLKSEDTAEYYCARDQGPFFYSGTYYYTRQYGYRGQGTQVTVS S
242	238B10	EVQLVESGGGFVQAGGSLRLSCETSGRPLLGYTIAWFRQVPGK EREFVAYHRWSDGANLYADSVKGRFTISGHNKNTVSLQMNS LKPEDTAVYYCAAARMTTSDNKEYLYWGQGTQVTVSS
243	238C5,G 2,xH5,23 8C3,D6, E6	EVQLMESGGGLVQAGGSLRLACAASGFTFEDYAIGWFRKAPG KEREGVSCISGSDGSTTYADSVKGRFTISTDNKNTVYLEMNS LKPEDTAVYYCAQQYGVGGRVVCPPYEYDVWGQGTQVTVS S
244	238F7	EVQLVESGGGFVQAGGSLRLSCETSGRPLLGYTIAWFRQVPGK EREFVAYHRWSDGANLYADSVKGRFTISGHNKNTVSLQMNS LKPEDTAVYYCAAAMTTSDNKEYLYWGQGTQVTVSS
245	238H2	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGLTFSPSAMAWYRQGP KERDFVASTIWSRGDTYFADSVKGRFTISRDTANYTLYLQMN LKPEDTAVYYCSLRVRPYGQYDYWGQGTQVTVSS
246	237D4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISWNGGSADYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLKSEDTAVYYCAKDQGPFFYSGTYYYTKGYAYWGQGTQVTV SS
247	238F3	EVQLVESGGGLAQAGGSLRLSCAASGRTYAMGWFRQAPGKE REFVTTSLITDNIYADSVKGRFTLTRDNGKNTVYLQMDSLKP DDTAVYFCAARQNYRSVFGAKDYDYWGQGTQVTVSS
248	237A6	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIFSLNAMGWYRQAPG KQRELVAGITSTSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMN LKPEDTAVYYCNVDCPDYYSYDYECPLEDRGQGTQVTVSS
249	237D1	EVQLVESGGGLAQPGGSLRLTCEASGVITYSVNDMGWYRQAPG KQRELVAVITSGGTNYVDSVKGRFTISGDNKNTVYLQMN LKPEDTAVYYCSIYSSGISTLRSWGQGTQVTVSS
250	237-E1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEVSGFTRDYITIGWFRQAPGK EREGVSCISSDSTAYLGSVQGRFTVSRDNKNTVYLQMN LKPEDTAVYYCALBSADSRCSIGSIGFTWLYNNWGQGTQVTVSS
251	237G7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASSFIGNYHAIWVLRQAPGK ELEGVSCITSRDSITYYASFVKGRFTISRDDAKNTVYLQMN LKPEDTAVYYCAVBTSMTCP TLVRFNYRGQGTQVTVSS
252	238C4	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCKASGTFNNYAMGWFRRAP GKEREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYL QMNTLKPEDTAVYTCASAIGSGALRRFEYDYSGGGTQVTVS S
253	237C1	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSFFSINAMGWYRQAPG KQRELVASITSGGSTVYADSVKGRFTISRDNNTVYLQMN LKPEDTAVYYCNADGVPEWGVKQYDPD TYRGQGTQVTVSS

10

20

30

40

【 0 0 9 3 】

【表 1 - 1】

表 1. 1: ヒトCXCR4(配列番号254)に指向性を有するナノボディのCDR

配列番号	名称	アミノ酸配列
142	CDR1 of 238C1,D2	SYAMS
143	CDR1 of 238D4,G3	NYAMG
144	CDR1 of 237B5	IHTMS
145	CDR1 of 237B6,A5,D2,D3,E4,F4,G2, G4,xH5,237F1,C5,G1	DYAMS
146	CDR1 of 238B10	GYTIA
147 <sup>6</sup>	CDR1 of 238C5,G2,xH5,238C3,D6,E	DYAIG
148	CDR1 of 238F7	GYTIA
149	CDR1 of 238H2	PSAMA
150	CDR1 of 237D4	DYAMS
151	CDR1 of 238F3	MG
152	CDR1 of 237A6	LNAMG
153	CDR1 of 237D1	VNDMG
154	CDR1 of 237E1	YYTIG
155	CDR1 of 237G7	YHAIV
156	CDR1 of 238C4	NYAMG
157	CDR1 of 237C1	INAMG
174	CDR2 of 238C1,D2	GIKSSGDSTRYAGSVKG
175	CDR2 of 238D4,G3	AITRSGVRSGVSAIYGDSVKD
176	CDR2 of 237B5	TIKPSGDTTNYANAVKG
177	CDR2 of 237B6,A5,D2,D3,E4,F4,G2, G4,xH5,237F1,C5,G1	AISWNGGSTDYADSVKG
178	CDR2 of 238B10	YHRWSDGANLYADSVKG
179 <sup>6</sup>	CDR2 of 238C5,G2,xH5,238C3,D6,E	CISGSDGSTTYADSVKG
180	CDR2 of 238F7	YHRWSDGANLYADSVKG
181	CDR2 of 238H2	STIWSRGDTYFADSVKG
182	CDR2 of 237D4	AISWNGGSADYADSVKG
183	CDR2 of 238F3	TSRLITDNIYADSVKG
184	CDR2 of 237A6	GITSSTSTYYADSVKG

10

20

30

40

185	CDR2 of 237D1	VITSGGGTNYVDSVKG
186	CDR2 of 237E1	CISSSDGGSTAYLGSVQG
187	CDR2 of 237G7	CITSRDSITYYASFVKG
188	CDR2 of 238C4	AITRSGVRSVSAIYGDSVKD
189	CDR2 of 237C1	SITSGGSTVYADSVKG
206	CDR3 of 238C1,D2	SRVSRGTGLTYDN
207	CDR3 of 238D4,G3	SAIGSGALRRFEYDY
208	CDR3 of 237B5	DYFGTGV
209	CDR3 of 237B6,A5,D2,D3,E4,F4,G2, G4,xH5,237F1,C5,G1	DQGPFYSGTYYYTRQYGY
210	CDR3 of 238B10	ARMTTSDNDKEYLY
211 <sup>6</sup>	CDR3 of 238C5,G2,xH5,238C3,D6,E	QYGVGGRVWCPGPEYDV
212	CDR3 of 238F7	AWMTTSDNDKEYLY
213	CDR3 of 238H2	RVRPYGQYDY
214	CDR3 of 237D4	DQGPFYSGTYYYTKGYAY
215	CDR3 of 238F3	RQNYRSRVFGAKDYDY
216	CDR3 of 237A6	DCPDYYSYECPLED
217	CDR3 of 237D1	YYSSGISTLRS
218	CDR3 of 237E1	BSADSRCSIGSIGFTWLYNN
219	CDR3 of 237G7	BTSMTCP TLIVRFNY
220	CDR3 of 238C4	SAIGSGALRRFEYDY
221	CDR3 of 237C1	DGVPEWGVKQYPTDY

10

20

30

## 【 0 0 9 4 】

ヒトCXCR7に指向性を有する本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチド（特にアンタゴニスト）、並びにこれを含む組成物に、例えば創傷治癒、AIDS及び癌の予防及び治療における特定の利用法を見出すことができることが予測される。

## 【 0 0 9 5 】

したがって本発明の特に好ましいナノボディの幾つかが、ヒトCXCR4と（本明細書でさらに規定されるように）結合することができ、及び/又はそれらに指向性を有し、

i) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のアミノ酸配列の少なくとも1つとの80%のアミノ酸同一性を有し（ここでアミノ酸同一性の程度を決定するためにCDR配列を形成するアミノ酸残基は無視する）（またこれに関しては、表A-1を参照し、この図は配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のナノボディのフレームワーク1配列（配列番号126～配列番号141）、フレームワーク2配列（配列番号158～配列番号173）、フレームワーク3配列（配列番号190～配列番号205）及びフレームワーク4配列（配列番号222～配列番号237）を列挙する）（フレームワーク1配列の1位～4位及び27位～30位のアミノ酸残基に関しては、以下で為されるコメントも参照する。したがって、アミノ酸同一性の程度を決定するためにこれらのアミノ酸残基は無視するのが好ましい）、また

40

50

i i) 好ましくはカバットナンバリングによる 11 位、37 位、44 位、45 位、47 位、83 位、84 位、103 位、104 位及び 108 位のアミノ酸残基の 1 つ又は複数、以下の表 A - 3 で言及される特徴的な残基から選択される、ナノボディである。

【0096】

これらのナノボディにおいて、概して CDR 配列は本明細書にさらに規定されるようなものである。

【0097】

またこのようなナノボディは、任意で好適な方法で任意の好適な供給源で得られてもよく、例えば（即ち好適な種のラクダ科動物由来の）天然  $V_{HH}$  配列、又は合成若しくは半合成のアミノ酸配列であってもよく、これにはこれらに限定されないが、（本明細書に規定の）「ヒト化」ナノボディ、（本明細書に規定の）「ラクダ化」免疫グロブリン配列（特にラクダ化重鎖可変ドメイン配列）、並びに本明細書にさらに記載されるように、親和性成熟（例えば、合成、ランダム又は天然免疫グロブリン配列から開始する）、CDR グラフト化、ベニヤリング、異なる免疫グロブリン配列由来の断片の結合、重複プライマーを使用した PCR アセンブリ、及び当業者に既知の免疫グロブリン配列を遺伝子操作する同様の技法、又は上記のいずれかの任意の好適な組合せ等の技法によって得られるナノボディが含まれる。また、ナノボディが  $V_{HH}$  配列を含む場合、上記ナノボディは、1 つ又は複数の本発明のさらなる（部分又は完全）ヒト化ナノボディを提供するように、本明細書でさらに記載されるように好適にヒト化され得る。同様に、ナノボディが合成又は半合成の配列（例えば部分ヒト化配列）を含む場合、上記ナノボディは、同様に 1 つ又は複数の本発明のさらなる（部分又は完全）ヒト化ナノボディを提供するように、同様に本明細書で記載されるように任意でさらに好適にヒト化され得る。

【0098】

特にヒト化ナノボディは、概してこれまでの段落でナノボディに関して規定されたようなアミノ酸配列であり得るが、この中に（本明細書に規定の）ヒト化置換である、及び/又はヒト化置換に対応する少なくとも 1 つのアミノ酸残基が（特にフレームワーク残基の少なくとも 1 つに）存在する。本明細書中の開示に基づいて、当業者にとって、幾つかの好ましいが非限定的なヒト化置換（及びその好適な組合せ）は明らかになる。付加的に又は代替的に、天然  $V_{HH}$  配列のフレームワーク領域の配列を、1 つ又は複数の密接に関連したヒト  $V_H$  配列の対応するフレームワーク配列と比較することによって、他の潜在的に有用なヒト化置換を確認することができ、その後このようにして決定した潜在的に有用なヒト化置換（又はその組合せ）の 1 つ又は複数を上記  $V_{HH}$  配列に（それ自体が既知の任意の方法で、本明細書にさらに記載のように）導入することができ、得られたヒト化  $V_H$  配列を、標的に対する親和性、安定性、発現の容易さ及びレベル、及び/又は他の所望の特性に関して試験することができる。このように、或る程度の試行錯誤によって、本明細書中の開示に基づき、当業者は、他の好適なヒト化置換（又はその好適な組合せ）を決定することができる。また上記に基づいて、ナノボディ（のフレームワーク領域）を部分ヒト化又は完全ヒト化してもよい。

【0099】

幾つかの特に好ましい本発明のヒト化ナノボディは配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238 及び配列番号 239 のナノボディのヒト化変異体である。

【0100】

したがって本発明の他の好ましいナノボディの幾つかは、ヒト CXCR4 と（本明細書でさらに規定されるように）結合することができ、

i) 配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238 及び配列番号 239 のアミノ酸配列の 1 つのヒト化変異体であり、及び/又は

ii) 配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238 及び配列番号 239 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つと 80% のアミノ酸同一性を有し（ここでアミノ酸同一性の程度を決定するために CDR 配列を形成するアミノ酸残基は無視する）、また

i) 好ましくはカバットナンバリングによる 11 位、37 位、44 位、45 位、47 位

10

20

30

40

50

、 83位、84位、103位、104位及び108位のアミノ酸残基の1つ又は複数が、以下の表A-3で言及される特徴的な残基から選択される、ナノボディである。

【0101】

本発明の別の特定の態様によれば、本発明は、GPCRとの結合に特に適する多くのアミノ酸残基のストレッチ（即ち小ペプチド）を提供する。これらのアミノ酸残基のストレッチは、特に本発明のアミノ酸配列の抗原結合部位の（一部）を形成するように、本発明のアミノ酸配列に存在し得る、及び/又は組み込まれ得る。初めに、これらのアミノ酸残基のストレッチを重鎖抗体のCDR配列、又はGPCRに対して誘起するV<sub>H</sub>H配列として生成した（又は本明細書でさらに記載されるように、このようなCDR配列に基づき得る、及び/又はこれに由来し得る）ので、これらのアミノ酸残基のストレッチは概して、本明細書で「CDR配列」（即ちそれぞれCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列）とも称される。しかし、本発明が最も広範な意味で、これらのアミノ酸残基のストレッチによる本発明のアミノ酸配列とGPCRとの結合が可能である限り、これらのアミノ酸残基のストレッチが本発明のアミノ酸配列において有し得る特定の構造的役割又は機能に限定されないことに留意すべきである。したがって概して、本発明は最も広範な意味で、アミノ酸配列全体が、GPCRと結合することができる結合ドメイン及び/又は結合単位を形成するように、GPCRと結合することができ、本明細書に記載の1つ又は複数のCDR配列、特に2つ以上のこのようなCDR配列の好適な組合せを含む任意のアミノ酸配列を含み、これらは1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列を介して互いに好適に連結する。しかし、本発明のアミノ酸配列における1つだけのこのようなCDR配列の存在は、それ自体で既にGPCRと結合することができる本発明のアミノ酸配列を提供するのに十分であり得ることに留意すべきである。例えばここでもまた、国際公開第03/050531号に記載される、いわゆる「促進断片（Expedite fragments）」を参照する。

10

20

【0102】

したがって別の具体的ではあるが非限定的な態様において、本発明のアミノ酸配列は、本明細書に記載のCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列（又はこれらの任意の好適な組合せ）から成る群から選択されるアミノ酸配列を少なくとも1つ含むアミノ酸配列であり得る。特に、本発明のアミノ酸配列は、少なくとも1つの抗原結合部位（該抗原結合部位は、本明細書に記載のCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列（又はこれらの任意の好適な組合せ）から成る群から選択されるアミノ酸配列を少なくとも1つ含む）を含むアミノ酸配列であり得る。

30

【0103】

概して本発明のこの態様において、本発明のアミノ酸配列は、アミノ酸残基のストレッチ（該アミノ酸残基のストレッチは、本明細書に記載のCDR配列の少なくとも1つの配列に対応するアミノ酸配列を有する）を少なくとも1つ含む任意のアミノ酸配列であり得る。このようなアミノ酸配列は、免疫グロブリンフォールドを含んでも、又は含んでいなくてもよい。例えば、これに限定されないが、このようなアミノ酸配列は、このようなCDR配列を少なくとも1つ含むが、（完全）免疫グロブリンフォールドを形成するのに十分な大きさではない免疫グロブリン配列の好適な断片であり得る（例えば同様に、国際公開第03/050531号に記載される、「促進断片」を参照する）。代替的に、このようなアミノ酸配列は、このようなCDR配列に対応する（即ちその抗原結合部位の一部として）アミノ酸残基のストレッチを少なくとも1つ含む、好適な「タンパク質骨格」であり得る。アミノ酸配列を提示するのに好適な骨格が当業者にとって明らかであり、例えばこれらに限定されないが、（即ち本明細書に既に記載の免疫グロブリン配列以外の）免疫グロブリンに基づく若しくはこれに由来する結合骨格、プロテインAドメイン由来のタンパク質骨格（例えばアフィボディ（Affibodies）（商標））、テングミスタット、フィブロネクチン、リポカリン、CTLA-4、T細胞受容体、設計アンキリン反復、アビマー（avimers）及びPDZドメイン（Binz et al., Nat. Biotech2005, Vol 23:1257）、並びにDNA又はRNAに基づく結合部分（DNAアプタマー又はRNAアプタマーを含むが、これに限定されない）（Ulrich et al., Comb Chem High Throughput Screen 2006 9

40

50

(8) : 619-32) が含まれる。

【0104】

同様に、これらのCDR配列を1つ又は複数含む、任意の本発明のアミノ酸配列は、GPCRと(本明細書に規定のように)特異的に結合することができるようなもの、及びより具体的には本明細書に規定のように(さらに本明細書に記載されるような(実際又は見掛けの) $K_D$ 値、(実際又は見掛けの) $K_A$ 値、 $k_{on}$ 速度及び/又は $k_{off}$ 速度、又は代替的に $IC_{50}$ 値として好適に測定される、及び/又は表される)親和性でGPCRと結合することができるようなものであるのが好ましい。

【0105】

より具体的には、本発明のこの態様によるアミノ酸配列は、抗原結合部位を少なくとも1つ含む任意のアミノ酸配列であって、上記抗原結合部位が、(i)第1のアミノ酸配列が本明細書に記載のCDR1配列から選択される場合、第2のアミノ酸配列は本明細書に記載のCDR2配列若しくは本明細書に記載のCDR3配列から選択される; (ii)第1のアミノ酸配列が本明細書に記載のCDR2配列から選択される場合、第2のアミノ酸配列は本明細書に記載のCDR1配列若しくは本明細書に記載のCDR3配列から選択される; 又は(iii)第1のアミノ酸配列が本明細書に記載のCDR3配列から選択される場合、第2のアミノ酸配列は本明細書に記載のCDR1配列若しくは本明細書に記載のCDR3配列から選択されるように、本明細書に記載のCDR1配列、本明細書に記載のCDR2配列及び本明細書に記載のCDR3配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を少なくとも2つ含む、任意のアミノ酸配列であり得る。

【0106】

さらにより具体的には、本発明のアミノ酸配列は、抗原結合部位を少なくとも1つ含むアミノ酸配列であって、上記抗原結合部位が、第1のアミノ酸配列が本明細書に記載のCDR1配列から選択され、第2のアミノ酸配列が本明細書に記載のCDR2配列から選択され、第3のアミノ酸配列が本明細書に記載のCDR3配列から選択されるように、本明細書に記載のCDR1配列、本明細書に記載のCDR2配列及び本明細書に記載のCDR3配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を少なくとも3つ含む、アミノ酸配列であり得る。CDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列の好ましい組合せは本明細書のさらなる記載から明らかになる。当業者にとって明らかのように、このようなアミノ酸配列は(本明細書でさらに記載のように)免疫グロブリン配列であるのが好ましいが、例えば上記CDR配列を提示するのに好適な骨格を含む任意の他のアミノ酸配列でもあり得る。

【0107】

したがって具体的であるが非限定的な一態様において、本発明はGPCRに指向性を有するアミノ酸配列に関し、該アミノ酸配列は以下のものから成る群から選択されるアミノ酸残基のストレッチを1つ又は複数含む:

a) 配列番号142 ~ 配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列;

b) 配列番号142 ~ 配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列;

c) 配列番号142 ~ 配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列;

d) 配列番号174 ~ 配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列;

e) 配列番号174 ~ 配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列;

f) 配列番号174 ~ 配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有す

10

20

30

40

50

るアミノ酸配列；

g) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列；

h) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

i) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列；又は

それらの任意の好適な組合せ。

10

【0108】

本発明のアミノ酸配列が b) 及び / 又は c) によるアミノ酸配列を 1 つ又は複数含有する場合、

i) b) 及び / 又は c) によるこのようなアミノ酸配列において任意のアミノ酸置換は、(本明細書で規定されるように) 対応する a) によるアミノ酸配列と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく；及び / 又は

ii) b) 及び / 又は c) によるアミノ酸配列は、対応する a) によるアミノ酸配列と比較して、アミノ酸置換だけを含むし、アミノ酸欠失又は挿入は含有しないのが好ましく；及び / 又は

iii) b) 及び / 又は c) によるアミノ酸配列は、それ自体が既知の 1 つ又は複数の親和性成熟技法を用いる親和性成熟によって a) によるアミノ酸配列から誘導されるアミノ酸配列であり得る。

20

【0109】

同様に、本発明のアミノ酸配列が e) 及び / 又は f) によるアミノ酸配列を 1 つ又は複数含有する場合、

i) e) 及び / 又は f) によるこのようなアミノ酸配列において任意のアミノ酸置換は、(本明細書で規定されるように) 対応する d) によるアミノ酸配列と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく；及び / 又は

ii) e) 及び / 又は f) によるアミノ酸配列は、対応する d) によるアミノ酸配列と比較して、アミノ酸置換だけを含むし、アミノ酸欠失又は挿入は含有しないのが好ましく；及び / 又は

30

iii) e) 及び / 又は f) によるアミノ酸配列は、それ自体が既知の 1 つ又は複数の親和性成熟技法を用いる親和性成熟によって d) によるアミノ酸配列から誘導されるアミノ酸配列であり得る。

【0110】

また同様に、本発明のアミノ酸配列が h) 及び / 又は i) によるアミノ酸配列を 1 つ又は複数含有する場合、

i) h) 及び / 又は i) によるこのようなアミノ酸配列において任意のアミノ酸置換は、(本明細書で規定されるように) 対応する g) によるアミノ酸配列と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく；及び / 又は

40

ii) h) 及び / 又は i) によるアミノ酸配列は、対応する g) によるアミノ酸配列と比較して、アミノ酸置換だけを含むし、アミノ酸欠失又は挿入は含有しないのが好ましく；及び / 又は

iii) h) 及び / 又は i) によるアミノ酸配列は、それ自体が既知の 1 つ又は複数の親和性成熟技法を用いる親和性成熟によって g) によるアミノ酸配列から誘導されるアミノ酸配列であり得る。

【0111】

直前の (last preceding) 段落は概して、それぞれ b)、c)、e)、f)、h) 又は i) によるアミノ酸配列を 1 つ又は複数含む、任意の本発明のアミノ酸配列にも適用されることを理解されたい。

50

## 【0112】

この特定の態様において、アミノ酸配列は以下のものから成る群から選択されるアミノ酸残基のストレッチを1つ又は複数含むのが好ましい：

- i) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；
  - ii) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；及び
  - iii) 配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列；又は
- それらの任意の好適な組合せ。

10

## 【0113】

また好ましくは、このようなアミノ酸配列において、少なくとも1つの上記アミノ酸残基のストレッチがGPCRとの結合に関する抗原結合部位の一部を形成する。

## 【0114】

より具体的ではあるが、同様に非限定的な態様において、本発明は、(i)アミノ酸残基の第1のストレッチがa)、b)若しくはc)によるアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチはd)、e)、f)、g)、h)若しくはi)によるアミノ酸配列の1つに対応し；(ii)アミノ酸残基の第1のストレッチがd)、e)若しくはf)によるアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチはa)、b)、c)、g)、h)若しくはi)によるアミノ酸配列の1つに対応し；又は(iii)アミノ酸残基の第1のストレッチがg)、h)若しくはi)によるアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチはa)、b)、c)、d)、e)若しくはf)によるアミノ酸配列の1つに対応するように、以下のものから成る群から選択されるアミノ酸残基のストレッチを2つ以上含むGPCRに指向性を有するアミノ酸配列に関する：

20

- a) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；
- b) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- c) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列；
- d) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；
- e) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- f) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列；
- g) 配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列；
- h) 配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- i) 配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列。

30

40

## 【0115】

50

この特定の態様において、アミノ酸配列は、(i)アミノ酸残基の第1のストレッチが配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチは配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列若しくは配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の1つに対応し；(ii)アミノ酸残基の第1のストレッチが配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチは配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列若しくは配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の1つに対応し；又は(iii)アミノ酸残基の第1のストレッチが配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチは配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列若しくは配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の1つに対応するように、以下のものから成る群から選択されるアミノ酸残基のストレッチを2つ以上含むのが好ましい：

i) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；

ii) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；及び

iii) 配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列。

【0116】

また同様に好ましくは、このようなアミノ酸配列において、少なくとも2つのアミノ酸残基のストレッチがGPCRとの結合に関する抗原結合部位の一部を形成する。

【0117】

さらにより具体的であるが、非限定的な態様において、本発明は、アミノ酸残基のストレッチを3つ以上含む、GPCRに指向性を有するアミノ酸配列であって、アミノ酸残基の第1のストレッチが、

a) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；

b) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

c) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から選択され；

アミノ酸残基の第2のストレッチが、

d) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；

e) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

f) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され；

アミノ酸残基の第3のストレッチが、

g) 配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列；

10

20

30

40

50

h) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

i) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択される、アミノ酸配列に関する。

【0118】

好ましくはこの特定の態様において、アミノ酸残基の第 1 のストレッチが配列番号 142 ~ 配列番号 157、より好ましくは配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列から成る群から選択され；アミノ酸残基の第 2 のストレッチが配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列から成る群から選択され；アミノ酸残基の第 3 のストレッチが配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列から成る群から選択される。

10

【0119】

同様に好ましくは、このようなアミノ酸配列において、少なくとも 3 つのアミノ酸残基のストレッチが GPCR との結合に関する抗原結合部位の一部を形成する。

【0120】

アミノ酸配列のこのようなストレッチの好ましい組合せは本明細書のさらなる開示から明らかになる。

【0121】

好ましくはこのようなアミノ酸配列において、CDR 配列が、配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238 及び配列番号 239 のアミノ酸配列のうちの少なくとも 1 つの CDR 配列との少なくとも 70% のアミノ酸同一性、好ましくは少なくとも 80% のアミノ酸同一性、より好ましくは少なくとも 90% のアミノ酸同一性（95% 以上のアミノ酸同一性等）、又はさらに本質的に 100% のアミノ酸同一性を有する。例えば、（本明細書中に記載の方法で）上記アミノ酸配列と、配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238 及び配列番号 239 の配列の 1 つ又は複数とのアミノ酸同一性の程度を求めることによって、このアミノ酸同一性の程度を決定することができ、ここではフレームワーク領域を形成するアミノ酸残基は無視する。また、このような本発明のアミノ酸配列は、本明細書中でさらに記載するようなものであり得る。

20

30

【0122】

またこのようなアミノ酸配列は、（本明細書に規定のように）GPCR と特異的に結合することができるようなもの、及びより具体的には本明細書に規定のように（本明細書にさらに記載されるような（実際又は見掛けの） $K_D$  値、（実際又は見掛けの） $K_A$  値、 $k_{on}$  速度及び / 又は  $k_{off}$  速度、又は代替的に  $IC_{50}$  値として好適に測定される、及び / 又は表される）親和性で GPCR と結合することができるようなものであるのが好ましい。

【0123】

本発明のアミノ酸配列が、4 つのフレームワーク領域（それぞれ、FR1 ~ FR4）と、3 つの相補性決定領域（それぞれ、CDR1 ~ CDR3）とから本質的に成る場合、本発明のアミノ酸配列は、CDR1 が、

40

a) 配列番号 142 ~ 配列番号 157、より好ましくは配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列；

b) 配列番号 142 ~ 配列番号 157、より好ましくは配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

c) 配列番号 142 ~ 配列番号 157、より好ましくは配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、及び / 又は CDR2 が、

50

d) 配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列；

e) 配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

f) 配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、及び / 又は CDR3 が、

g) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列；

h) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

i) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択されるようなものであるのが好ましい。

#### 【0124】

特にこのような本発明のアミノ酸配列は、CDR1 が配列番号 142 ~ 配列番号 157、より好ましくは配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列から成る群から選択され、及び / 又は CDR2 が配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列から成る群から選択され、及び / 又は CDR3 が配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列から成る群から選択されるようなものであり得る。

#### 【0125】

特に本発明のアミノ酸配列が、4 つのフレームワーク領域（それぞれ、FR1 ~ FR4）と、3 つの相補性決定領域（それぞれ、CDR1 ~ CDR3）とから本質的に成る場合、本発明のアミノ酸配列は、CDR1 が、

a) 配列番号 142 ~ 配列番号 157、より好ましくは配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列；

b) 配列番号 142 ~ 配列番号 157、より好ましくは配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

c) 配列番号 142 ~ 配列番号 157、より好ましくは配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR2 が、

d) 配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列；

e) 配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

f) 配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR3 が、

g) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列；

h) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

10

20

30

40

50

ノ酸配列；

i) 配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択されるようなもの、又はこのようなアミノ酸配列の任意の好適な断片であるのが好ましい。

【0126】

特にこのような本発明のアミノ酸配列は、CDR1が配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列から成る群から選択され、かつCDR2が配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列から成る群から選択され、かつCDR3が配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列から成る群から選択されるようなものであり得る。

10

【0127】

同様に、CDR配列の好ましい組合せは、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

【0128】

またこのようなアミノ酸配列は、(本明細書に規定のように)GPCRと特異的に結合することができるようなもの、及びより具体的には本明細書に規定のように(本明細書にさらに記載されるような(実際又は見掛けの) $K_D$ 値、(実際又は見掛けの) $K_A$ 値、 $k_{on}$ 速度及び/又は $k_{off}$ 速度、又は代替的に $IC_{50}$ 値として好適に測定される、及び/又は表される)親和性でGPCRと結合することができるようなものであるのが好ましい。

20

【0129】

好ましいが非限定的な一態様において本発明は、4つのフレームワーク領域(それぞれ、FR1～FR4)と、3つの相補性決定領域(それぞれ、CDR1～CDR3)とから本質的に成るアミノ酸配列であって、上記アミノ酸配列のCDR配列が、配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のアミノ酸配列のうち少なくとも1つのCDR配列との少なくとも70%のアミノ酸同一性、好ましくは少なくとも80%のアミノ酸同一性、より好ましくは少なくとも90%のアミノ酸同一性(95%以上のアミノ酸同一性等)、又はさらに本質的に100%のアミノ酸同一性を有する、アミノ酸配列に関する。このアミノ酸同一性の程度は例えば、上記アミノ酸配列と、配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のアミノ酸配列の配列の1つ又は複数との間のアミノ酸同一性の程度を(本明細書に記載の方法で)求めることによって決定することができる(フレームワーク領域を形成するアミノ酸残基は無視する)。このような本発明のアミノ酸配列は、本明細書にさらに記載されるようなものであり得る。

30

【0130】

さらにより具体的であるが、非限定的な態様において、本発明はヒトCXCR4のCXCL12/SDF1依存性の活性化を遮断することが可能なヒトCXCR4に指向性を有するアミノ酸配列(本明細書にさらに記載されるような本発明のナノボディ等)に関し、該アミノ酸配列は以下のものから成る群から選択されるアミノ酸残基のストレッチを1つ又は複数含む：

40

- a) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；
- b) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- c) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列；
- d) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；
- e) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

50

f) 配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列；

g) 配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列；

h) 配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

i) 配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列；又はそれらの任意の好適な組合せ。

#### 【0131】

本発明のアミノ酸配列が b) 及び / 又は c) によるアミノ酸配列を 1 つ又は複数含有する場合、

i) b) 及び / 又は c) によるこのようなアミノ酸配列において任意のアミノ酸置換は、(本明細書で規定されるように) 対応する a) によるアミノ酸配列と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく；及び / 又は

ii) b) 及び / 又は c) によるアミノ酸配列は、対応する a) によるアミノ酸配列と比較して、アミノ酸置換だけを含有し、アミノ酸欠失又は挿入は含有しないのが好ましく；及び / 又は

iii) b) 及び / 又は c) によるアミノ酸配列は、それ自体が既知の 1 つ又は複数の親和性成熟技法を用いる親和性成熟によって a) によるアミノ酸配列から誘導されるアミノ酸配列であり得る。

#### 【0132】

同様に、本発明のアミノ酸配列が e) 及び / 又は f) によるアミノ酸配列を 1 つ又は複数含有する場合、

i) e) 及び / 又は f) によるこのようなアミノ酸配列において任意のアミノ酸置換は、(本明細書で規定されるように) 対応する d) によるアミノ酸配列と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく；及び / 又は

ii) e) 及び / 又は f) によるアミノ酸配列は、対応する d) によるアミノ酸配列と比較して、アミノ酸置換だけを含有し、アミノ酸欠失又は挿入は含有しないのが好ましく；及び / 又は

iii) e) 及び / 又は f) によるアミノ酸配列は、それ自体が既知の 1 つ又は複数の親和性成熟技法を用いる親和性成熟によって d) によるアミノ酸配列から誘導されるアミノ酸配列であり得る。

#### 【0133】

また同様に、本発明のアミノ酸配列が h) 及び / 又は i) によるアミノ酸配列を 1 つ又は複数含有する場合、

i) h) 及び / 又は i) によるこのようなアミノ酸配列において任意のアミノ酸置換は、(本明細書で規定されるように) 対応する g) によるアミノ酸配列と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく；及び / 又は

ii) h) 及び / 又は i) によるアミノ酸配列は、対応する g) によるアミノ酸配列と比較して、アミノ酸置換だけを含有し、アミノ酸欠失又は挿入は含有しないのが好ましく；及び / 又は

iii) h) 及び / 又は i) によるアミノ酸配列は、それ自体が既知の 1 つ又は複数の親和性成熟技法を用いる親和性成熟によって g) によるアミノ酸配列から誘導されるアミノ酸配列であり得る。

#### 【0134】

直前の段落は概して、それぞれ b)、c)、e)、f)、h) 又は i) によるアミノ酸配列を 1 つ又は複数含む、任意の本発明のアミノ酸配列にも適用されることを理解されたい。

#### 【0135】

この特定の態様において、アミノ酸配列は以下のものから成る群から選択されるアミノ

10

20

30

40

50

酸残基のストレッチを1つ又は複数含むのが好ましい：

- a) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；
  - b) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；及び
  - c) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列；又は
- それらの任意の好適な組合せ。

【0136】

また好ましくは、このようなアミノ酸配列において、少なくとも1つの上記アミノ酸残基のストレッチがヒトCXCR4との結合に関する抗原結合部位の一部を形成する。

【0137】

より具体的ではあるが、同様に非限定的な態様において、本発明は、(i)アミノ酸残基の第1のストレッチがa)、b)若しくはc)によるアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチはd)、e)、f)、g)、h)若しくはi)によるアミノ酸配列の1つに対応し；(ii)アミノ酸残基の第1のストレッチがd)、e)若しくはf)によるアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチはa)、b)、c)、g)、h)若しくはi)によるアミノ酸配列の1つに対応し；又は(iii)アミノ酸残基の第1のストレッチがg)、h)若しくはi)によるアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチはa)、b)、c)、d)、e)若しくはf)によるアミノ酸配列の1つに対応するように、以下のものから成る群から選択されるアミノ酸残基のストレッチを2つ以上含むヒトCXCR4に指向性を有するアミノ酸配列に関する：

- a) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；
- b) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- c) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列；
- d) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；
- e) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- f) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列；
- g) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列；
- h) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- i) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列。

【0138】

この特定の態様において、アミノ酸配列は、(i)アミノ酸残基の第1のストレッチが配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列若しくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の1つに対応し；(ii)アミノ酸残基の第1のストレッチが配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列若しくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の1つに対応し；又は(iii)アミノ酸残基の第1のストレッチが配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の1つに対応する場合、アミノ酸残基の第2のストレッチは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列若しくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の1つに対応するように、以下のものから成る群から選択されるアミノ酸残基のストレッチを2つ以上含むのが好ましい：

- a) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；
- b) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；及び

c) 配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列。

【0139】

また同様に好ましくは、このようなアミノ酸配列において、少なくとも2つのアミノ酸残基のストレッチがヒトCXCR4との結合に関する抗原結合部位の一部を形成する。

【0140】

さらにより具体的であるが、非限定的な態様において、本発明は、アミノ酸残基のストレッチを3つ以上含む、ヒトCXCR4に指向性を有するアミノ酸配列であって、アミノ酸残基の第1のストレッチが、

a) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；

b) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

c) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され；

アミノ酸残基の第2のストレッチが、

d) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；

e) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

f) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され；

アミノ酸残基の第3のストレッチが、

g) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列；

h) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

i) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択される、アミノ酸配列に関する。

【0141】

好ましくはこの特定の態様において、アミノ酸残基の第1のストレッチが配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列から成る群から選択され；アミノ酸残基の第2のストレッチが配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列から成る群から選択され；アミノ酸残基の第3のストレッチが配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列から成る群から選択される。

【0142】

同様に好ましくは、このようなアミノ酸配列において、少なくとも3つのアミノ酸残基のストレッチがヒトCXCR4との結合に関する抗原結合部位の一部を形成する。

【0143】

アミノ酸配列のこのようなストレッチの好ましい組合せは本明細書のさらなる開示から明らかになる。

【0144】

好ましくはこのようなアミノ酸配列において、CDR配列が、配列番号238、配列番号239のアミノ酸配列のうち少なくとも1つのCDR配列との少なくとも70%のアミノ酸同一性、好ましくは少なくとも80%のアミノ酸同一性、より好ましくは少なくとも90%のアミノ酸同一性（95%以上のアミノ酸同一性等）、又はさらに本質的に100%のアミノ酸同一性を有する。例えば、（本明細書中に記載の方法で）上記アミノ酸配列と、配列番号238、配列番号239の配列の1つ又は複数とのアミノ酸同一性の程度を求めることによって、このアミノ酸同一性の程度を決定することができ、ここではフレームワーク領域を形成するアミノ酸残基は無視する。また、このような本発明のアミノ酸配列は、本明細書中でさらに記載するようなものであり得る。

【0145】

またこのようなアミノ酸配列は、（本明細書に規定のように）ヒトCXCR4と特異的

10

20

30

40

50

に結合することができるようなもの、及びより具体的には本明細書に規定のように（本明細書にさらに記載されるような（実際又は見掛けの） $K_D$  値、（実際又は見掛けの） $K_A$  値、 $k_{on}$  速度及び/又は $k_{off}$  速度、又は代替的に $IC_{50}$  値として好適に測定される、及び/又は表される）親和性でヒトCXCR4と結合することができるようなものであるのが好ましい。

【0146】

本発明のアミノ酸配列が、4つのフレームワーク領域（それぞれ、FR1～FR4）と、3つの相補性決定領域（それぞれ、CDR1～CDR3）とから本質的に成る場合、本発明のアミノ酸配列は、CDR1が、

- a) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；
- b) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- c) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、及び/又は

CDR2が、

- d) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；
- e) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- f) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、及び/又は

CDR3が、

- g) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列；
- h) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- i) 配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択されるようなものであるのが好ましい。

【0147】

特にこのような本発明のアミノ酸配列は、CDR1が配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列から成る群から選択され、及び/又はCDR2が配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列から成る群から選択され、及び/又はCDR3が配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列から成る群から選択されるようなものであり得る。

【0148】

特に本発明のアミノ酸配列が、4つのフレームワーク領域（それぞれ、FR1～FR4）と、3つの相補性決定領域（それぞれ、CDR1～CDR3）とから本質的に成る場合、本発明のアミノ酸配列は、CDR1が、

- a) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；
- b) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- c) 配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR2が、

- d) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；
- e) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- f) 配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

CDR3が、

10

20

30

40

50

- g) 配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列；
- h) 配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；
- i) 配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択されるようなもの、又はこのようなアミノ酸配列の任意の好適な断片であるのが好ましい。

**【0149】**

特にこのような本発明のアミノ酸配列は、CDR1 が配列番号 142、配列番号 143 のアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ CDR2 が配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ CDR3 が配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列から成る群から選択されるようなものであり得る。

10

**【0150】**

同様に、CDR 配列の好ましい組合せは、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

**【0151】**

またこのようなアミノ酸配列は、(本明細書に規定のように) ヒト CXCR4 と特異的に結合することができるようなもの、及びより具体的には本明細書に規定のように(本明細書にさらに記載されるような(実際又は見掛けの)  $K_D$  値、(実際又は見掛けの)  $K_A$  値、 $k_{on}$  速度及び/又は  $k_{off}$  速度、又は代替的に  $IC_{50}$  値として好適に測定される、及び/又は表される) 親和性でヒト CXCR4 と結合することができるようなものであるのが好ましい。

20

**【0152】**

好ましいが非限定的な一態様において本発明は、4 つのフレームワーク領域(それぞれ、FR1 ~ FR4) と、3 つの相補性決定領域(それぞれ、CDR1 ~ CDR3) とから本質的に成るアミノ酸配列であって、上記アミノ酸配列の CDR 配列が、配列番号 238、配列番号 239 のアミノ酸配列のうち少なくとも 1 つの CDR 配列との少なくとも 70% のアミノ酸同一性、好ましくは少なくとも 80% のアミノ酸同一性、より好ましくは少なくとも 90% のアミノ酸同一性(95% 以上のアミノ酸同一性等)、又はさらに本質的に 100% のアミノ酸同一性を有する、アミノ酸配列に関する。このアミノ酸同一性の程度は例えば、上記アミノ酸配列と、配列番号 238、配列番号 239 のアミノ酸配列の配列の 1 つ又は複数との間のアミノ酸同一性の程度を(本明細書に記載の方法で) 求めることによって決定することができる(フレームワーク領域を形成するアミノ酸残基は無視する)。このような本発明のアミノ酸配列は、本明細書にさらに記載されるようなものであり得る。

30

**【0153】**

本発明のこのようなアミノ酸配列において、フレームワーク配列は任意の好適なフレームワーク配列であり得るが、好適なフレームワーク配列の例は、例えば標準的なハンドブック、並びに本明細書において言及されるさらなる開示及び従来技術に基づき、当業者に明らかである。

**【0154】**

フレームワーク配列は、免疫グロブリンフレームワーク配列、又は(例えばヒト化又はラクダ化によって) 免疫グロブリンフレームワーク配列から誘導されているフレームワーク配列(の好適な組合せ) であるのが好ましい。例えば、フレームワーク配列は、軽鎖可変ドメイン(例えば  $V_L$  配列) 及び/又は重鎖可変ドメイン(例えば  $V_H$  配列) から誘導されているフレームワーク配列であり得る。特に好ましい一態様では、フレームワーク配列は、 $V_{HH}$  配列(該フレームワーク配列は任意で、部分又は完全ヒト化し得る) から誘導されているか、又は(本明細書に規定のように) ラクダ化した従来の  $V_H$  配列であるいずれかのフレームワーク配列である。

40

**【0155】**

フレームワーク配列は、本発明のアミノ酸配列が、ドメイン抗体(又はドメイン抗体と

50

しての使用に好適なアミノ酸配列)、単ドメイン抗体(又は単ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列)、「dAb」(又はdAbとしての使用に好適なアミノ酸配列)、又はナノボディ(商標)(V<sub>H</sub>H配列を含むが、これに限定されない)であるようなものであるのが好ましい。同様に、好適なフレームワーク配列は、例えば標準的なハンドブック、並びに本明細書に言及されるさらなる開示及び従来技術に基づいて当業者にとって明らかである。

【0156】

特に、本発明のアミノ酸配列に存在するフレームワーク配列は、本発明のアミノ酸配列がナノボディ(商標)であるように、(本明細書に規定の)特徴的な残基を1つ又は複数含有し得る。このようなフレームワーク配列(の好適な組合せ)の幾つかの好ましいが非限定的な例は、本明細書中のさらなる開示から明らかになる。

10

【0157】

同様に概して、本発明のアミノ酸配列に関して本明細書に記載のように、上記のいずれかの好適な断片(又は断片の組合せ)(例えば1つ又は複数のフレームワーク配列に好適に隣接した、及び/又はこれを介して連結した、1つ又は複数のCDR配列を(例えば、これらのCDR配列及びフレームワーク配列が、断片が誘導された完全長の(full-sized:フルサイズの)免疫グロブリン配列で発生し得るのと同じ配列(order)で)含有する断片)を使用することも可能である。またこのような断片は、免疫グロブリンフォールドを含むか、若しくは形成することができるようなもの、又は代替的に免疫グロブリンフォールドを含まないか、若しくは形成することができないようなものであってもよい。

20

【0158】

特定の一態様において、このような断片は、本明細書に記載の単一CDR配列(特にCDR3配列)を含み、フレームワーク配列(の一部)(特に断片が誘導される免疫グロブリン配列において上記CDR配列に隣接するフレームワーク配列(複数可)の一部)が両側に隣接する。例えば、CDR3配列は、FR3配列(の一部)の後にあり、FR4配列(の一部)の前にあり得る。このような断片はまた、ジスルフィド架橋、特にCDR配列のそれぞれ前後にある2つのフレームワーク領域を連結するジスルフィド架橋を含有してもよい(このようなジスルフィド架橋を形成するために、上記フレームワーク領域で自然発生するシステイン残基を使用するか、又は代替的にシステイン残基を上記フレームワーク領域に合成的に付加若しくは導入してもよい)。これらの「促進断片」のさらなる説明

30

【0159】

別の態様において本発明は、化合物又は構築物、特にタンパク質又はポリペプチド(それぞれ本明細書で「本発明の化合物」又は「本発明のポリペプチド」とも称される)であって、1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列(又はその好適な断片)を含むか、又は本質的にこれから成り、任意で1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位をさらに含む、化合物又は構築物、特にタンパク質又はポリペプチドに関する。本明細書中のさらなる開示から当業者にとって明らかになるように、このようなさらなる基、残基、部分、結合単位又はアミノ酸配列は、本発明のアミノ酸配列(及び/又はこれが存在する化合物又は構築物)に対しさらなる機能性を与えても、又は与えなくてもよく、本発明のアミノ酸配列の特性を変えても、又は変えなくてもよい。

40

【0160】

例えば、このようなさらなる基、残基、部分又は結合単位は、化合物又は構築物が(融合)タンパク質又は(融合)ポリペプチドになるように、1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列であり得る。好ましいが非限定的な態様において、上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位は免疫グロブリン配列である。さらにより好ましくは、上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位は、ドメイン抗体、ドメイン抗体としての使用

50

に好適なアミノ酸配列、単ドメイン抗体、単ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列、「dAb」、dAbとしての使用に好適なアミノ酸配列、又はナノボディから成る群から選択される。

## 【0161】

代替的に、このような基、残基、部分又は結合単位は例えば、化学的な基、残基、部分（それ自体が生物学的に及び/又は薬理的に活性であっても、又は活性でなくてもよい）であり得る。例えば、これに限定されないが、このような基は、本明細書にさらに記載されるように、本発明のアミノ酸配列又はポリペプチドの「誘導體」を提供するように、1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列と連結し得る。

## 【0162】

本発明のポリペプチドは、少なくとも1つの本発明のナノボディを含むか又はこれから本質的に成る。本発明のポリペプチドの好ましいが非限定的な例の幾つかは配列番号261～配列番号264、より好ましくは配列番号263、配列番号264で与えられる。

## 【0163】

表2：好ましいポリペプチド又は化合物配列（本明細書中で特定の名称又は配列番号X（ここでXは関連のアミノ酸配列を表す数字である）を伴う配列としても称される）

## 【表2】

アミノ酸配列	クローン名	配列番号
EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSTRYAGS VKGRFTISRDNAMLYLQMYSLKPEDTAVY YCAKSRVSRRTGLYTYDNRGQGTQVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAAS GFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDS TRYAGSVKGRFTISRDNAMLYLQMYSLKPE DTAVYYCAKSRVSRRTGLYTYDNRGQGTQVTV SS	238D2-10GS- 238D2	261
EVQLMESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFNN YAMGWFRRAPGKEREFVAAITRSGVRSVSAI YGDSVKDRFTISRDNAMNTLYLQMNLSLKPEDT AVYTCAASAIGSGALRRFEYDYSGQGTQVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLMESGGG LVQAGGSLRLSCAASGRTFNNYAMGWFRRAP GKEREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTI SRDNAMNTLYLQMNLSLKPEDTAVYTCAASAIG SGALRRFEYDYSGQGTQVTVSS	238D4-20GS- 238D4	262
EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSTRYAGS VKGRFTISRDNAMLYLQMYSLKPEDTAVY YCAKSRVSRRTGLYTYDNRGQGTQVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSEVQLMESGGGLVQAGGSLR LSCAASGRTFNNYAMGWFRRAPGKEREFVAAI TRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNAMNTLY LQMNLSLKPEDTAVYTCAASAIGSGALRRFEYD YSGQGTQVTVSS	238D2-15GS- 238D4	263
EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSTRYAGS VKGRFTISRDNAMLYLQMYSLKPEDTAVY YCAKSRVSRRTGLYTYDNRGQGTQVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLMESGGGLVQA GGSLRLSCAASGRTFNNYAMGWFRRAPGKER EFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDA MNTLYLQMNLSLKPEDTAVYTCAASAIGSALR RFEYDYSGQGTQVTVSS	238D2-20GS- 238D4	264

## 【0164】

本明細書に記載の1つ又は複数の誘導体を含むか、又は本質的にこれから成り、任意で1つ又は複数のリンカーを介して連結した、1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位をさらに含む、化合物又は構築物も本発明の範囲内である。好ましくは、上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位はアミノ酸配列である。

【0165】

上記の化合物又は構築物において、1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列、及び1つ又は複数の基、残基、部分又は結合単位は、互いに直接、及び/又は1つ又は複数の好適なリンカー又はスペーサーを介して連結してもよい。例えば、1つ又は複数の基、残基、部分又は結合単位がアミノ酸配列である場合、リンカーは、得られる化合物又は構築物が融合(タンパク質)又は融合(ポリペプチド)になるようにアミノ酸配列であってもよい。

10

【0166】

概して本発明の化合物又はポリペプチドは、本発明の化合物又はポリペプチドを提供するように、任意で1つ又は複数の好適なリンカーを介して、1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列と、1つ又は複数のさらなる基、残基、部分又は結合単位とを好適に連結する工程を少なくとも1つ含む方法で調製することができる。本発明のポリペプチドは、概して本発明のポリペプチドをコードする核酸を準備する工程と、好適な方法で上記核酸を発現する工程と、発現した本発明のポリペプチドを回収する工程とを少なくとも含む方法で調製することもできる。このような方法は、例えば本明細書にさらに記載の方法及び技法に基づいて、当業者にとって明らかな、それ自体が既知の方法で行うことができる。

【0167】

本発明のアミノ酸配列から開始して本発明の化合物又はポリペプチドを設計/選択、及び/又は調製する方法は、本明細書では上記本発明のアミノ酸配列を「フォーマットする(formatting)」とも称され、本発明の化合物又はポリペプチドの一部を構成する本発明のアミノ酸は、「フォーマットされた(formatted)」、又は上記本発明の化合物又はポリペプチド「のフォーマット形態(in the format of)」であるといわれる。本発明のアミノ酸配列をフォーマットすることができる方法の例及びこのようなフォーマットの例が、本明細書中の開示に基づいて当業者にとって明らかであり、このようなフォーマットされたアミノ酸配列は、本発明のさらなる態様を形成する。

20

【0168】

本発明の特定の一態様において、本発明の化合物、又は本発明のポリペプチドは、対応する本発明のアミノ酸配列に比べて増大した半減期を有し得る。このような化合物及びポリペプチドの好ましいが非限定的な例の幾つかは、本明細書中のさらなる開示に基づいて当業者にとって明らかとなり、例えば半減期が増大するように(例えばペグ化によって)化学修飾された本発明のアミノ酸配列又はポリペプチド; 血清タンパク質(例えば血清アルブミン)と結合するためにさらなる結合部位を少なくとも1つ含む本発明のアミノ酸配列; 又は本発明のアミノ酸配列の半減期を増大させる少なくとも1つの部分(特に少なくとも1つのアミノ酸配列)と連結する本発明のアミノ酸配列を少なくとも1つ含む本発明のポリペプチドが含まれる。このような半減期を延長する部分又はアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドの例は、本明細書中のさらなる開示に基づいて当業者にとって明らかとなり、例えばこれらに限定されないが、1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列が、1つ又は複数の血清タンパク質若しくはその断片(例えば(ヒト)血清アルブミン又はその好適な断片)、又は血清タンパク質と結合することができる1つ又は複数の結合単位(例えばドメイン抗体、ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列、単一ドメイン抗体、単一ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列、「dAb」、dAbとしての使用に好適なアミノ酸配列、又は血清アルブミン(例えばヒト血清アルブミン)、血清免疫グロブリン(例えばIgG)等の血清タンパク質又はトランスフェリンと結合することができるナノボディ、さらなる記載及び本明細書で言及される参考文献を参照する)と好適に連結するポリペプチド; 本発明のアミノ酸配列がFc部分(例えばヒトFc)又はその好適な部分若しくは断片と連結するポリペプチド; 又は1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列が、血清タンパク質と結合することができる1つ又は複数の小タンパク質又はペプチド

30

40

50

(例えば、これに限定されないが、国際公開第91/01743号、国際公開第01/45746号、国際公開第02/076489号、及び2006年12月5日に出願されたAblynx N. V.の"Peptides capable of binding to serum proteins"と題するAblynx N. V.の米国仮特許出願に記載のタンパク質及びペプチド)と好適に連結するポリペプチドが含まれる。

【0169】

概して、半減期が増大した、本発明の化合物又はポリペプチドは、対応する本発明のアミノ酸配列自体の半減期よりも少なくとも1.5倍、好ましくは少なくとも2倍(少なくとも5倍等)、例えば少なくとも10倍、又は20倍を超えて大きい半減期を有するのが好ましい。例えば、半減期が増大した、本発明の化合物又はポリペプチドは、対応する本発明のアミノ酸配列自体に比べて、1時間を超えて、好ましくは2時間を超えて、より好ましくは6時間を超えて(12時間等を超えて)、又はさらに24時間、48時間若しくは72時間を超えて増大した半減期を有し得る。

10

【0170】

本発明の好ましいが非限定的な態様において、このような本発明の化合物又はポリペプチドは、対応する本発明のアミノ酸配列自体に比べて、1時間を超えて、好ましくは2時間を超えて、より好ましくは6時間を超えて(12時間等を超えて)、又はさらに24時間、48時間若しくは72時間を超えて増大した血清半減期を有する。

【0171】

本発明の好ましいが非限定的な別の態様において、このような本発明の化合物又はポリペプチドは、少なくとも約12時間、好ましくは少なくとも24時間、より好ましくは少なくとも48時間、さらにより好ましくは少なくとも72時間以上のヒトにおける血清半減期を示す。例えば本発明の化合物又はポリペプチドは、少なくとも5日(約5日~10日等)、好ましくは少なくとも9日(約9日~14日等)、より好ましくは少なくとも10日(約10日~15日等)、若しくは少なくとも約11日(約11日~16日等)、より好ましくは少なくとも約12日(約12日~18日以上等)、又は14日超(約14日~19日等)の半減期を有し得る。

20

【0172】

別の態様において、本発明は、本発明のアミノ酸配列又は本発明のポリペプチド(又はその好適な断片)をコードする核酸に関する。このような核酸は、本明細書中で「本発明の核酸」とも称され、例えば本明細書中でさらに記載されるように遺伝子構築物の形態であり得る。

30

【0173】

別の態様において、本発明は、本発明のアミノ酸配列及び/又は本発明のポリペプチドを発現する(又は好適な状況下で発現することができる);及び/又は本発明の核酸を含有する、宿主又は宿主細胞に関する。このような宿主又は宿主細胞の好ましいが非限定的な例の幾つかは、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

【0174】

本発明は、生成物又は組成物であって、少なくとも1つの本発明のアミノ酸配列、少なくとも1つの本発明のポリペプチド(又はその好適な断片)及び/又は少なくとも1つの本発明の核酸と、任意で(即ち組成物の使用目的に応じて)それ自体が既知のこのような組成物の1つ又は複数のさらなる成分とを含有するか又は含む、生成物又は組成物にさらに関する。このような生成物又は組成物は例えば、(本明細書に記載の)薬学的組成物、獣医学的組成物又は(同様に本明細書に記載の)診断用途のための生成物若しくは組成物であり得る。このような生成物又は組成物の好ましいが非限定的な例の幾つかは、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

40

【0175】

本発明は、*in vitro*(例えば*in vitro*アッセイ又は細胞アッセイ)又は*in vivo*(例えば単細胞又は多細胞生物、具体的には哺乳動物、より具体的にはヒト、例えばGPCR関連の疾患若しくは障害の危険性があるか、又はこれを患うヒト)

50

のいずれかでのGPCRの調節(のための方法又は組成物)における本発明のアミノ酸配列、ナノボディ若しくはポリペプチド、又はこれを含む組成物の使用にも関する。

【0176】

本発明は、*in vitro*(例えば*in vitro*アッセイ又は細胞アッセイ)又は*in vivo*(例えば単細胞又は多細胞生物、具体的には哺乳動物、より具体的にはヒト、例えばGPCR関連の疾患若しくは障害の危険性があるか、又はこれを患うヒト)のいずれかでGPCRを調節する方法であって、少なくとも1つの本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを用いてGPCRを調節するのに適した方法及び量で、GPCRを、少なくとも1つの本発明のアミノ酸配列、ナノボディ若しくはポリペプチド、又はこれを含む組成物に接触させる工程を少なくとも含む、方法にも関する。

10

【0177】

本発明は、*in vitro*(例えば*in vitro*アッセイ又は細胞アッセイ)又は*in vivo*(例えば単細胞又は多細胞生物、具体的には哺乳動物、より具体的にはヒト、例えばGPCR関連の疾患若しくは障害の危険性があるか、又はこれを患うヒト)のいずれかでGPCRを調節するための組成物(例えば、これらに限定されないが、本明細書中でさらに記載されるような薬学的組成物又は薬学的調製物)の調製における1つの本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドの使用にも関する。

【0178】

本発明では、「調節("modulating" or "to modulate")」は一般的に、好適な*in vitro*アッセイ、細胞アッセイ又は*in vivo*アッセイ(本明細書で言及されるもの等)を使用して測定するようなGPCRの活性の低減若しくは阻害のいずれか、又は代替的に活性の増大を意味する。特に「調節」は、好適な*in vitro*アッセイ、細胞アッセイ、又は*in vivo*アッセイ(本明細書で言及されるもの等)を用いて測定するようなGPCRの活性を、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドが存在しない以外は同じ条件下での同じアッセイにおけるGPCRの活性に比べて、少なくとも1%、好ましくは少なくとも5%、例えば少なくとも10%若しくは少なくとも25%、例えば少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、又は90%以上低減又は阻害すること、又は代替的に活性を増大させることを意味し得る。

20

【0179】

当業者にとって明らかなように、「調節」は、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドが存在しない以外は同じ条件下に比べて、その標的、リガンド又は基質の1つ又は複数に対するGPCRの親和性、結合活性、特異性及び/又は選択性を変化させること(増大又は減少のいずれであってもよい);及び/又はGPCRが存在する媒体又は環境における1つ又は複数の条件(pH、イオン強度、補因子の存在等)に対するGPCRの感受性を変化させること(増大又は減少のいずれであってもよい)も伴い得る。当業者にとって明らかなように、任意の好適な方法及び/又はそれ自体が既知の任意の好適なアッセイ、例えば本明細書に記載のアッセイ、又は本明細書で言及された従来技術に記載のアッセイを用いて同様にこれを求めてもよい。

30

【0180】

「調節」は、GPCRが関与する(又はその基質(複数可)、リガンド(複数可)若しくは経路(複数可)が関与する、シグナル伝達経路若しくは代謝経路及び関連の生物学的作用若しくは生理学的作用のような)1つ又は複数の生物学的な若しくは生理学的な機構、作用、反応、機能、経路又は活性に関して変化させる(即ちGPCR及び所望の生物学的作用又は生理学的作用に応じて、それぞれ、アゴニスト、アンタゴニスト、又はインバースアゴニストとしての活性を与える)ことも意味し得る。同様に、当業者にとって明らかなように、任意の好適な方法及び/又はそれ自体が既知の任意の好適な(*in vitro*及び通常は細胞又はアッセイ内(*in assay*))アッセイ、例えば本明細書若しくは本明細書で言及された従来技術に記載のアッセイを用いて、アゴニスト又はアンタゴニストとしてのこのような作用を求めてもよい。特に、アゴニスト又はアンタゴニストとし

40

50

ての作用は、対象の生物学的活性又は生理学的活性をそれぞれ、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドが存在しない以外は同じ条件下での同じアッセイにおける生物学的活性又は生理学的活性に比べて少なくとも1%、好ましくは少なくとも5%、例えば少なくとも10%若しくは少なくとも25%、例えば少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、又は90%以上増大又は低減させるようなものであり得る。

【0181】

調節は例えば、アロステリック調節（例えばGeorge et al., Nat Rev Drug Discov 1:808-820 (2002)、Kenakin, Trends Pharmacol Sci25:186-192 (2002) 及びRios et al., Pharmacol Ther 92:71-87 (2001) を参照されたい）及び/又はGPCRとその基質又はリガンドの1つとの結合の低減又は阻害及び/又はGPCRとの結合に対する基質である天然リガンドとの競合も伴い得る。調節は、GPCR、又はこれが関与する機構若しくは経路を活性化することも伴い得る。調節は、可逆であっても又は不可逆であってもよいが、薬学的及び薬理学的目的では通常、可逆的である。

10

【0182】

本発明はさらに、本明細書中に記載のアミノ酸配列、ポリペプチド、核酸、宿主細胞、生成物及び組成物を調製又は生成する方法に関する。このような方法の好ましいが非限定的な例の幾つかは、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

【0183】

概してこれらの方法は、

20

- a) アミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリを準備する工程と、
- b) GPCRと結合することができる、及び/又はGPCRに対する親和性を有するアミノ酸配列に関して、アミノ酸配列の上記のセット、コレクション又はライブラリをスクリーニングする工程と、
- c) GPCRと結合することができる、及び/又はGPCRに対する親和性を有するアミノ酸配列（複数可）を単離する工程とを含み得る。

【0184】

特にこのような方法の工程b)において、セット、コレクション又はライブラリは、好適な細胞の表面上で発現するGPCRと結合することが可能である、及び/又はこれに対する親和性を有するアミノ酸配列に関して；（本明細書に記載のように）GPCRの細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープと結合することが可能である、及び/又はこれに対する親和性を有するアミノ酸配列に関して；及び/又はGPCRの細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープのアミノ酸配列に由来する又はこれに基づくペプチドと結合することが可能である、及び/又はこれに対する親和性を有するアミノ酸配列に関してスクリーニングすることができる。これは、それ自体が既知の方法及び技法、例えば本明細書で言及されたものを使用して行うことができる。

30

【0185】

このような方法では、アミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、任意の好適なアミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリであり得る。例えば、アミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、（本明細書に記載の）免疫グロブリン配列のセット、コレクション又はライブラリ（例えば免疫グロブリン配列のナイーブセット、ナイーブコレクション又はナイーブライブラリ；免疫グロブリン配列の合成又は半合成のセット、コレクション又はライブラリ；及び/又は親和性成熟を受けている免疫グロブリン配列のセット、コレクション又はライブラリ）であり得る。

40

【0186】

またこのような方法では、アミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、重鎖可変ドメイン（例えばV<sub>H</sub>ドメイン又はV<sub>H</sub>Hドメイン）又は軽鎖可変ドメインのセット、コレクション又はライブラリであり得る。例えば、アミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、ドメイン抗体若しくは単ドメイン抗体のセット、コレクション

50

若しくはライブラリであり得るか、又はドメイン抗体若しくは単ドメイン抗体として機能することができるアミノ酸配列のセット、コレクション若しくはライブラリであり得る。

【0187】

この方法の好ましい態様では、アミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、例えばGPCR、又はこれに基づく若しくはこれに由来する好適な抗原決定基（例えばその抗原の部分、断片、領域、ドメイン、ループ又は他のエピトープ）を好適に免疫付与した哺乳動物由来の免疫グロブリン配列の免疫セット、免疫コレクション又は免疫ライブラリであり得る。特定の一態様では、上記抗原決定基は、細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）、又はそれらに由来する好適なペプチドであり得る。代替的に本明細書で言及されるように、アミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、例えばリフォールディングしたGPCR、又は表面上にGPCRを有する細胞に由来する細胞、若しくは細胞画分若しくは調製物を好適に免疫付与した哺乳動物に由来する、免疫グロブリン配列の免疫セット、免疫コレクション又は免疫ライブラリであり得る。

10

【0188】

上記の方法において、アミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、スクリーニングを容易にするように、ファージ、ファージミド、リボソーム又は好適な微生物（例えば酵母）上に提示してもよい。アミノ酸配列（のセット、コレクション又はライブラリ）を提示及びスクリーニングするのに好適な方法、技法及び宿主生物は、例えば本明細書中のさらなる開示に基づいて当業者にとって明らかである。Nature Biotechnology, 23, 9, 1105-1116 (2005)におけるHoogenboomによる概説も参照する。

20

【0189】

別の態様において、アミノ酸配列を生成する方法は、

- a) アミノ酸配列を発現する細胞のコレクション又は試料を準備する工程と、
- b) GPCRと結合することができる、及び/又はGPCRに対する親和性を有するアミノ酸配列を発現する細胞に関して上記細胞のコレクション又は試料をスクリーニングする工程と、
- c) (i) 上記アミノ酸配列を単離する工程、又は(ii) 上記アミノ酸配列をコードする核酸配列を上記細胞から単離した後、上記アミノ酸配列を発現する工程のいずれかと

30

【0190】

特にこのような方法の工程b)において、セット、コレクション又はライブラリは、好適な細胞表面上で発現するGPCRと結合することが可能である、及び/又はこれに対する親和性を有するアミノ酸配列を発現する細胞に関して；（本明細書で記載のように）GPCRの細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープと結合することが可能である、及び/又はこれに対する親和性を有するアミノ酸配列を発現する細胞に関して；及び/又はGPCRの細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープのアミノ酸配列に由来する又はこれに基づくペプチドと結合することが可能である、及び/又はこれに対する親和性を有するアミノ酸配列を発現する細胞に関してスクリーニングすることができる。これは、それ自体が既知の方法及び技法、例えば本明細書で言及されたものを使用して行うことができる。

40

【0191】

例えば、所望のアミノ酸配列が免疫グロブリン配列である場合、細胞のコレクション又は試料は例えば、B細胞のコレクション又は試料であり得る。また、この方法では、細胞の試料は、GPCR、又はこれに基づく若しくはこれに由来する好適な抗原決定基（例えばその抗原の部分、断片、領域、ドメイン、ループ又は他のエピトープ）を好適に免疫付与した哺乳動物に由来し得る。特定の一態様では、上記抗原決定基は、細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）、又はそれらに由来する好適なペプチドであり得る。代替的に本明細書で言及されるように、細胞の試料は、例え

50

バリフォールディングした GPCR、又は表面上に GPCR を有する細胞に由来する細胞、若しくは細胞画分若しくは調製物を好適に免疫付与した哺乳動物に由来し得る。

【0192】

上記の方法は、当業者にとって明らかなように、任意の好適な方法で行われ得る。例えば欧州特許第 0542810 号、国際公開第 05/19824 号、国際公開第 04/051268 号及び国際公開第 04/106377 号を参照する。工程 b) のスクリーニングは、FACS 等のフローサイトメトリ技法を使用して行うのが好ましい。これに関しては、例えば Lieby et al., Blood, Vol. 97, No. 12, 3820 (2001) を参照する。

【0193】

別の態様において、GPCR に指向性を有するアミノ酸配列を生成する方法は、

a) アミノ酸配列をコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリを準備する工程と、

b) GPCR と結合することができる、及び/又は GPCR に対する親和性を有するアミノ酸配列をコードする核酸配列に関して、上記の核酸配列のセット、コレクション又はライブラリをスクリーニングする工程と、

c) 上記核酸配列を単離した後、上記アミノ酸配列を発現する工程とを少なくとも含み得る。

【0194】

特にこのような方法の工程 b) において、セット、コレクション又はライブラリは、好適な細胞の表面上で発現する GPCR と結合することが可能である、及び/又はこれに対する親和性を有するアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列に関して；(本明細書で記載のように) GPCR の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープと結合することが可能である、及び/又はこれに対する親和性を有するアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列に関して；及び/又は GPCR の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープのアミノ酸配列に由来する又はこれに基づくペプチドと結合することが可能である、及び/又はこれに対する親和性を有するアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列に関してスクリーニングすることができる。これは、それ自体が既知の方法及び技法、例えば本明細書で言及されたものを使用して行うことができる。

【0195】

このような方法では、アミノ酸配列をコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリは例えば、免疫グロブリン配列のナープセット、ナープコレクション又はナープライブラリをコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリ；免疫グロブリン配列の合成又は半合成のセット、コレクション又はライブラリをコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリ；及び/又は親和性成熟を受けている免疫グロブリン配列のセット、コレクション又はライブラリをコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリであり得る。

【0196】

またこのような方法では、核酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、重鎖可変ドメイン(例えば  $V_H$  ドメイン又は  $V_{HH}$  ドメイン)又は軽鎖可変ドメインのセット、コレクション又はライブラリをコードし得る。例えば、核酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、ドメイン抗体若しくは単ドメイン抗体のセット、コレクション若しくはライブラリ、又はドメイン抗体若しくは単ドメイン抗体として機能することができるアミノ酸配列のセット、コレクション若しくはライブラリをコードし得る。

【0197】

この方法の好ましい態様では、アミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、例えば GPCR、又はこれに基づく若しくはこれに由来する好適な抗原決定基(例えばその抗原の部分、断片、領域、ドメイン、ループ又は他のエピトープ)を好適に免疫付与した哺乳動物由来の核酸配列の免疫セット、免疫コレクション又は免疫ライブラリであり得る。特定の一態様では、上記抗原決定基は、細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又

10

20

30

40

50

は他の細胞外エピトープ（複数可）、又はそれらに由来する好適なペプチドであり得る。代替的に本明細書で言及されるように、核酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、リフォールディングしたGPCR、又は表面上にGPCRを有する細胞に由来する細胞、若しくは細胞画分若しくは調製物を好適に免疫付与した哺乳動物に由来した、免疫セット、免疫コレクション又は免疫ライブラリであり得る。

【0198】

核酸配列のセット、コレクション又はライブラリは例えば、重鎖可変ドメイン又は軽鎖可変ドメインの免疫セット、免疫コレクション又は免疫ライブラリをコードし得る。特定の一態様では、ヌクレオチド配列のセット、コレクション又はライブラリは、 $V_{HH}$ 配列のセット、コレクション又はライブラリをコードし得る。

10

【0199】

上記の方法において、ヌクレオチド配列のセット、コレクション又はライブラリは、スクリーニングを容易にするように、ファージ、ファージミド、リボソーム又は好適な微生物（例えば酵母）上に提示してもよい。アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列（のセット、コレクション又はライブラリ）を提示及びスクリーニングするのに好適な方法、技法及び宿主生物は、例えば本明細書中のさらなる開示に基づいて当業者にとって明らかである。Nature Biotechnology, 23, 9, 1105-1116 (2005)におけるHoogenboomによる概説も参照する。

【0200】

本発明は、上記の方法、又は代替的に上記の方法のうちの1つと、さらに少なくとも上記免疫グロブリン配列のヌクレオチド配列又はアミノ酸配列を決定する工程と、それ自体が既知の方法で、例えば好適な宿主細胞若しくは宿主生物における発現又は化学合成により上記アミノ酸配列を発現又は合成する工程とを含む方法により得られるアミノ酸配列にも関する。

20

【0201】

また上記の工程の後に、1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列を好適にヒト化（又は代替的にラクダ化）してもよく、及び/又はこのようにして得られたアミノ酸配列（複数可）を、本発明のポリペプチドを提供するように（任意で1つ又は複数の好適なリンカーを介して）互いに又は1つ若しくは複数の他の好適なアミノ酸配列と連結してもよい。また、本発明のアミノ酸配列をコードする核酸配列を、好適にヒト化（又は代替的にはラクダ化）し、かつ好適に発現してもよく、及び/又は1つ又は複数の、本発明のアミノ酸配列をコードする核酸配列を（任意で1つ又は複数の好適なリンカーをコードするヌクレオチド配列を介して）互いに又は1つ若しくは複数の、他の好適なアミノ酸配列をコードする核酸配列と連結してもよく、その後でこのようにして得られたヌクレオチド配列を本発明のポリペプチドを提供するように好適に発現してもよい。

30

【0202】

本発明はさらに、本明細書中に記載のアミノ酸配列、ポリペプチド、核酸、宿主細胞、生成物及び組成物の用途及び使用、並びにGPCRに関連する疾患及び障害を予防及び/又は治療する方法に関する。好ましいが非限定的な用途及び使用の幾つかは本明細書中のさらなる記載より明らかになる。例えば本明細書で言及されるように、嗅覚GPCRに指向性を有する本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドには、人工調味料又はさらには香料としての利用法を見出すことができることが予測される。本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドには、例えば*in vitro*で（例えばウェスタンブロット技法、免疫沈降技法又は免疫蛍光技法を使用して）又は*in vivo*で（例えば好適な画像化技法を使用して）これらが指向性を有するGPCRを発現する細胞を検出するためのマーカーとしての利用法も見出され得る。本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドには、これらが指向性を有するGPCR（を発現する細胞）に対する親和性精製技法における利用法も見出され得る。

40

【0203】

また本発明の他の態様、実施形態、利点及び用途は、本明細書中のさらなる記載から明

50

らかになり、その中で本発明は、本発明のナノボディ及びこれを含む本発明のポリペプチド（これらは本発明の好ましい態様の幾つかを形成する）に関してより詳細に説明及び考察される。

【0204】

本明細書中のさらなる記載から明らかになるように、一般的にナノボディには、「dAb」又は同様の（単一）ドメイン抗体又は免疫グロブリン配列に比べて（本明細書で概説される）或る特定の利点があり、この利点は本発明のナノボディでも与えられる。しかし、以下の教示のより包括的な態様を、（直接又は同じように）他の本発明のアミノ酸配列にも適用することができることは、当業者にとって明らかである。

【図面の簡単な説明】

10

【0205】

【図1】選択手順の概略図である。

【図2】ファージELISA（実施例1.5に記載される）の結果を表す図である。238C1、238D2、238F3が、CXCR4を発現していない膜（-）と比較してCXCR4を発現する膜に対する特異性が高いことを示している。

【図3-1】CXCR4と結合するナノボディクローンの一次スクリーニング及び二次スクリーニングの結果を示す図である。[<sup>125</sup>I]-CXCL12競合結合実験を、CXCR4を一時的に発現するHEK293T細胞由来の細胞膜でペリプラズム画分（1:10）を用いて直接行った。一次スクリーニングでヒットしたもの（A）を全て、二次スクリーニング（B）で確認した。完全置換（displacement）及び置換なしを示すために、それぞれAMD3100（3μM）又はビヒクル（-）により対照実験を行った。

20

【図3-2】CXCR4と結合するナノボディクローンの一次スクリーニング及び二次スクリーニングの結果を示す図である。[<sup>125</sup>I]-CXCL12競合結合実験を、CXCR4を一時的に発現するHEK293T細胞由来の細胞膜でペリプラズム画分（1:10）を用いて直接行った。一次スクリーニングでヒットしたもの（A）を全て、二次スクリーニング（B）で確認した。完全置換（displacement）及び置換なしを示すために、それぞれAMD3100（3μM）又はビヒクル（-）により対照実験を行った。

【図3-3】CXCR4と結合するナノボディクローンの一次スクリーニング及び二次スクリーニングの結果を示す図である。[<sup>125</sup>I]-CXCL12競合結合実験を、CXCR4を一時的に発現するHEK293T細胞由来の細胞膜でペリプラズム画分（1:10）を用いて直接行った。一次スクリーニングでヒットしたもの（A）を全て、二次スクリーニング（B）で確認した。完全置換（displacement）及び置換なしを示すために、それぞれAMD3100（3μM）又はビヒクル（-）により対照実験を行った。

30

【図3-4】CXCR4と結合するナノボディクローンの一次スクリーニング及び二次スクリーニングの結果を示す図である。[<sup>125</sup>I]-CXCL12競合結合実験を、CXCR4を一時的に発現するHEK293T細胞由来の細胞膜でペリプラズム画分（1:10）を用いて直接行った。一次スクリーニングでヒットしたもの（A）を全て、二次スクリーニング（B）で確認した。完全置換（displacement）及び置換なしを示すために、それぞれAMD3100（3μM）又はビヒクル（-）により対照実験を行った。

【図3-5】CXCR4と結合するナノボディクローンの一次スクリーニング及び二次スクリーニングの結果を示す図である。[<sup>125</sup>I]-CXCL12競合結合実験を、CXCR4を一時的に発現するHEK293T細胞由来の細胞膜でペリプラズム画分（1:10）を用いて直接行った。一次スクリーニングでヒットしたもの（A）を全て、二次スクリーニング（B）で確認した。完全置換（displacement）及び置換なしを示すために、それぞれAMD3100（3μM）又はビヒクル（-）により対照実験を行った。

40

【図4】一価ナノボディ及び参照リガンドとCXCR4との競合結合の結果を示す図である。図4A～図4Cでは、放射性リガンドとして[<sup>125</sup>I]-CXCL12、[<sup>125</sup>I]-238D2又は[<sup>125</sup>I]-238D4を用いる競合結合実験を、CXCR4を一時的に発現するHEK293T細胞由来の細胞膜で行った。AMD3100（3μM；AMD）、CXCL12（30nM；XL12）又はビヒクル（-）により対照置換実験

50

を行った。データは平均 ± 標準誤差 (n = 2 ~ 6) として示す。図 4 D では、放射性リガンドとして [ <sup>125</sup>I ] - 238D2 又は [ <sup>125</sup>I ] - 238D4 を用いて、総結合実験 (ビヒクル; -) 及び競合結合実験 (3 μM の AMD3100; AMD) を、CXCR4 又は CXCR3 を一時的に発現する HEK293T 細胞由来の細胞膜で行った。データは平均 ± 標準誤差 (n = 3) として示す。

【図 5】一価抗体 238D2 及び 238D4 は強力な CXCR4 アンタゴニストであることを示す図である。図 5 A では、イノシトールリン酸 (IP) 蓄積実験を CXCR4 及び G<sub>q</sub>i5 を一時的に発現する HEK293T 細胞で行った。作動作用 (Agonism: アゴニズム) 実験 (左側のグラフ) は 238D2 及び 238D4 に固有の活性を示さない。拮抗作用 (Antagonism: アンタゴニズム) 実験 (右側のグラフ) は、238D2 又は 238D4 との 1 時間のプレインキュベーションの後に CXCL12 (30 nM) の存在下で行った。ビヒクル (-) 又は AMD3100 (3 μM; AMD) を用いて対照実験を行った。データは平均 ± 標準誤差 (n = 4) として示す。図 5 B では、レポーター遺伝子実験を、pCRE/ - ガラクトシダーゼ及び CXCR4 をコードするプラスミドで一時的にトランスフェクトした HEK293T 細胞で行った。238D2 及び 238D4 ではアゴニスト活性は観察されなかった (左側のグラフ)。データは平均 ± 標準誤差 (n = 3) として示す。CXCL12 誘導性のレポーター遺伝子活性化の競合的拮抗作用を示す実験を、漸増濃度の 238D2 又は 238D4 の存在下で CXCL12 に対する濃度応答曲線を確立させることにより行った (右側のグラフ)。シルド回帰分析グラフが組み込まれている。データは平均 ± 標準誤差 (n = 4 ~ 6) として示す。図 5 C では、ChemoTx (商標) プレートを使用する走化性実験を、CXCR4 を内因的に発現するジャーカット細胞で行った。作動作用実験 (左側のグラフ) はジャーカット細胞の上部コンパートメントから、走化性プレート下部コンパートメントにおける 238D2 及び 238D4 ではなく CXCL12 への移動を示す。CXCL12 (0.3 nM) への移動の阻害を示す実験を両方のコンパートメントにおいて 238D2 又は 238D4 の存在下で行った。AMD3100 (3 μM; AMD) を用いて対照実験を行った。データは平均 ± 標準誤差 (n = 4) として示す。

【図 6】モノクローナル抗体をシーケンシングし、それらの類似性に基づきグループ分けをして、ファミリー (2 つを超える配列) を形成したことを示す図である。同じレーン上のクローンは 100% 同一である。U = 互いに関連しない特有の配列。

【図 7】一価ナノボディ 238D2 及び 238D4 がケモカイン CCR5、CCR7、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR6、<sub>2</sub> アドレナリン受容体及びヒスタミン H<sub>4</sub> 受容体に対してアゴニスト又はアンタゴニストとして作用しないことを示す図である。選択性スクリーニングを、CRE/ - ガラクトシダーゼレポーター遺伝子アッセイを使用して、言及された受容体をコードする cDNA (又は内因的に発現する <sub>2</sub> アドレナリン受容体の研究ではモック (mock)) で一時的にトランスフェクトした HEK293T 細胞において EC<sub>50</sub> ~ EC<sub>80</sub> のアゴニストの存在下で、及びホルスコリンの非存在下 (<sub>2</sub> アドレナリン受容体の研究では) 又は存在下 (全ての他の受容体の研究では 3 μM) で 2 つの濃度の 238D2 及び 238D4 を用いて行った。データは平均 ± 標準誤差 (n = 2, 3) として示す。

【図 8】二価ナノボディがそれらの一価対応物と比較して親和性及び阻害能の増大を示すことを示す図である。図 8 A では、[ <sup>125</sup>I ] - CXCL12 を用いる競合結合実験を、CXCR4 を一時的に発現する HEK293T 細胞由来の細胞膜で行った。AMD3100 (3 μM; AMD)、CXCL12 (30 nM; XL12) 又はビヒクル (-) を用いて対照置換実験を行った。データは平均 ± 標準誤差 (n = 2 ~ 6) として示す。図 8 B では、ChemoTx (商標) プレートを使用する走化性実験を、CXCR4 を内因的に発現するジャーカット細胞で行った。下部コンパートメントにおける CXCL12 (0.3 nM) への移動の阻害を示す実験を、両方のコンパートメントにおいてナノボディの存在下で行った。AMD3100 (3 μM; AMD) を用いて対照実験を行った。データは平均 ± 標準誤差 (n = 3, 4) として示す。

10

20

30

40

50

【図9】二価ナノボディがCXCR4媒介性のシグナル伝達を阻害することを示す図である。CXCR4及びキメラG<sub>q i 5</sub>タンパク質でトランスフェクトした細胞におけるCXCL12誘導性のイノシトールリン酸蓄積が、一価ナノボディ及び二価ナノボディにより阻害される。二価ナノボディはより強力な阻害を示す。

【図10】238D2及び238D4は、[<sup>1 2 5</sup>I]-CXCL12を構成的に活性のあるCXCR4突然変異体N119Aから置換させる。CXCL12及びプレリキサフォルを用いて対照実験を行った(n=3)。

【図11】ナノボディ238D4、L3及びL8がインバースアンタゴニストであるのに対して、238D2は構成的に活性のあるCXCR4突然変異体N119Aではニュートラルアンタゴニストとして働く。図11Aでは、ナノボディ及び参照リガンドによる基礎イノシトールリン酸蓄積のリガンド媒介性の変化を示す(n=3~5)。図11B~図11Dでは、ニュートラルアンタゴニストプレリキサフォル(AMD3100)による238D4、L3及びL8のインバースアンタゴニスト作用の阻害を示す(n=2)。

【発明を実施するための形態】

【0206】

Gタンパク質共役受容体(GPCR)(7回膜貫通受容体、7TM受容体、7ヘリックス(heptahelical)受容体及びGタンパク質結合受容体(GPLR)としても知られる)は、細胞外シグナル(リガンド結合)を細胞内シグナル(Gタンパク質活性化)へと変換させる膜貫通受容体のタンパク質ファミリーである。GPCRは、7回膜貫通ドメイン又は膜貫通ヘリックスを保有する内在性膜タンパク質である。受容体の細胞外部分はグリコシル化することができる。またこれらの細胞外ループは強く保存されたシステイン残基を2つ含有しており、これらが受容体構造を安定化させるジスルフィド結合を構築する。

【0207】

GPCRはシグナル変換に関与する膜貫通タンパク質の最も大きく、かつ最も多様な群を形成している(Howard et al., Trends Pharmacol. Sci. 22:132-40, 2001)。GPCRは様々な細胞及び生物学的機能、例えば刺激応答経路(細胞間伝達から生理学的な感覚まで)(例えば胚発生、神経伝達物質放出、神経感覚(neurosensation)(例えば味覚及び嗅覚等の15個の化学感覚機能)を含む)(Mombaerts, Science 286:707-711, 1999)、神経軸索経路探索(pathfinding)(Mombaerts et al., Cell 87:675, 1996、Mombaerts et al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 56:135, 1996)、炎症部位に対する白血球の標的化(Tager et al., J. Exp. Med., 192:439-46, 2000)、並びに細胞の生存、増殖及び分化に関与している(Ryan et al., J. Biol Chem. 273:13613-24, 1998)。

【0208】

GPCRレパートリーの複雑性は免疫グロブリンとT細胞受容体遺伝子とを組合せたものの複雑性を上回り、GPCRスーパーファミリーの成員は2000もの数、又はヒトゲノムの1.5%超であると推測されている。さらに、GPCRスーパーファミリーの成員はヒトで臨床的に使用される現行の医薬品の50%超の直接的又は間接的な標的である。

【0209】

機能の多様性は、光量子(ロドプシン、原型GPCR)から小分子(ヒスタミン受容体の場合)、タンパク質(例えばケモカイン受容体)までの、ファミリー成員によって認識される広範なリガンドに適合する。ヒトGPCRファミリー及びヒトGPCRのリガンドの概要に関しては、米国特許出願第2002/0106739号の図1を参照する。

【0210】

GPCRは構造的相同性及び機能的類似性に基づき4つの群にグループ分けすることができる:A群(ロドプシン様)、B群(セクレチン様)、C群(代謝調節型/フェロモン)及びD群(真菌性フェロモン)。その中でA群受容体、B群受容体及び事実上存在しないカルボキシル末端尾部を有する受容体が主要な群を形成する。したがってGPCRはHEK-293細胞においてラットの8-アレスチン-2に関する親和性との相互作用に基づき分類することができ、カルボキシル末端尾部におけるアミノ酸残基及びカルボキシル末端尾部の長さに基づき予測することができる。B群受容体は、米国特許第5,891,

10

20

30

40

50

646号、Oakley, et al., Journal of Biological Chemistry, Vol 275, No. 22, pp17201-17210, June 2, 2000、及びOakley et al., Journal of Biological Chemistry, Vol. 276, No. 22, pp 19452-19460, 2001に記載のような条件下でHEK-293細胞においてエンドソームにラットの8-アレスチン-2を補充するように、カルボキシル末端尾部に適切に位置する1つ又は複数のリン酸化部位(例えばリン酸化部位のクラスター)を有するGPCRである。A群受容体は、B群受容体に関して上記された条件下でHEK-293細胞においてエンドソームにラットのp-アレスチン-2を補充しないように、カルボキシル末端尾部に適切に位置する1つ又は複数のリン酸化部位(例えばリン酸化部位のクラスター)を有しないGPCRである。事実上存在しないカルボキシル末端尾部を有する受容体としては例えば、嗅覚受容体及び味覚受容体が挙げられる。

10

## 【0211】

GPCRの生物学的及び生理学的な役割の例の幾つかとしては以下が挙げられる：

視覚：オプシンは、電磁放射を細胞シグナルに転換するために光異性化反応を使用する。例えばロドプシンはこの目的のために、11-シス-レチナールのオール-トランス-レチナールへの変換を使用する。

嗅覚：嗅上皮の受容体はオドラント(嗅覚受容体)及びフェロモン(鋤鼻受容体)と結合する。

行動及び気分の調節：哺乳動物の脳における受容体はセロトニン、ドーパミン、GABA及びグルタミン酸を含む幾つかの異なる神経伝達物質と結合する。

免疫系活性及び炎症の調節：ケモカイン受容体は免疫系の細胞間の細胞間伝達を媒介するリガンドと結合し、ヒスタミン受容体等の受容体は炎症性メディエータと結合すると共に、炎症反応において標的細胞型と係合する(engage)。

20

自律神経系の伝播：交感神経系及び副交感神経系の両方がGPCR経路によって調節される。これらの系は血圧、心拍数及び消化過程等の身体の多くの自動機能の制御に関与している。

## 【0212】

概してGPCRに関しては、標準的なハンドブック、例えばGタンパク質共役受容体ハンドブック(the GProtein Coupled Receptors Handbook)(L. Devi (Ed.), Humana Press, 2005)、及び利用可能なデータベース、例えばGPCRDB(例えば<http://www.gpcr.org/7tm/htmls/entries.html>を参照されたい)を参照する。

30

## 【0213】

このため概して、本明細書で使用されるように、「Gタンパク質共役受容体」(即ち「GPCR」という用語は、細胞で発現されると、Gタンパク質(例えばccサブユニット、Pサブユニット及びyサブユニットから構成され、GTPを加水分解するタンパク質)と会合する受容体を表す。好ましくはGPCRは、構造的に7つの疎水性膜貫通領域を含むタンパク質を表す「7回膜貫通セグメント受容体(seven transmembrane segment receptor)」(即ち「7TMS受容体」)である。

## 【0214】

GPCRの非限定的な例の幾つかとしては以下が挙げられるが、これらに限定されない：

40

現在市販されているか又は臨床開発中である医薬品(小分子又は生物製剤)に対する既知の標的であるGPCR(例えば本明細書で言及されるもの)；

黄体形成ホルモン放出ホルモン(LHRH)(ゴナドトロピン放出ホルモン、GnRHとしても知られる)受容体、MIムスカリン性受容体及びD2-アドレナリン受容体；

オピオイド受容体、エンドセリン受容体、アンジオテンシン受容体、神経ペプチドY受容体及びセロトニンK受容体；

Gq/1I Gタンパク質と共役する(即ち会合する)GPCR、例えばLHRH(=GnRH)、アセチルコリン(m1亜型、m3亜型及びm5亜型)、MIムスカリン、アデノシン1、CC-アドレナリン(a1A、a1B及びa1C亜型)、アンジオテンシン(AT1A亜型)、ボンベシン(BB1I亜型及びB132亜型)、ブラジキニン

50

(132 亜型)、C5a、コレシストキニン(CCK a 亜型及びCCK b 亜型)、エンドセリン(Et a 亜型及びEt b 亜型)、グルタミン酸(mGlu1 亜型、mGlu5 亜型)、5HT(2A 亜型、B 亜型及びC 亜型)、ヒスタミン(H1 亜型)、ニューロテンシン、ニューロキニン(NK2 亜型、NK3 亜型)、オキシトシン、チロトロピン放出ホルモン(TRI J)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、トロンボキサンA2及びバソプレシン(VI a 亜型)の受容体；

Gs Gタンパク質と共役するGPCR、例えば以下の受容体：P2-アドレナリン、心臓のP-アドレナリン、ヒスタミン(H2 亜型)、チロトロピン、成長ホルモン放出因子、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、5HT4、卵胞刺激ホルモン(FSH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、GLP-1、グルカゴン、ドーパミン(domamine)5(D5)、ドーパミンI(DI)、カルシトシン、アデノシン2p(A2p)、バソプレシン2、血管作動性腸管ポリペプチド及び副甲状腺ホルモンの受容体；

Gi Gタンパク質と共役するGPCR、例えば以下の受容体：5HT(I A 亜型、I B 亜型、I D 亜型及びI F 亜型)、mグルタミンR(2 亜型、3 亜型)、ドーパミン4(D4)、ドーパミン-2(D2)カンナビノイド、アデノシン3(A3)、ソマトスタチン(4 亜型、3 亜型)、t-オピオイド、6-オピオイド、K-オピオイド、神経ペプチドY(1 亜型、2 亜型)の受容体；

米国特許出願公開第2002/0106739号で言及されるGPCR；

Lundstrom et al., J. Struct. Funct. Genomics, 2006Nov 22 (Epub ahead of print)の表1で列挙されるGPCR；

いわゆる「オーファン」受容体であるGPCR、即ち他のGPCRと構造的に類似しているが、天然リガンドが依然として知られていないGPCR；

表Cで言及されるGPCR；

表Dで言及されるGPCR。

#### 【0215】

他のGPCRは、例えば標準的なハンドブック、例えばGタンパク質共役受容体ハンドブック(L. Devi (Ed.), Humana Press, 2005)、及び標準的なデータベース、例えばGPCRDB(例えば<http://www.gpcr.org/7tm/htmls/entries.html>を参照されたい)から当業者にとって明らかであろう。

#### 【0216】

本明細書、実施例及び態様において：

a) 特に他に指示又は規定がなければ、使用される全ての用語は、当業者にとって明らかな、当該技術分野における通常の意味を有する。例えば標準的なハンドブック(例えばSambrook et al., "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (2nd.Ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、F.Ausubel et al., eds., "Current protocols in molecular biology", Green Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)、Lewin, "Genes II", John Wiley & Sons, New York, N.Y., (1985)、Old et al., "Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering", 2nd edition, University of California Press, Berkeley, CA (1981)、Roitt et al., "Immunology" (6th.Ed.), Mosby/Elsevier, Edinburgh (2001)、Roitt et al., Roitt's Essential Immunology, 10<sup>th</sup> Ed. Blackwell Publishing, UK (2001)、及びJaneway et al., "Immunobiology" (6th Ed.), Garland Science Publishing/Churchill Livingstone, New York (2005))、並びに本明細書で言及される包括的な背景技術を参照する。

#### 【0217】

b) GPCR受容体分子は活性生物物理学状態と不活性生物物理学状態との間にある立体構造平衡で存在する。リガンドと受容体との結合は活性受容体状態へと平衡を移行させる。4種類のリガンドが存在する：アゴニストは活性状態を支持するように平衡を移行させるリガンドであり、インバースアゴニスト又はアンタゴニストは不活性状態を支持するように平衡を移行させるリガンドであり、ニュートラルアンタゴニストは平衡に影響を与えないリガンドである。本明細書で使用されるように、「アンタゴニスト」はアゴニスト

10

20

30

40

50

と同じ部位で受容体と競合的に結合するが、活性型の受容体によって引き起こされる細胞内応答を活性化しないリガンドであり、それによりアゴニストの存在下、及びアンタゴニストの非存在下での細胞内応答と比較してアゴニストにより誘導される細胞内応答を少なくとも10%、好ましくは15%~25%、より好ましくは25%~50%及び最も好ましくは50%~100%阻害する。本明細書で使用されるように、「アゴニスト」はGDPと結合すると細胞内応答を活性化するリガンドを表す。本発明によるアゴニストは、アゴニストの非存在下での細胞内応答と比較して受容体によって媒介される細胞内応答を少なくとも2倍、好ましくは5倍、より好ましくは10倍及び最も好ましくは100倍又はそれ以上(即ち150倍、200倍、250倍、500倍、1000倍、10000倍等)増大させ得る。本明細書で使用されるように、「インバースアゴニスト」は受容体と結合すると細胞表面受容体の構成的活性を低減するが、アゴニストと同じ部位で受容体と競合的に結合しないリガンドを表す。本発明によるインバースアゴニストは、インバースアゴニストの非存在下での細胞内応答と比較して受容体によって媒介される構成的な細胞内応答を少なくとも2倍、好ましくは5倍、より好ましくは10倍及び最も好ましくは100倍又はそれ以上(即ち150倍、200倍、250倍、500倍、1000倍、10000倍等)低減し得る。本明細書で使用されるように、「インバースアンタゴニスト」は、受容体と結合すると細胞表面受容体の構成的活性を低減し、かつアゴニストと同じ部位で受容体と競合的に結合するリガンドを表す。本発明によるインバースアンタゴニストは、インバースアンタゴニストの非存在下での細胞内応答と比較して受容体によって媒介される構成的な細胞内応答を少なくとも2倍、好ましくは5倍、より好ましくは10倍及び最も好ましくは100倍又はそれ以上(即ち150倍、200倍、250倍、500倍、1000倍、10000倍等)低減させ得る。特に他に指示がなければ、具体的に詳しく説明されていない全ての方法、工程、技法及び操作を実施することができ、当業者にとって明らかなそれ自体が既知の方法で実施する。同様に例えば、標準的なハンドブック及び本明細書で言及される包括的な背景技術、並びに本明細書で引用されるさらなる参考文献並びに例えば以下の総説、Presta, Adv. Drug Deliv. Rev. 2006, 58 (5-6): 640-56、Levin and Weiss, Mol. Biosyst. 2006, 2 (1): 49-57、Irving et al., J. Immunol. Methods, 2001, 248 (1-2), 31-45、Schmitzet al., Placenta, 2000, 21 Suppl. A, S106-12、Gonzales et al., Tumour Biol., 2005, 26 (1), 31-43(これらは、親和性成熟等のタンパク質工学技法及び免疫グロブリン等のタンパク質の特異性及び他の所望の特性を改善する他の技法を記載している)を参照する。

10

20

30

## 【0218】

c) アミノ酸残基は、表A-2に言及されるように標準的な3文字アミノ酸コード又は1文字アミノ酸コードに従って示す。

## 【0219】

表A-2: 1文字アミノ酸コード及び3文字アミノ酸コード

【表 3】

非極性非荷電 (pH 6.0~7.0で) <sup>(3)</sup>	アラニン	A l a	A
	バリン	V a l	V
	ロイシン	L e u	L
	イソロイシン	I l e	I
	フェニルアラニン	P h e	F
	メチオニン <sup>(1)</sup>	M e t	M
	トリプトファン	T r p	W
	プロリン	P r o	P
極性非荷電 (pH 6.0~7.0で)	グリシン <sup>(2)</sup>	G l y	G
	セリン	S e r	S
	スレオニン	T h r	T
	システイン	C y s	C
	アスパラギン	A s n	N
	グルタミン	G l n	Q
	チロシン	T y r	Y
極性荷電 (pH 6.0~7.0で)	リシン	L y s	K
	アルギニン	A r g	R
	ヒスチジン <sup>(4)</sup>	H i s	H
	アスパラギン酸	A s p	D
	グルタミン酸	G l u	E
脚注： (1) 極性非荷電アミノ酸と見なされる場合もある。 (2) 非極性非荷電アミノ酸と見なされる場合もある。 (3) 当業者にとって明らかであるように、アミノ酸残基が、pH 6.0~7.0で荷電又は非荷電のいずれかであるとしてこの表で示されていることは、該アミノ酸残基が6.0未満のpH及び/又は7.0より高いpHで有し得る電荷を全く考慮に入れない。当業者にとって明らかであるように、この表で言及されたアミノ酸残基はこのようにより高い又はより低いpHでも荷電及び/又は非荷電のいずれかであり得る。 (4) 当該技術分野で既知のようにH i s残基の電荷は、pHのほんのわずかな移行にも強く依存するが、一般的にH i s残基は約6.5のpHで本質的に非荷電であるとみなすことができる。			

10

20

## 【0220】

d) 2つ以上のヌクレオチド配列を比較するために、[第2のヌクレオチド配列における対応する位置のヌクレオチドと同一な第1のヌクレオチド配列におけるヌクレオチドの数]を[第1のヌクレオチド配列におけるヌクレオチド総数]で除算し、[100%]で乗算することによって、第1のヌクレオチド配列と第2のヌクレオチド配列との間の「配列同一性」のパーセントを算出することができ、第1のヌクレオチド配列に比べて、第2のヌクレオチド配列におけるヌクレオチドの欠失、挿入、置換又は付加のそれぞれは、単一ヌクレオチド(位置)での差異と考えられる。

30

## 【0221】

代替的に、標準的な設定を用いて、NCBI Blast v2.0等の配列アラインメント用の既知のコンピュータアルゴリズムを使用して、2つ以上のヌクレオチド配列間の配列同一性の程度を算出することができる。

40

## 【0222】

配列同一性の程度を決定するための幾つかの他の技法、コンピュータアルゴリズム及び設定は例えば、国際公開第04/037999号、欧州特許第0967284号、欧州特許第1085089号、国際公開第00/55318号、国際公開第00/78972号、国際公開第98/49185号及び英国特許出願公開第2357768号に記載されている。

## 【0223】

通常、上述で概説された算出方法に従って、2つのヌクレオチド配列間の「配列同一性」のパーセントを決定するために、最も多くのヌクレオチドを有するヌクレオチド配列を「第1の」ヌクレオチド配列とし、他のヌクレオチド配列を「第2の」ヌクレオチド配列

50

とする。

【0224】

e) 2つ以上のアミノ酸配列を比較するために、[第2のアミノ酸配列における対応する位置のアミノ酸残基と同一な第1のアミノ酸配列におけるアミノ酸残基の数]を[第1のアミノ酸配列におけるアミノ酸残基総数]で除算し、[100%]で乗算することによって、第1のアミノ酸配列と第2のアミノ酸配列との間の「配列同一性」(本明細書で「アミノ酸同一性」とも称される)のパーセントを算出することができ、第1のアミノ酸配列に比べて、第2のアミノ酸配列におけるアミノ酸残基の欠失、挿入、置換又は付加のそれぞれは、単一アミノ酸残基(位置)での差異、即ち本明細書に規定の「アミノ酸差異」と考えられる。

10

【0225】

代替的に、同様に標準的な設定を用いて、既知のコンピュータアルゴリズム(例えばヌクレオチド配列に関する配列同一性の程度を決定するのに上記で言及されるもの)を使用して、2つのアミノ酸配列間の配列同一性の程度を算出することができる。

【0226】

通常、上述で概説された算出方法に従って、2つのアミノ酸配列間の「配列同一性」のパーセントを決定するために、最も多くのアミノ酸残基を有するアミノ酸配列を「第1の」アミノ酸配列とし、他のアミノ酸配列を「第2の」アミノ酸配列とする。

【0227】

また、2つのアミノ酸配列間の配列同一性の程度を決定する際、当業者は、いわゆる「保存的な」アミノ酸置換を考慮してもよく、これは一般的に、アミノ酸残基が同様の化学構造を有する別のアミノ酸残基に置き換わり、かつポリペプチドの機能、活性又は他の生物学的特性への影響がほとんど、又は本質的に全くないアミノ酸置換と説明することができる。このような保存的なアミノ酸置換は、例えば国際公開第04/037999号、英国特許出願公開第3357768号、国際公開第98/49185号、国際公開第00/46383号及び国際公開第01/09300号から当該技術分野において既知であり、このような置換の(好ましい)種類及び/又は組合せは、国際公開第04/037999号及び国際公開第98/49185号、並びに本明細書で引用されるさらなる参考文献の関連の教示に基づいて選択することができる。

20

【0228】

このような保存的な置換は、好ましくは以下の(a)群~(e)群内の或るアミノ酸が、同じ群内の別のアミノ酸残基に置換される置換である:(a)小さく脂肪族で非極性又はわずかに極性の残基:Ala、Ser、Thr、Pro及びGly、(b)極性で負に荷電した残基及びこの(非荷電)アミド:Asp、Asn、Glu及びGln、(c)極性で正に荷電した残基:His、Arg及びLys、(d)巨大な脂肪族で非極性の残基:Met、Leu、Ile、Val及びCys、並びに(e)芳香族残基:Phe、Tyr及びTrp。

30

【0229】

特に好ましい保存的置換は以下のようなものである:AlaをGlyに又はSerに、ArgをLysに、AsnをGlnに又はHisに、AspをGluに、CysをSerに、GlnをAsnに、GluをAspに、GlyをAlaに又はProに、HisをAsn又はGlnに、IleをLeuに又はValに、LeuをIleに又はValに、LysをArgに、Glnに又はGluに、MetをLeuに、Tyrに又はIleに、PheをMetに、Leuに又はTyrに、SerをThrに、ThrをSerに、TrpをTyrに、TyrをTrpに、及び/又はPheをValに、Ileに又はLeuに。

40

【0230】

本明細書に記載のポリペプチドに適用される任意のアミノ酸置換はまた、Schulz et al., Principles of Protein Structure, Springer-Verlag, 1978によって開発された異なる種の相同タンパク質間のアミノ酸変異頻度の解析、Chou and Fasman, Biochemistry 13: 211, 1974及びAdv. Enzymol., 47: 45-149, 1978によって開発された構造形成能(structur

50

e forming potentials) の解析、並びに Eisenberg et al., Proc. Nad. Acad Sci. USA 81: 140-144, 1984、Kyte & Doolittle; J Molec. Biol. 157: 105-132, 1981、及び Goldman et al., Ann. Rev. Biophys. Chem. 15: 321-353, 1986 によって開発されたタンパク質における疎水性パターンの解析に基づき得る(全て全体が参照により本明細書に援用される)。ナノボディの一次構造、二次構造、及び三次構造に関する情報は、本明細書中の記載及び上記で言及された包括的な背景技術で与えられる。またこのため、ラマ由来の  $V_H$  ドメインの結晶構造は例えば、Desmyter et al., Nature Structural Biology, Vol. 3, 9, 803 (1996)、Spinelli et al., Natural Structural Biology (1996); 3, 752-57、及び Decanniere et al., Structure, Vol. 7, 4, 361 (1999) によって与えられる。従来の  $V_H$  ドメインにおいてこれらの位置で  $V_H/V_L$  界面及び潜在的なラクダ置換を形成する幾つかのアミノ酸残基に関するさらなる情報は、上記で言及された従来技術で見出すことができる。

10

## 【0231】

f) アミノ酸配列及び核酸配列は、その全長にわたって(本明細書に規定のように) 100%の配列同一性を有する場合、「全く同じ」であるといえる。

## 【0232】

g) 2つのアミノ酸配列を比較するとき、「アミノ酸差異」という用語は、第2の配列に比べて第1の配列の位置での単一アミノ酸残基の挿入、欠失又は置換を表し、2つのアミノ酸配列は、1つ、2つ又はそれ以上のこのようなアミノ酸差異を含有し得ることが理解される。

20

## 【0233】

h) ヌクレオチド配列又はアミノ酸配列が、それぞれ別のヌクレオチド配列又はアミノ酸配列を「含む」、又は別のヌクレオチド配列又はアミノ酸配列「から本質的に成る」というとき、これは、後者のヌクレオチド配列又はアミノ酸配列がそれぞれ、初めに言及されたヌクレオチド配列又はアミノ酸配列に組み込まれていることを意味し得るが、より一般的に概してこれは、初めに言及されたヌクレオチド配列又はアミノ酸配列がそれぞれ、(例えば本明細書に記載の任意の好適な方法によるものであり得る) 実際にどのように初めに言及された配列を生成又は入手するかに関係なく、その配列内にそれぞれ後者の配列と同じヌクレオチド配列又はアミノ酸配列を有するヌクレオチド又はアミノ酸残基のストレッチを含むことを意味する。非限定的な例によって、本発明のナノボディがCDR配列を含むというとき、これは、上記CDR配列が、本発明のナノボディに組み込まれていることを意味し得るが、より一般的に概してこれは、本発明のナノボディが、どのように上記本発明のナノボディを生成又は入手するかに関係なく、その配列内に上記CDR配列と同じアミノ酸配列を有するアミノ酸残基のストレッチを含有することを意味する。後者のアミノ酸配列が特異的な生物学的又は構造的な機能を有する場合、初めに言及されたアミノ酸配列において本質的に同じ、類似の又は同等の生物学的又は構造的な機能を有するのが好ましい(言い換えれば、初めに言及されたアミノ酸配列は、後者の配列が本質的に同じ、類似の又は同等の生物学的又は構造的な機能を果たすことができるようなものであるのが好ましい)ということにも留意すべきである。例えば、本発明のナノボディがそれぞれ、CDR配列又はフレームワーク配列を含むというとき、CDR配列及びフレームワークはそれぞれ、上記ナノボディでCDR配列又はフレームワーク配列として機能することができるのが好ましい。また、ヌクレオチド配列が別のヌクレオチド配列を含むというとき、初めに言及されたヌクレオチド配列は、発現産物(例えばポリペプチド)で発現する場合、後者のヌクレオチド配列でコードされるアミノ酸配列が上記発現産物の一部を形成するようなもの(言い換えれば後者のヌクレオチド配列が、初めに言及されたより大きなヌクレオチド配列と同じリーディングフレーム内にあるようなもの)であるのが好ましい。

30

40

## 【0234】

i) 核酸配列又はアミノ酸配列は、通常上記供給源又は媒体に関連がある少なくとも1つの他の成分(例えば別の核酸、別のタンパク質/ポリペプチド、別の生物学的成分、又は巨大分子)、又は少なくとも1つの汚染物質、不純物若しくは微量成分から分離されてい

50

る場合、(例えばその天然の生物学的供給源及び/又はこれが得られる反応媒体又は培養媒体に比べて)「本質的な単離(形態)」であると考えられる。特に、核酸配列又はアミノ酸配列は、少なくとも2倍、具体的に少なくとも10倍、より具体的に少なくとも100倍、及び最大1000倍以上精製されている場合に、「本質的に単離された」と考えられる。「本質的に単離形態である」核酸配列又はアミノ酸配列は、好適な技法、例えば好適なクロマトグラフィ技法(例えばポリアクリルアミドゲル電気泳動法)を使用して決定されたものと、本質的に相同であるのが好ましい。

【0235】

j) 本明細書で使用される「ドメイン」という用語は概して、アミノ酸配列の球状領域(例えば抗体鎖、特に重鎖抗体の球状領域)又は本質的にこのような球状領域から成るポリペプチドを表す。通常、このようなドメインは、例えばシートとして、又はジスルフィド結合によって安定化したペプチドループ(例えば3つ又は4つのペプチドループ)を含む。「結合ドメイン」という用語は(本明細書で規定されるように)抗原決定基に指向性を有するようなドメインを表す。

10

【0236】

k) 「抗原決定基」という用語は、抗原結合分子(例えば本発明のナノボディ又はポリペプチド)によって、及びより具体的には上記分子の抗原結合部位によって認識される抗原上のエピトープを表す。「抗原決定基」及び「エピトープ」という用語は、本明細書で区別なく使用することもできる。

【0237】

l) 特定の抗原決定基、エピトープ、抗原又はタンパク質と(特異的に)結合することができる、特定の抗原決定基、エピトープ、抗原又はタンパク質(又はその少なくとも1つの部分、断片若しくはエピトープ)に対する親和性を有する、及び/又は特定の抗原決定基、エピトープ、抗原又はタンパク質(又はその少なくとも1つの部分、断片若しくはエピトープ)に対する特異性を有するアミノ酸配列(例えば本発明のナノボディ、抗体、ポリペプチド、又は概して抗原結合タンパク質若しくはポリペプチド、又はその断片)は、上記抗原決定基、エピトープ、抗原又はタンパク質「に対する」、又は「に指向性を有する」("against" or "directed against")と言われる。

20

【0238】

m) 「特異性」という用語は、特定の抗原結合分子又は抗原結合タンパク質(例えば本発明のナノボディ又はポリペプチド)分子が結合することができる、様々な種類の抗原又は抗原決定基の数を表す。抗原結合タンパク質の特異性は、親和性及び/又は結合活性に基づき決定することができる。親和性(抗原と抗原結合タンパク質との解離に関する平衡定数( $K_D$ )によって表される)は、抗原結合タンパク質上の抗原決定基と抗原結合部位との間の結合力の評価基準であり、 $K_D$ 値が小さくなれば、抗原決定基と抗原結合分子との間の結合力が大きくなる(代替的に、親和性は、 $1/K_D$ である親和定数( $K_A$ )としても表すことができる)。(例えば本明細書中のさらなる開示に基づき)当業者にとって明らかのように、対象となる特異的な抗原に応じて、それ自体が既知の方法で親和性を決定することができる。結合活性は、抗原結合分子(例えば本発明のナノボディ又はポリペプチド)と関連抗原との間の結合力の評価基準である。結合活性は、抗原結合分子上の抗原決定基とその抗原結合部位との間の親和性、及び抗原結合分子上に存在する関連結合部位の数の両方に関係する。典型的には、抗原結合タンパク質(例えば本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及び/又はポリペプチド)は、 $10^{-5}$ モル/L $\sim 10^{-12}$ モル/L以下、及び好ましくは $10^{-7}$ モル/L $\sim 10^{-12}$ モル/L以下、及びより好ましくは $10^{-8}$ モル/L $\sim 10^{-12}$ モル/Lの解離定数( $K_D$ )で(即ち $10^5$ L/モル $\sim 10^{12}$ L/モル以上、及び好ましくは $10^7$ L/モル $\sim 10^{12}$ L/モル以上、及びより好ましくは $10^8$ L/モル $\sim 10^{12}$ L/モルの結合定数( $K_A$ )で)これらの抗原と結合する。 $10^{-4}$ モル/Lより大きい任意の $K_D$ 値(即ち $10^4$ M $^{-1}$ (L/モル)よりも小さい任意の $K_A$ 値)は一般的に非特異的な結合を示すと考えられる。好ましくは、本発明の一価の免疫グロブリン配列は、500nM未満、好ましくは200nM未満、より好

30

40

50

ましくは10 nM未満(500 pM未満等)の親和性で所望の抗原と結合する。抗原結合タンパク質と抗原又は抗原決定基との特異的な結合は、それ自体が既知の任意の好適な方法(例えばスキャッチャード解析及び/又は競合的結合アッセイ(例えばラジオイムノアッセイ(RIA)、酵素イムノアッセイ(EIA)及びサンドイッチ競合アッセイ)を含む)及び当該技術分野でそれ自体が既知の様々なその変更方法、並びに本明細書で言及される他の技法で求めることができる。

#### 【0239】

当業者にとって明らかなように、解離定数は実際又は見掛けの解離定数であってもよい。解離定数を決定する方法は、当業者にとって明らかであり、例えば本明細書で言及される技法が含まれる。これに関して、 $10^{-4}$ モル/L又は $10^{-3}$ モル/Lより大きい(例えば $10^{-2}$ モル/Lの)解離定数を測定することが不可能であり得ることも明らかである。任意で、また当業者にとって明らかなように、(実際又は見掛けの)解離定数は、その関係性( $K_D = 1 / K_A$ )から(実際又は見掛けの)結合定数( $K_A$ )に基づき算出することができる。

10

#### 【0240】

親和性は、分子相互作用の強さ又は安定性を示す。一般的に親和性は $K_D$ 即ち解離定数として与えられ、その単位はモル/L(又はM)である。親和性は、 $1 / K_D$ に等しい結合定数 $K_A$ とも表すことができ、その単位は(モル/L) $^{-1}$ (又はM $^{-1}$ )である。本明細書では、2つの分子(例えば本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドと、その対象となる標的との)間の相互作用の安定性は主に、これらの相互作用の $K_D$ 値で表され、 $K_A = 1 / K_D$ の関係性を考慮して、 $K_D$ 値で分子相互作用の強さを特定することを、対応する $K_A$ 値を算出するのに利用することもできることは、当業者にとって明らかである。 $K_D$ 値は、 $DG = RT \cdot \ln(K_D)$ (等しくは $DG = -RT \cdot \ln(K_A)$ )(式中、Rは気体定数に等しく、Tは絶対温度に等しく、 $\ln$ は自然対数を示す)の既知の関係性から、結合の自由エネルギー(DG)と関連するので、熱力学的意味でも分子相互作用の強さを特徴付ける。

20

#### 【0241】

有意(例えば特異的)と見なされる、生物学的相互作用に関する $K_D$ は典型的に、 $10^{-10}$ M(0.1 nM)~ $10^{-5}$ M(10000 nM)の範囲内である。相互作用が強くなれば、 $K_D$ は低くなる。

30

#### 【0242】

$K_D$ は、( $K_D = k_{off} / k_{on}$ 及び $K_A = k_{on} / k_{off}$ のように)複合体の解離速度定数( $k_{off}$ と称される)と、その結合速度( $k_{on}$ と称される)との比としても表すことができる。解離速度(off-rate) $k_{off}$ の単位は、 $s^{-1}$ (sは秒のSI単位表記である)である。結合速度 $k_{on}$ の単位は、 $M^{-1} s^{-1}$ である。結合速度は、二分子相互作用に関する拡散律速結合速度定数に近づきながら $10^2 M^{-1} s^{-1}$ ~約 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ の間で変化し得る。解離速度は、 $t_{1/2} = \ln(2) / k_{off}$ の関係性から所定の分子相互作用の半減期に関連する。解離速度は、 $10^{-6} s^{-1}$ ( $t_{1/2}$ が数日である略不可逆的な複合体)~ $1 s^{-1}$ ( $t_{1/2} = 0.69 s$ )の間で変化し得る。

40

#### 【0243】

2つの分子間の分子相互作用の親和性は、それ自体が既知の様々な技法(例えば既知の表面プラズモン共鳴(SPR)バイオセンサ技法(例えばOber et al., Intern. Immunology, 13, 1551-1559, 2001を参照されたい)(ここで、1つの分子がバイオセンサーチップ上に固定され、もう1つの分子が、 $k_{on}$ 、 $k_{off}$ 測定値、及びしたがって $K_D$ (又は $K_A$ )値が得られるフロー条件下で固定分子上を通る)で測定することができる。例えば、既知のピアコアの機器を使用してこれを実施することができる。

#### 【0244】

測定プロセスが、例えば1つの分子のバイオセンサ上でのコーティングに関するアーチファクト(artefacts:人工産物)によって、示唆した分子の固有の結合親和性に幾らか

50

影響を与える場合、測定された  $K_D$  は見掛けの  $K_D$  に対応し得ることも、当業者にとって明らかである。また、1つの分子が、もう1つの分子に対して2つ以上の認識部位を含有する場合、見掛けの  $K_D$  を測定することができる。このような状況下で、測定された親和性は、2つの分子による相互作用の結合活性により影響され得る。

【0245】

親和性を評価するのに使用することができる別のアプローチは、Friguet et al. (J. Immunol. Methods, 77,305-19, 1985) の2段階 E L I S A (酵素結合免疫吸着アッセイ) 法である。この方法によって、溶液相の結合平衡測定が確立され、プラスチック等の支持体上での分子の1つの吸着に関連すると考えられ得るアーチファクトが避けられる。

【0246】

しかし、 $K_D$  の正確な測定はかなりの労力を要する可能性があり、結果として2つの分子の結合力を評価するのに、見掛けの  $K_D$  値を求めることが多い。全ての測定が一貫して(例えばアッセイ条件を一定にして)行われていれば、見掛けの  $K_D$  測定値は真の  $K_D$  の近似値として使用することができ、したがって本明細書で、 $K_D$  及び見掛けの  $K_D$  は、等しい重要性又は関連性があるとして処理されるべきであることに留意すべきである。

【0247】

最後に、多くの状況下で経験豊かな科学者は、幾つかの参照分子と比較して結合親和性を決定することが都合がよいと判断することができることに留意すべきである。例えば、分子Aと分子Bとの間の結合力を評価するために、例えば分子Bと結合することが知られており、かつ E L I S A 又は F A C S (蛍光活性化細胞選別) での検出を容易にするためのフルオロフォア若しくはクロモフォア群、又は他の化学部分(例えばビオチン)、又は他のフォーマット(蛍光検出用フルオロフォア、吸光検出用クロモフォア、ストレプトアビジン媒介性 E L I S A 検出用ビオチン)で好適に標識される参照分子Cを使用することができる。典型的に、参照分子Cは固定濃度に維持し、分子Aの濃度は、分子Bの所定の濃度又は量に対して変化させる。結果として、分子Aの非存在下で分子Cについて測定されたシグナルが半分になる分子Aの濃度に対応して、 $I C_{50}$  値が得られる。参照分子の  $K_D$  である  $K_{D\ ref}$  及び参照分子の総濃度  $c_{ref}$  が既知であれば、以下の式： $K_D = I C_{50} / (1 + c_{ref} / K_{D\ ref})$  から A - B 相互作用に対する見掛けの  $K_D$  を得ることができる。 $c_{ref} \ll K_{D\ ref}$  の場合、 $K_D \approx I C_{50}$  であることに留意されたい。 $I C_{50}$  の測定が、比較用の結合因子に関して一貫して(例えば  $c_{ref}$  を固定して)実施されれば、 $I C_{50}$  によって分子相互作用の強さ又は安定性を評価することができ、この測定値は、本明細書を通して  $K_D$  又は見掛けの  $K_D$  と同等であると判断される。

【0248】

n) 本発明のアミノ酸配列、化合物又はポリペプチドの半減期は概して、例えば自然機構による配列若しくは化合物の分解及び/又は配列若しくは化合物のクリアランス (clearance) 若しくは捕捉 (sequestration) のために、*in vivo* でアミノ酸配列、化合物又はポリペプチドの血清濃度が50%低減するのにかかる時間と定義することができる。本発明のアミノ酸配列、化合物又はポリペプチドの *in vivo* 半減期は、それ自体が既知の任意の方法(例えば薬物動態解析)で求めることができる。好適な技法は当業者にとって明らかであり、例えば概して、好適な用量の本発明のアミノ酸配列、化合物又はポリペプチドを温血動物(即ち、ヒト又は別の好適な哺乳動物、例えばマウス、ウサギ、ラット、ブタ、イヌ又は霊長類(例えばマカク属のサル(例えば特にカニクイザル(マカク・ファシクラリス)及び/又はアカゲザル(マカク・ムラット))及びヒヒ(パピオ・ウルジヌス))に好適に投与する工程と、血液試料又は他の試料を上記動物から採取する工程と、上記血液試料中の本発明のアミノ酸配列、化合物又はポリペプチドのレベル又は濃度を求める工程と、このようにして得られたデータ(のプロット)から本発明のアミノ酸配列、化合物又はポリペプチドのレベル又は濃度が投与時の初期レベルに比べて50%低減するまでの時間を算出する工程とを伴い得る。例えば、以下の実験部部分、及び標準的なハンドブック(例えば Kenneth, A et al: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists 及び Peters et al, Pharmacokinetic analysis: A Practical Ap

10

20

30

40

50

proach (1996)) を参照する。"Pharmacokinetics", M Gibaldi & D Perron, Marcel Dekker 発行, 2nd Rev. edition (1982) も参照する。

【0249】

また当業者にとって明らかなように(例えば国際公開第04/003019号の6頁及び7頁とそこに引用されたさらなる参考文献とを参照されたい)、半減期は、 $t_{1/2}$ 、 $t_{1/2}$  及び曲線下面積(AUC)等のパラメータを利用して表すことができる。本明細書において、「半減期の増大」は、これらのパラメータのいずれか1つ、例えばこれらのパラメータのいずれか2つ、又は本質的に3つ全てのこれらのパラメータの増大を表す。本明細書で使用される「半減期の増大」又は「増大した半減期」は特に $t_{1/2}$ の増大を表し、 $t_{1/2}$  及び/又はAUCのいずれか又は両方は増大しても又は増大しなくてもよい。

10

【0250】

o) 本明細書でさらに記載されるように、ナノボディにおけるアミノ酸残基の総数は、110~120、好ましくは112~115の範囲内、及び最も好ましくは113であり得る。しかし、ナノボディの部分、断片、類似体又は誘導體(本明細書中にさらに記載されたように)は、本明細書に概説されるさらなる要求を満たし、また好ましくは本明細書に記載の目的に好適であれば、その長さ及び/又はサイズに特に限定されないことに留意すべきである。

【0251】

p) ナノボディのアミノ酸残基は、Riechmann and Muyldermans, J. Immunol. Methods 2000 Jun 23; 240 (1-2):185-195の論文においてラクダ科動物由来の $V_{HH}$ ドメインに適用されるように、又は本明細書に言及されるようにKabat et al. ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91)によって与えられた $V_H$ ドメインに関する一般的なナンバリングに従って数字が付けられる。このナンバリングに従うと、ナノボディのFR1は1位~30位のアミノ酸残基を含み、ナノボディのCDR1は31位~35位のアミノ酸残基を含み、ナノボディのFR2は36位~49位のアミノ酸残基を含み、ナノボディのCDR2は50位~65位のアミノ酸残基を含み、ナノボディのFR3は66位~94位のアミノ酸残基を含み、ナノボディのCDR3は95位~102位のアミノ酸残基を含み、ナノボディのFR4は103位~113位のアミノ酸残基を含む。[これに関して、 $V_{HH}$ ドメイン及び $V_H$ ドメインに関して当該技術分野で既知のように、CDRそれぞれにおけるアミノ酸残基の総数は変わる可能性があり、カバットナンバリングで示されるアミノ酸残基の総数に対応していなくてもよい(即ちカバットナンバリングによる1つ又は複数の位置が実際の配列で占められていなくてもよく、又は実際の配列が、カバットナンバリングで可能な数より多くのアミノ酸残基を含有していてもよい)ことに留意すべきである。このことは、概してカバットによるナンバリングは、実際の配列におけるアミノ酸残基の実際のナンバリングに対応していても、又は対応していなくてもよいことを意味する。しかし一般的に、CDRにおけるアミノ酸残基の数に関係なく、カバットナンバリングに従うと、カバットナンバリングによる1位は、FR1の出発点に対応し(逆もまた同様)、カバットナンバリングによる36位は、FR2の出発点に対応し(逆もまた同様)、カバットナンバリングによる66位は、FR3の出発点に対応し(逆もまた同様)、カバットナンバリングによる103位は、FR4の出発点に対応する(逆もまた同様)ということができる]。

20

30

40

【0252】

$V_H$ ドメインのアミノ酸残基の数字を付ける代替方法(この方法は、類似の方法でラクダ科動物由来の $V_{HH}$ ドメイン及びナノボディに適用することができる)は、Chothia et al. (Nature 342, 877-883 (1989))によって説明される方法、いわゆる「AbM定義」及びいわゆる「接触定義」である。しかし本明細書、態様及び図面では、特に他に指示がなければ、Riechmann and Muyldermansによって $V_{HH}$ ドメインに適用されるようなカバットによるナンバリングに従う。

50

## 【0253】

q) 図面、配列表及び実験部部分/実施例は、本発明をさらに説明するためだけに与えられ、特に他にはっきりと本明細書中に指示がなければ、本発明の範囲及び/又は添付の態様を限定するものとしては決して解釈すべきではない。

## 【0254】

重鎖抗体及びその可変ドメインの概説に関しては、特に本明細書で言及される従来技術、Reviews in Molecular Biotechnology 74 (2001), 277-302におけるMuyldermansによる総説、及び包括的な背景技術として言及される以下の特許出願：Vrije Universiteit Brusselの国際公開第94/04678号、国際公開第95/04079号、及び国際公開第96/34103号；Unileverの国際公開第94/25591号、国際公開第99/37681号、国際公開第00/40968号、国際公開第00/43507号、国際公開第00/65057号、国際公開第01/40310号、国際公開第01/44301号、欧州特許第1134231号及び国際公開第02/48193号；Vlaams Instituut voor Biotechnologie (VIB)の国際公開第97/49805号、国際公開第01/21817号、国際公開第03/035694号、国際公開第03/054016号及び国際公開第03/055527号；Algonomics N.V.及びAblynx N.V.の国際公開第03/050531号；カナダのNational Research Councilによる国際公開第01/90190号；Institute of Antibodiesによる国際公開第03/025020号 (= 欧州特許第1433793号)；並びにAblynx N.V.による国際公開第04/041867号、国際公開第04/041862号、国際公開第04/041865号、国際公開第04/041863号、国際公開第04/062551号、国際公開第05/044858号、国際公開第06/40153号、国際公開第06/079372号、国際公開第06/122786号、国際公開第06/122787号及び国際公開第06/122825号、並びにAblynx N.V.によるさらに公開された特許出願を参照する。これらの出願で言及されるさらなる従来技術、特に国際出願の国際公開第06/040153号の41頁～43頁で言及される参考文献リストも参照する(このリスト及び参考文献は参照により本明細書に援用される)。

10

20

## 【0255】

当該技術分野で使用される専門用語(上記の参考文献を参照されたい)に従って、天然重鎖抗体に存在する可変ドメインは、この可変ドメインを従来の四本鎖抗体に存在する重鎖可変ドメイン(以下「 $V_H$ ドメイン」と表す)と、及び従来の四本鎖抗体に存在する軽鎖可変ドメイン(以下、「 $V_L$ ドメイン」と表す)と区別するために、「 $V_{HH}$ ドメイン」とも表される。

30

## 【0256】

上記で表された従来技術で言及されるように、 $V_{HH}$ ドメインは、単離 $V_{HH}$ ドメイン(並びにこれに基づくナノボディ、これは天然 $V_{HH}$ ドメインと、これらの構造的特徴及び機能的性質を共有する)及びこれを含有するタンパク質を機能的な抗原結合ドメイン又はタンパク質としての使用に非常に有利なものとする、多くの特有の構造的特徴及び機能的性質を有する。特に、以下に限定されないが、(軽鎖可変ドメインの非存在下で、及びこれとの相互作用が全くなく、自然に抗原と機能的に結合するように「設計」された) $V_{HH}$ ドメイン及びナノボディは、単一で比較的小さい機能的な抗原結合構造単位、ドメイン又はタンパク質として機能することができる。このことは、 $V_{HH}$ ドメインを従来の四本鎖抗体の $V_H$ ドメイン及び $V_L$ ドメイン(概してこれら自体は単一抗原結合タンパク質又はドメインとしての実際の適用に適しておらず、幾つかの形態又は機能的な抗原結合単位を与えるような別の形態で(例えばFab断片等の従来の抗体断片、 $V_L$ ドメインと共有結合する $V_H$ ドメインから成るScFv断片等で)組合せる必要がある)と区別する。

40

## 【0257】

これらの特有の性質のために、単一抗原結合タンパク質又は抗原結合ドメインとして(即ちより大きなタンパク質又はポリペプチド部分として)の $V_{HH}$ ドメイン及びナノボディの使用によって、従来の $V_H$ ドメイン及び $V_L$ ドメイン、scFv又は従来の抗体断片

50

(例えば F a b 断片又は F ( a b ' )<sub>2</sub> 断片)の使用に対する多くの多大な利点を与えられる:

単一ドメインだけが、高い親和性及び高い選択性で抗原と結合することが要求されるので、2つの分離ドメインを存在させる必要もなく、これらの2つのドメインが正しい空間的立体構造及び立体構造で存在することを(即ち特別に設計されたリンカー(s c F v 等)の使用によって)確認する必要もない。

V<sub>H H</sub>ドメイン及びナノボディは単一遺伝子から発現することができ、翻訳後フォールディング又は修飾の必要はない。

V<sub>H H</sub>ドメイン及びナノボディは、(本明細書でさらに考察されるように)容易に多価及び多重特異性のフォーマットに遺伝子操作することができる。

V<sub>H H</sub>ドメイン及びナノボディは、高溶解性であり、凝集しにくい(Ward et al., Nature, Vol. 341, 1989, p. 544で記載されるマウス由来の「d A b」等)。

V<sub>H H</sub>ドメイン及びナノボディは、熱、pH、プロテアーゼ及び他の変性剤又は条件に対する安定性が高い(例えばEwert et al(同上)を参照されたい)。

V<sub>H H</sub>ドメイン及びナノボディは、製造で要求される規模であっても調製するのが容易であり、かつ比較的安価である。例えば、V<sub>H H</sub>ドメイン、ナノボディ、及びこれを含むタンパク質/ポリペプチドは、微生物発酵を使用して(例えば以下でさらに記載されるように)製造することができ、哺乳動物の発現系(例えば従来の抗体断片)を使用する必要がない。

V<sub>H H</sub>ドメイン及びナノボディは、従来の四本鎖抗体及びその抗原結合断片に比べて比較的小さい(約15 kDa、即ち従来のIgGの10分の1)ため、このような従来の四本鎖抗体及びその抗原結合断片よりも高い組織(充実性腫瘍及び他の高密度組織を含むが、これらに限定されない)への浸透性を示す。

V<sub>H H</sub>ドメイン及びナノボディは、(特に従来のV<sub>H</sub>ドメインに比べてCDR3ループが伸長するため)いわゆるキャビティ結合性を示すことができ、したがって従来の四本鎖抗体及びその抗原結合断片には接近することができない標的及びエピトープに接近することもできる。例えば、V<sub>H H</sub>ドメイン及びナノボディは酵素を阻害することができることが分かっている(例えば国際公開第97/49805号、Transue et al., Proteins 1998 Sep 1; 32(4): 515-22、Lauwereys et al., EMBO J. 1998 Jul1; 17(13): 3512-20を参照されたい)。

#### 【0258】

特定の好ましい一態様において、本発明は、GPCRに対するナノボディ、及び詳細には温血動物由来のGPCRに対するナノボディ、及びより詳細には哺乳動物由来のGPCRに対するナノボディ、及び具体的にヒトGPCRに対するナノボディ、並びに少なくとも1つのこのようなナノボディを含むタンパク質及び/又はポリペプチドを提供する。

#### 【0259】

特に、本発明は、GPCRに対する従来の抗体又はその断片に比べて、このような従来の抗体又は抗体断片(F a b' 断片、F ( a b ' )<sub>2</sub> 断片、S c F v 構築物、「ダイアボディ」及び他の多重特異性構築物(例えばHolliger and Hudson, Nat Biotechnol. 2005 Sep; 23(9): 1126-36による総説を参照されたい)等)に基づき得る構築物に比べて、及びまた従来の抗体の可変ドメインに由来し得るいわゆる「d A b」又は類似の(単一)ドメイン抗体に比べて、改善した治療特性及び/又は薬理学的特性、及び/又は他の有益な特性(例えば調製の簡便性の向上、及び/又は製品のコスト低減等)を有するGPCRに対するナノボディ、及びこれを含むタンパク質及び/又はポリペプチドを提供する。これらの改善した有益な特性は、本明細書中のさらなる記載から明らかになり、例えばこれらに限定されないが、

一価フォーマット、多価フォーマット(例えば二価フォーマット)及び/又は多重特異性のフォーマット(例えば以下で記載の多重特異性のフォーマットの1つ)のいずれかでのGPCRに対する親和性及び/又は結合活性の増大、

例えばインバースアンタゴニストをアンタゴニストと共役させる、アンタゴニストでフ

10

20

30

40

50

フォーマットさせることによるインバースアンタゴニスト作用を増大させる能力等の特別な特性に関する潜在性の増大（実験部を参照されたい）、

多価フォーマット（例えば二価フォーマット）でフォーマットするのにより良好な適合性、

多重特異性フォーマット（例えば以下で記載の多重特異性のフォーマットの1つ）でフォーマットするのにより良好な適合性、

「ヒト化」置換（本明細書中で規定）に対する適合性又は感受性の改善；一価フォーマット、多価フォーマット（例えば二価フォーマット）及び/又は多重特異性のフォーマット（例えば以下で記載の多重特異性のフォーマットの1つ）のいずれかでの免疫原性の低下、

一価フォーマット、多価フォーマット（例えば二価フォーマット）及び/又は多重特異性のフォーマット（例えば以下で記載の多重特異性のフォーマットの1つ）のいずれかでの安定性の増大、

一価フォーマット、多価フォーマット（例えば二価フォーマット）及び/又は多重特異性のフォーマット（例えば以下で記載の多重特異性のフォーマットの1つ）のいずれかでのGPCRに対する特異性の増大、

異なる種由来のGPCRとの交差反応性の低減又は所望の場合には増大、及び/又は

一価フォーマット、多価フォーマット（例えば二価フォーマット）及び/又は多重特異性のフォーマット（例えば以下で記載の多重特異性のフォーマットの1つ）のいずれかでの薬学的用途（予防的用途及び/又は治療的用途を含む）及び/又は診断的用途（画像化目的への使用を含むが、これに限定されない）に望ましい、1つ又は複数の他の特性の改善の1つ又は複数が含まれる。

#### 【0260】

概して本発明のアミノ酸配列に対して本明細書中に記載するように、本発明のナノボディは、（本明細書中に規定のように）本質的に単離形態であるか、又は（本明細書中に規定のように）本発明のタンパク質若しくはポリペプチドの一部（1つ又は複数の本発明のナノボディを含むか、又は本質的にこれから成っていてもよく、任意で1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列（任意で全て1つ又は複数の好適なリンカーを介して連結される）をさらに含んでもよい）を形成するのが好ましい。例えば、限定はしないが、1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列は、このようなタンパク質又はポリペプチドにおける結合単位として使用してもよく、全て本明細書中に記載の本発明の一価、多価又は多重特異性のポリペプチドをそれぞれ提供するように、任意で結合単位として（即ちGPCR以外の1つ又は複数の標的に対して）働き得る1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列を含有し得る。特に、このようなタンパク質又はポリペプチドは、本明細書中にさらに記載の一価、多価又は多重特異性のナノボディ構築物をそれぞれ提供するように、任意で全て1つ又は複数の好適なリンカーを介して連結した、1つ又は複数の本発明のナノボディと、任意で1つ又は複数の（他の）（即ちGPCR以外の標的に指向性を有する）ナノボディとを含み得るか、又は本質的にこれから成り得る。このようなタンパク質又はポリペプチドは、（本明細書中に規定のように）本質的に単離形態であってもよい。

#### 【0261】

本発明のナノボディにおいて、GPCRとの結合に関する結合部位は、CDR配列によって形成されるのが好ましい。任意で、本発明のナノボディは、GPCRとの結合に関する少なくとも1つの結合部位の他に、他の抗原、タンパク質又は標的との結合に関する1つ又は複数のさらなる結合部位を含有してもよい。このような第2の結合部位を導入する方法及び位置に関しては、例えばKeck and Huston, Biophysical Journal, 71, October 1996, 2002-2011、欧州特許第0640130号、国際公開第06/07260号、及びAblynx N.V.による2006年11月27日付けで出願された"Immunoglobulindomains with multiple binding sites"と題する米国仮特許出願を参照する。

#### 【0262】

本発明のアミノ酸配列に関して本明細書中に概して記載するように、本発明のナノボディ

10

20

30

40

50

ィ（又はこれを含む本発明のポリペプチド）が、被験体への投与を目的とする場合（例えば本明細書中に記載の治療目的及び／又は診断目的）、本発明のナノボディは、ヒトGPCRに指向性を有するのが好ましいが、獣医学的目的では、治療する種由来のGPCRに指向性を有するのが好ましい。また、本発明のアミノ酸配列と同様に、本発明のナノボディは交差反応性（即ち、ヒトGPCR及び本明細書中で言及した種の少なくとも1種の哺乳動物由来のGPCRのような2種以上の哺乳動物由来のGPCRに対する指向性）を有していても又は有しなくてもよい。

【0263】

また同様に、本発明のアミノ酸配列に関して本明細書中に概して記載するように、本発明のナノボディは概して、GPCRの抗原決定基、エピトープ、部分、ドメイン、サブユニット又は立体構造（適用可能な場合）のいずれかに指向性を有し得る。しかし概して、本発明のナノボディ（及びこれを含むポリペプチド）は、GPCRの少なくとも1つの細胞外の領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（又はそれらに由来する好適なペプチド）に指向性を有する、及び／又はこれに対して誘起されていることが推測され、また好ましい。

【0264】

本明細書中で既に記載のように、ナノボディのアミノ酸配列及び構造は、これらに限定されないが、4つのフレームワーク領域即ち「FR」（又は「FW」と呼ばれることもある）から構成されていると考えることができ、当該技術分野及び本明細書中でそれぞれ、「フレームワーク領域1」即ち「FR1」、「フレームワーク領域2」即ち「FR2」、「フレームワーク領域3」即ち「FR3」及び「フレームワーク領域4」即ち「FR4」と称され、このフレームワーク領域の間には、3つの相補性決定領域即ち「CDR」が挿入され、これは当該技術分野でそれぞれ、「相補性決定領域1」即ち「CDR1」、「相補性決定領域2」即ち「CDR2」及び「相補性決定領域3」即ち「CDR3」と称される。本発明のナノボディに存在する、幾つかの好ましいフレームワーク配列及びCDR（及びこれらの組合せ）を本明細書中に記載している。他の好適なCDR配列は、本明細書中に記載の方法によって得ることができる。

【0265】

本発明の非限定的であるが、好ましい態様によれば、本発明のナノボディ（に存在するCDR配列）は、

ナノボディが、 $10^{-5}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下、及び好ましくは  $10^{-7}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下、及びより好ましくは  $10^{-8}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L の解離定数 ( $K_D$ ) で（即ち  $10^5$  L/モル ~  $10^{12}$  L/モル以上、及び好ましくは  $10^7$  L/モル ~  $10^{12}$  L/モル以上、及びより好ましくは  $10^8$  L/モル ~  $10^{12}$  L/モルの結合定数 ( $K_A$ ) で）GPCRと結合し得るようなもの、及び／又は

ナノボディが、 $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ~ 約  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、好ましくは  $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、より好ましくは  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ( $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  等) の  $k_{on}$  速度でGPCRと結合し得るようなもの、及び／又は

ナノボディが、 $1 \text{ s}^{-1}$  ( $t_{1/2} = 0.69 \text{ s}$ ) ~  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$  ( $t_{1/2}$  が数日である略不可逆的な複合体の場合)、好ましくは  $10^{-2} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 、より好ましくは  $10^{-3} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$  ( $10^{-4} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$  等) の  $k_{off}$  速度でGPCRと結合し得るようなものである。

【0266】

好ましくは、本発明のナノボディ（に存在するCDR配列）は、本発明の一価ナノボディ（又は本発明のナノボディを1つだけ含有するポリペプチド）が、500 nM未滿、好ましくは200 nM未滿、より好ましくは10 nM未滿（500 pM未滿等）の親和性でGPCRと結合するようなものであることが好ましい。

【0267】

例えば本明細書中で言及した、 $K_D$ 、 $K_A$ 、 $k_{off}$  又は  $k_{on}$  を測定する一般的技法

、及び本明細書中に記載の特定のアッセイの幾つかを使用するそれ自体が既知の方法で、GPCRに対する本発明のナノボディの親和性を求めることができる。

【0268】

本発明のナノボディ（及びこれを含むポリペプチド）とGPCRとの結合に関する幾つかの好ましい $IC_{50}$ 値は、本明細書中のさらなる記載及び実施例から明らかになる。

【0269】

好ましいが非限定的な一態様において、本発明は、4つのフレームワーク領域（それぞれ、FR1～FR4）と3つの相補性決定領域（それぞれ、CDR1～CDR3）とから成る、GPCRに対する（本明細書中に規定の）ナノボディであって、

CDR1が、

a) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；

b) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

c) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、及び/又は

CDR2が、

d) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列；

e) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

f) 配列番号174～配列番号189、より好ましくは配列番号174、配列番号175のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、及び/又は

CDR3が、

g) 配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列；

h) 配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

i) 配列番号206～配列番号221、より好ましくは配列番号206、配列番号207のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択されるか、又はこのようなアミノ酸配列の任意の好適な断片である、ナノボディに関する。

【0270】

特に、好ましいが非限定的なこの態様によれば、本発明は、4つのフレームワーク領域（それぞれ、FR1～FR4）と3つの相補性決定領域（それぞれ、CDR1～CDR3）とから成る、ヒトCXCR4に対する（本明細書中に規定の）ナノボディであって、

CDR1が、

a) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列；

b) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

c) 配列番号142～配列番号157、より好ましくは配列番号142、配列番号143のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

10

20

30

40

50

C D R 2 が、

d) 配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列；

e) 配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

f) 配列番号 174 ~ 配列番号 189、より好ましくは配列番号 174、配列番号 175 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択され、かつ

C D R 3 が、

g) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列；

h) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列；

i) 配列番号 206 ~ 配列番号 221、より好ましくは配列番号 206、配列番号 207 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有するアミノ酸配列から成る群から選択されるようなもの、又はこのようなアミノ酸配列の任意の好適な断片である、ナノボディに関する。

【0271】

本発明のアミノ酸配列に関して本明細書で包括的に言及するように本発明のナノボディが b) 及び / 又は c) による C D R 1 配列を 1 つ又は複数含有する場合、

i) b) 及び / 又は c) によるこのような C D R において任意のアミノ酸置換は、(本明細書で規定されるように) 対応する a) による C D R と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく；及び / 又は

i i) b) 及び / 又は c) による C D R は、対応する a) による C D R と比較して、アミノ酸置換だけを含むし、アミノ酸欠失又は挿入は含有しないのが好ましく；及び / 又は

i i i) b) 及び / 又は c) による C D R は、それ自体が既知の 1 つ又は複数の親和性成熟技法を用いる親和性成熟によって a) による C D R から誘導される C D R であり得る。

【0272】

同様に、本発明のナノボディが e) 及び / 又は f) による C D R 2 配列を 1 つ又は複数含有する場合、

i) e) 及び / 又は f) によるこのような C D R において任意のアミノ酸置換は、(本明細書で規定されるように) 対応する d) による C D R と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく；及び / 又は

i i) e) 及び / 又は f) による C D R は、対応する d) による C D R と比較して、アミノ酸置換だけを含むし、アミノ酸欠失又は挿入は含有しないのが好ましく；及び / 又は

i i i) e) 及び / 又は f) による C D R は、それ自体が既知の 1 つ又は複数の親和性成熟技法を用いる親和性成熟によって d) による C D R から誘導される C D R であり得る。

【0273】

また同様に、本発明のナノボディが h) 及び / 又は i) による C D R 3 配列を 1 つ又は複数含有する場合、

i) h) 及び / 又は i) によるこのような C D R において任意のアミノ酸置換は、(本明細書で規定されるように) 対応する g) による C D R と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく；及び / 又は

i i) h) 及び / 又は i) による C D R は、対応する g) による C D R と比較して、アミノ酸置換だけを含むし、アミノ酸欠失又は挿入は含有しないのが好ましく；及び / 又は

i i i) h) 及び / 又は i) による C D R は、それ自体が既知の 1 つ又は複数の親和性

10

20

30

40

50

成熟技法を用いる親和性成熟によって g ) による C D R から誘導される C D R であり得る。

【 0 2 7 4 】

直前の 3 段落は概して、それぞれ b )、 c )、 e )、 f )、 h ) 又は i ) による C D R 1 配列、 C D R 2 配列及び / 又は C D R 3 配列を 1 つ又は複数含む、任意の本発明のナノボディに適用されると理解すべきである。

【 0 2 7 5 】

本発明のナノボディのうち、具体的には上記で明示的に挙げられる C D R を 1 つ又は複数含むナノボディが好ましい。より具体的には上記で明示的に挙げられる C D R を 2 つ以上含むナノボディが好ましい。最も具体的には上記で明示的に挙げられる C D R を 3 つ含むナノボディが好ましい。

10

【 0 2 7 6 】

幾つかの特に好ましいが非限定的な C D R 配列の組合せ、及び C D R 配列とフレームワーク配列との好ましい組合せが以下の表 A - 1 で言及され、これは多くの好ましい ( が非限定的な ) 本発明のナノボディに存在する C D R 配列及びフレームワーク配列を挙げている。当業者にとって明らかなように、同じクローンで現れる C D R 1 配列、 C D R 2 配列及び C D R 3 配列の組合せ ( 即ち表 A - 1 の同じ行で言及される C D R 1 配列、 C D R 2 配列及び C D R 3 配列 ) が通常好ましい ( が、本発明はその最も広範な意味ではこれに限定されず、表 A - 1 で言及される C D R 配列の他の好適な組合せも含む )。また、同じクローンで現れる C D R 配列とフレームワーク配列との組合せ ( 即ち表 A - 1 の同じ行で言及される C D R 配列及びフレームワーク配列 ) が通常好ましい ( が、本発明はその最も広範な意味ではこれに限定されず、表 A - 1 で言及される C D R 配列及びフレームワーク配列の他の好適な組合せ、並びに例えば本明細書でさらに記載されるようなこのような C D R 配列と他の好適なフレームワーク配列との組合せも含む )。

20

【 0 2 7 7 】

また、表 A - 1 で言及される C D R の組合せを含む本発明のナノボディにおいて、それぞれの C D R を、言及される C D R との、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、より好ましくは少なくとも 9 5 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 9 % の配列同一性 ( 本明細書中で規定 ) を有するアミノ酸配列から成る群から選択される C D R に置き換えることができ、ここで

30

i ) このような C D R において任意のアミノ酸置換は、 ( 本明細書で規定されるように ) 対応する表 A - 1 で言及される C D R 配列と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく ; 及び / 又は

i i ) 任意のこのような C D R 配列は、対応する表 A - 1 で言及される C D R 配列と比較して、アミノ酸置換だけを含むし、アミノ酸欠失又は挿入は含有しないのが好ましく ; 及び / 又は

i i i ) 任意のこのような C D R 配列は、特に対応する表 A - 1 で言及される C D R 配列から、それ自体が既知の親和性成熟技法によって誘導される C D R である。

【 0 2 7 8 】

しかし、当業者にとって明らかなように、表 A - 1 で言及される、 C D R 配列 ( の組合せ )、並びに C D R 配列及びフレームワーク配列 ( の組合せ ) が一般的に好ましい。

40

【 0 2 7 9 】

【表 4】

表A-1 ヒトCXCR4に対するナノボディのCDRR配列及びフレームワーク配列

S	E	Q	FR1	S	E	Q	CDR1	S	E	Q	FR2	S	E	Q	CDR2	S	E	Q	FR3	S	E	Q	CDR3	S	E	Q	FR4
			EVQLVESGG																								
1			GLVQTGGSLR	1				1			WVRQAPG	7			GIKSSGDSTRYA	1			RFTISRDNAKNML	2			SRVSR	2			RGQGTQV
2			LSCAASGFTF	4				5			KGLEWVS	4			GSVKG	7			YLMYSLKPEDTA	0			GLTYD	2			TVSS
6	S			2			SYAMS	8											VYYCAK	6			N	2			TVSS
			EVQLMESGG																								
1			GLVQAGGSL	1				1			WFRAPG	7			AITRSGVRSVGS	1			RFTISRDNAKNTL	2			SAISGA	2			SGQGTQV
2			RLSCAASGRT	4				5			KEREFVA	4			AIYGDSVKD	9			YLMNSLKPEDTA	0			LRRFEY	2			TVSS
7	FN			3			NYAMG	9											VYCAA	7			DY	3			TVSS
			KVQLVESGG																								
1			GLVQPGGSLR	1				1			WVRQAPG	7			TIKPSGDTTNYA	1			RFTISRDNAKNTL	2							RGQGTQV
2			LSCAASGFAF	4				6			KGPEWVS	6			NAVKG	9			YLMNSLKPEDTA	0			DYFGTG	2			TVSS
8	S			4			IHTMS	0											VYYCAK	2			V	4			TVSS
			EVQLVESGG																								
1			GLVQPGGSLR	1				1			WVRQAPG	7			AISWNGGSTDY	1			RFTISRDNAKNTL	2			DQPFY	2			RGQGTQV
2			LSCAASGFTF	4				6			KGLEWVS	7			ADSVKG	9			YLMNSLKSEDTA	0			SGTYYY	2			TVSS
9	D			5			DYAMS	1											EYYCAR	3			TRQYGY	5			TVSS
			EVQLVESGG																								
1			GFVQAGGSL	1				1			WFRQVPG	7			YHRWSDGANLY	1			RFTISGHNAKNTV	2			ARMTTS	2			WGQGTQ
3			RLSCETSGRP	4				6			KEREFVA	8			ADSVKG	9			SLQMNSLKPEDTA	1			NDKEYL	2			VTSS
0	LL			6			GYTIA	2											VYYCAA	4			Y	6			VTSS
			EVQLMESGG																								
1			GLVQAGGSL	1				1			WFRKAPG	7			CISGSDGSTTYA	1			RFTISTDNAKNTV	2			QYGVGG	2			WGQGTQ
3			RLACAAASGFT	4				6			KEREGVS	9			DSVKG	5			YLEMNSLKPEDTA	1			RWCPCG	2			VTSS
1	FE			7			DYAIG	3											VYYCAQ	1			PYEYDV	7			VTSS
			EVQLVESGG																								
1			GFVQAGGSL	1				1			WFRQVPG	8			YHRWSDGANLY	1			RFTISGHNAKNTV	2			AWMTTS	2			WGQGTQ
3			RLSCETSGRP	4				6			KEREFVA	4			ADSVKG	0			SLQMNSLKPEDTA	1			NDKEYL	2			VTSS
2	LL			8			GYTIA	4											VYYCAA	6			Y	8			VTSS
			EVQLVESGG																								
1			GLVQAGGSL	1				1			WYRQGP	8			STIWSRGDTYFA	1			RFTISRDTANYTLY	2			RVRPYG	2			WGQGTQ
3			RLSCAASGLT	4			PSAMA	6			GKERDFV	8			DSVKG	9			LQMNSLKPEDTAV	1			QYDY	2			VTSS
3	FS			9				5			A	1							YYCSL	7							9

1	EVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCAASGFTF D	1	6	1	1	8	2	1	9	8	2	1	4	2	2	3	0	2	1	2	DQGFY SGTYYY TKGYAY	2	3	0	WGQGTQ VTVSS
1	EVQLVESGG GLAQAGGSL RLSCAASGRT YA	1	6	1	1	8	3	1	9	9	1	8	5	2	2	3	1	2	1	5	RQNYSR SVFGAK DYDY	2	3	1	WGQGTQ VTVSS
1	EVQLVESGG GLVQAGGSL RLSCAASGSIF S	1	6	1	1	8	4	1	2	0	1	8	6	2	2	1	0	2	0	6	DCPDYY SDYECF LED	2	3	2	RGQGTQV TVSS
1	EVQLVESGG GLAQPGGPLR LTCEASGVYI S	1	6	1	1	8	5	1	2	0	1	8	7	2	2	0	1	2	1	7	YSSGIS TLRS	2	3	3	WGQGTQ VTVSS
1	EVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCEVSGFTR D	1	7	1	7	8	6	1	2	0	1	8	8	2	2	0	2	2	1	8	BSADSR CSIGSIG FTWLYN N	2	3	4	WGQGTQ VTVSS
1	EVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCAASSFIG N	1	7	1	7	8	7	1	2	0	1	7	9	2	2	0	3	2	1	9	BTSMT PTLIVRF NY	2	3	5	RGQGTQV TVSS
1	EVQLVESGG GLVQAGGSL RLSCKASGGT FN	1	7	1	7	8	8	1	2	0	1	8	0	2	2	0	4	2	2	0	SAIGGA LRRFEY DY	2	3	6	SGQGTQV TVSS
1	EVQLVESGG GLVQAGGSL RLSCAASGSF FS	1	7	1	7	8	9	1	2	0	1	8	9	1	2	0	5	2	0	5	DGVPEW GKVQYP DTY	2	3	7	RGQGTQV TVSS

このため、本発明のナノボディにおいて、存在するCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列の少なくとも1つが、それぞれ表A-1で挙げられるCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列から成る群から；又は表A-1でそれぞれ挙げられるCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列の少なくとも1つとの、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%、さらにより好ましくは少なくとも99%の「配列同一性」（本明細書で規定）を有するCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列それぞれから成る群から；及び/又は表A-1でそれぞれ挙げられるCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのみの「アミノ酸差異」（本明細書で規定）を有するCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列それぞれから成る群から好適に選択される。

10

**【0281】**

これに関して、「好適に選択される」とは、規定通りに、それぞれCDR1配列が好適なCDR1配列から（即ち本明細書で規定のように）選択され、CDR2配列が好適なCDR2配列から（即ち本明細書で規定のように）選択され、CDR3配列が好適なCDR3配列から（即ち本明細書で規定のように）選択されることを意味する。より具体的には、CDR配列は、本発明のナノボディが本明細書に規定のように（さらに本明細書に記載されるような（実際又は見掛けの） $K_D$ 値、（実際又は見掛けの） $K_A$ 値、 $k_{on}$ 速度及び/又は $k_{off}$ 速度、又は代替的に $IC_{50}$ 値として好適に測定される、及び/又は表される）親和性でGPCRと結合するように選択されるのが好ましい。

20

**【0282】**

特に、本発明のナノボディにおいて、存在するCDR3配列が少なくとも、表A-1で挙げられるCDR3配列から成る群から；又は表A-1で挙げられるCDR3配列の少なくとも1つとの、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%、さらにより好ましくは少なくとも99%の配列同一性を有するCDR3配列から成る群から；及び/又は表A-1で挙げられるCDR3配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのみのアミノ酸差異を有するCDR3配列から成る群から好適に選択される。

**【0283】**

好ましくは、本発明のナノボディにおいて、存在するCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列の少なくとも2つが、それぞれ表A-1で挙げられるCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列から成る群から；又は表A-1でそれぞれ挙げられるCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列の少なくとも1つとの、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%、さらにより好ましくは少なくとも99%の配列同一性を有するCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列それぞれから成る群から；及び/又は表A-1でそれぞれ挙げられるCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのみの「アミノ酸差異」を有するCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列それぞれから成る群から好適に選択される。

30

**【0284】**

特に、本発明のナノボディにおいて、存在するCDR3配列が少なくとも、表A-1で挙げられるCDR3配列から成る群から；又はそれぞれ表A-1で挙げられるCDR3配列の少なくとも1つとの、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%、さらにより好ましくは少なくとも99%の配列同一性を有するCDR3配列から成る群から好適に選択され；存在するCDR1配列及びCDR2配列の少なくとも1つが、それぞれ表A-1で挙げられるCDR1配列及びCDR2配列から成る群から；又は表A-1でそれぞれ挙げられるCDR1配列及びCDR2配列の少なくとも1つとの、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%、さらにより好ましくは少なくとも99%の配列同一性を有するCDR1配列及びCDR2配列それぞれから成る群から；及び/又は表A-1でそれぞれ挙げられるCDR1配列及びCDR2配列の少なくとも1つとの、3つ、2つ若しくは1つのみのアミノ酸

40

50

差異を有する C D R 1 配列及び C D R 2 配列それぞれから成る群から好適に選択される。

【 0 2 8 5 】

最も好ましくは、本発明のナノボディにおいて、存在する C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列の 3 つ全てが、それぞれ表 A - 1 で挙げられる C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列から成る群から；又は表 A - 1 でそれぞれ挙げられる C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列の少なくとも 1 つとの、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、より好ましくは少なくとも 9 5 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列それぞれから成る群から；及び / 又は表 A - 1 でそれぞれ挙げられる C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのみのアミノ酸差異を有する C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列それぞれから成る群から好適に選択される。

10

【 0 2 8 6 】

さらにより好ましくは、本発明のナノボディにおいて、存在する C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列の少なくとも 1 つが、それぞれ表 A - 1 で挙げられる C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列から成る群から好適に選択される。好ましくはこの態様では、存在する他の 2 つの C D R 配列の少なくとも 1 つ、又は好ましくは両方が、表 A - 1 でそれぞれ挙げられる対応する C D R 配列の少なくとも 1 つとの、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、より好ましくは少なくとも 9 5 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する C D R 配列から；及び / 又は表 A - 1 でそれぞれ挙げられる対応する配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのみのアミノ酸差異を有する C D R 配列から成る群から好適に選択される。

20

【 0 2 8 7 】

特に、本発明のナノボディにおいて、存在する C D R 3 配列が少なくとも、表 A - 1 で挙げられる C D R 3 から成る群から好適に選択される。好ましくはこの態様では、存在する C D R 1 配列及び C D R 2 配列の少なくとも 1 つ、及び好ましくは両方が、表 A - 1 でそれぞれ挙げられる C D R 1 配列及び C D R 2 配列との、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、より好ましくは少なくとも 9 5 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する C D R 1 配列及び C D R 2 配列それぞれから成る群から；及び / 又は表 A - 1 でそれぞれ挙げられる C D R 1 配列及び C D R 2 配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのみのアミノ酸差異を有する C D R 1 配列及び C D R 2 配列それぞれから成る群から好適に選択される。

30

【 0 2 8 8 】

さらにより好ましくは、本発明のナノボディにおいて、存在する C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列の少なくとも 2 つが、それぞれ表 A - 1 で挙げられる C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列から成る群から好適に選択される。好ましくはこの態様では、存在する残りの C D R 配列が、表 A - 1 で挙げられる対応する C D R 配列の少なくとも 1 つとの、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、より好ましくは少なくとも 9 5 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する C D R 配列から成る群から；及び / 又は表 A - 1 で挙げられる対応する配列の少なくとも 1 つとの、3 つ、2 つ若しくは 1 つのみのアミノ酸差異を有する C D R 配列から成る群から好適に選択される。

40

【 0 2 8 9 】

特に、本発明のナノボディにおいて、C D R 3 配列が少なくとも、表 A - 1 で挙げられる C D R 3 配列から成る群から好適に選択され、C D R 1 配列又は C D R 2 配列のいずれかが、それぞれ表 A - 1 で挙げられる C D R 1 配列及び C D R 2 配列から成る群から好適に選択される。好ましくは、この態様において、存在する残りの C D R 配列が、表 A - 1 で挙げられる対応する C D R 配列の少なくとも 1 つとの、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、より好ましくは少なくとも 9 5 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する C D R 配列から成る群から；及び / 又は表 A - 1 で挙げられ

50

る対応するCDR配列との、3つ、2つ若しくは1つのみのアミノ酸差異を有するCDR配列から成る群から好適に選択される。

【0290】

さらにより好ましくは、本発明のナノボディにおいて、存在するCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列の3つ全てが、それぞれ表A-1で挙げられるCDR1配列、CDR2配列及びCDR3配列から成る群から好適に選択される。

【0291】

また概して、表A-1で挙げられるCDRの組合せ（即ち表A-1の同じ行で言及されるもの）が好ましい。このため概して、本発明のナノボディにおけるCDRが、表A-1で言及されるCDR配列であるか、又は表A-1で挙げられるCDR配列との、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%、さらにより好ましくは少なくとも99%の配列同一性を有するCDR配列から成る群から；及び/又は表A-1で挙げられるCDR配列との、3つ、2つ若しくは1つのみのアミノ酸差異を有するCDR配列から成る群から好適に選択される場合、他のCDRの少なくとも1つ、好ましくは両方が、表A-1における同じ組合せ（即ち表A-1の同じ行で言及されるもの）に属するCDR配列から好適に選択されるか、又は同じ組合せに属するCDR配列（複数可）との、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%、さらにより好ましくは少なくとも99%の配列同一性を有するCDR配列から成る群から；及び/又は同じ組合せに属するCDR配列（複数可）との、3つ、2つ若しくは1つのみのアミノ酸差異を有するCDR配列から成る群から好適に選択されることが好ましい。上記の段落で示される他の好ましい実施形態（preferences）は、表A-1で言及されるCDR配列の組合せにも適用される。

【0292】

このため、非限定的な例により、本発明のナノボディは例えば、表A-1で言及されるCDR1配列の1つとの80%を超える配列同一性を有するCDR1配列と、表A-1で言及される（が、異なる組合せに属する）CDR2配列の1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するCDR2配列と、CDR3配列とを含むことができる。

【0293】

幾つかの好ましい本発明のナノボディは例えば、（1）表A-1で言及されるCDR1配列の1つとの80%を超える配列同一性を有するCDR1配列、表A-1で言及される（が、異なる組合せに属する）CDR2配列の1つとの、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するCDR2配列、及び表A-1で言及される（が、異なる組合せに属する）CDR3配列の1つとの80%を超える配列同一性を有するCDR3配列；又は（2）表A-1で言及されるCDR1配列の1つとの80%を超える配列同一性を有するCDR1配列、CDR2配列、及び表A-1で挙げられるCDR3配列の1つ；又は（3）CDR1配列、表A-1で挙げられるCDR2配列の1つとの80%を超える配列同一性を有するCDR2配列、及びCDR2配列と同じ組合せに属する、表A-1で言及されるCDR3配列との、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するCDR3配列を含み得る。

【0294】

幾つかの特に好ましい本発明のナノボディは例えば以下のものを含み得る：

（1）表A-1で言及されるCDR1配列の1つとの80%を超える配列同一性を有するCDR1配列；同じ組合せに属する、表A-1で言及されるCDR2配列との、3つ、2つ若しくは1つのアミノ酸差異を有するCDR2配列；及び同じ組合せに属する、表A-1で言及されるCDR3配列との80%を超える配列同一性を有するCDR3配列；又は（2）CDR1配列、表A-1で挙げられるCDR2、及び表A-1で挙げられるCDR3配列（ここでCDR2配列とCDR3配列とは異なる組合せに属し得る）。

【0295】

幾つかのさらにより好ましい本発明のナノボディは例えば以下のものを含み得る：

（1）表A-1で言及されるCDR1配列の1つとの80%を超える配列同一性を有する

10

20

30

40

50

C D R 1 配列；同じ組合せに属する、表 A - 1 で挙げられる C D R 2 配列；及び異なる組合せに属する、表 A - 1 で言及される C D R 3 配列；又は ( 2 ) 表 A - 1 で言及される C D R 1 配列；同じ組合せに属する、表 A - 1 で言及される C D R 2 配列との、3 つ、2 つ若しくは 1 つのアミノ酸差異を有する C D R 2 配列；及び同じ若しくは異なる組合せに属する、表 A - 1 で挙げられる C D R 3 配列との 8 0 % を超える配列同一性を有する C D R 3 配列。

【 0 2 9 6 】

特に好ましい本発明のナノボディは例えば、表 A - 1 で言及される C D R 1 配列と、同じ組合せに属する、表 A - 1 で言及される C D R 2 配列との 8 0 % を超える配列同一性を有する C D R 2 配列と、同じ組合せに属する、表 A - 1 で言及される C D R 3 配列とを含み得る。

10

【 0 2 9 7 】

最も好ましい本発明のナノボディにおいて、存在する C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列が、それぞれ表 A - 1 で挙げられる C D R 1 配列、C D R 2 配列及び C D R 3 配列の組合せの 1 つから好適に選択される。

【 0 2 9 8 】

別の好ましいが非限定的な本発明の態様によれば、( a ) C D R 1 は 1 個 ~ 1 2 個のアミノ酸残基、通常 2 個 ~ 9 個のアミノ酸残基、例えば 5 個、6 個又は 7 個のアミノ酸残基の長さを有し、及び / 又は ( b ) C D R 2 は 1 3 個 ~ 2 4 個のアミノ酸残基、通常 1 5 個 ~ 2 1 個のアミノ酸残基、例えば 1 6 個又は 1 7 個のアミノ酸残基の長さを有し、及び / 又は ( c ) C D R 3 は 2 個 ~ 3 5 個のアミノ酸残基、通常 3 個 ~ 3 0 個のアミノ酸残基、例えば 6 個 ~ 2 3 個のアミノ酸残基の長さを有する。

20

【 0 2 9 9 】

別の好ましいが非限定的な態様では、本発明は、C D R 配列 ( 本明細書で規定 ) が、配列番号 2 3 8 ~ 配列番号 2 5 3、より好ましくは配列番号 2 3 8 及び配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列の少なくとも 1 つの C D R 配列との、8 0 % 超、好ましくは 9 0 % 超、より好ましくは 9 5 % 超、例えば 9 9 % 以上の配列同一性 ( 本明細書で規定 ) を有するナノボディに関する。

【 0 3 0 0 】

概して、上記の C D R 配列を有するナノボディが、本明細書でさらに記載されるようなものであり、好ましくは同様に本明細書でさらに記載されるようなものであるフレームワーク配列を有し得る。このため、例えば本明細書で言及されるようにこのようなナノボディは、( 任意の好適な種由来の ) 天然のナノボディ、天然の ( 即ち好適なラクダ科動物種由来の )  $V_{H H}$  配列、又は合成若しくは半合成のアミノ酸配列若しくはナノボディ ( 部分ヒト化ナノボディ又は  $V_{H H}$  配列、完全ヒト化ナノボディ又は  $V_{H H}$  配列、ラクダ化重鎖可変ドメイン配列が挙げられるが、これらに限定されない )、及び本明細書で言及される技法により得られたナノボディであり得る。

30

【 0 3 0 1 】

このため、具体的であるが非限定的な一態様において、本発明は、4 つのフレームワーク領域 ( それぞれ、F R 1 ~ F R 4 ) と、3 つの相補性決定領域 ( それぞれ、C D R 1 ~ C D R 3 ) とから成るヒト化ナノボディであって、C D R 1 ~ C D R 3 は本明細書で規定されるようなものであり、上記ヒト化ナノボディは、少なくとも 1 つのヒト化置換 ( 本明細書で規定 )、具体的にはそのフレームワーク配列 ( 本明細書で規定 ) の少なくとも 1 つに少なくとも 1 つのヒト化置換を含む、ヒト化ナノボディに関する。

40

【 0 3 0 2 】

別の好ましいが非限定的な態様において、本発明は、C D R 配列が、配列番号 2 3 8 ~ 配列番号 2 5 3、より好ましくは配列番号 2 3 8 及び配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列のうち少なくとも 1 つの C D R 配列との、少なくとも 7 0 % のアミノ酸同一性、好ましくは少なくとも 8 0 % のアミノ酸同一性、より好ましくは少なくとも 9 0 % のアミノ酸同一性、例えば 9 5 % 若しくはそれ以上のアミノ酸同一性、又はさらに本質的に 1 0 0 % のアミ

50

ノ酸同一性を有するナノボディに関する。このアミノ酸同一性の程度は例えば、上記のナノボディと配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239の配列の1つ又は複数との間のアミノ酸同一性の程度を（本明細書で記載のように）求めることにより決定することができ、ここでフレームワーク領域を形成するアミノ酸残基は無視する。このようなナノボディは本明細書でさらに説明されるようなものであり得る。

#### 【0303】

別の好ましいが非限定的な態様において、本発明は、配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239から成る群から、又は配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、80%超、好ましくは90%超、より好ましくは95%超、例えば99%以上の配列同一性（本明細書で規定）を有するアミノ酸配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を有するナノボディに関する。

10

#### 【0304】

別の好ましいが非限定的な本発明の態様は、対応する天然V<sub>H H</sub>配列と比較して、少なくとも1つのヒト置換（本明細書で規定）、具体的にはそのフレームワーク配列（本明細書で規定）の少なくとも1つに少なくとも1つのヒト置換を含む、配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のナノボディのヒト化変異体に関する。

#### 【0305】

本発明のポリペプチドは少なくとも1つの本発明のナノボディを含むか、又はこれから本質的に成る。このため別の好ましいが非限定的な態様では、本発明は配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239から成る群から、又は配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、80%超、好ましくは90%超、より好ましくは95%超、例えば99%以上の配列同一性（本明細書で規定）を有するアミノ酸配列から成る群から選択される少なくとも1つのナノボディを含むか、又はこれから本質的に成るポリペプチドに関する。このため別の好ましいが非限定的な態様では、本発明は配列番号261～配列番号264、より好ましくは配列番号263、配列番号264のアミノ酸配列を含むか、又はこれから本質的に成るポリペプチドに関する。

20

30

#### 【0306】

「好ましい」（又は「より好ましい」、「さらにより好ましい」等）と本明細書中で言及されるナノボディが、本明細書中に記載のポリペプチドで使用するのにも好ましい（又はより好ましい、又はさらにより好ましい等）ことは、当業者にとって明らかである。このように概して、1つ又は複数の「好ましい」本発明のナノボディを含むか、又はこれから本質的に成るポリペプチドが好ましく、概して1つ又は複数の「より好ましい」本発明のナノボディを含むか、又はこれから本質的に成るポリペプチドがより好ましく、他も同様である。

#### 【0307】

概して、単一のナノボディ（本発明の単一のナノボディ等）を含むか、又はこれから本質的に成るタンパク質又はポリペプチドは、本明細書で「一価」タンパク質若しくはポリペプチド、又は「一価構築物」と呼ばれる。2つ以上のナノボディ（少なくとも2つの本発明のナノボディ、又は少なくとも1つの本発明のナノボディ及び少なくとも1つの他のナノボディ等）を含むか、又はこれから本質的に成るタンパク質及びポリペプチドは、本明細書で「多価」タンパク質若しくはポリペプチド、又は「多価構築物」と呼ばれ、これらは、対応する本発明の一価のナノボディに比べて或る特定の利点を与え得る。このような多価構築物の幾つかの非限定的な例は、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

40

#### 【0308】

具体的であるが、非限定的な一態様によれば、本発明のポリペプチドは、少なくとも2つの本発明のナノボディ、例えば2つ又は3つの本発明のナノボディを含むか、又はこれ

50

から本質的に成る。本明細書中にさらに記載のように、このような多価構築物は、本発明の単一ナノボディを含むか、又はこれから本質的に成るタンパク質又はポリペプチドに比べて、GPCRに対する結合活性が大きく改善するというような、或る特定の利点を与えることができる。このような多価構築物は、本明細書中の開示に基づき当業者にとって明らかであり、例えば配列番号261、配列番号262のアミノ酸配列を含むか、又はこれから本質的に成るポリペプチドである。

#### 【0309】

具体的であるが、非限定的な別の態様によれば、本発明のポリペプチドは、少なくとも1つの本発明のナノボディと、少なくとも1つの他の結合単位（即ち別のエピトープ、抗原、標的、タンパク質又はポリペプチドに指向性を有する）とを含むか、又は本質的にこれから成り、これは好ましくはナノボディでもある。このようなタンパク質又はポリペプチドは、本明細書中で「多重特異性」タンパク質若しくはポリペプチド、又は「多重特異性構築物」とも称され、これらは、（好ましいが非限定的な幾つかの多重特異性構築物の本明細書中のさらなる考察から明らかになるように）対応する本発明の一価ナノボディに比べて或る特定の利点を与え得る。このような多重特異性構築物は、本明細書中の開示に基づき当業者にとって明らかであり、例えば配列番号263、配列番号264のアミノ酸配列を含むか、又はこれから本質的に成るポリペプチドである。

10

#### 【0310】

具体的であるが、非限定的なさらに別の態様によれば、本発明のポリペプチドは、少なくとも1つの本発明のナノボディと、任意で1つ又は複数のさらなるナノボディと、本発明のナノボディに及び/又は得られた融合タンパク質に少なくとも1つの所望の特性を与える少なくとも1つの他のアミノ酸配列（タンパク質又はポリペプチド等）とを含むか、又はこれから本質的に成る。ここでも同様に、このような融合タンパク質は、対応する本発明の一価ナノボディに比べて或る特定の利点を与え得る。このようなアミノ酸配列及びこのような融合構築物の幾つかの非限定的な例は、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

20

#### 【0311】

例えば2つ以上の上記の態様を組合せて、2つの本発明のナノボディと、1つの他のナノボディと、任意で1つ又は複数の他のアミノ酸配列とを含む三価の二重特異性構築物を提供することも可能である。このような構築物、及び本発明の関連内で特に好ましい幾つかの構築物のさらなる非限定的な例は、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

30

#### 【0312】

上記の構築物において、1つ又は複数のナノボディ及び/又は他のアミノ酸配列は、互いに直接連結しても、及び/又は1つ又は複数のリンカー配列を介して互いに好適に連結してもよい。このようなリンカーの幾つかの好ましいが非限定的な例は、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

#### 【0313】

具体的な本発明の一態様において、本発明のナノボディ、又は本発明のナノボディを少なくとも1つ含む、本発明の化合物、構築物若しくはポリペプチドの半減期は、対応する本発明のアミノ酸配列に比べて増大し得る。このようなナノボディ、化合物及びポリペプチドの幾つかの好ましいが非限定的な例は、本明細書中のさらなる開示に基づき、当業者にとって明らかになり、例えば（例えばペグ化によって）半減期が増大するように化学修飾した本発明のナノボディ配列又はポリペプチド；血清タンパク質（血清アルブミン等、例えば2006年11月27日付でAblynx N.V.により出願された"Immunoglobulindomains with multiple binding sites"と題する米国仮特許出願を参照する）との結合に関するさらなる結合部位を少なくとも1つ含む本発明のアミノ酸配列；又は本発明のナノボディの半減期を増大させる、少なくとも1つの部分（特に少なくとも1つのアミノ酸配列）と連結する本発明のナノボディを少なくとも1つ含む本発明のポリペプチドを含む。このような半減期を延ばす部分又はアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドの例は、本明細書中のさらなる開示に基づき、当業者にとって明らかになり、例えば1つ又は複数の本発明

40

50

のナノボディが、1つ又は複数の血清タンパク質若しくはその断片（血清アルブミン又はその好適な断片等）と、又は血清タンパク質と結合することができる、1つ又は複数の結合単位（例えば血清アルブミン等の血清タンパク質、IgG等の血清免疫グロブリン、又はトランスフェリンと結合することができるナノボディ又は（単一）ドメイン抗体等）と好適に連結するポリペプチド；本発明のナノボディがFc部分（ヒトFc等）又はその好適な部分若しくは断片と連結するポリペプチド；又は1つ若しくは複数の本発明のナノボディが、血清タンパク質と結合することができる、1つ又は複数の小タンパク質又はペプチドと好適に連結するポリペプチドが挙げられるが、これらに限定されない（例えば国際公開第91/01743号、国際公開第01/45746号、国際公開第02/076489号、及び2006年12月5日付で出願したAblynx N.V.の"Peptides capable of binding to serum proteins"と題したAblynx N.V.の米国仮特許出願に記載のタンパク質及びペプチドであるが、これに限定されない）。

#### 【0314】

さらに、当業者にとって明らかなように、このようなナノボディ、化合物、構築物又はポリペプチドは、三重特異性又は多重特異性ナノボディ構築物を提供するように、1つ又は複数のさらなる基、残基、部位、又は結合単位（例えば1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列及び特に1つ又は複数のさらなる（即ちGPCRに指向性を有しない）ナノボディ）を含有し得る。

#### 【0315】

概して、半減期が増大した本発明のナノボディ（又はこれを含む化合物、構築物若しくはポリペプチド）は、対応する本発明のアミノ酸配列自体の半減期の少なくとも1.5倍、好ましくは少なくとも2倍（少なくとも5倍等）、例えば少なくとも10倍又は20倍を超える半減期を有するのが好ましい。例えば、半減期が増大した本発明のナノボディ、化合物、構築物又はポリペプチドは、対応する本発明のアミノ酸配列自体に比べて、半減期が1時間を超えて、好ましくは2時間を超えて、より好ましくは6時間を超えて（12時間等を超えて）、又はさらに24時間、48時間若しくは72時間を超えて増大し得る。

#### 【0316】

好ましいが非限定的な本発明の一態様において、このような本発明のナノボディ、化合物、構築物又はポリペプチドは、少なくとも約12時間、好ましくは少なくとも24時間、より好ましくは少なくとも48時間、さらにより好ましくは少なくとも72時間以上のヒトにおける血清半減期を示す。例えば本発明の化合物又はポリペプチドは、少なくとも5日（約5日～10日等）、好ましくは少なくとも9日（約9日～14日等）、より好ましくは少なくとも約10日（約10日～15日等）、若しくは少なくとも約11日（約11日～16日等）、より好ましくは少なくとも約12日（約12日～18日以上等）、又は14日超（約14日～19日等）の半減期を有し得る。

#### 【0317】

本発明の別の態様では、本発明のポリペプチドは、得られた本発明のポリペプチドが血液脳関門を横断するのを可能にする1つ又は複数（例えば2つ及び好ましくは1つ）のアミノ酸配列に連結する（任意で1つ又は複数の好適なリンカー配列を介して）、1つ又は複数（例えば2つ又は好ましくは1つ）の本発明のナノボディを含む。特に、得られた本発明のポリペプチドが血液脳関門を横断するのを可能にする上記1つ又は複数のアミノ酸配列は、1つ又は複数の（例えば2つ及び好ましくは1つ）ナノボディ、例えば、国際公開第02/057445号に記載のナノボディ（好ましい例は、FC44（国際公開第06/040153号の配列番号189）及びFC5（国際公開第06/040154号の配列番号190）である）であり得る。

#### 【0318】

特に、本発明のナノボディを1つ又は複数含むポリペプチドは、  
 $10^{-5}$ モル/L～ $10^{-12}$ モル/L以下、及び好ましくは $10^{-7}$ モル/L～ $10^{-12}$ モル/L以下、及びより好ましくは $10^{-8}$ モル/L～ $10^{-12}$ モル/Lの解離

定数 ( $K_D$ ) で (即ち  $10^5 \text{ L / モル} \sim 10^{12} \text{ L / モル}$  以上、及び好ましくは  $10^7 \text{ L / モル} \sim 10^{12} \text{ L / モル}$  以上、及びより好ましくは  $10^8 \text{ L / モル} \sim 10^{12} \text{ L / モル}$  の結合定数 ( $K_A$ ) で) GPCR と結合するようなもの、及び / 又は

$10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim$  約  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、好ましくは  $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、より好ましくは  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ( $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  等) の  $k_{on}$  速度で GPCR と結合するようなもの、及び / 又は

$1 \text{ s}^{-1}$  ( $t_{1/2} = 0.69 \text{ s}$ )  $\sim 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  ( $t_{1/2}$  が数日である略不可逆的な複合体の場合)、好ましくは  $10^{-2} \text{ s}^{-1} \sim 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 、より好ましくは  $10^{-3} \text{ s}^{-1} \sim 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  ( $10^{-4} \text{ s}^{-1} \sim 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  等) の  $k_{off}$  速度で GPCR と結合するようなものであるのが好ましい。

10

#### 【0319】

好ましくは、本発明のアミノ酸配列を1つだけ含有するポリペプチドが、500 nM未満、好ましくは200 nM未満、より好ましくは10 nM未満 (500 pM未満等) の親和性で GPCR と結合するようなものであるのが好ましい。これに対して、本発明のナノボディを2つ以上含有するポリペプチドは、本発明のアミノ酸配列を1つだけ含有するポリペプチドに比べて、増大した結合活性で GPCR と結合することができることが当業者には明らかである。

#### 【0320】

本発明のアミノ酸配列又はポリペプチドと GPCR との結合に関する幾つかの好ましい  $IC_{50}$  値は、本明細書のさらなる記載及び実施例から明らかになる。

20

#### 【0321】

本発明の別の態様は、本発明のナノボディをコードする核酸、又はこれを含む本発明のポリペプチドに関する。さらに、本発明の核酸に関して本明細書中に概して記載するように、このような核酸は、本明細書中に規定のように遺伝子構築物の形態であり得る。

#### 【0322】

別の態様では本発明は、本発明のナノボディ及び / 又はこれを含む本発明のポリペプチドを発現するか、又は発現することができる、及び / 又は本発明の核酸を含有する宿主又は宿主細胞に関する。このような宿主又は宿主細胞の幾つかの好ましいが非限定的な例は、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

30

#### 【0323】

本発明の別の態様は、少なくとも1つの本発明のナノボディと、少なくとも1つの本発明のポリペプチド及び / 又は少なくとも1つの本発明の核酸と、任意で (即ち組成物の使用目的に応じて) それ自体が既知のこのような組成物の1つ又は複数のさらなる構成要素とを含有するか又は含む生成物又は組成物に関する。このような生成物又は組成物は例えば、(本明細書に記載の) 薬学的組成物、獣医学的組成物又は (同様に本明細書に記載の) 診断用途のための生成物若しくは組成物であり得る。このような生成物又は組成物の幾つかの好ましいが非限定的な例は、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

#### 【0324】

本発明はさらに、本明細書中に記載のナノボディ、ポリペプチド、核酸、宿主細胞、生成物及び組成物を調製又は生成する方法に関する。このような方法の幾つかの好ましいが非限定的な例は、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

40

#### 【0325】

本発明はさらに、本明細書中に記載のナノボディ、ポリペプチド、核酸、宿主細胞、生成物及び組成物の適用及び使用、並びに GPCR に関連する疾患及び障害を予防及び / 又は治療する方法に関する。幾つかの好ましいが非限定的な適用及び使用は、本明細書中のさらなる記載から明らかになる。

#### 【0326】

また本発明の他の態様、実施形態、利点及び用途は、本明細書の以下のさらなる記載から明らかになる。

50

## 【0327】

概して、最も広範な意味で本明細書で使用されるナノボディという用語は、特定の生物学的供給源又は特定の調製方法に限定されないことに留意すべきである。例えば、以下でより詳細に考察されるように、本発明のナノボディは概して、(1)天然の重鎖抗体の $V_{HH}$ ドメインを単離することによって、(2)天然の $V_{HH}$ ドメインをコードするヌクレオチド配列の発現によって、(3)天然 $V_{HH}$ ドメインの(本明細書に記載の)「ヒト化」によって、又はこのようなヒト化 $V_{HH}$ ドメインをコードする核酸の発現によって、(4)任意の動物種、特に哺乳動物種(例えばヒト)由来の天然 $V_H$ ドメインの(本明細書に記載の)「ラクダ化」によって、又はこのようなラクダ化 $V_H$ ドメインをコードする核酸の発現によって、(5)Ward et al(同上)によって記載されるような「ドメイン抗体」即ち「Dab」の「ラクダ化」によって、又はこのようなラクダ化 $V_H$ ドメインをコードする核酸の発現によって、(6)それ自体が既知である、タンパク質、ポリペプチド又は他のアミノ酸配列を調製するのに合成技法又は半合成技法を使用することによって、(7)それ自体が既知である核酸合成技法を使用して、ナノボディをコードする核酸を調製した後、このようにして得られた核酸を発現することによって、及び/又は(8)上記の1つ又は複数の任意の組合せによって得ることができる。上記を実施するのに好適な方法及び技法は、本明細書中の開示に基づいて当業者にとって明らかであり、例えば本明細書でより詳細に記載される方法及び技法を含む。

10

## 【0328】

1つの好ましい群のナノボディは、GPCRに指向性を有する天然重鎖抗体の $V_{HH}$ ドメインに対応する。本明細書にさらに記載されるように、このような $V_{HH}$ 配列は概して、GPCRをラクダ科動物種に好適に(即ち免疫応答及び/又はGPCRに指向性を有する重鎖抗体を誘起するように)免疫付与することによって、上記ラクダ科動物由来の好適な生体試料(例えば血液試料、血清試料又はB細胞の試料)を得ることによって、及びそれ自体が既知の任意の好適な技法を使用して、上記試料からGPCRに指向性を有する $V_{HH}$ 配列を生成することによって、生成又は入手することができる。このような技法は、当業者にとって明らかであり、及び/又は本明細書でさらに記載される。

20

## 【0329】

代替的に、GPCRに対するこのような天然 $V_{HH}$ ドメインは、例えばそれ自体が既知の1つ又は複数のスクリーニング技法を用いて、GPCR、又は少なくともその一部分、断片、抗原決定基若しくはエピトープを使用して、このようなライブラリをスクリーニングすることによってラクダ科動物の $V_{HH}$ 配列のナープライブラリから得ることができる。このようなライブラリ及び技法は例えば、国際公開第99/37681号、国際公開第01/90190号、国際公開第03/025020号及び国際公開第03/035694号に記載されている。代替的に、ナープ $V_{HH}$ ライブラリ由来の改良型の合成ライブラリ又は半合成ライブラリ(例えばランダム突然変異誘発及び/又はCDRシャッフリング(例えば国際公開第00/43507号に記載されているようなもの)等の技法によって、ナープ $V_{HH}$ ライブラリから得られる $V_{HH}$ ライブラリ)を使用してもよい。

30

## 【0330】

このように、別の態様において、本発明は、GPCRに指向性を有するナノボディを生成する方法に関する。一態様では、上記方法は少なくとも、

40

- a) ナノボディ配列のセット、コレクション又はライブラリを準備する工程と、
- b) GPCRと結合することができる、及び/又はGPCRに対する親和性を有するナノボディ配列に関して、上記のナノボディ配列のセット、コレクション又はライブラリをスクリーニングする工程と、
- c) GPCRと結合することができる、及び/又はGPCRに対する親和性を有するアミノ酸配列(複数可)を単離する工程とを含む。

## 【0331】

このような方法では、ナノボディ配列のセット、コレクション又はライブラリは、ナノボディ配列のナープセット、ナープコレクション又はナープライブラリ、ナノボデ

50

ィ配列の合成又は半合成のセット、コレクション又はライブラリ、及びノ又は親和性成熟を受けているナノボディ配列のセット、コレクション又はライブラリであり得る。

【0332】

この方法の好ましい一態様では、ナノボディ配列のセット、コレクション又はライブラリは、GPCR、又はこれに基づく若しくはこれに由来する好適な抗原決定基（例えばその抗原の部分、断片、領域、ドメイン、ループ又は他のエピトープ）を好適に免疫付与したラクダ科動物種に由来している、ナノボディ配列の免疫セット、免疫コレクション又は免疫ライブラリ、特にV<sub>H</sub>H配列の免疫セット、免疫コレクション又は免疫ライブラリであり得る。特定の一態様では、上記抗原決定基は、細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）であり得る。

10

【0333】

上記の方法において、ナノボディ配列又はV<sub>H</sub>H配列のセット、コレクション又はライブラリは、スクリーニングを容易にするように、ファージ、ファージミド、リボソーム又は好適な微生物（酵母等）上に提示してもよい。ナノボディ配列（のセット、コレクション又はライブラリ）を提示及びスクリーニングするのに好適な方法、技法及び宿主生物は、例えば本明細書中のさらなる開示に基づいて当業者にとって明らかである。国際公開第03/054016号及びNature Biotechnology, 23, 9, 1105-1116 (2005)におけるHogenboomによる総説も参照する。

【0334】

別の態様において、ナノボディ配列を生成する方法は、

20

a) 免疫グロブリン配列を発現するラクダ科動物種由来の細胞のコレクション又は試料を準備する工程と、

b) (i) GPCRと結合することができる、及びノ又はGPCRに対する親和性を有する免疫グロブリン配列を発現する細胞、(ii) 重鎖抗体を発現する細胞に関して上記細胞のコレクション又は試料をスクリーニングする工程であって、GPCRと結合することができる、及びノ又はGPCRに対して親和性を有する重鎖抗体を発現する細胞を少なくとも1つ提供するように、本質的に単一のスクリーニング工程として、又は2つの別々のスクリーニング工程として任意の好適な順番で下位工程(i)及び(ii)を実施することができる、スクリーニングする工程と、

c) (i) 上記重鎖抗体に存在するV<sub>H</sub>H配列を上記細胞から単離する工程、又は(ii) 上記重鎖抗体に存在するV<sub>H</sub>H配列をコードする核酸配列を上記細胞から単離した後、上記V<sub>H</sub>Hドメインを発現する工程のいずれかとを少なくとも含む。

30

【0335】

別の態様において、GPCR、例えばヒトCXCR4又はヒトCXCR7に指向性を有するナノボディ配列を生成する方法が以下の工程を少なくとも含む：

a. 所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）に対する免疫応答が誘起されるように、ラクダ科動物に所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）を含む好適な抗原、又はこれに由来する若しくはこれに基づく好適なペプチドを好適に免疫付与する工程。抗原は、所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）に対する免疫応答を誘起することが可能な任意の好適な抗原；例えば例示的でありこれに限定されないが、生きた状態で、かつその天然立体構造における表面上で所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）を過剰発現する全細胞；この細胞壁断片若しくはこのような細胞に由来する任意の他の好適な調製物；その表面上に所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）を有する小胞；所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）を含む、GPCR、例えばヒトCXCR4及びノ又はヒトCXCR7のサブユニット若しくはサブユニットの断片；又は所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）（のアミノ酸配列）を含む及びノ又はこれに基づく合成若しくは半合成のペプチド；より好ましくは生きた状態で、かつその天然立体構造

40

50

における表面上で所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）を過剰発現する全細胞（例えばHEK293）であり得る。

b. 上記GPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7を過剰発現する異なる（免疫付与に使用したもの以外の）幾つかの細胞型の細胞膜調製物を使用して、所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）との結合に関して選択する工程。これは例えば、表面上で重鎖抗体を発現する細胞（例えば好適に免疫付与したラクダ科動物から得られたB細胞）のセット、コレクション若しくはライブラリから選択すると共に、例えば1回目の選択で例えばCHO等の第1の細胞型、及び例えば2回目の選択で例えばCOS-7細胞等の第2の細胞型の細胞膜調製物を使用すること、例えば1回目の選択で例えばCHO等の第1の細胞型、及び例えば2回目の選択で例えばCOS-7細胞等の第2の細胞型の細胞膜調製物を使用することによってV<sub>H</sub>H配列若しくはナノボディ配列の（ナイーブ又は免疫）ライブラリから選択すること、又は例えば1回目の選択で例えばCHO等の第1の細胞型、及び例えば2回目の選択で例えばCOS-7細胞等の第2の細胞型の細胞膜調製物を使用することによってV<sub>H</sub>H配列若しくはナノボディ配列をコードする核酸配列の（ナイーブ又は免疫）ライブラリから選択することにより実施することができ、これらは全てそれ自体が既知の方法で実施してもよい。

c. 任意で洗浄剤を用いずにPBS等のバッファーで穏やかに洗浄する工程。この方法はさらに任意でそれ自体が既知の他の好適な工程、例えば例示的でありこれに限定されないが、親和性成熟工程、所望のアミノ酸配列を発現する工程、所望の抗原（この場合、GPCR）との結合及び/又はこれに対する活性に関してスクリーニングする工程、所望のアミノ酸配列又はヌクレオチド配列を決定する工程、（例えば本明細書でさらに記載のように）1つ又は複数のヒト置換を導入する工程、好適な多価及び/又は多重特異性フォーマットでフォーマットする工程、所望の生物学的及び/又は生理学的特性に関してスクリーニングする（即ち本明細書で記載されるような好適なアッセイを使用する）工程、及び/又は1つ又は複数のこのような工程の任意の好適な組合せを1つ又は複数任意の好適な順番で含んでもよい。

#### 【0336】

別の態様において、膜貫通タンパク質に指向性を有するナノボディ配列を生成する方法が以下の工程を少なくとも含む：

a. 所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）に対する免疫応答が誘起されるように、ラクダ科動物に所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）を含む好適な抗原、又はこれに由来する若しくはこれに基づく好適なペプチドを好適に免疫付与する工程。抗原は、所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）に対する免疫応答を誘起することが可能な任意の好適な抗原；例えば例示的でありこれに限定されないが、生きた状態で、かつその天然立体構造における表面上で所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）を過剰発現する全細胞；この細胞壁断片若しくはこのような細胞に由来する任意の他の好適な調製物；その表面上に所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）を有する小胞；膜貫通タンパク質、特に所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）を含む、（少なくとも本願が出願された時点で）他の「*in vitro*」系では天然立体構造を再現することができない多重膜貫通タンパク質のサブユニット若しくはサブユニットの断片；又は所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ若しくは他の細胞外エピトープ（複数可）（のアミノ酸配列）を含む及び/又はこれに基づく合成若しくは半合成のペプチド；より好ましくは生きた状態で、かつその天然立体構造における表面上で所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）を過剰発現する全細胞（例えばHEK293）であり得る。

b. 上記膜貫通タンパク質、特に（少なくとも本願が出願された時点で）他の「*in vitro*」系では天然立体構造を再現することができない多重膜貫通タンパク質を過剰発現する異なる（免疫付与に使用したもの以外の）幾つかの細胞型の細胞膜調製物を使用

して、所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）との結合に関して選択する工程。これは例えば、表面上で重鎖抗体を発現する細胞（例えば好適に免疫付与したラクダ科動物から得られたB細胞）のセット、コレクション若しくはライブラリから選択すると共に、例えば1回目の選択で例えばCHO等の第1の細胞型、及び例えば2回目の選択で例えばCOS-7細胞等の第2の細胞型の細胞膜調製物を使用すること、例えば1回目の選択で例えばCHO等の第1の細胞型、及び例えば2回目の選択で例えばCOS-7細胞等の第2の細胞型の細胞膜調製物を使用することによってV<sub>H H</sub>配列若しくはナノボディ配列の（ナープ又は免疫）ライブラリから選択すること、又は例えば1回目の選択で例えばCHO等の第1の細胞型、及び例えば2回目の選択で例えばCOS-7細胞等の第2の細胞型の細胞膜調製物を使用することによってV<sub>H H</sub>配列若しくはナノボディ配列をコードする核酸配列の（ナープ又は免疫）ライブラリから選択することにより実施することができ、これらは全てそれ自体が既知の方法で実施してもよい。

c. 任意で洗浄剤を用いずにPBS等のバッファーで穏やかに洗浄する工程。この方法はさらに任意でそれ自体が既知の他の好適な工程、例えば例示的でありこれに限定されないが、親和性成熟工程、所望のアミノ酸配列を発現する工程、所望の抗原（この場合、膜貫通タンパク質）との結合及び/又はこれに対する活性に関してスクリーニングする工程、所望のアミノ酸配列又はヌクレオチド配列を決定する工程、（例えば本明細書でさらに記載のように）1つ又は複数のヒト置換を導入する工程、好適な多価及び/又は多重特異性フォーマットでフォーマットする工程、所望の生物学的及び/又は生理学的特性に関してスクリーニングする（即ち本明細書で記載されるような好適なアッセイを使用する）工程、及び/又は1つ又は複数のこのような工程の任意の好適な組合せを1つ又は複数任意の好適な順番で含んでいてもよい。

【0337】

この態様による方法において、細胞のコレクション又は試料は例えば、B細胞のコレクション又は試料であり得る。

【0338】

また、この方法では、細胞の試料は、GPCR、又はこれに基づく若しくはこれに由来する好適な抗原決定基（例えばその抗原の部分、断片、領域、ドメイン、ループ又は他のエピトープ）を好適に免疫付与したラクダ科動物に由来し得る。特定の一態様では、上記抗原決定基は、細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）であり得る。

【0339】

上記の方法は、当業者にとって明らかなように、任意の好適な方法で行われ得る。例えば欧州特許第0542810号、国際公開第05/19824号、国際公開第04/051268号及び国際公開第04/106377号を参照されたい。工程b)のスクリーニングは、FACS等のフローサイトメトリ法を使用して行うのが好ましい。これに関しては、例えばLieby et al., Blood, Vol. 97, No. 12, 3820を参照する。特に、Ablynx N.V.による国際出願である国際公開第06/079372号で記載のいわゆる「ナノクロール（商標）」法を参照する。

【0340】

別の態様において、GPCRに指向性を有するアミノ酸配列を生成する方法は、

a) 重鎖抗体又はナノボディ配列をコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリを準備する工程と、

b) GPCRと結合することができる、及び/又はGPCRに対する親和性を有する重鎖抗体又はナノボディ配列をコードする核酸配列に関して、上記核酸配列のセット、コレクション又はライブラリをスクリーニングする工程と、

c) 上記核酸配列を単離し、その後それぞれ上記重鎖抗体に存在するV<sub>H H</sub>配列を発現するか、又は上記ナノボディ配列を発現する、単離する工程とを少なくとも含み得る。

【0341】

10

20

30

40

50

このような方法では、重鎖抗体又はナノボディ配列をコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリは例えば、重鎖抗体又は $V_{H H}$ 配列のナープセット、ナープコレクション又はナープライブラリをコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリ；ナノボディ配列の合成又は半合成のセット、コレクション又はライブラリをコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリ；及び/又は親和性成熟を受けているナノボディ配列のセット、コレクション又はライブラリをコードする核酸配列のセット、コレクション又はライブラリであり得る。

【0342】

この方法の好ましい一態様では、アミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリは、GPCR、又はこれに基づく若しくはこれに由来する好適な抗原決定基（例えばその抗原の部分、断片、領域、ドメイン、ループ又は他のエピトープ）を好適に免疫付与したラクダ科動物由来の重鎖抗体又は $V_{H H}$ 配列をコードする核酸配列の免疫セット、免疫コレクション又は免疫ライブラリであり得る。特定の一態様では、上記抗原決定基は、細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ（複数可）であり得る。

10

【0343】

上記の方法において、ヌクレオチド配列のセット、コレクション又はライブラリは、スクリーニングを容易にするように、ファージ、ファージミド、リボソーム又は好適な微生物（例えば酵母）上に提示してもよい。アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列（のセット、コレクション又はライブラリ）を提示及びスクリーニングするのに好適な方法、技法及び宿主生物は、例えば本明細書中のさらなる開示に基づいて当業者にとって明らかである。国際公開第03/054016号及びNature Biotechnology, 23, 9, 1105-1116（2005）におけるHoogenboomによる総説も参照する。

20

【0344】

当業者にとって明らかのように、本明細書中に記載の方法のスクリーニング工程を選択工程として実施することもできる。したがって、本明細書で使用する「スクリーニング」という用語は、選択、スクリーニング、又は選択法及び/又はスクリーニング法の任意の好適な組合せを含むことができる。また、配列のセット、コレクション又はライブラリを使用する場合、これは、1個、2個、3個又は約5個、10個、50個、100個、500個、1000個、5000個、 $10^4$ 個、 $10^5$ 個、 $10^6$ 個、 $10^7$ 個、 $10^8$ 個以上の配列等の任意の好適な数の配列を含有し得る。

30

【0345】

また、上記のアミノ酸配列のセット、コレクション又はライブラリにおける配列の1つ又は複数又は全ては、コンピュータモデリング法又は生物静力学法又はデータマイニング法等の合理的又は半経験的なアプローチで入手又は規定され得る。

【0346】

さらに、このようなセット、コレクション又はライブラリは、自然に多様化した配列（例えば免疫ライブラリ）の多様なセットに由来する複数の配列を含む、（例えば、指定の点突然変異又はランダム化した位置を有する）互いの変異体である1つ、2つ以上の配列、又は任意の他の多様な配列源（例えばHoogenboom et al, Nat Biotechnol 23: 1105, 2005及びBinz et al, Nat Biotechnol 2005, 23: 1247に記載）を含み得る。配列のこのようなセット、コレクション又はライブラリは、ファージ粒子、リボソーム、細菌、酵母細胞、哺乳動物細胞の表面上に提示し、これらの担体内でアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列に連結することができる。このことが、このようなセット、コレクション又はライブラリを、所望の本発明のアミノ酸配列を単離する選択法に従わせる。より一般的には、配列が好適な宿主又は宿主細胞上に提示される場合、初めに上記宿主又は宿主細胞から所望の配列をコードするヌクレオチド配列を単離した後、好適な宿主生物で上記ヌクレオチド配列を好適に発現することによって所望の配列を得ることも可能である（慣習になっている）。さらに、当業者にとって明らかのように、それ自体が既知の任意の好適な方法でこれを実施することができる。

40

【0347】

50

GPCRに指向性を有する $V_{HH}$ 配列又はナノボディ配列を得るためのさらに別の技法は、(即ち免疫応答及び/又はGPCRに指向性を有する重鎖抗体を生じるように)重鎖抗体を発現することができるトランスジェニック哺乳動物に好適に免疫付与すること、上記 $V_{HH}$ 配列又はナノボディ配列(をコードする核酸配列)を含有する上記トランスジェニック哺乳動物由来の好適な生体試料(例えば血液試料、血清試料又はB細胞の試料)を得ること、及びこれからそれ自体が既知の任意の好適な技法(本明細書に記載の方法又はハイブリドーマ法のいずれか等)を使用して、上記試料からGPCRに指向性を有する $V_{HH}$ 配列を生成することを伴う。例えばこのために、国際公開第02/085945号、国際公開第04/049794号、国際公開第06/008548号及びJanssens et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2006 Oct 10;103(41):15130-5に記載されている重鎖抗体発現マウス、並びにさらなる方法及び技法を使用することができる。例えば、このような重鎖抗体発現マウスは、天然源由来の(単一)可変ドメイン(例えばヒト(単一)可変ドメイン、ラクダ科動物(単一)可変ドメイン又はサメ(単一)可変ドメイン)及び例えば合成又は半合成の(単一)可変ドメイン等の任意の好適な(単一)可変ドメインを有する重鎖抗体を発現することができる。

10

20

30

40

50

#### 【0348】

本発明は、上記方法、又は代替的に上記の方法の1つと、さらに上記 $V_{HH}$ 配列又はナノボディ配列のヌクレオチド配列又はアミノ酸配列を決定する工程と、好適な宿主細胞若しくは宿主生物における発現又は化学合成のようなそれ自体が既知の方法で上記 $V_{HH}$ 配列又はナノボディ配列を発現又は合成する工程とを少なくとも含む方法によって得られる $V_{HH}$ 配列又はナノボディ配列にも関する。

#### 【0349】

本明細書で言及されるように、特に好ましい群の本発明のナノボディは、天然 $V_{HH}$ ドメインのアミノ酸配列に対応するが、即ち上記天然 $V_{HH}$ 配列(特にフレームワーク配列)のアミノ酸配列における1つ又は複数のアミノ酸残基を、(例えば上記の)ヒト由来の従来の四本鎖抗体由来の $V_H$ ドメインの対応する位置(複数可)で発生する1つ又は複数のアミノ酸残基に置き換えることによって「ヒト化」したアミノ酸配列を有するナノボディを含む。例えば本明細書中のさらなる記載及び本明細書で言及されたヒト化に関する従来技術に基づいて、当業者にとって明らかなそれ自体が既知の方法で、これを実施することができる。また、このような本発明のヒト化ナノボディは、それ自体が既知の任意の好適な方法で(即ち上記の(1)~(8)で示されたように)得ることができ、このため出発材料として天然 $V_{HH}$ ドメインを含むポリペプチドを使用して得られたポリペプチドに厳密に限定されないことに留意すべきである。

#### 【0350】

別の特に好ましい群の本発明のナノボディは、天然 $V_H$ ドメインのアミノ酸配列に対応するが、即ち従来の四本鎖抗体由来の天然 $V_H$ ドメインのアミノ酸配列における1つ又は複数のアミノ酸残基を、重鎖抗体の $V_{HH}$ ドメインの対応する位置(複数可)で発生する1つ又は複数のアミノ酸残基に置き換えることによって「ラクダ化」したアミノ酸配列を有するナノボディを含む。例えば本明細書中のさらなる記載に基づいて、当業者にとって明らかなそれ自体が既知の方法で、これを実施することができる。このような「ラクダ化」置換は、本明細書に規定のように、 $V_H - V_L$ 界面及び/又はいわゆるラクダ科動物の特徴的な残基を形成し、及び/又は $V_H - V_L$ 界面及び/又はいわゆるラクダ科動物の特徴的な残基に存在するアミノ酸位置に挿入するのが好ましい(例えば国際公開第94/04678号及びDavies and Riechmann(1994 and 1996)(同上)を参照されたい)。好ましくは、ラクダ化ナノボディを生成又は設計するための出発材料又は出発点として使用される $V_H$ 配列は、好ましくは哺乳動物由来の $V_H$ 配列、より好ましくはヒトの $V_H$ 配列(例えば $V_H3$ 配列)である。しかし、このような本発明のラクダ化ナノボディは、それ自体が既知の任意の好適な方法で(即ち上記の(1)~(8)で示されたように)得ることができ、このため出発材料として天然 $V_H$ ドメインを含むポリペプチドを使用して得られたポリペプチドに厳密に限定されないことに留意すべきである。

## 【0351】

例えば同様に、本明細書にさらに記載されるように、それぞれ天然のV<sub>H</sub>Hドメイン又はV<sub>H</sub>ドメインをコードするヌクレオチド配列を準備した後、それ自体が既知の方法で、新規のヌクレオチド配列がそれぞれ、本発明の「ヒト化」又は「ラクダ化」ナノボディをコードするように、上記ヌクレオチド配列における1つ又は複数のコドンを変えることによって、「ヒト化」及び「ラクダ化」の両方を行うことができる。次にこの核酸は、所望の本発明のナノボディを提供するようにそれ自体が既知の方法で発現することができる。代替的に、それぞれ天然のV<sub>H</sub>Hドメイン又はV<sub>H</sub>ドメインのアミノ酸配列に基づき、それぞれ所望の本発明のヒト化又はラクダ化ナノボディのアミノ酸配列を設計した後、それ自体が既知のペプチド合成技法を使用してde novoで合成することができる。また、それぞれ天然のV<sub>H</sub>Hドメイン又はV<sub>H</sub>ドメインのアミノ酸配列又はヌクレオチド配列に基づき、それぞれ所望の本発明のヒト化又はラクダ化ナノボディをコードするヌクレオチド配列を設計した後、それ自体が既知の核酸合成技法を使用してde novoで合成することができ、その後所望の本発明のナノボディを提供するように、それ自体が既知の方法で、このようにして得られた核酸を発現することができる。

10

## 【0352】

天然V<sub>H</sub>配列又は好ましくはV<sub>H</sub>H配列から、本発明のナノボディ及び/又はこれをコードする核酸を得るのに好適な他の方法及び技法は、当業者にとって明らかであり、例えば本発明のナノボディ、又はこれをコードするヌクレオチド配列若しくは核酸を提供するように好適な方法で、1つ又は複数の天然V<sub>H</sub>配列(例えば1つ又は複数のFR配列及び/又はCDR配列)の一部分又は複数部分、1つ又は複数の天然V<sub>H</sub>H配列(例えば1つ又は複数のFR配列又はCDR配列)の一部分又は複数部分、及び/又は1つ又は複数の合成又は半合成の配列を組み合わせることを含み得る(したがって適切に発現することができる)。V<sub>H</sub>H配列又はナノボディのフレームワーク配列をコードするヌクレオチド配列は、本明細書中の開示及び/又は本明細書中で言及したさらなる従来技術に基づき、当業者にとって明らかであり(及び/又は代替的に本明細書中に記載の方法を使用して得られたヌクレオチド配列からPCRによって入手され得る)、本発明のナノボディをコードする核酸を提供するように、(例えば重複プライマーを使用したPCRアセンブリによって)所望のCDRをコードするヌクレオチド配列と好適に組合せ得る。

20

## 【0353】

本明細書中に言及されるように、ナノボディは特に、1つ又は複数のフレームワーク配列における1つ又は複数の「特徴的な残基」(本明細書中に記載)の存在を特徴とし得る。

30

## 【0354】

したがって、好ましいが、本発明の非限定的な一態様によれば、ナノボディは概して、最も広範な意味で

a) 3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列(カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQである)、及び/又は

b) 3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列(カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基は、(本明細書に規定の)荷電アミノ酸又はシステイン残基であり、44位のアミノ酸残基はEであるのが好ましい)、及び/又は

40

c) 3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列(カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基はP、R及びSから成る群から選択され、特にR及びSから成る群から選択される)を含む、ポリペプチドと定義することができる。

## 【0355】

したがって好ましいが非限定的な第1の態様において、本発明のナノボディは、構造：  
FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

50

(ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～フレームワーク領域4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～相補性決定領域3を指す)を有し得る；ここで

- a) カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQであり、及び/又は
- b) カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基は、荷電アミノ酸又はシステインであり、カバットナンバリングによる44位のアミノ酸残基はEであるのが好ましく、及び/又は
- c) カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基はP、R及びSから成る群から選択され、特にR及びSから成る群から選択され、
- d) CDR1、CDR2及びCDR3は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものである。

10

【0356】

特に、ナノボディは概して、最も広範な意味で

- a) 3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列(カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQである)、及び/又は
- b) 3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列(カバットナンバリングによる44位のアミノ酸残基はEであり、カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基はRである)、及び/又は
- c) 3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列(カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基はP、R及びSから成る群から選択され、特にR及びSから成る群から選択される)を含む、ポリペプチドと定義することができる。

20

【0357】

したがって好ましいが非限定的な一態様によれば、本発明のナノボディは、構造：

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

(ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～フレームワーク領域4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～相補性決定領域3を指す)を有し得る；ここで

30

- a) カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQであり、及び/又は
- b) カバットナンバリングによる44位のアミノ酸残基はEであり、カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基はRであり、及び/又は
- c) カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基はP、R及びSから成る群から選択され、特にR及びSから成る群から選択され、
- d) CDR1、CDR2及びCDR3は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものである。

【0358】

特に本発明によるGPCRに対するナノボディは、構造：

40

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

(ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～フレームワーク領域4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～相補性決定領域3を指す)を有し得る；ここで

- a) カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQであり、及び/又は
- b) カバットナンバリングによる44位のアミノ酸残基はEであり、カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基はRであり、及び/又は
- c) カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基はP、R及びSから成る群から選択され、特にR及びSから成る群から選択され、
- d) CDR1、CDR2及びCDR3は本明細書で規定されるようなものであり、好ま

50

しくは本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものである。

【0359】

特に、好ましいが、本発明の非限定的な一態様によれば、ナノボディは概して、3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列を含むポリペプチドと定義することができ、

a - 1) カバットナンバリングによる44位のアミノ酸残基は、A、G、E、D、G、Q、R、S、Lから成る群から選択され、好ましくはG、E若しくはQから成る群から選択され、

a - 2) カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基は、L、R若しくはCから成る群から選択され、好ましくはL若しくはRから成る群から選択され、

a - 3) カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基は、W、R若しくはSから成る群から選択され、好ましくはW若しくはRであり、最も好ましくはWであり、

a - 4) カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQであるか、又は

b - 1) カバットナンバリングによる44位のアミノ酸残基は、E及びQから成る群から選択され、

b - 2) カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基はRであり、

b - 3) カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基は、W、R及びSから成る群から選択され、好ましくはWであり、

b - 4) カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQ及びLから成る群から選択され、好ましくはQであるか、又は

c - 1) カバットナンバリングによる44位のアミノ酸残基は、A、G、E、D、Q、R、S及びLから成る群から選択され、好ましくはG、E及びQから成る群から選択され、

c - 2) カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基は、L、R及びCから成る群から選択され、好ましくはL及びRから成る群から選択され、

c - 3) カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基は、P、R及びSから成る群から選択され、特にR及びSから成る群から選択され、

c - 4) カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQ及びLから成る群から選択され、好ましくはQであり、かつ

d) CDR1、CDR2及びCDR3は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものである。

【0360】

したがって、好ましいが非限定的な別の態様において、本発明のナノボディは、構造：

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

(ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～フレームワーク領域4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～相補性決定領域3を指す)を有し得る；ここで

a - 1) カバットナンバリングによる44位のアミノ酸残基は、A、G、E、D、G、Q、R、S、Lから成る群から選択され、好ましくはG、E若しくはQから成る群から選択され、

a - 2) カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基は、L、R若しくはCから成る群から選択され、好ましくはL若しくはRから成る群から選択され、

a - 3) カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基は、W、R若しくはSから成る群から選択され、好ましくはW若しくはRであり、最も好ましくはWであり、

a - 4) カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQであり、かつ

d) CDR1、CDR2及びCDR3は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものである。

## 【0361】

好ましいが非限定的な別の態様において、本発明のナノボディは、構造：

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

(ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～フレームワーク領域4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～相補性決定領域3を指す)を有し得る；ここで

b-1)カバットナンバリングによる44位のアミノ酸残基は、E及びQから成る群から選択され、

b-2)カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基はRであり、

b-3)カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基は、W、R及びSから成る群から選択され、好ましくはWであり、

b-4)カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQ及びLから成る群から選択され、好ましくはQであり、かつ

d)CDR1、CDR2及びCDR3は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものである。

## 【0362】

好ましいが非限定的な別の態様において、本発明のナノボディは、構造：

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

(ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～フレームワーク領域4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～相補性決定領域3を指す)を有し得る；ここで

c-1)カバットナンバリングによる44位のアミノ酸残基は、A、G、E、D、Q、R、S及びLから成る群から選択され、好ましくはG、E及びQから成る群から選択され、

c-2)カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基は、L、R及びCから成る群から選択され、好ましくはL及びRから成る群から選択され、

c-3)カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基は、P、R及びSから成る群から選択され、特にR及びSから成る群から選択され、

c-4)カバットナンバリングによる108位のアミノ酸残基はQ及びLから成る群から選択され、好ましくはQであり、かつ

d)CDR1、CDR2及びCDR3は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものである。

## 【0363】

2つの特に好ましいが非限定的な本発明のナノボディ群は、上記のa)、上記の(a-1)～(a-4)、上記のb)、上記の(b-1)～(b-4)、上記の(c)、及び/又は上記の(c-1)～(c-4)によるものであり、

i)カバットナンバリングによる44位～47位のアミノ酸残基は、配列GLEW(又は本明細書に記載のGLEW様配列)を形成し、108位のアミノ酸残基はQであるか、又は

ii)カバットナンバリングによる43位～46位のアミノ酸残基は、配列KERE又は配列KQRE(又は記載されるようなKERE様配列)を形成し、108位のアミノ酸残基はQ又はLであり、好ましくはQである。

## 【0364】

したがって、好ましいが非限定的な別の態様において、本発明のナノボディは、構造：

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

(ここで、FR1～FR4はそれぞれフレームワーク領域1～フレームワーク領域4を指し、CDR1～CDR3はそれぞれ相補性決定領域1～相補性決定領域3を指す)を有し得る；ここで

10

20

30

40

50

i) カバットナンバリングによる 44 位～47 位のアミノ酸残基は、配列 G L E W (又は本明細書に記載の G L E W 様配列)を形成し、108 位のアミノ酸残基は Q であり、かつ

ii) C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の 1 つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の 1 つに従って規定されるようなものである。

【0365】

好ましいが非限定的な別の態様において、本発明のナノボディは、構造：

F R 1 - C D R 1 - F R 2 - C D R 2 - F R 3 - C D R 3 - F R 4

(ここで、F R 1～F R 4 はそれぞれフレームワーク領域 1～フレームワーク領域 4 を指し、C D R 1～C D R 3 はそれぞれ相補性決定領域 1～相補性決定領域 3 を指す)を有し得る；ここで

i) カバットナンバリングによる 43 位～46 位のアミノ酸残基は、配列 K E R E 又は配列 K Q R E (又は K E R E 様配列)を形成し、108 位のアミノ酸残基は Q 又は L であり、好ましくは Q であり、かつ

ii) C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の 1 つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の 1 つに従って規定されるようなものである。

【0366】

カバットナンバリングによる 43 位～46 位のアミノ酸残基が、配列 K E R E 又は配列 K Q R E を形成する、本発明のナノボディにおいて、37 位のアミノ酸残基が F であるのが最も好ましい。カバットナンバリングによる 44 位～47 位のアミノ酸残基が、配列 G L E W を形成する、本発明のナノボディにおいて、37 位のアミノ酸残基は、Y、H、I、L、V 又は F から成る群から選択され、V であるのが最も好ましい。

【0367】

したがって、決してこれらには限定されないが、上記で言及された位置に存在するアミノ酸残基に基づき、概して本発明のナノボディを以下の 3 つの群に基づいて分類することができる：

i) 「G L E W 群」：カバットナンバリングによる 44 位～47 位にアミノ酸配列 G L E W、及びカバットナンバリングによる 108 位に Q を有するナノボディ。本明細書でさらに記載されるように、この群内のナノボディは通常、37 位に V を有し、103 位に W、P、R 又は S を有することができ、好ましくは 103 位に W を有する。G L E W 群は、以下の表 A - 3 で言及されるもののような幾つかの G L E W 様配列も含む。

ii) 「K E R E 群」：カバットナンバリングによる 43 位～46 位にアミノ酸配列 K E R E 又は K Q R E (又は別の K E R E 様配列)、及びカバットナンバリングによる 108 位に Q 又は L を有するナノボディ。本明細書でさらに記載されるように、この群内のナノボディは通常、37 位に F、及び 47 位に L 又は F を有し、103 位に W、P、R 又は S を有することができ、好ましくは 103 位に W を有する。

iii) 「103 P、R、S 群」：103 位に P、R 又は S を有するナノボディ。これらのナノボディは、カバットナンバリングによる 44 位～47 位にアミノ酸配列 G L E W、又はカバットナンバリングによる 43 位～46 位にアミノ酸配列 K E R E 又はアミノ酸配列 K Q R E のいずれかを有することができ(後者は、(K E R E 群に関して規定のように)37 位の F、及び 47 位の L 又は F と組合せるのが最も好ましい)、カバットナンバリングによる 108 位に Q 又は L を有することができ、Q を有するのが好ましい。

【0368】

また必要に応じて、ナノボディは、2 つ以上のこれらの群に属し得る(即ちこれらの特徴を有し得る)。例えば、1 つの特に好ましいナノボディ群は、44 位～47 位に G L E W 又は G L E W 様配列、103 位に P、R 又は S (特に R)、及び 108 位に Q (L へとヒト化してもよい)を有する。

【0369】

10

20

30

40

50

より一般的には、上記に言及される定義が、天然（即ち非ヒト化） $V_{HH}$ 配列の形態のナノボディを説明し、またこれに当てはまること、及びこれらのナノボディのヒト化変異体は、上記のもの以外のアミノ酸残基（即ち本明細書中に規定の1つ又は複数のヒト化置換）を含有し得ることに留意されたい。例えばこれに限定されないが、GLEW群又は103P、R、S群の幾つかのヒト化ナノボディにおいて、108位のQは、108Lにヒト化し得る。本明細書中に既に言及されたように、他のヒト化置換（及びその好適な組合せ）は、本明細書中の開示に基づき当業者にとって明らかであろう。付加的に又は代替的に、天然の $V_{HH}$ 配列のフレームワーク領域の配列を、1つ又は複数の密接に関連するヒト $V_H$ 配列の対応するフレームワーク配列と比較することによって、他の潜在的に有用なヒト化置換を確認することができ、その後（本明細書中にさらに記載のように、それ自体が既知の任意の方法で）このようにして求めた、潜在的に有用なヒト化置換（又はその組合せ）の1つ又は複数を上記 $V_{HH}$ 配列に導入することができ、標的に対する親和性、安定性、発現の容易さ及びレベル、及び/又は他の所望の特性に関して、得られたヒト化 $V_{HH}$ 配列を試験することができる。このようにして、限定的な試行錯誤によって、本明細書中の開示に基づき当業者によって、他の好適なヒト化置換（又はその好適な組合せ）を求めることができる。また、上記に基づき、ナノボディ（のフレームワーク領域）を部分ヒト化又は完全ヒト化してもよい。

10

**【0370】**

したがって、好ましいが非限定的な別の態様において、本発明のナノボディは、（本明細書に規定のように）GLEW群に属するナノボディであってもよく、その中のCDR1、CDR2及びCDR3は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものである。

20

**【0371】**

好ましいが非限定的な別の態様において、本発明のナノボディは、（本明細書に規定のように）KERE群に属するナノボディであってもよく、CDR1、CDR2及びCDR3は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものである。

30

**【0372】**

したがって、好ましいが非限定的な別の態様において、本発明のナノボディは、（本明細書に規定のように）103P、R、S群に属するナノボディであってもよく、その中のCDR1、CDR2及びCDR3は本明細書で規定されるようなものであり、好ましくは本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであり、より好ましくは本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものである。

**【0373】**

また、より一般的には、上記で言及された108Q、43E/44R及び103P、R、S残基の他に、本発明のナノボディは、従来の $V_H$ ドメインで $V_H/V_L$ 界面（の一部）が形成される1つ又は複数の位置で、対応する天然 $V_H$ 配列における同じ位置（複数可）で自然発生するアミノ酸残基よりも強く荷電する、1つ又は複数のアミノ酸残基、特に（表A-2で言及される）1つ又は複数の荷電アミノ酸残基を含有することができる。このような置換としては、これらに限定されないが、以下の表A-3で言及されるGLEW様配列、及び例えば44位~47位のKLEWと共に108位にQを有するナノボディを得るために、いわゆる「マイクロボディ」に関して国際出願の国際公開第00/29004号で説明される置換が挙げられる。これらの位置での他の可能性のある置換は、本明細書中の開示に基づいて当業者にとって明らかである。

40

**【0374】**

本発明のナノボディの一態様において、83位のアミノ酸残基は、L、M、S、V及びWから成る群から選択され、Lであるのが好ましい。

**【0375】**

50

また、本発明のナノボディの一態様において、83位のアミノ酸残基は、R、K、N、E、G、I、T及びQから成る群から選択され、(天然V<sub>H H</sub>ドメインに対応するナノボディに関しては)K若しくはE、又は(本明細書に記載の「ヒト化」ナノボディに関しては)Rのいずれかであるのが最も好ましい。一態様では、84位のアミノ酸残基は、P、A、R、S、D、T及びVから成る群から選択され、(天然V<sub>H H</sub>ドメインに対応するナノボディに関しては)P、又は(本明細書に記載の「ヒト化」ナノボディに関しては)Rであるのが最も好ましい。

【0376】

さらに本発明のナノボディの一態様において、104位のアミノ酸残基は、G及びDから成る群から選択され、Gであるのが最も好ましい。

10

【0377】

まとめると、ナノボディにおいて上記で言及される、11位、37位、44位、45位、47位、83位、84位、103位、104位及び108位のアミノ酸残基は、本明細書で「特徴的な残基」とも称される。特徴的な残基及び最も密接に関連したヒトV<sub>H</sub>ドメイン(V<sub>H 3</sub>)の対応する位置のアミノ酸残基を表A-3に要約する。

【0378】

幾つかの特に好ましいが非限定的な天然V<sub>H H</sub>ドメインで生じるこれらの特徴的な残基の組合せを表A-4で言及する。比較のために、DP-47と呼ばれるヒトV<sub>H 3</sub>の対応するアミノ酸残基をイタリック体で示している。

20

【0379】

表A-3：ナノボディにおける特徴的な残基

【表 5】

位置	ヒトV <sub>H</sub> 3	特徴的な残基
1 1	L、V、主にL	L、M、S、V、W、好ましくはL
3 7	V、I、F、通常V	F <sup>(1)</sup> 、Y、H、I、L又はV、好ましくはF <sup>(1)</sup> 又はY
4 4 <sup>(8)</sup>	G	G <sup>(2)</sup> 、E <sup>(3)</sup> 、A、D、Q、R、S、L、好ましくはG <sup>(2)</sup> 、E <sup>(3)</sup> 又はQ、最も好ましくはG <sup>(2)</sup> 又はE <sup>(3)</sup>
4 5 <sup>(8)</sup>	L	L <sup>(2)</sup> 、R <sup>(3)</sup> 、C、I、L、P、Q、V、好ましくはL <sup>(2)</sup> 又はR <sup>(3)</sup>
4 7 <sup>(8)</sup>	W、Y	W <sup>(2)</sup> 、L <sup>(1)</sup> 又はF <sup>(1)</sup> 、A、G、I、M、R、S、V又はY、好ましくはW <sup>(2)</sup> 、L <sup>(1)</sup> 、F <sup>(1)</sup> 又はR
8 3	R又はK、通常R	R、K <sup>(5)</sup> 、N、E <sup>(5)</sup> 、G、I、M、Q又はT、好ましくはK又はR、最も好ましくはK
8 4	A、T、D、主にA	P <sup>(5)</sup> 、A、L、R、S、T、D、V、好ましくはP
1 0 3	W	W <sup>(4)</sup> 、P <sup>(6)</sup> 、R <sup>(6)</sup> 、S、好ましくはW
1 0 4	G	G又はD、好ましくはG
1 0 8	L、M又はT、主にL	Q、L <sup>(7)</sup> 又はR、好ましくはQ又はL <sup>(7)</sup>

脚注：  
 (1) 具体的ではあるが、排他的ではなく、4 3位～4 6位はKERE又はKQREとの組合せである。  
 (2) 通常4 4位～4 7位はGLEWである。  
 (3) 通常4 3位～4 6位はKERE又はKQREであり、例えば4 3位～4 7位はKEREL、KEREF、KQREL、KQREF、又はKEREGである。代替的に、TERE (例えばTEREL)、KECE (例えばKECEL又はKECER)、RERE (例えばREREG)、QERE (例えばQEREG)、KGRE (例えばKGREG)、KDRE (例えばKDREV) 等の配列も可能である。幾つかの他の可能であるがあまり好ましくない配列としては例えば、DECKL及びNVCELが挙げられる。  
 (4) 4 4位～4 7位にGLEW、及び4 3位～4 6位にKERE又はKQREの両方を有する。  
 (5) 天然V<sub>HH</sub>ドメインの8 3位、8 4位はKP又はEPであることが多い。  
 (6) 具体的ではあるが、排他的ではなく、4 4位～4 7位はGLEWとの組合せである。  
 (7) 4 4位～4 7位がGLEWである場合、また1 0 3位にWを含有する(非ヒト化)V<sub>HH</sub>配列における1 0 8位は常にQであることが条件である。  
 GLEW群は、4 4位～4 7位にGLEW様配列(例えばGVEW、EPEW、GLER、DQEW、DLEW、GIEW、ELEW、GPEW、EWLP、GPER、GLER及びELEW)も含有する。

10

20

30

## 【0380】

表A - 4 : 天然ナノボディにおける特徴的な残基の幾つかの好ましいが非限定的な組合せ  
 これらの組合せのヒト化に関しては、明細書を参照する。

【表 6】

	1 1	3 7	4 4	4 5	4 7	8 3	8 4	1 0 3	1 0 4	1 0 8
DP-47 (ヒト)	M	V	G	L	W	R	A	W	G	L
「KERE」群	L	F	E	R	L	K	P	W	G	Q
	L	F	E	R	F	E	P	W	G	Q
	L	F	E	R	F	K	P	W	G	Q
	L	Y	Q	R	L	K	P	W	G	Q
	L	F	L	R	V	K	P	Q	G	Q
	L	F	Q	R	L	K	P	W	G	Q
	L	F	E	R	F	K	P	W	G	Q
「GLEW」群	L	V	G	L	W	K	S	W	G	Q
	M	V	G	L	W	K	P	R	G	Q

40

## 【0381】

50

ナノボディにおいて、特徴的な残基以外の任意の位置の各アミノ酸残基は、天然  $V_{HH}$  ドメインの（カバットナンバリングによる）対応する位置で自然発生する任意のアミノ酸残基であり得る。

【0382】

このようなアミノ酸残基は当業者にとって明らかである。表 A - 5 ~ 表 A - 8 は、天然  $V_{HH}$  ドメインの FR 1、FR 2、FR 3 及び FR 4 の（カバットナンバリングによる）それぞれの位置に存在し得る幾つかの非限定的な残基を表す。それぞれの位置に関しては、天然  $V_{HH}$  ドメインのそれぞれの位置で最も頻繁に発生する（ナノボディにおける上記位置に最も好ましいアミノ酸残基である）アミノ酸残基を太字で示し、それぞれの位置で好ましい他のアミノ酸残基を下線処理する（備考：天然  $V_{HH}$  ドメインの 26 位 ~ 30 位で見られるアミノ酸残基の数字は、これらの位置の残基が既に CDR 1 部分を形成しているという Chothia（同上）によるナンバリングの基礎をなす仮説を支持する）。

10

【0383】

表 A - 5 ~ 表 A - 8 では、ヒト  $V_H$  3 ドメインのそれぞれの位置に存在し得る非限定的な残基の幾つかも表している。また、それぞれの位置に関しては、天然ヒト  $V_H$  3 ドメインのそれぞれの位置で最も頻繁に発生するアミノ酸残基を太字で示し、他の好ましいアミノ酸残基を下線処理する。

【0384】

参考のためのために、表 A - 5 ~ 表 A - 8 は、1118 個の  $V_{HH}$  配列の代表的な試料におけるそれぞれのアミノ酸位置で  $V_{HH}$  エントロピー（「 $V_{HH}$  Ent.」）及び  $V_H$  変動性（「 $V_{HH}$  Var.」）に関するデータ（Utrecht University の David Lutje Hulsing 及び Prof. Theo Verrips によって無償（kindly）提供されたデータ）も含有する。 $V_{HH}$  エントロピー及び  $V_{HH}$  変動性の値は、解析する 1118 個の  $V_{HH}$  配列間のアミノ酸残基の変動性及び保存度に対する評価基準を与え、低い値（即ち 1 未満、例えば 0.5 未満）は、アミノ酸残基が、 $V_{HH}$  配列間で強く保存される（即ちほとんど変動性がない）ことを示す。例えば、8 位の G 及び 9 位の G はそれぞれ、0.1 及び 0 の  $V_{HH}$  エントロピー値を有し、これは（解析する 1118 個の配列全てにおいて 9 位が G である場合）これらの残基が強く保存され、ほとんど変動しないことを示す一方で、CDR 部分を形成する残基に関しては概して、1.5 以上の値が見られる（データ図示せず）。（1）表 A - 5 ~ 表 A - 8 の 2 列目に列挙されるアミノ酸残基は、後の 2 列で言及される  $V_{HH}$  エントロピー及び  $V_{HH}$  変動性を決定するのに解析された 1118 個の  $V_{HH}$  配列よりも大きい試料に基づいており、（2）以下で表すデータは、27 位 ~ 30 位のアミノ酸残基、並びにおそらく 93 位及び 94 位のアミノ酸残基でさえも既に CDR 部分を形成しているという仮説を支持することに留意されたい（しかしながら、本発明は任意の特定の仮説又は説明に限定されず、上記のように、本明細書ではカバットによるナンバリングを使用する）。配列エントロピー、配列変動性及びこれを決定する方法の一般的説明に関しては、Oliveira et al., PROTEINS: Structure, Function and Genetics, 52:544-552 (2003) を参照されたい。

20

30

【0385】

表 A - 5 : FR 1 におけるアミノ酸残基の非限定的な例（脚注に関しては、表 A - 3 の脚注を参照する）

40

【表 7】

位置	アミノ酸残基 (複数可)		V <sub>HH</sub> Ent.	V <sub>HH</sub> Var.
	ヒトV <sub>H3</sub>	ラクダ科動物V <sub>HH</sub>		
1	E、 <u>Q</u>	Q、A、E	—	—
2	V	V	0. 2	1
3	Q	Q、K	0. 3	2
4	L	L	0. 1	1
5	V、L	Q、E、L、V	0. 8	3
6	E	E、D、Q、A	0. 8	4
7	S、T	S、F	0. 3	2
8	G、R	G	0. 1	1
9	G	G	0	1
10	G、V	G、D、R	0. 3	2
11	特徴的な残基：L、M、S、V、W、好ましくはL		0. 8	2
12	V、I	V、A	0. 2	2
13	Q、K、R	Q、E、K、P、R	0. 4	4
14	P	A、 <u>Q</u> 、A、G、P、S、T、V	1	5
15	G	G	0	1
16	G、 <u>R</u>	G、A、E、D	0. 4	3
17	S	S、 <u>F</u>	0. 5	2
18	L	L、V	0. 1	1
19	R、K	R、K、L、N、S、T	0. 6	4
20	L	L、 <u>F</u> 、I、V	0. 5	4
21	S	S、A、F、T	0. 2	3
22	C	C	0	1
23	A、T	A、D、E、P、S、T、V	1. 3	5
24	A	A、I、L、S、T、V	1	6
25	S	S、A、F、P、T	0. 5	5
26	G	G、A、D、E、R、S、T、V	0. 7	7
27	F	S、F、R、L、P、G、N	2. 3	13
28	T	N、T、E、D、S、I、R、A、G、R、 F、Y	1. 7	11
29	F、 <u>V</u>	F、L、D、S、I、G、V、A	1. 9	11
30	S、 <u>D</u> 、G	N、S、E、G、A、D、M、T	1. 8	11

10

20

30

## 【0386】

表 A - 6 : FR2 におけるアミノ酸残基の非限定的な例 (脚注に関しては、表 A - 3 の脚注を参照する)

【表 8】

位置	アミノ酸残基 (複数可)		V <sub>HH</sub> Ent.	V <sub>HH</sub> Var.
	ヒトV <sub>H</sub> 3	ラクダ科動物V <sub>HH</sub>		
36	W	W	0.1	1
37	特徴的な残基: F <sup>(1)</sup> 、H、I、L、Y又はV、好ましくはF <sup>(1)</sup> 又はY		1.1	6
38	R	R	0.2	1
39	Q	Q、H、P、R	0.3	2
40	A	A、F、G、L、P、T、V	0.9	7
41	P、S、T	P、A、L、S	0.4	3
42	G	G、E	0.2	2
43	K	K、D、E、N、Q、R、T、V	0.7	6
44	特徴的な残基: G <sup>(2)</sup> 、E <sup>(3)</sup> 、A、D、Q、R、S、L、好ましくはG <sup>(2)</sup> 、E <sup>(3)</sup> 又はQ、最も好ましくはG <sup>(2)</sup> 又はE <sup>(3)</sup>		1.3	5
45	特徴的な残基: L <sup>(2)</sup> 、R <sup>(3)</sup> 、C、I、L、P、Q、V、好ましくはL <sup>(2)</sup> 又はR <sup>(3)</sup>		0.6	4
46	E、V	E、D、K、Q、V	0.4	2
47	特徴的な残基: W <sup>(2)</sup> 、L <sup>(1)</sup> 又はF <sup>(1)</sup> 、A、G、I、M、R、S、V又はY、好ましくはW <sup>(2)</sup> 、L <sup>(1)</sup> 、F <sup>(1)</sup> 又はR		1.9	9
48	V	V、I、L	0.4	3
49	S、 <u>A</u> 、 <u>G</u>	A、 <u>S</u> 、G、T、V	0.8	3

10

20

## 【0387】

表 A - 7 : FR3 におけるアミノ酸残基の非限定的な例 (脚注に関しては、表 A - 3 の脚注を参照する)

【表 9】

位置	アミノ酸残基 (複数可)		V <sub>HH</sub> Ent.	V <sub>HH</sub> Var.
	ヒトV <sub>H3</sub>	ラクダ科動物V <sub>HH</sub>		
66	R	R	0.1	1
67	F	F、L、V	0.1	1
68	T	T、A、N、S	0.5	4
69	I	I、L、M、V	0.4	4
70	S	S、A、F、T	0.3	4
71	R	R、G、H、I、L、K、Q、S、T、W	1.2	8
72	D、E	D、E、G、N、V	0.5	4
73	N、 <u>D</u> 、G	N、A、D、F、I、K、L、R、S、T、V、Y	1.2	9
74	A、S	A、D、G、N、P、S、T、V	1	7
75	K	K、A、E、K、L、N、Q、R	0.9	6
76	N、S	N、D、K、R、S、T、Y	0.9	6
77	<u>S</u> 、 <u>T</u> 、I	T、A、E、I、M、P、S	0.8	5
78	L、A	V、 <u>L</u> 、A、F、G、I、M	1.2	5
79	Y、H	Y、A、D、F、H、N、S、T	1	7
80	L	L、F、V	0.1	1
81	Q	Q、E、I、L、R、T	0.6	5
82	M	M、I、L、V	0.2	2
82a	N、G	N、D、G、H、S、T	0.8	4
82b	S	S、 <u>N</u> 、D、G、R、T	1	6
82c	L	L、P、V	0.1	2
83	特徴的な残基：R、K <sup>(5)</sup> 、N、E <sup>(5)</sup> 、G、I、M、Q又はT、好ましくはK又はR、最も好ましくはK		0.9	7
84	特徴的な残基：P <sup>(5)</sup> 、A、D、L、R、S、T、V、好ましくはP		0.7	6
85	E、G	E、D、G、Q	0.5	3
86	D	D	0	1
87	T、M	T、A、S	0.2	3
88	A	A、 <u>G</u> 、S	0.3	2
89	V、L	V、A、D、I、L、M、N、R、T	1.4	6
90	Y	Y、F	0	1
91	Y、H	Y、D、F、H、L、S、T、V	0.6	4
92	C	C	0	1
93	A、K、T	A、 <u>N</u> 、G、H、K、N、R、S、T、V、Y	1.4	10
94	K、R、T	A、 <u>V</u> 、C、F、G、I、K、L、R、S又はT	1.6	9

【0388】

表A-8：FR4におけるアミノ酸残基の非限定的な例（脚注に関しては、表A-3の脚注を参照する）

【表 10】

位置	アミノ酸残基 (複数可)		V <sub>HH</sub> Ent.	V <sub>HH</sub> Var.
	ヒトV <sub>H3</sub>	ラクダ科動物V <sub>HH</sub>		
103	特徴的な残基：W <sup>(4)</sup> 、P <sup>(6)</sup> 、R <sup>(6)</sup> 、S、好ましくはW		0.4	2
104	特徴的な残基：G又はD、好ましくはG		0.1	1
105	Q、 <u>R</u>	Q、E、K、P、R	0.6	4
106	G	G	0.1	1
107	T	T、A、I	0.3	2
108	特徴的な残基：Q、L <sup>(7)</sup> 又はR、好ましくはQ又はL <sup>(7)</sup>		0.4	3
109	V	V	0.1	1
110	T	T、I、A	0.2	1
111	V	V、A、I	0.3	2
112	S	S、F	0.3	1
113	S	S、A、L、P、T	0.4	3

## 【0389】

このように、好ましいが非限定的な別の態様において、本発明のナノボディは、(一般)構造:

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

(ここで、FR1 ~ FR4はそれぞれフレームワーク領域1 ~ フレームワーク領域4を指し、CDR1 ~ CDR3はそれぞれ相補性決定領域1 ~ 相補性決定領域3を指す)を有するアミノ酸配列として規定することができ、ここで

i) カバットナンバリングによる11位、37位、44位、45位、47位、83位、84位、103位、104位及び108位のアミノ酸残基の1つ又は複数、表A-3で言及される特徴的な残基から選択され、

ii) CDR1、CDR2及びCDR3が、本明細書中で規定されるようなものであり、本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであるものが好ましく、本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであるのがより好ましい。

10

## 【0390】

上記ナノボディは例えば、V<sub>H H</sub>配列であっても、又はヒト化ナノボディであってもよい。上記ナノボディ配列がV<sub>H H</sub>配列である場合、これらは、本明細書中にさらに記載のように、好適にヒト化されていてもよい。ナノボディが部分ヒト化ナノボディである場合、これらは任意で、さらに本明細書中に記載のようにさらに好適にヒト化してもよい。

20

## 【0391】

特に、本発明のナノボディは、(一般)構造:

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

(ここで、FR1 ~ FR4はそれぞれフレームワーク領域1 ~ フレームワーク領域4を指し、CDR1 ~ CDR3はそれぞれ相補性決定領域1 ~ 相補性決定領域3を指す)を有するアミノ酸配列である可能性があり、ここで

i) カバットナンバリングによる11位、37位、44位、45位、47位、83位、84位、103位、104位及び108位の(好ましくは)アミノ酸残基の1つ又は複数、表A-3で言及される特徴的な残基から選択され(V<sub>H H</sub>配列が特徴的な残基を1つ又は複数含有すること、並びに部分ヒト化ナノボディが通常及び好ましくは[依然として]特徴的な残基を1つ又は複数含有すること[しかしながら、本発明に応じて好適であれば、1つ又は複数の他のアミノ酸残基ではなく、全ての特徴的な残基がヒト化した部分ヒト化ナノボディを提供することも本発明の範囲内である]、並びに本発明に応じて好適であれば、完全ヒト化ナノボディにおいて特徴的な残基の位置の全てのアミノ酸残基がヒトV<sub>H 3</sub>配列で発生するアミノ酸残基であることが理解される。本明細書中の開示に基づき当業者にとって明らかなように、このようなV<sub>H H</sub>配列、少なくとも1つの特徴的な残基を有するこのような部分ヒト化ナノボディ、特徴的な残基を有しないこのような部分ヒト化ナノボディ及びこのような完全ヒト化ナノボディは全て、本発明の態様を形成する)、

30

ii) 上記アミノ酸配列が、配列番号1 ~ 配列番号22のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有し(アミノ酸同一性の程度を求めるために、CDR配列を形成するアミノ酸残基(配列番号1 ~ 配列番号22の配列においてXで示す)は無視する)、

40

iii) CDR1、CDR2及びCDR3が、本明細書中で規定されるようなものであり、本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであるものが好ましく、本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであるのがより好ましい。

## 【0392】

上記ナノボディは例えば、V<sub>H H</sub>配列であっても、又はヒト化ナノボディであってもよい。上記ナノボディ配列がV<sub>H H</sub>配列である場合、これらは、本明細書中にさらに記載のように、好適にヒト化されていてもよい。ナノボディが部分ヒト化ナノボディである場合、これらは任意で、さらに本明細書中に記載のようにさらに好適にヒト化してもよい。

50

【 0 3 9 3 】

表 A - 9 : K E R E、 G L E W 及び P、 R、 S 1 0 3 群のナノボディの代表的なアミノ酸配列

C D R は X X X X で示す

【表 1 1】

KERE 配列番号 1	配列番号:1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIPFSXXXXXWFRQAPGKQRDSVAXXXXXXRFRTI SRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYRCYFXXXXXWGGGTQVTVSS
KERE 配列番号 2	配列番号:2	QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCVGSGRFTSXXXXXWFLAPGKEREFVAXXXXXXRFRTI SRDTASNRGYLHMNLLTPEDTAVYYCAAXXXXXXWGGGTQVTVSS
KERE 配列番号 3	配列番号:3	AVQLVDSGGGLVQAGDSLKLSCLTGGAFXXXXXWFRQTPGREREFVAXXXXXXRFRTI SRDNAKIMVYLRMNSLIPEDAAVYSCAAXXXXXXWGGGLTVTVSS
KERE 配列番号 4	配列番号:4	QVQLVESGGGLVEAGGSLRLSCTASESPFRXXXXXWFRQTSGQEREFVAXXXXXXRFRTI SRDDAKNTWLVHGSTLKPEDTAVYYCAAXXXXXXWGGGTQVTVSS
KERE 配列番号 5	配列番号:5	AVQLVESGGGLVQGGGSLRLACAASERIFDXXXXXWYRQPGPNERELVAXXXXXXRFRTI SMDYTKQTVYLHMNSLRPEDTGLYYCKIXXXXXWGGGTQVTVSS
KERE 配列番号 6	配列番号:6	DVKFVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGFNFDXXXXXWFRQAPGKEREEVAXXXXXXRFRT ISSEKDKNSVYLQMNLSLKPEDTALYICAGXXXXXWGRGTQVTVSS
KERE 配列番号 7	配列番号:7	QVRLAESGGGLVQSGGSLRLSCVASGSTYXXXXXWYRQYPGKQRALVAXXXXXXRFRT IARDSTKDTFCLQMNLLKPEDTAVYYCYAXXXXXXWGGGTQVTVSS
KERE 配列番号 8	配列番号:8	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTSDXXXXXWFRQAPGKPREGVXXXXXRFRT ISTDNAKNTVHLLMNRVNAEDTALYYCAVXXXXXWGRGTRVTVSS
KERE 配列番号 9	配列番号:9	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCQASGDISTXXXXXWYRQVPGKLEREFVAXXXXXXRFRTI SGDNAKRAIYLQMNLLKPDPTAVYYCNRXXXXXWGGGTQVTVSP
KERE 配列番号 10	配列番号:10	QVPVESGGGLVQAGDSLRLFCVPSFTSXXXXXWFRQAPGKEREFVAXXXXXXRFRTI SRNATKNTLTLRMDSLKPEDTAVYYCAAXXXXXXWGGGTQVTVSS
KERE 配列番号 11	配列番号:11	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLFTVSGGTASXXXXXWFRQAPGKREFVAXXXXXXRFRTI ARENAGNMVYLQMNLLKPDPTALYTCAXXXXXXWGRGTQVTVSS

10

20

30

40

KERE 配列番号 12	配列番号:12	AVQLVESGGDSVQPGDSQTLSCAASGRNTNSXXXXXWFRQAPGKERVFLAXXXXXRFT ISRDSAKNMMYLMNNLKPQDTAVYYCAAXXXXXXWGGGTQTVSS
KERE 配列番号 13	配列番号:13	AVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVWSGLTSSXXXXXWFRQTPWQERDFVAXXXXXRFT ISRDNYKDTVLEMNFLKPEDTAIYYCAAXXXXXXWGGGTQTVSS
KERE 配列番号 14	配列番号:14	AVQLVESGGGLVQAGASLRLSCATSTRILDXXXXXWFRQAPGRDREFVAXXXXXRFT VSRDSAENTVALQMNSLKPEDTAVYYCAAXXXXXXWGGGTRTVSS
KERE 配列番号 15	配列番号:15	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTVSRLLTAHXXXXXWFRQAPGKEREAIVXXXXRFTI SRDYAGNTAFLQMDSLKPEDTGVYYCATXXXXXWGGGTQTVSS
KERE 配列番号 16	配列番号:16	EVQLVESGGELVQAGGSLKLSCTASGRNFVXXXXXWFRRAPGKEREFVAXXXXXRFT VSRDNGKNTAYLRMNSLKPEDTADYYCAVXXXXXWGGGTQTVSS
GLEW 配列番号 1	配列番号:17	AVQLVESGGGLVQPGGSLRLSQAASGFTFSXXXXXWVRQAPGKVLWVSWXXXXRFT ISRDNAKNTLYQMNSLKPEDTAVYYCVKXXXXXWGGGTQTVSS
GLEW 配列番号 2	配列番号:18	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVCSVSSGCTXXXXXWVRQAPGKAEWVSWXXXXRF KISRDNAKNTLYQMNSLGPEDTAMYYCQRXXXXXWGGGTQTVSS
GLEW 配列番号 3	配列番号:19	EVQLVESGGGLALPGGSLTLCVFSGSTFSXXXXXWVRHTPGKAEWVSWXXXXRFTI SRDNAKNTLYLEMNSLSPEDTAMYYCGRXXXXXWRSKGIQTVSS
P,R,S 103 配列番号 1	配列番号:20	AVQLVESGGGLVQAGGSLRLSQAASGRTFSXXXXXWFRQAPGKEREFVAXXXXXRFTI SRDNAKNTLYQMNSLKPEDTAVYYCAAXXXXXXWGGGTQTVSS
P,R,S 103 配列番号 2	配列番号:21	DVQLVESGGDLVQPGGSLRLSQAASGFSFDXXXXXWLRQTPGKLEWVGXXXXRFT ISRDNAKNTLYHLNLLKSEDTAVYYCRRXXXXXWGGGTQTVSS
P,R,S 103 配列番号 3	配列番号:22	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVCSVSSGCTXXXXXWVRQAPGKAEWVSWXXXXRF KISRDNAKNTLYQMNSLGPEDTAMYYCQRXXXXXWGGGTQTVSS

特に、KERE群の本発明のナノボディは、(一般)構造：

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

を有するアミノ酸配列である可能性があり、ここで

i) カバットナンパリングによる45位のアミノ酸残基は、荷電アミノ酸(本明細書中に規定)又はシステイン残基であり、44位のアミノ酸残基は好ましくはEであり、

ii) FR1は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

【0395】

表A-10: KERE群のナノボディの代表的なFW1配列

【表12】

KERE FW1 配列番号1	配列番号:23	QVQRVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITSS
KERE FW1 配列番号2	配列番号:24	QVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCLSCASGRITFS
KERE FW1 配列番号3	配列番号:25	QVKLEESGGGLVQAGDSLRLSCLCAATGRAFG
KERE FW1 配列番号4	配列番号:26	AVQLVESGGGLVQPGESLGLSCVASGRDFV
KERE FW1 配列番号5	配列番号:27	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCEVLGRTAG
KERE FW1 配列番号6	配列番号:28	QVQLVESGGGWVQPGGSLRLSCLCAASETILS
KERE FW1 配列番号7	配列番号:29	QVQLVESGGGTVPQGGSLNLSCLVASGNITFN
KERE FW1 配列番号8	配列番号:30	EVQLVESGGGLAQPGGSLQLSCLAPGFTLD
KERE FW1 配列番号9	配列番号:31	AQELEESGGGLVQAGGSLRLSCLCAASGRITFN

10

20

【0396】

iii) FR2は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

【0397】

表A-11: KERE群のナノボディの代表的なFW2配列

【表13】

KERE FW2 配列番号1	配列番号:41	WFRQAPGKEREFVA
KERE FW2 配列番号2	配列番号:42	WFRQTPGREREFVA
KERE FW2 配列番号3	配列番号:43	WYRQAPGKQREMVA
KERE FW2 配列番号4	配列番号:44	WYRQGPQKQRELVA
KERE FW2 配列番号5	配列番号:45	WIRQAPGKEREGVS
KERE FW2 配列番号6	配列番号:46	WFREAPGKEREGIS
KERE FW2 配列番号7	配列番号:47	WYRQAPGKERDLVA
KERE FW2 配列番号8	配列番号:48	WFRQAPGKQREEVS
KERE FW2 配列番号9	配列番号:49	WFRQPPGKVREFVG

30

40

【0398】

iv) FR3は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

【0399】

表A-12: KERE群のナノボディの代表的なFW3配列

【表 1 4】

KERE FW3 配列番号 1	配列番号:50	RFTISRDNKNTVYQLQMNSLKPEDTAVYRCYF
KERE FW3 配列番号 2	配列番号:51	RFAISRDNKNTGYLQMNSLEPEDTAVYYCAA
KERE FW3 配列番号 3	配列番号:52	RFTVARNNAKNTVNLEMNSLKPEDTAVYYCAA
KERE FW3 配列番号 4	配列番号:53	RFTISRDIKNTVDLLMNNLEPEDTAVYYCAA
KERE FW3 配列番号 5	配列番号:54	RLTISRDNVDTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAA
KERE FW3 配列番号 6	配列番号:55	RFTISRDNKNTVYQLQMDNVKPEDTAIYYCAA
KERE FW3 配列番号 7	配列番号:56	RFTISKDSGKNTVYQLQMTSLKPEDTAVYYCAT
KERE FW3 配列番号 8	配列番号:57	RFTISRDSAKNMMYLQMNLLKPQDTAVYYCAA
KERE FW3 配列番号 9	配列番号:58	RFTISRENDKSTVYQLNLSLKPEDTAVYYCAA
KERE FW3 配列番号 10	配列番号:59	RFTISRDIYAGNTAYLQMNSLKPEDTGVYYCAT

10

## 【0 4 0 0】

v) FR4 は、以下のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

## 【0 4 0 1】

表 A - 1 3 : KERE 群のナノボディの代表的な FW4 配列

20

【表 1 5】

KERE FW4 配列番号 1	配列番号:60	WGQGTQVTVSS
KERE FW4 配列番号 2	配列番号:61	WGKGLTVTVSS
KERE FW4 配列番号 3	配列番号:62	RGQGTRVTVSS
KERE FW4 配列番号 4	配列番号:63	WGLGTQVTISS

## 【0 4 0 2】

vi) CDR1、CDR2 及び CDR3 が、本明細書中で規定されるようなものであり、本明細書中の好ましい態様の 1 つに従って規定されるようなものであるものが好ましく、本明細書中のより好ましい態様の 1 つに従って規定されるようなものであるのがより好ましい。

30

## 【0 4 0 3】

上記ナノボディにおいて、1 つ又は複数のさらなる特徴的な残基は、(例えばこれらが V<sub>HH</sub> 配列又は部分ヒト化ナノボディである場合) 本明細書中に記載のようなものであるのが好ましい。

## 【0 4 0 4】

また、上記ナノボディは例えば、V<sub>HH</sub> 配列であっても、又はヒト化ナノボディであってもよい。上記ナノボディ配列が V<sub>HH</sub> 配列である場合、これらは、本明細書中にさらに記載のように、好適にヒト化されていてもよい。ナノボディが部分ヒト化ナノボディである場合、これらは任意で、さらに本明細書中に記載のようにさらに好適にヒト化してもよい。

40

## 【0 4 0 5】

フレームワーク 1 に関して、上記で概説のアミノ酸配列がヌクレオチド配列の発現によって生成する場合、上記核酸を生成するのに使用されているプライマー(複数可)によって、始めの 4 つのアミノ酸配列(即ちカバットナンバリングによる 1 位~4 位のアミノ酸残基)を求め得ることが多いことは、当業者にとって明らかである。このように、アミノ酸同一性の程度を求めるために、始めの 4 つのアミノ酸残基を無視するのが好ましい。

## 【0 4 0 6】

また、フレームワーク 1 に関して、カバットナンバリングによる 27 位~30 位のアミ

50

ノ酸位置は(CDRではなく)フレームワーク領域の一部であると考えられるが、1000個を超えるV<sub>H H</sub>配列のデータベースの解析によって、27位~30位のアミノ酸が、1位~26位のアミノ酸に対する変動性よりも非常に大きい変動性(V<sub>H H</sub>エントロピー及びV<sub>H H</sub>変動性に関して表される、表A-5~表A-8を参照されたい)を有することが見出されている。このため、アミノ酸同一性の程度を求めるために、27位~30位のアミノ酸残基も無視するのが好ましい。

【0407】

これを考慮して、KERE群のナノボディは、3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列であり得る；

i) カバットナンバリングによる45位のアミノ酸残基は、荷電アミノ酸(本明細書中に規定)又はシステイン残基であり、44位のアミノ酸残基は好ましくはEであり、

ii) FR1は、カバットナンバリングによる5位~26位で、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

【0408】

表A-14: KERE群のナノボディの代表的なFW1配列(5位~26位のアミノ酸残基)

【表16】

KERE FW1 配列番号10	配列番号:32	VESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
KERE FW1 配列番号11	配列番号:33	VDSGGGLVQAGDSLKLSCALTG
KERE FW1 配列番号12	配列番号:34	VDSGGGLVQAGDSLRLSCAASG
KERE FW1 配列番号13	配列番号:35	VDSGGGLVEAGGSLRLSCQVSE
KERE FW1 配列番号14	配列番号:36	QDSGGGSVQAGGSLKLSCAASG
KERE FW1 配列番号15	配列番号:37	VQSGGRLVQAGDSLRLSCAASE
KERE FW1 配列番号16	配列番号:38	VESGGTLVQSGDSLKLSCASST
KERE FW1 配列番号17	配列番号:39	MESGGDSVQSGGSLTLSCVASG
KERE FW1 配列番号18	配列番号:40	QASGGGLVQAGGSLRLSCSASV

【0409】

iii) FR2、FR3及びFR4は、KERE群のナノボディのFR2、FR3及びFR4に関して本明細書中に言及されるようなものであり、

iv) CDR1、CDR2及びCDR3が、本明細書中で規定されるようなものであり、本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであるものが好ましく、本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであるのがより好ましい。

【0410】

上記ナノボディは例えば、V<sub>H H</sub>配列であっても、又はヒト化ナノボディであってもよい。上記ナノボディ配列がV<sub>H H</sub>配列である場合、これらは、本明細書中にさらに記載のように、好適にヒト化されていてもよい。ナノボディが部分ヒト化ナノボディである場合、これらは任意で、さらに本明細書中に記載のようにさらに好適にヒト化してもよい。

【0411】

GLEW群のナノボディは、3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列であり得る；

i) 好ましくは、GLEW群のナノボディが非ヒト化ナノボディである場合、108位のアミノ酸残基はQであり、

ii) FR1は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

【0412】

表A-15: GLEW群のナノボディの代表的なFW1配列

10

20

30

40

【表 17】

GLEW FW1 配列番号 1	配列番号:64	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS
GLEW FW1 配列番号 2	配列番号:65	EVHLVESGGGLVLRPGGSLRLSCAAFGFIFK
GLEW FW1 配列番号 3	配列番号:66	QVKLEESGGGLAQPGGSLRLSCVASGFTFS
GLEW FW1 配列番号 4	配列番号:67	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVCSGCT
GLEW FW1 配列番号 5	配列番号:68	EVQLVESGGGLALPGGSLTLCVFSGSTFS

## 【0413】

10

i i i) FR2 は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

## 【0414】

表 A - 16 : GLEW 群のナノボディの代表的な FW2 配列

【表 18】

GLEW FW2 配列番号 1	配列番号:72	WVRQAPGKVEWVS
GLEW FW2 配列番号 2	配列番号:73	WVRRPPGKGLEWVS
GLEW FW2 配列番号 3	配列番号:74	WVRQAPGMGLEWVS
GLEW FW2 配列番号 4	配列番号:75	WVRQAPGKEPEWVS
GLEW FW2 配列番号 5	配列番号:76	WVRQAPGKDQEWVS
GLEW FW2 配列番号 6	配列番号:77	WVRQAPGKAEEWVS
GLEW FW2 配列番号 7	配列番号:78	WVRQAPGKGLEWVA
GLEW FW2 配列番号 8	配列番号:79	WVRQAPGRATEWVS

20

## 【0415】

i v) FR3 は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

## 【0416】

表 A - 17 : GLEW 群のナノボディの代表的な FW3 配列

【表 19】

GLEW FW3 配列番号 1	配列番号:80	RFTISRDNANTLYLQMNLSKPEDTAVYYCVK
GLEW FW3 配列番号 2	配列番号:81	RFTISRDNARNTLYLQMDSLIPEDTALYYCAR
GLEW FW3 配列番号 3	配列番号:82	RFTSSRDNASTLYLQMNDLKPEDTALYYCAR
GLEW FW3 配列番号 4	配列番号:83	RFIISRDNANTLYLQMNLSKPEDTAMYYCQR
GLEW FW3 配列番号 5	配列番号:84	RFTASRDNANTLYLQMNLSKSEDTARYYYCAR
GLEW FW3 配列番号 6	配列番号:85	RFTISRDNANTLYLQMDLQSEDTAMYYCGR

30

## 【0417】

v) FR4 は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

## 【0418】

表 A - 18 : GLEW 群のナノボディの代表的な FW4 配列

40

【表 2 0】

GLEW FW4 配列番号 1	配列番号:86	GSQGTQVTSS
GLEW FW4 配列番号 2	配列番号:87	LRGGTQVTSS
GLEW FW4 配列番号 3	配列番号:88	RGQGTQVTSS
GLEW FW4 配列番号 4	配列番号:89	RSRGIQVTSS
GLEW FW4 配列番号 5	配列番号:90	WGKGTQVTSS
GLEW FW4 配列番号 6	配列番号:91	WGQGTQVTSS

## 【 0 4 1 9】

v i) C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 が、本明細書中で規定されるようなものであり、本明細書中の好ましい態様の 1 つに従って規定されるようなものであるものが好ましく、本明細書中のより好ましい態様の 1 つに従って規定されるようなものであるのがより好ましい。

10

## 【 0 4 2 0】

上記ナノボディにおいて、1 つ又は複数のさらなる特徴的な残基は、(例えばこれらが V<sub>H H</sub> 配列又は部分ヒト化ナノボディである場合)本明細書中に記載のようなものであるのが好ましい。

## 【 0 4 2 1】

さらにフレームワーク 1 に関して、アミノ酸同一性の程度を求めるために、1 位～4 位及び 27 位～30 位のアミノ酸残基を無視するのが好ましいことは当業者にとって明らかである。

20

## 【 0 4 2 2】

これを考慮して、GLEW 群のナノボディは、3 つの相補性決定領域 / 配列が間に挿入された 4 つのフレームワーク領域 / 配列から構成されるアミノ酸配列であり得る；

i) 好ましくは、GLEW 群のナノボディが非ヒト化ナノボディである場合、108 位のアミノ酸残基は Q であり、

i i) F R 1 は、カバットナンバリングによる 5 位～26 位で、以下のアミノ酸配列の少なくとも 1 つとの少なくとも 80% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

## 【 0 4 2 3】

表 A - 19 : K E R E 群のナノボディの代表的な F W 1 配列 (5 位～26 位のアミノ酸残基)

30

## 【表 2 1】

GLEW FW1 配列番号 6	配列番号:69	VESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
GLEW FW1 配列番号 7	配列番号:70	EESGGGLAQPGGSLRLSCVASG
GLEW FW1 配列番号 8	配列番号:71	VESGGGLALPGGSLTLSCVFSG

## 【 0 4 2 4】

i i i) F R 2、F R 3 及び F R 4 は、GLEW 群のナノボディの F R 2、F R 3 及び F R 4 に関して本明細書中に言及されるようなものであり、

40

i v) C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 が、本明細書中で規定されるようなものであり、本明細書中の好ましい態様の 1 つに従って規定されるようなものであるものが好ましく、本明細書中のより好ましい態様の 1 つに従って規定されるようなものであるのがより好ましい。

## 【 0 4 2 5】

上記ナノボディは例えば、V<sub>H H</sub> 配列であっても、又はヒト化ナノボディであってもよい。上記ナノボディ配列が V<sub>H H</sub> 配列である場合、これらは、本明細書中にさらに記載のように、好適にヒト化されていてもよい。ナノボディが部分ヒト化ナノボディである場合、これらは任意で、さらに本明細書中に記載のようにさらに好適にヒト化してもよい。上記ナノボディにおいて、1 つ又は複数のさらなる特徴的な残基は、(例えばこれらが V<sub>H</sub>

50

h 配列又は部分ヒト化ナノボディである場合)本明細書中に記載のようなものであるのが好ましい。

【 0 4 2 6 】

P、R、S 103群のナノボディは、3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列であり得る；

i) カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基はWではなく、

ii) 好ましくは、カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基は、P、R又はSであり、より好ましくはRであり、

iii) FR1は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

10

【 0 4 2 7 】

表 A - 2 0 : P、R、S 103群のナノボディの代表的なFW1配列

【 表 2 2 】

P,R,S 103 FW1 配列番号 1	配列番号:92	AVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFS
P,R,S 103 FW1 配列番号 2	配列番号:93	QVQLQESGGGMVQPGGSLRLSCAASGDFG
P,R,S 103 FW1 配列番号 3	配列番号:94	EVHLVESGGGLVLRPGGSLRLSCAAFGFIFK
P,R,S 103 FW1 配列番号 4	配列番号:95	QVQLAESGGGLVQPGGSLKLSCAASRTIVS
P,R,S 103 FW1 配列番号 5	配列番号:96	QEHLVESGGGLVDIGGSLRLSCAASERIFS
P,R,S 103 FW1 配列番号 6	配列番号:97	QVKLEESGGGLAQPGGSLRLSCVASGFTFS
P,R,S 103 FW1 配列番号 7	配列番号:98	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVCSVSSGCT
P,R,S 103 FW1 配列番号 8	配列番号:99	EVQLVESGGGLALPGGSLTLSCVFSGSTFS

20

【 0 4 2 8 】

iv) FR2は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

【 0 4 2 9 】

表 A - 2 1 : P、R、S 103群のナノボディの代表的なFW2配列

【 表 2 3 】

P,R,S 103 FW2 配列番号 1	配列番号:102	WFRQAPGKEREFVA
P,R,S 103 FW2 配列番号 2	配列番号:103	WVRQAPGKVLWVS
P,R,S 103 FW2 配列番号 3	配列番号:104	WVRRPPGKGLEWVS
P,R,S 103 FW2 配列番号 4	配列番号:105	WIRQAPGKEREGVS
P,R,S 103 FW2 配列番号 5	配列番号:106	WVRQYPGKEPEWVS
P,R,S 103 FW2 配列番号 6	配列番号:107	WFRQPPGKEHEFVA
P,R,S 103 FW2 配列番号 7	配列番号:108	WYRQAPGKRTELVA
P,R,S 103 FW2 配列番号 8	配列番号:109	WLRQAPGQGLEWVS
P,R,S 103 FW2 配列番号 9	配列番号:110	WLRQTPGKGLEWVG
P,R,S 103 FW2 配列番号 10	配列番号:111	WVRQAPGKAEEFVS

40

【 0 4 3 0 】

v) FR3は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

【 0 4 3 1 】

50

表 A - 2 2 : P、R、S 103 群のナノボディの代表的な FW 3 配列  
【表 2 4】

P,R,S 103 FW3 配列番号 1	配列番号:112	RFTISRDNAKNTVYQLQMNSLKPEDTAVYYCAA
P,R,S 103 FW3 配列番号 2	配列番号:113	RFTISRDNARNTLYLQMDSLIPEDTALYYCAR
P,R,S 103 FW3 配列番号 3	配列番号:114	RFTISRDNAKNEMYLQMNNLKTEDTGVYWCGA
P,R,S 103 FW3 配列番号 4	配列番号:115	RFTISSDSNRNMIYLQMNNLKPEDTAVYYCAA
P,R,S 103 FW3 配列番号 5	配列番号:116	RFTISRDNAKNMLYLHLNNLKSEDTAVYYCRR
P,R,S 103 FW3 配列番号 6	配列番号:117	RFTISRDNAAKTVYLRNLNLPEDTAVYSCNL
P,R,S 103 FW3 配列番号 7	配列番号:118	RFKISRDNAAKTVYLRNLNLPEDTAVYSCNR
P,R,S 103 FW3 配列番号 8	配列番号:119	RFTVSRDNGKNTAYLRMNSLKPEDTADYYCAV

10

## 【0432】

v i ) F R 4 は、以下のアミノ酸配列の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、

## 【0433】

表 A - 2 3 : P、R、S 103 群のナノボディの代表的な FW 4 配列  
【表 2 5】

P,R,S 103 FW4 配列番号 1	配列番号:120	RGQGTQVTVSS
P,R,S 103 FW4 配列番号 2	配列番号:121	LRGGTQVTVSS
P,R,S 103 FW4 配列番号 3	配列番号:122	GNKGTQVTVSS
P,R,S 103 FW4 配列番号 4	配列番号:123	SSPGTQVTVSS
P,R,S 103 FW4 配列番号 5	配列番号:124	SSQGTQVTVSS
P,R,S 103 FW4 配列番号 6	配列番号:125	RSRGIQVTVSS

20

## 【0434】

v i i ) C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 が、本明細書中で規定されるようなものであり、本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであるものが好ましく、本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであるのがより好ましい。

30

## 【0435】

上記ナノボディにおいて、1つ又は複数のさらなる特徴的な残基は、(例えばこれらが V<sub>H</sub>H 配列又は部分ヒト化ナノボディである場合)本明細書中に記載のようなものであるのが好ましい。

## 【0436】

フレームワーク1に関して、アミノ酸同一性の程度を求めるために、1位~4位及び27位~30位のアミノ酸残基を無視するのが好ましいことはここでもまた当業者にとって明らかである。

40

## 【0437】

これを考慮して、P、R、S 103 群のナノボディは、3つの相補性決定領域/配列が間に挿入された4つのフレームワーク領域/配列から構成されるアミノ酸配列であり得る；

i ) カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基はWではなく、

i i ) 好ましくは、カバットナンバリングによる103位のアミノ酸残基は、P、R又はSであり、より好ましくはRであり、

i i i ) F R 1 は、カバットナンバリングによる5位~26位で、以下のアミノ酸配列

50

の少なくとも1つとの少なくとも80%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列であり、  
【0438】

表A-24: P、R、S 103群のナノボディの代表的なFW1配列(5位~26位のアミノ酸残基)

【表26】

P,R,S 103 FW1 配列番号9	配列番号:100	VESGGGLVQAGGSLRLSCAASG
P,R,S 103 FW1 配列番号10	配列番号:101	AESGGGLVQPGGSLKLSCAASR

【0439】

i v) FR2、FR3及びFR4は、P、R、S 103群のナノボディのFR2、FR3及びFR4に関して本明細書中に言及されるようなものであり、

v) CDR1、CDR2及びCDR3が、本明細書中で規定されるようなものであり、本明細書中の好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであるものが好ましく、本明細書中のより好ましい態様の1つに従って規定されるようなものであるのがより好ましい。

【0440】

上記ナノボディは例えば、V<sub>H H</sub>配列であっても、又はヒト化ナノボディであってもよい。上記ナノボディ配列がV<sub>H H</sub>配列である場合、これらは、本明細書中にさらに記載のように、好適にヒト化されていてもよい。ナノボディが部分ヒト化ナノボディである場合、これらは任意で、さらに本明細書中に記載のようにさらに好適にヒト化してもよい。

【0441】

上記ナノボディにおいて、1つ又は複数のさらなる特徴的な残基は、(例えばこれらがV<sub>H H</sub>配列又は部分ヒト化ナノボディである場合)本明細書中に記載のようなものであるのが好ましい。

【0442】

別の好ましいが非限定的な態様において本発明は、上記のようなナノボディであって、CDR配列が、配列番号238~配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のアミノ酸配列のうち少なくとも1つのCDR配列との少なくとも70%のアミノ酸同一性、好ましくは少なくとも80%のアミノ酸同一性、より好ましくは少なくとも90%のアミノ酸同一性(95%以上のアミノ酸同一性等)、又はさらに本質的に100%のアミノ酸同一性を有する、ナノボディに関する。このアミノ酸同一性の程度は例えば、上記ナノボディと、配列番号238~配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239の配列の1つ又は複数との間のアミノ酸同一性の程度を(本明細書に記載の方法で)求めることによって決定することができる(フレームワーク領域を形成するアミノ酸残基は無視する)。このようなナノボディは、本明細書にさらに記載されるようなものであり得る。

【0443】

本明細書で既に言及されているように、別の好ましいが非限定的な本発明の態様は、配列番号238~配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239から成る群から、又は配列番号238~配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のアミノ酸配列の少なくとも1つとの、80%超、好ましくは90%超、より好ましくは95%超、例えば99%以上の配列同一性(本明細書で規定)を有するアミノ酸配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を有するナノボディに関する。

【0444】

また上記のナノボディにおいて、

i) 任意のアミノ酸置換(本明細書で規定のようにヒト化置換でない場合)は、(本明細書で規定されるように)対応する配列番号238~配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のアミノ酸配列のアミノ酸配列と比較して、保存的なアミノ酸置換であるのが好ましく;及び/又は

10

20

30

40

50

i i ) そのアミノ酸配列は、対応する配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238 及び配列番号 239 のアミノ酸配列と比較して、アミノ酸置換だけ、又はそうでなければ好ましくはわずか 5 つ、好ましくはわずか 3 つ、より好ましくは 1 つ若しくは 2 つだけのアミノ酸欠失若しくは挿入を含有するのが好ましく；及び / 又は

i i i ) CDR は、親和性成熟によって、例えば対応する配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238 及び配列番号 239 のアミノ酸配列の CDR から誘導される CDR であり得る。

#### 【0445】

好ましくは、本発明のナノボディにおける CDR 配列及び FR 配列は、本発明のナノボディ（及びこれを含む本発明のポリペプチド）が、

$10^{-5}$  モル / L ~  $10^{-12}$  モル / L 以下、好ましくは  $10^{-7}$  モル / L ~  $10^{-12}$  モル / L 以下、より好ましくは  $10^{-8}$  モル / L ~  $10^{-12}$  モル / L の解離定数 ( $K_D$ ) で（即ち、 $10^5$  L / モル ~  $10^{12}$  L / モル以上、好ましくは  $10^7$  L / モル ~  $10^{12}$  L / モル以上、より好ましくは  $10^8$  L / モル ~  $10^{12}$  L / モルの結合定数 ( $K_A$ ) で）GPCR に結合するようなものであり、及び / 又は

$10^2$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> ~ 約  $10^7$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>、好ましくは  $10^3$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> ~  $10^7$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>、より好ましくは  $10^4$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> ~  $10^7$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> ( $10^5$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> ~  $10^7$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> 等) の  $k_{on}$  速度で GPCR に結合するようなものであり、及び / 又は

$1$  s<sup>-1</sup> ( $t_{1/2} = 0.69$  s) ~  $10^{-6}$  s<sup>-1</sup> ( $t_{1/2}$  が数日のほぼ非可逆的な複合体の場合)、好ましくは  $10^{-2}$  s<sup>-1</sup> ~  $10^{-6}$  s<sup>-1</sup>、より好ましくは  $10^{-3}$  s<sup>-1</sup> ~  $10^{-6}$  s<sup>-1</sup> ( $10^{-4}$  s<sup>-1</sup> ~  $10^{-6}$  s<sup>-1</sup> 等) の  $k_{off}$  速度で GPCR に結合するようなものである。

#### 【0446】

好ましくは、本発明のナノボディに存在する CDR 配列及び FR 配列は、本発明のナノボディが、500 nM 未満、好ましくは 200 nM 未満、より好ましくは 10 nM 未満 (500 pM 未満等) の親和性で GPCR と結合するようなものである。

#### 【0447】

本発明の非限定的な一態様によれば、ナノボディは本明細書で規定されるようなものであり得るが、天然のヒト V<sub>H</sub> ドメインの対応するフレームワーク領域と比較して、特に DP-47 の対応するフレームワーク領域と比較して、フレームワーク領域の少なくとも 1 つに少なくとも「1つのアミノ酸差異」（本明細書で規定される）を有することが条件である。より具体的には、本発明の非限定的な一態様によれば、ナノボディは本明細書で規定されるようなものであり得るが、天然のヒト V<sub>H</sub> ドメインの対応するフレームワーク領域と比較して、特に DP-47 の対応するフレームワーク領域と比較して、特徴的な残基（例えば 108 位、103 位及び / 又は 45 位のもの）の少なくとも 1 つに少なくとも「1つのアミノ酸差異」（本明細書で規定）を有することが条件である。通常、ナノボディは、FR2 及び / 又は FR4 の少なくとも 1 つにおいて、特に FR2 及び / 又は FR4 の特徴的な残基の少なくとも 1 つ（同様に、例えば 108 位、103 位及び / 又は 45 位のもの）において、天然の V<sub>H</sub> ドメインとの少なくとも 1 つのこのようなアミノ酸差異を有する。

#### 【0448】

また、本発明のヒト化ナノボディは本明細書で規定されるようなものであり得るが、天然の V<sub>H H</sub> ドメインの対応するフレームワーク領域と比較して、フレームワーク領域の少なくとも 1 つに少なくとも「1つのアミノ酸差異」（本明細書で規定）を有することが条件である。より具体的には、本発明の非限定的な一態様によれば、ヒト化ナノボディは本明細書で規定されるようなものであり得るが、天然の V<sub>H H</sub> ドメインの対応するフレームワーク領域と比較して、特徴的な残基（例えば 108 位、103 位及び / 又は 45 位のもの）の少なくとも 1 つに少なくとも「1つのアミノ酸差異」（本明細書で規定）を有することが条件である。通常、ヒト化ナノボディは、FR2 及び / 又は FR4 の少なくとも 1

10

20

30

40

50

つにおいて、特にFR2及び/又はFR4の特徴的な残基の少なくとも1つ(同様に、例えば108位、103位及び/又は45位のもの)において、天然のV<sub>H H</sub>ドメインとの少なくとも1つのこのようなアミノ酸差異を有する。

**【0449】**

本明細書における開示より明らかなように、本明細書で規定されるような本発明のナノボディの天然又は合成の類似体、突然変異体、変異体、対立遺伝子、ホモログ及びオソログ(本明細書中でまとめて「類似体」と称される)、特に配列番号238~配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のナノボディの類似体の使用も本発明の範囲内である。したがって、本発明の一態様によれば、「本発明のナノボディ」という用語は最も広範な意味ではこのような類似体も包含する。

10

**【0450】**

概して、このような類似体では、本明細書で規定されるような本発明のナノボディと比較して、1つ又は複数のアミノ酸残基が置換、欠失及び/又は付加されていてもよい。このような置換、挿入又は欠失はフレームワーク領域の1つ又は複数、及び/又はCDRの1つ又は複数において起こってもよい。このような置換、挿入又は欠失がフレームワーク領域の1つ又は複数において起こる場合、特徴的な残基の1つ又は複数、及び/又はフレームワーク残基中の他の位置の1つ又は複数において起こってもよいが、特徴的な残基での置換、挿入又は欠失は(これらが本明細書中で説明されるような適切なヒト置換でない限り)一般にあまり好適ではない。

20

**【0451】**

非限定的な例によると、置換は例えば保存的置換(本明細書中で説明される)であってもよく、及び/又はアミノ酸残基は、別のV<sub>H H</sub>ドメインの同じ位置に自然発生する別のアミノ酸残基で置き換えられていてもよいが(このような置換の幾つかの非限定的な例については表A-5~表A-8を参照されたい)、本発明は概してこれに限定されない。したがって、本発明のナノボディの特性を改善するか、又は少なくとも本発明のナノボディの所望の特性又は所望の特性のバランス若しくは組合せを過度に(即ち、ナノボディがもはやその使用目的に適さなくなる程度まで)損なわない任意の1つ又は複数の置換、欠失若しくは挿入、又はその任意の組合せが本発明の範囲内に含まれる。当業者は一般に、本明細書における開示に基づいて、また任意に、例えば限られた数の可能な置換を導入すること、及びそのようにして得られるナノボディの特性に対するその影響を求めることを含み得る限られた日常実験の後、適切な置換、欠失若しくは挿入、又はその適切な組合せを決定及び選択することが可能である。

30

**【0452】**

例えば当業者の能力の範囲内で、本発明のナノボディ又はポリペプチドを発現するために使用される宿主生物に応じて、このような欠失及び/又は置換を、翻訳後修飾される1つ又は複数の部位(例えば1つ又は複数のグリコシル化部位)を除去するように設計してもよい。代替的には、置換又は挿入を官能基(本明細書中で説明される)が結合する1つ又は複数の部位を導入して、例えば部位特異的ペグ化(同様に本明細書中で説明される)を可能にするように設計してもよい。

40

**【0453】**

上記の表A-5~表A-8に示すV<sub>H H</sub>エントロピー及びV<sub>H H</sub>変動性に関するデータから明らかなように、フレームワーク領域内の幾つかのアミノ酸残基は他よりも保存されている。一般に、任意の置換、欠失又は挿入は好ましくは保存されにくい位置で起こるが、本発明は最も広範な意味ではこれに限定されない。また、一般に、アミノ酸置換はアミノ酸欠失又はアミノ酸挿入よりも好適である。

**【0454】**

類似体は好ましくは、本発明のナノボディに関して本明細書で規定されるようなものである親和性(本明細書中でさらに説明されるように、(実際又は見掛けの)K<sub>D</sub>値、(実際又は見掛けの)K<sub>A</sub>値、k<sub>on</sub>速度及び/又はk<sub>off</sub>速度として、又は代替的にはI<sub>C<sub>50</sub></sub>値として適切に測定されるか、及び/又は表される)でGPCRと結合することが

50

できるようなものである。

【0455】

類似体は好ましくは、本明細書中で説明されるようなナノボディの有利な特性を保持するものでもある。

【0456】

また、好適な一態様によれば、類似体は、配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のナノボディの1つとの少なくとも70%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%（少なくとも95%等）又は99%以上の程度の配列同一性を有し、及び/又は好ましくは多くとも20個、好ましくは多くとも10個、さらにより好ましくは多くとも5個、例えば4個、3個、2個又はただ1個のアミノ酸差異（本明細書で規定される）を有する。

10

【0457】

また、類似体のフレームワーク配列及びCDRは好ましくは、本明細書で規定される好適な態様に従うものである。より一般には、本明細書中で説明されるように、類似体は（a）108位にQ、及び/又は（b）45位に荷電アミノ酸又はシステイン残基、好ましくは44位にE、より好ましくは44位にE及び45位にR、及び/又は（c）103位にP、R又はSを有する。

【0458】

本発明のナノボディの1つの好適な群の類似体は、ヒト化された（即ち、本発明の天然のナノボディの配列と比較して）ナノボディを含む。本明細書中で引用される背景技術で述べられたように、このようなヒト化は一般に、ヒトV<sub>H</sub>ドメイン、例えばヒトV<sub>H</sub>3ドメインでの同じ位置に起こるアミノ酸残基での、天然のV<sub>H</sub>Hの配列における1つ又は複数のアミノ酸残基の置き換えを含む。可能なヒト化置換又はヒト化置換の組合せの例は、例えば本明細書中の表から、本明細書中で引用される背景技術で述べられた可能なヒト化置換から、及び/又はナノボディの配列と天然のヒトV<sub>H</sub>ドメインの配列との比較から当業者に明らかである。

20

【0459】

ヒト化置換は、得られるヒト化ナノボディが、本明細書で規定されるようなナノボディの有利な特性を依然として保持するように、より好ましくは類似体に関して前述の段落に説明されるようなものであるように選択されるべきである。当業者は一般に、本明細書における開示に基づいて、また任意に、例えば限られた数の可能なヒト化置換を導入すること、及びそのようにして得られるナノボディの特性に対するその影響を求めることを含み得る限られた日常実験の後、適切なヒト化置換又は適切なヒト化置換の組合せを決定及び選択することが可能である。

30

【0460】

概して、ヒト化の結果として、本発明のナノボディは、本明細書中で説明されるような本発明のナノボディの有利な特性を依然として保持しながら、より「ヒト様」となり得る。結果として、このようなヒト化ナノボディは幾つかの利点、例えば対応する天然のV<sub>H</sub>Hドメインと比較して低減された免疫原性を有し得る。同様に、当業者は、本明細書における開示に基づいて、また任意に限られた日常実験の後、一方ではヒト化置換によりもたらされる有利な特性と、他方では天然のV<sub>H</sub>Hドメインの有利な特性との間の所望の又は適切なバランスを最適化又は達成するヒト化置換又は適切なヒト化置換の組合せを選択することが可能である。

40

【0461】

本発明のナノボディは任意のフレームワーク残基（複数可）で、例えば1つ又は複数の特徴的な残基（本明細書で規定される）で又は1つ又は複数の他のフレームワーク残基（即ち、非特徴的な残基）で又はこれらの任意の適切な組合せで適切にヒト化され得る。「P、R、S-103群」又は「KERE群」のナノボディに関する1つの好適なヒト化置換は、Q108からL108への置換である。「GLEW群」のナノボディもまた、他の特徴的な残基の少なくとも1つがラクダ化（camelid（camelizing））置換（本明細書で

50

規定される)を含有するという条件で、Q 1 0 8 から L 1 0 8 への置換によりヒト化され得る。例えば、上述したように、1つの特に好適な群のヒト化ナノボディは、GLEW又はGLEW様配列を44位~47位に、P、R又はS(特にR)を103位に、Lを108位に有する。

#### 【0462】

ヒト化及び他の類似体、並びにこれをコードする核酸配列は、それ自体が既知の任意の方法で準備することができる。例えば、類似体は、天然のV<sub>H</sub>Hドメインをコードする核酸を準備すること、(例えば部位特異的突然変異誘発、又は適切なミスマッチプライマーを使用するPCRによって)置換を受ける1つ又は複数のアミノ酸残基に対するコドン、対応する所望のアミノ酸残基に対するコドンに変えること、このようにして得られる核酸/ヌクレオチド配列を適切な宿主又は発現系において発現させること、及び任意に、このようにして得られる類似体を(例えば本明細書中でさらに説明されるように)単離及び/又は精製して、本質的に単離された形の上記類似体を提供する、単離及び/又は精製することにより得ることができる。これは概して、例えば本明細書中で引用されるハンドブック及び参考文献、本明細書中で引用される背景技術及び/又は本明細書中のさらなる記載から当業者に明らかな、それ自体が既知の方法及び技法を用いて実行することができる。代替的には、所望の類似体をコードする核酸は、それ自体が既知の方法で(例えば所定のアミノ酸配列を有する核酸配列を合成する自動装置を用いて)合成することができ、次に本明細書中で説明されるように発現させることができる。さらに別の技法は、各々が所望の類似体の一部をコードする1つ又は複数の天然及び/又は合成の核酸配列を組み合わせたこと、及び次に組み合わせた核酸配列を本明細書中で説明されるように発現させることを含み得る。また、類似体は、例えば本明細書中で述べたような、それ自体が既知のペプチド合成技法を用いた関連アミノ酸配列の化学合成を利用して準備することができる。

#### 【0463】

これに関して、本発明のナノボディの配列を提供するために及び/又はこのようにして得られる配列にナノボディの有利な特性を付与するために、即ち1つ又は複数のラクダ化置換を導入する(即ち、上記ヒトV<sub>H</sub>ドメインのアミノ酸配列中の1つ又は複数のアミノ酸残基を、V<sub>H</sub>Hドメインの対応する位置で生じるアミノ酸残基に変化させる)ことにより、本発明のナノボディ(例えばその類似体)を、例えばヒトV<sub>H</sub>3配列、例えばDP-47、DP-51又はDP-29等のヒトV<sub>H</sub>配列(即ち、アミノ酸配列又は対応するヌクレオチド配列)から設計及び/又は準備することが可能であることも、当業者には明らかである。同様に、これは一般に、開始点としてヒトV<sub>H</sub>ドメインに対するアミノ酸配列及び/又はヌクレオチド配列を使用し、前の段落で言及される多様な方法及び技法を用いて実行することができる。

#### 【0464】

幾つかの好ましいが非限定的なラクダ化置換は、表A-5~表A-8から導くことができる。特徴的な残基の1つ又は複数でのラクダ化置換は一般に、所望の特性に他のアミノ酸位置の1つ又は複数での置換よりも大きな影響を与えるが、その両方及び任意の適切な組合せが本発明の範囲内に含まれることも明らかである。例えば、既に少なくとも幾つかの所望の特性を付与している1つ又は複数のラクダ化置換を導入すること、及び次に上記特性をさらに改善するか、及び/又はさらなる有利な特性を付与するさらなるラクダ化置換を導入することが可能である。また、当業者は一般に、本明細書における開示に基づいて、また任意に、例えば限られた数の可能なラクダ化置換を導入すること、及びナノボディの有利な特性が得られたか又は(即ち、元のV<sub>H</sub>ドメインと比較して)改善されたか否かを求めることを含み得る限られた日常実験の後、適切なラクダ化置換又は適切なラクダ化置換の組合せを決定及び選択することが可能である。しかしながら、一般にこのようなラクダ化置換は好ましくは、得られるアミノ酸配列が少なくとも(a)108位にQ、及び/又は(b)45位に荷電アミノ酸又はシステイン残基及びまた好ましくは44位にE、より好ましくは44位にE及び45位にR、及び/又は(c)103位にP、R又はS、並びに任意に1つ又は複数のさらなるラクダ化置換を含有するようなものである。より

10

20

30

40

50

好ましくは、ラクダ化置換は、本発明のナノボディ及び/又はその類似体（本明細書で規定される）、例えばヒト化類似体及び/又は好ましくは前述の段落に規定されるようなものである類似体をもたらすようなものである。

【0465】

本明細書における開示から同様に明らかのように、本明細書で規定されるような本発明のナノボディの部分若しくは断片、又は2つ以上の部分若しくは断片の組合せ、特に配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のナノボディの部分又は断片の使用もまた本発明の範囲内である。したがって、本発明の一態様によれば、「本発明のナノボディ」という用語は最も広範な意味ではこのような部分又は断片も包含する。

10

【0466】

概して、本発明のナノボディ（例えばその類似体）のこのような部分又は断片は、対応する本発明の全長ナノボディ（又はその類似体）のアミノ酸配列と比較して、N末端の1つ又は複数のアミノ酸残基、C末端の1つ又は複数のアミノ酸残基、1つ又は複数の連続内部アミノ酸残基、又はその任意の組合せが欠失しているか、及び/又は除去されたアミノ酸配列を有する。

【0467】

部分又は断片は好ましくは、本発明のナノボディに対して、本明細書で規定されるようなものである親和性（本明細書中でさらに記載されるように、（実際又は見掛けの） $K_D$  値、（実際又は見掛けの） $K_A$  値、 $k_{on}$  速度及び/又は $k_{off}$  速度として、又は代替的には $IC_{50}$  値として適切に測定されるか、及び/又は表される）でGPCRと結合することができるようなものである。

20

【0468】

任意の部分又は断片は好ましくは、対応する本発明の全長ナノボディのアミノ酸配列の少なくとも10個の連続アミノ酸残基、好ましくは少なくとも20個の連続アミノ酸残基、より好ましくは少なくとも30個の連続アミノ酸残基、例えば少なくとも40個の連続アミノ酸残基を含むようなものである。

【0469】

また、任意の部分又は断片は好ましくは、CDR1、CDR2及び/又はCDR3の少なくとも1つ又は少なくともその一部（特に少なくともCDR3又は少なくともその一部）を含むようなものである。より好ましくは、任意の部分又は断片は、好ましくは適切なフレームワーク配列（複数可）又は少なくともその一部により連結した、CDRの少なくとも1つ（好ましくは少なくともCDR3又はその一部）及び少なくとも1つの他のCDR（即ち、CDR1又はCDR2）又は少なくともその一部を含むようなものである。より好ましくは、任意の部分又は断片は、好ましくは同様に適切なフレームワーク配列（複数可）又は少なくともその一部により連結した、CDRの少なくとも1つ（好ましくは少なくともCDR3又はその一部）及び残り2つのCDRの少なくとも一部を含むようなものである。

30

【0470】

別の特に好ましいが非限定的な態様によれば、このような部分又は断片は、対応する本発明の全長ナノボディの少なくともCDR3、例えばFR3、CDR3及びFR4を含む（即ち、例えば国際出願の国際公開第03/050531号（Lasters et al.）に説明される）。

40

【0471】

上記で既に述べたように、2つ以上のこのような部分又は断片（即ち、同一の又は異なる本発明のナノボディに由来する）を組み合わせる、即ち、本発明のナノボディの類似体（本明細書で規定される）を提供する及び/又はさらなる部分又は断片（本明細書で規定される）を提供することも可能である。例えば、本発明のナノボディの1つ又は複数の部分又は断片を、ヒトV<sub>H</sub>ドメインの1つ又は複数の部分又は断片と組み合わせることもまた可能である。

50

## 【0472】

好適な一態様によれば、部分又は断片は、配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238及び配列番号239のナノボディの1つとの少なくとも50%、好ましくは少なくとも60%、より好ましくは少なくとも70%、さらにより好ましくは少なくとも80%（少なくとも90%等）、95%又は99%以上の程度の配列同一性を有する。

## 【0473】

部分及び断片、並びにこれをコードする核酸配列は、任意のそれ自体が既知の方法で準備して任意に組み合わせることができる。例えば、このような部分又は断片は、完全長の本発明のナノボディをコードする核酸中に終止コドン挿入すること、及び次にこのようにして得られる核酸をそれ自体が既知の方法（例えば本明細書中で説明される）で発現させることで得ることができる。代替的には、このような部分又は断片をコードする核酸は、完全長の本発明のナノボディをコードする核酸を適切に制限すること、又はこのような核酸をそれ自体が既知の方法で合成することにより得ることができる。部分又は断片はまた、それ自体が既知のペプチド合成技法を用いて準備してもよい。

10

## 【0474】

本発明は最も広範な意味では本発明のナノボディの誘導体も含む。このような誘導体は概して、本発明のナノボディ及び/又は本発明のナノボディを形成するアミノ酸残基の1つ又は複数の修飾、特に化学的及び/又は生物学的（例えば酵素的）修飾により得ることができる。

20

## 【0475】

このような修飾の例、並びにこのような形（即ち、タンパク質骨格、又は好ましくは側鎖のいずれか）で修飾することができるナノボディ配列内のアミノ酸残基の例、このような修飾の導入のために使用することができる方法及び技法、並びにこのような修飾の潜在的使用及び利点は当業者に明らかである。

## 【0476】

例えば、このような修飾は、1つ又は複数の官能基、残基又は部分、特に1つ又は複数の所望の特性又は官能性を本発明のナノボディに付与する1つ又は複数の官能基、残基又は部分を本発明のナノボディ中に又はナノボディ上に（例えば共有結合によるか、又は他の適切な形で）導入することを含み得る。このような官能基の例は当業者に明らかである。

30

## 【0477】

例えば、このような修飾は、本発明のナノボディの半減期、溶解性及び/又は吸収性を増大する、本発明のナノボディの免疫原性及び/又は毒性を低減する、本発明のナノボディの任意の望ましくない副作用を排除若しくは減衰する、及び/又は本発明のナノボディ及び/又はポリペプチドに他の有益な特性を付与するか、及び/又は本発明のナノボディ及び/又はポリペプチドの不要な特性を低減する、又は上記の2つ以上の任意の組合せである1つ又は複数の官能基を（例えば共有結合によるか、又は任意の他の適切な形で）導入することを含み得る。このような官能基及びこれらを導入する技法の例は当業者に明らかであり、一般に、上記で引用される包括的な背景技術で述べた全ての官能基及び技法、並びに医薬用タンパク質の修飾、特に抗体又は抗体断片（例えばScFv及び単一ドメイン抗体）の修飾に関するそれ自体が既知の官能基及び技法を含み得る。これに関しては例えばRemington's Pharmaceutical Sciences, 16th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1980)を参照する。同様に当業者に明らかなように、このような官能基は、例えば本発明のナノボディに直接（例えば共有結合的に）、又は任意に適切なリンカー若しくはスペーサーを介して結合し得る。

40

## 【0478】

半減期を増大するか、及び/又は医薬用タンパク質の免疫原性を低減するために最も広く使用される技法の1つは、適切な薬理的に許容可能なポリマー、例えばポリ（エチレングリコール）（PEG）又はその誘導体（例えばメトキシポリ（エチレングリコール）

50

即ちm P E G)の結合を含む。概して、任意の適切な形のペグ化、例えば当該技術分野で抗体及び抗体断片(例えば、限定されるものではないが、(単一)ドメイン抗体及びS c F v)に対して使用されるペグ化を使用することができる。例えばChapman, Nat. Biotechnol., 54, 531-545 (2002)、Veronese and Harris, Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 453-456 (2003)、Harris and Chess, Nat. Rev. Drug. Discov., 2, (2003)及び国際公開第04/060965号を参照する。タンパク質のペグ化に関する多様な試薬も、例えばNektar Therapeutics, USAより市販されている。

#### 【0479】

好ましくは、特にシステイン残基を介した部位特異的ペグ化を使用する(例えばYang et al., Protein Engineering, 16, 10, 761-770 (2003)を参照されたい)。例えば、そのために、本発明のナノボディにおいて自然発生するシステイン残基にP E Gを結合してもよく、本発明のナノボディを、P E Gに結合する1つ又は複数のシステイン残基を適切に導入するように修飾してもよく、又はP E Gに結合する1つ又は複数のシステイン残基を含むアミノ酸配列を、本発明のナノボディのN末端及び/又はC末端と融合してもよい(全て、それ自体が当業者に既知であるタンパク質工学の技法を使用する)。

#### 【0480】

好ましくは、P E Gは、本発明のナノボディ及びタンパク質に対して5000を超える(例えば10000を超える)かつ20000未満(例えば100000未満)の分子量、例えば20000~80000の範囲の分子量で使用する。

#### 【0481】

さらに、通常あまり好ましくない修飾は、一般的に翻訳時及び/又は翻訳後の修飾の一部として、本発明のナノボディ又はポリペプチドを発現するのに用いられる宿主細胞に応じてN結合型又はO結合型のグリコシル化を含む。

#### 【0482】

さらに別の修飾は、標識したナノボディの用途に応じて、1つ又は複数の検出可能な標識、又は他のシグナル生成基若しくはシグナル生成部分の導入を含んでもよい。これらを結合、使用及び検出するのに好適な標識及び技法は当業者にとって明らかであり、例としては、蛍光標識(例えば、フルオレセイン、イソチオシアネート、ローダミン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルデヒド、及びフルオレサミン、並びに<sup>152</sup>Eu等の蛍光金属、又はランタニド系列からの他の金属)、リン光標識、化学発光標識又は生物発光標識(例えば、ルミナル、イソルミナル、セロマティックアクリジニウムエステル(theromatic acridinium ester)、イミダゾール、アクリジニウム塩、シュウ酸エステル、ジオキセタン又はGFP、及びその類似体)、放射性同位体(例えば、<sup>3</sup>H、<sup>125</sup>I、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>14</sup>C、<sup>51</sup>Cr、<sup>36</sup>Cl、<sup>57</sup>Co、<sup>58</sup>Co、<sup>59</sup>Fe、及び<sup>75</sup>Se)、金属、金属キレート又は金属カチオン(例えば、<sup>99m</sup>Tc、<sup>123</sup>I、<sup>111</sup>In、<sup>131</sup>I、<sup>97</sup>Ru、<sup>67</sup>Cu、<sup>67</sup>Ga、及び<sup>68</sup>Ga等の金属カチオン、又はin vivo、in vitro又はin situ診断及びイメージングにおける使用に特に適した他の金属若しくは金属カチオン、例えば(<sup>157</sup>Gd、<sup>55</sup>Mn、<sup>162</sup>Dy、<sup>52</sup>Cr、及び<sup>56</sup>Fe)並びに、発色団及び酵素(例えば、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、スタフィロコッカスヌクレアーゼ、V-ステロイドイソメラーゼ、酵母アルコールデヒドロゲナーゼ、-グリセロリン酸デヒドロゲナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、ピオチンアビジンペルオキシダーゼ、セイヨウワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、-ガラクトシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコース-VI-リン酸デヒドロゲナーゼ、グルコアミラーゼ、及びアセチルコリンエステラーゼ)が挙げられるが、これらに限定されない。他の好適な標識は当業者にとって明らかであり、例としては、NMR分光法又はESR分光法を用いて検出することができる部分が挙げられる。

#### 【0483】

本発明のこのような標識したナノボディ及びポリペプチドは、例えば、特異的標識の選

択に応じて、(ELISA、RIA、EIA及び他の「サンドイッチアッセイ」等のそれ自体が既知のイムノアッセイを含む) *in vitro*、*in vivo*又は*in situ*アッセイに、並びに*in vivo*診断及びイメージングの目的で使用され得る。

【0484】

当業者にとって明らかであるように、別の修飾は、例えば、上記の金属又は金属カチオンの1つをキレート化するキレート基(chelating group)の導入を含んでもよい。例えば好適なキレート基としては、ジエレントリアミン五酢酸(DTPA)又はエチレンジアミン四酢酸(EDTA)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0485】

さらに別の修飾は、ビオチン-(ストレプト)アビジン結合対等の特異的結合対の一部である官能基の導入を含んでもよい。このような官能基は、本発明のナノボディを別のタンパク質、ポリペプチド、又は結合対の残り半分と結合する化合物に連結させるのに(即ち、結合対の形成を介して)使用され得る。例えば、本発明のナノボディは、ビオチンと結合し、アビジン又はストレプトアビジンと結合した別のタンパク質、ポリペプチド、化合物又は担体に連結し得る。例えば、このような結合ナノボディは、例えば、検出可能なシグナル生成剤がアビジン又はストレプトアビジンに結合する診断系のレポーターとして使用され得る。このような結合対は、例えば、本発明のナノボディを、医薬目的に好適な担体を含む担体に結合させるのにも使用することができる。非限定的な一例は、Cao and Suresh, Journal of Drug Targetting, 8, 4, 257 (2000)によって記載のリボソーム製剤である。このような結合対はまた、本発明のナノボディと治療に有効な作用物質とを連結させるのに使用することができる。

10

20

【0486】

用途によっては、特に、(例えば、癌の治療において)本発明のナノボディが指向性を有する標的を発現する細胞を死滅させること、又はこのような細胞の成長及び/又は増殖を低減するか若しくは遅延させることを意図する用途では、本発明のナノボディは、毒素又は毒素残基若しくは毒素部分にも連結し得る。本発明のナノボディに連結して、例えば細胞毒性化合物をもたらし得る毒素部分、化合物又は残基の例は当業者にとって明らかであり、例えば、上記の従来技術に及び/又は本明細書中のさらなる説明に見ることができる。一例はいわゆるADEPT(商標)技術である(国際公開第03/055527号に記載)。

30

【0487】

他の可能な化学修飾及び酵素修飾は当業者にとって明らかであろう。このような修飾を、(例えば、機能-活性関係を研究するために)調査目的で導入してもよい。例えば、Lundblad and Bradshaw, Biotechnol. Appl. Biochem., 26, 143-151 (1997)を参照する。

【0488】

好ましくは、この誘導体は、本発明のナノボディに関して本明細書中に規定される((実際又は見掛けの) $K_D$ 値、(実際又は見掛けの) $K_A$ 値、 $k_{on}$ 速度及び/又は $k_{off}$ 速度として、又は代替的に本明細書中にさらに記載の $IC_{50}$ 値として好適に測定及び/又は表される)親和性で、GPCRと結合するような誘導体である。

40

【0489】

上述のように、本発明はまた、少なくとも1つの本発明のナノボディから本質的に成るか又はこれを含む、タンパク質又はポリペプチドに関する。「から本質的に成る」とは、本発明のポリペプチドのアミノ酸配列が、本発明のナノボディのアミノ酸配列と厳密に同じであるか、又は、1個~20個のアミノ酸残基、例えば、1個~10個のアミノ酸残基、及び好ましくは1個~6個のアミノ酸残基(例えば、1個、2個、3個、4個、5個又は6個のアミノ酸残基)等の限定数のアミノ酸残基をナノボディのアミノ酸配列のアミノ末端、カルボキシ末端、又はアミノ末端及びカルボキシ末端の両方に付加させた本発明のナノボディのアミノ酸配列に対応するかどちらかであることを意味する。

【0490】

50

上記のアミノ酸残基は、ナノボディの（生物学的）特性を変更するか、改質するか、又はさもなければこれに影響を与える場合もあり又は与えない場合もあり、ナノボディにさらなる官能性を付加する場合もあり又は付加しない場合もある。例えば、このようなアミノ酸残基は、

例えば、異種宿主細胞又は異種宿主生物において発現した結果得られるN末端Met残基を含み得る。

合成の際に宿主細胞からのナノボディの分泌を導く、シグナル配列又はリーダー配列を形成してもよい。好適な分泌リーダーペプチドは当業者にとって明らかであり、本明細書中にさらに記載される通りであり得る。通常、本発明は最も広範な意味では、限定されるものではないが、このようなリーダー配列は、ナノボディのN末端に連結されるであろう。

10

ナノボディを、特定の器官、組織、細胞、又は細胞の一部若しくはコンパートメントに指向性を有し、及び/又はこれらに侵入させるか若しくは入り込ませ、及び/又はナノボディを、細胞膜、上皮細胞の層等の細胞層、固形腫瘍を含む腫瘍、又は血液脳関門のような生物学的障壁に侵入させるか若しくはこれらに対して横断させる、配列又はシグナルを形成し得る。このようなアミノ酸配列の例は当業者にとって明らかであろう。幾つかの非限定的な例は、国際公開第03/026700号、並びにTemsamani et al., *Expert Opin. Biol. Ther.*, 1, 773 (2001)、Temsamani and Vidal, *Drug Discov. Today*, 9, 1012 (004)及びRousselle, J. *Pharmacol. Exp. Ther.*, 296, 124-131 (2001)に記載されている小ペプチドベクター（「Peptide-トランスベクター」）、並びにZhao et al., *Apoptosis*, 8, 631-637 (2003)によって記載されている膜輸送体配列である。抗体断片の細胞内標的化のためのC末端アミノ酸配列及びN末端アミノ酸配列は、例えば、Cardinale et al., *Methods*, 34, 171 (2004)によって記載されている。細胞内標的化の他の好適な技法は、以下に記述されるような、本発明のナノボディを含むいわゆる「細胞内抗体（intrabodies）」の発現及び/又は使用を伴う。

20

「標識」、例えば、上記の配列又は残基を対象とする親和性技法等を用いてナノボディの精製を可能にするか又は容易にする、アミノ酸配列又は残基を形成し得る。その後、（例えば、化学的又は酵素学的な切断によって）上記の配列又は残基を除去して、ナノボディ配列をもたらし得る（この目的のために、標識は任意で、切断可能なリンカー配列を介してナノボディ配列に連結されてもよく、又は切断可能なモチーフを含有していてもよい）。このような残基の好ましいが非限定的な幾つかの例は、複数のヒスチジン残基、グルタチオン残基、及びmyc標識（例えば国際公開第06/12282号の配列番号31を参照）である。

30

官能基の結合のために官能化し及び/又は部位として機能することができる1つ又は複数のアミノ酸残基であり得る。好適なアミノ酸残基及び官能基は当業者にとって明らかであり、本発明のナノボディの誘導体について本明細書中に記述されたアミノ酸残基及び官能基が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0491】

別の態様によれば、本発明のポリペプチドは、そのアミノ末端で、そのカルボキシ末端で、又はそのアミノ末端及びカルボキシ末端の両方で、少なくとも1つのさらなるアミノ酸配列と融合する、即ち上記本発明のナノボディと1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列とを含む融合タンパク質がもたらされるように本発明のナノボディを含む。このような融合は本明細書中で「ナノボディ融合」とも呼ばれる。

40

#### 【0492】

1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列は、任意の好適及び/又は所望のアミノ酸配列であり得る。さらなるアミノ酸配列は、ナノボディの（生物学的）特性を変更するか、改質するか、又はさもなければこれに影響を与える場合もあり又は与えない場合もあり、本発明のナノボディ又はポリペプチドにさらなる官能性を付加する場合もあり又は付加しない場合もある。好ましくは、さらなるアミノ酸配列は、本発明のナノボディ又はポリペプチドに、1つ又は複数の所望の特性又は官能性を付与するようなものである。

50

## 【0493】

例えば、さらなるアミノ酸配列はまた、任意の所望のタンパク質、ポリペプチド、抗原、抗原決定基又はエピトープ（本発明のナノボディが指向性を有する同様のタンパク質、ポリペプチド、抗原、抗原決定基若しくはエピトープ、又は異なるタンパク質、ポリペプチド、抗原、抗原決定基若しくはエピトープが挙げられるが、これらに限定されない）のいずれかに指向性を有し得る第2の結合部位をもたらし得る。

## 【0494】

このようなアミノ酸配列の例は当業者にとって明らかであり、概して、従来の抗体及びその断片に基づきペプチド融合に用いられる全てのアミノ酸配列を含み得る（ScFv及び単ドメイン抗体が挙げられるが、これらに限定されない）。例えば、Holliger and Hudson, Nature Biotechnology, 23, 9, 1126-1136 (2005)による総説を参照する。

10

## 【0495】

例えば、このようなアミノ酸配列は、本発明のナノボディ自体に比べて、半減期、溶解性若しくは吸着を増大させる、免疫原性若しくは毒性を低減させる、望ましくない副作用を排除若しくは減衰させる、及び/又は他の有益な特性を本発明のポリペプチドに付与するか、及び/又は本発明のポリペプチドの望ましくない特性を減らすアミノ酸配列であり得る。このようなアミノ酸配列の幾つかの非限定的な例は、血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミン（例えば国際公開第00/27435号を参照）又はハプテン分子（例えば、抗体を循環させることにより認識されるハプテン（例えば国際公開第98/22141号を参照））である。

20

## 【0496】

特に、血清アルブミン又はその断片に対する免疫グロブリンの連結断片（例えば、V<sub>H</sub>ドメイン）を使用して半減期を増大させることができることは、当該技術分野において記載されている。国際公開第00/27435号及び国際公開第01/077137号を参照する）。本発明によれば、本発明のナノボディは好ましくは、血清アルブミン（又はその好適な断片）に直接連結するか、又は好適なリンカーを介して、特に好適なペプチドを介して連結することにより、本発明のポリペプチドを遺伝子融合（タンパク質）として発現することができる。具体的な一態様によれば、本発明のナノボディは、少なくとも血清アルブミンのドメインIII又はその一部を含む、血清アルブミンの断片に連結し得る。例えば、2006年3月31日に出願された、“Albuminderived amino acid sequence, use thereof for increasing the half-life of therapeutic proteins and of other the rapentive proteins and entities, and constructs comprising the same”と題された、Ablynx N.V.の米国仮特許出願第60/788,256号を参照されたい。

30

## 【0497】

代替的に、さらなるアミノ酸配列は、血清中の半減期を増大させるように、血清タンパク質（例えば、IgG等のヒト血清アルブミン又は別の血清タンパク質等）に指向性を有する、第2の結合部位又は結合単位を付与し得る。このようなアミノ酸配列は例えば、下記のナノボディ、並びに、国際公開第91/01743号、国際公開第01/45746号及び国際公開第02/076489号に記載の小ペプチド及び結合タンパク質、及び国際公開第03/002609号及び国際公開第04/003019号に記載のdAbを含む。Harmsen et al., Vaccine, 23 (41); 4926-42, 2005、並びに欧州特許第0368684号、並びに、本明細書中に記載のAblynx N.V.による以下の米国仮特許出願第60/843,349号、同第60/850,774号、同第60/850,775号、“Peptides capable of binding to serum proteins”と題されたAblynx N.V.による米国仮特許出願（2006年12月5日出願）（本明細書中にも記載される）も参照する。

40

## 【0498】

このようなアミノ酸配列は特に、血清アルブミン（及びより詳細にはヒト血清アルブミン）及び/又はIgG（及びより詳細にはヒトIgG）に指向性を有し得る。例えば、このようなアミノ酸配列は、（ヒト）血清アルブミンに指向性を有するアミノ酸配列、及びFcRnへの血清アルブミンの結合に関与しない（ヒト）血清アルブミン上のアミノ酸残

50

基に結合し得るアミノ酸配列（例えば、国際公開第06/0122787号を参照）、及び/又は血清アルブミンのドメインIIIの一部を形成しない血清アルブミン上のアミノ酸残基に結合し得るアミノ酸配列（例えば、同様に国際公開第06/0122787パンフレットを参照）；増大した半減期を有するか又は半減期を増大させ得るアミノ酸配列（例えば、“Serum albuminbinding proteins with long half-lives”と題されたAblynx N.V.の米国仮特許出願第60/843,349号（2006年9月8日出願）を参照されたい）；哺乳動物の少なくとも1種に由来の血清アルブミンと、特に霊長類の少なくとも1種（例えば、限定されるものではないが、マカク属のサル（例えば、特に、カニクイザル（マカク・ファシクラリス）及び/又はアカゲザル（マカク・ムラット））及びヒヒ（パピオ・ウルジヌス））と交差反応性であるヒト血清アルブミンに対するアミノ酸配列（同様に米国仮特許出願第60/843,349号も参照）；pH非依存的に血清アルブミンに結合し得るアミノ酸配列（例えば、“Amino acid sequences that bind to serum proteins in a manner that is essentially independent of the pH, compounds comprising the same, and uses thereof”と題されたAblynx N.V.による米国仮特許出願第60/850,774号（2006年10月11日出願）を参照）、及び/又は条件付き結合剤（conditional binder）であるアミノ酸配列（例えば、“Amino acid sequences that bind to a desired molecule in a conditional manner”と題されたAblynx N.V.による米国仮特許出願第60/850,775号（2006年10月11日出願）を参照）であり得る。

10

## 【0499】

別の態様によれば、1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列は、従来の四本鎖抗体（及び、特にヒト抗体）及び/又は重鎖抗体の1つ又は複数の部分、断片、又はドメインを含み得る。例えば、通常はあまり好ましくないが、本発明のナノボディは、従来の（好ましくはヒト） $V_H$ ドメイン若しくは $V_L$ ドメインに、又は $V_H$ ドメイン若しくは $V_L$ ドメインの天然型類似体若しくは合成類似体に、同様に任意でリンカー配列（Ward et al.によって記載されているdAb抗体等の他の（単一）ドメイン抗体が挙げられるが、これらに限定されない）を介して連結され得る。

20

## 【0500】

また、少なくとも1つのナノボディは、任意でリンカー配列を介して、1つ又は複数の（好ましくはヒト） $C_H1$ 、 $C_H2$ 及び/又は $C_H3$ ドメインと連結してもよい。例えば、好適な $C_H1$ ドメインと連結するナノボディは、例えば従来のFab断片又は $(Fab')_2$ 断片に類似するが、従来の $V_H$ ドメインの1つ、又は $(Fab')_2$ 断片の場合）1つ若しくは両方を本発明のナノボディで置換した抗体断片/構造体を生成するように（好適な軽鎖と共に）使用することができる。また、2つのナノボディは、（任意でリンカーを介して） $C_H3$ ドメインと連結してin vivoで半減期が増大した構築物をもたらすことができる。

30

## 【0501】

本発明のポリペプチドの具体的な一態様によれば、1つ又は複数の本発明のナノボディは、1つ又は複数のエフェクタ機能を本発明のポリペプチドに付与し及び/又は1つ又は複数のFc受容体に結合する能力を付与し得る1つ又は複数の抗体部、断片又はドメインと連結し得る。例えば、この目的で、及びこれらに限定されるものではないが、1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列は、重鎖抗体（本明細書中に記載）及びより好ましくは従来のヒト四本鎖抗体等に由来する抗体の1つ又は複数の $C_H2$ 及び/又は $C_H3$ ドメインを含んでいてもよく、及び/又は例えばIgG、IgE、又は別のヒトIgに由来するFc領域（の一部）を形成してもよい。例えば、国際公開第94/04678号は、ラクダ科動物 $V_{HH}$ ドメイン又はそのヒト化誘導体（即ち、ナノボディ）を含む重鎖抗体を記載しており、ここでは、ラクダ科動物 $C_H2$ 及び/又は $C_H3$ ドメインが、ヒト $C_H2$ 及び $C_H3$ ドメインで置換されている。それによりナノボディと（ $C_H1$ ドメインは含まないが）ヒト $C_H2$ 及び $C_H3$ ドメインとをそれぞれ含む2つの重鎖から成る免疫グロブリンがもたらされるが、その免疫グロブリンは、 $C_H2$ 及び $C_H3$ ドメインによって付与されるエフェクタ機能を有し、如何なる軽鎖の非存在下でも機能することができる。本発明のナ

40

50

ノボディと好適に連結してエフェクタ機能を付与し得る他のアミノ酸配列は当業者にとって明らかであり、所望のエフェクタ機能（複数可）に基づき選択され得る。例えば、国際公開第04/058820号、国際公開第99/42077号、及び国際公開第05/017148号、並びにHolliger and Hudson（同上）の概説を参照する。本発明のノボディとFc部分とのカップリングによっても、対応する本発明のノボディに比べて半減期の増大が生じ得る。用途によっては、如何なる生物学的に重要なエフェクタ機能も含まない半減期の増大を与えるFc部分及び/又は定常ドメイン（即ち、 $C_H2$ 及び/又は $C_H3$ ドメイン）の使用も好適であるか、又は一層好ましい。1つ又は複数のノボディと、*in vivo*で半減期が増大した1つ又は複数の定常ドメインとを含む他の好適な構築物は当業者にとって明らかであり、例えば、任意でリンカー配列を介して $C_H3$ ドメインに連結する2つのノボディを含み得る。一般に、半減期が増大した任意の融合タンパク質又は誘導体は好ましくは、50kDを超える分子量、即ち腎臓吸収のカットオフ値を有する。

#### 【0502】

また、さらなるアミノ酸配列は、（例えば、本発明のポリペプチドを発現するのに用いられる宿主細胞に応じて、本発明のポリペプチドのプレフォーム、プロフォーム又はプレプロフォームをもたらすように）合成の際に宿主細胞から本発明のノボディ又はポリペプチドの分泌を導くシグナル配列又はリーダー配列を形成し得る。

#### 【0503】

また、さらなるアミノ酸配列は、本発明のノボディ又はポリペプチドを、特定の器官、組織、細胞、又は細胞の一部若しくはコンパートメントに誘導し、及び/又はこれらに侵入させるか若しくは入り込ませ、及び/又は本発明のノボディ又はポリペプチドを、細胞膜、上皮細胞の層等の細胞層、固形腫瘍等の腫瘍、又は血液脳関門のような生物学的障壁に侵入させるか若しくはこれらに対して横断させる配列又はシグナルを形成し得る。このようなアミノ酸配列の好適な例は当業者にとって明らかであり、例えば、国際公開第94/02610号、国際公開第95/22618号、米国特許第7004940号、国際公開第03/014960号、国際公開第99/07414号；国際公開第05/01690号；欧州特許第1512696号；及びCattaneo, A. & Biocca, S. (1997) *Intracellular Antibodies: Development and Applications*. Landes and Springer-Verlag; and in Kontermann, *Methods* 34, (2004), 163-170、並びにこれらに記載のさらなる参照文献に記載されるような、上記の「Peptrians」のベクター、Cardinale et al. によって記載される配列、並びにいわゆる「細胞内抗体」として本発明のノボディ及びポリペプチドを発現又は産生するのに使用することができる、それ自体が既知のアミノ酸配列及び抗体断片が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0504】

用途によっては、特に（例えば癌の治療において）本発明のノボディが指向性を有する標的を発現する細胞を死滅させること、又はこのような細胞の成長及び/又は増殖を低減するか若しくは遅延させることを意図する用途では、本発明のノボディはまた、（細胞）毒性タンパク質又はポリペプチドと連結し得る。本発明のノボディと連結して、例えば、本発明の細胞毒性ポリペプチドをもたらし得るこのような毒性タンパク質及びポリペプチドの例は当業者にとって明らかであり、例えば、上記従来技術及び/又は本明細書中のさらなる記載に見出すことができる。一例は、国際公開第03/055527号に記載のいわゆるADEPT（商標）技術である。

#### 【0505】

好ましいが非限定的な一態様によれば、上記1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列は、少なくとも1つのさらなるノボディを含み、これにより、少なくとも2つ、例えば3つ、4つ、5つ以上のノボディを含む本発明のポリペプチドをもたらし、上記ノボディは任意で、1つ又は複数のリンカー配列（本明細書中に規定）を介して連結され得る。少なくとも1つが本発明のノボディである2つ以上のノボディを含む本発明のポリペプチドは、本明細書中で本発明の「多価」ポリペプチドとも呼ばれ、このようなポリペプチ

10

20

30

40

50

ド中に存在するナノボディは、本明細書中で「多価フォーマット」であるとも称される。例えば、本発明の「二価」ポリペプチドは、任意でリンカー配列を介して連結される2つのナノボディを含み、本発明の「三価」ポリペプチドは、任意で2つのリンカー配列等を介して連結される3つのナノボディ等を含む。ポリペプチド中に存在するナノボディの少なくとも1つ、及びポリペプチド中に存在するナノボディの最大で全てが、本発明のナノボディである。

**【0506】**

本発明の多価ポリペプチドでは、2つ以上のナノボディは、同じであっても異なってもよく、同じ抗原又は抗原決定基（例えば、同じ部分（複数可）若しくはエピトープ（複数可）、又は異なる部分若しくはエピトープ）に指向性を有するものであってもよく、又は代替的に異なる抗原若しくは抗原決定基又はこれらの任意の好適な組合せに指向性を有するものであってもよい。

10

**【0507】**

例えば、本発明の二価ポリペプチドは、(a) 2つの同一のナノボディ、(b) タンパク質若しくは抗原の第1の抗原決定基に指向性を有する第1のナノボディ、及び第1のナノボディと異なる上記タンパク質若しくは抗原の同一抗原決定基に指向性を有する第2のナノボディ、(c) タンパク質若しくは抗原の第1の抗原決定基に指向性を有する第1のナノボディ、及び上記タンパク質若しくは抗原の別の抗原決定基に指向性を有する第2のナノボディ（例えば、インバースアンタゴニストCXCR4ナノボディ及びアンタゴニストCXCR4ナノボディ）、又は(d) 第1のタンパク質若しくは抗原に指向性を有する第1のナノボディ、及び第2のタンパク質若しくは抗原（即ち、上記第1の抗原と異なる）に指向性を有する第2のナノボディ（例えば、インバースアンタゴニスト性を有するCXCR4ナノボディ、及びアンタゴニスト性を有するCXCR7ナノボディ、又は逆もまた同様）を含み得る。同様に、本発明の三価ポリペプチドは例えば、これらに限定されるものではないが、(a) 3つの同一のナノボディ、(b) 抗原の第1の抗原決定基に対する2つの同一のナノボディ、及び同一抗原の異なる抗原決定基に指向性を有する第3のナノボディ、(c) 抗原の第1の抗原決定基に対する2つの同一のナノボディ、及び上記第1の抗原と異なる第2の抗原に指向性を有する第3のナノボディ、(d) 第1の抗原の第1の抗原決定基に指向性を有する第1のナノボディ、上記第1の抗原の第2の抗原決定基に指向性を有する第2のナノボディ、及び上記第1の抗原と異なる第2の抗原に指向性を有する第3のナノボディ、又は(e) 第1の抗原に指向性を有する第1のナノボディ、上記第1の抗原と異なる第2の抗原に指向性を有する第2のナノボディ、及び上記第1の抗原及び上記第2の抗原と異なる第3の抗原に指向性を有する第3のナノボディを含み得る。

20

30

**【0508】**

少なくとも1つのナノボディが第1の抗原に指向性を有する（即ち、GPCRに対する）ものであり、少なくとも1つのナノボディが第2の（即ち、GPCRと異なる）抗原に指向性を有するものである、少なくとも2つのナノボディを含有する本発明のポリペプチドは、本発明の「多重特異性」ポリペプチドとも呼ばれており、このようなポリペプチド中に存在するナノボディは、本明細書中で「多重特異性フォーマット」であるとも称される。このため例えば、本発明の「二重特異性」ポリペプチドは、第1の抗原（即ちGPCR）に指向性を有する少なくとも1つのナノボディ及び第2の（即ち、GPCRと異なる）抗原に指向性を有する少なくとも1つのさらなるナノボディを含むポリペプチドであり、本発明の「三重特異性」ポリペプチドは、第1の抗原（即ち、GPCR）に指向性を有する少なくとも1つのナノボディ、第2の（即ち、GPCRと異なる）抗原に指向性を有する少なくとも1つのさらなるナノボディ、及び第3の（即ち、GPCR及び第2の抗原の両方と異なる）抗原に指向性を有する少なくとも1つのさらなるナノボディを含むポリペプチド等である。

40

**【0509】**

したがって、本発明の二重特異性ポリペプチドは、その最も単純な形態において、GP

50

C Rに指向性を有する第1のナノボディと、第2の抗原に指向性を有する第2のナノボディとを含み、上記第1のナノボディ及び上記第2のナノボディが任意でリンカー配列（本明細書中に規定）を介して連結され得る本発明の二価ポリペプチド（本明細書中に規定）であるのに対し、その最も単純な形態の本発明の三重特異性ポリペプチドは、GPCRに指向性を有する第1のナノボディと、第2の抗原に指向性を有する第2のナノボディと、第3の抗原に指向性を有する第3のナノボディとを含み、上記第1のナノボディ、第2のナノボディ及び第3のナノボディが、任意で1つ又は複数、特に1つ及び複数、特に2つのリンカー配列を介して連結され得る本発明の三価ポリペプチド（本明細書中に規定）である。

【0510】

しかしながら、上述から明らかであるように、本発明は、本発明の多重特異性ポリペプチドが、GPCRに対する少なくとも1つのナノボディと、GPCRと異なる1つ又は複数の抗原に指向性を有する任意の数のナノボディとを含み得るという意味において、これらに限定されない。

【0511】

さらに、本発明のポリペプチド中における種々のナノボディの特定の順序又は配置が、最終的に得られる本発明のポリペプチドの性質（GPCRに関する、又は1つ若しくは複数の他の抗原に対する、親和性、特異性、効力、官能性又は結合活性が挙げられるが、これらに限定されない）に何らかの影響を及ぼし得る点は、本発明の範囲内に包含されるが、通常、上記順序又は配置は重要なものでなく、任意で本明細書中の開示に基づく限定された日常実験を幾つか実施した後に、当業者であれば好適に選択することができるであろう。したがって、特定の発明の多価又は多重特異性のポリペプチドについて述べられる場合、明示的に指示がない限り、これは関連するナノボディの任意の順序又は配置を包含するものであることに留意されたい。

【0512】

さらに、本発明のポリペプチドが、2つ以上のナノボディと、1つ又は複数のさらなるアミノ酸配列（本明細書中に記述）とを含有することも、本発明の範囲内である。

【0513】

本発明は、二重特異性免疫グロブリン配列、概して二重特異性リガンドにも関し、上記二重特異性免疫グロブリン配列及び/又はリガンドは、i) 結合時にインバースアンタゴニスト作用を引き起こすことが可能なエピトープに対して特異的である、及び/又は親和性を有し、上記の二重特異性免疫グロブリン配列及び/又はリガンドは、ii) 結合時にアンタゴニスト作用を引き起こすことが可能なエピトープに対して特異的である、及び/又は親和性を有する。驚くべきことに、ニュートラルアンタゴニストとインバースアンタゴニストとを連結することによって、インバースアンタゴニスト挙動の改善がもたらされる（ベースラインレベルが、インバースアンタゴニスト単独と比較して予想外にさらに低下した）ことが見出された。

【0514】

ここで、「免疫グロブリン配列」という用語は、本明細書で重鎖抗体に言及するのに使用されるのか又は従来の四本鎖抗体に言及するのに使用されるかに関係なく、全長抗体、その個々の鎖、及びその全ての部分、ドメイン又は断片（これらに限定されないが、それぞれ $V_{HH}$ ドメイン又は $V_H/V_L$ ドメイン等の抗原結合ドメイン又は断片を含む）の両方を含む一般的な用語として使用される。「抗原結合分子」又は「抗原結合タンパク質」という用語は、免疫グロブリン配列と区別なく使用され、ナノボディを含む。本発明の一実施形態では、免疫グロブリン配列は軽鎖可変ドメイン配列（例えば $V_L$ 配列）、又は重鎖可変ドメイン配列（例えば $V_H$ 配列）であり、より具体的には、免疫グロブリン配列は従来の四本鎖抗体から誘導される重鎖可変ドメイン配列、又は重鎖抗体から誘導される重鎖可変ドメイン配列であり得る。本発明によれば、免疫グロブリン配列は、ドメイン抗体（又はドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列）、単一ドメイン抗体（又は単一ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列）、「dAb」（又はdAbとしての使

10

20

30

40

50

用に好適なアミノ酸配列)、又はナノボディ( $V_{HH}$ 配列を含むが、これに限定されない)であってもよく、好ましくはナノボディである。

#### 【0515】

GPCRに関して4種類のリガンドが存在する:アゴニストは活性状態を支持するように平衡を移行させるリガンドであり、インバースアゴニスト又はアンタゴニストは不活性状態を支持するように平衡を移行させるリガンドであり、ニュートラルアンタゴニストは平衡に影響を与えないリガンドである。本明細書中で使用される場合、「リガンド」は、受容体と会合又は結合することが可能な部分を指す。本発明の方法によれば、リガンド及び受容体は、受容体に結合するリガンドの検出に適切な分析方法(例えば、受容体に対するリガンド結合に応じたセカンドメッセンジャー産生の増加又は減少を検出するセカンドメッセンジャーアッセイ、タンパク質-リガンド結合を測定する結合アッセイ、又は抗体-抗原相互作用を測定するイムノアッセイ)による結合の検出を可能にするのに十分に強い結合定数を有する。本発明によるリガンドは、受容体と結合することが可能な任意のヌクレオチド、抗体、抗原、酵素、ペプチド、ポリペプチド、小分子又は核酸を含む。本発明の方法によれば、リガンド及び受容体は互いに(例えば、共有結合若しくは水素結合を介して、又は例えばタンパク質とリガンドとの間、抗体と抗原若しくはタンパク質サブユニットとの間の相互作用を介して)特異的に結合する。1つ又は複数の $V_{HH}$ ドメインを含有する多価及び多重特異性のポリペプチド、及びこれらの調製に関して、Conrath et al., J. Biol. Chem., Vol. 276, 10, 7346-7350, 2001、Muyldermans, Reviews in Molecular Biotechnology 74 (2001), 277-302、並びに、例えば国際公開第96/34103号及び国際公開第99/23221号も参照する。本発明の幾つかの特定の多重特異性及び/又は多価のポリペプチドの幾つかの他の例は、本明細書中で参照されるAblynx N.V.による出願に見ることができる。

#### 【0516】

本発明の多重特異性ポリペプチドの好ましいが非限定的な一例は、少なくとも1つの本発明のナノボディと、少なくとも1つの半減期の増大をもたらすナノボディとを含む。このようなナノボディは例えば、血清タンパク質、特にヒト血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミン、チロキシン結合タンパク質、(ヒト)トランスフェリン、フィブリノゲン、IgG、IgE若しくはIgM等の免疫グロブリン、又は国際公開第04/003019号に列挙された血清タンパク質の1つに指向性を有するナノボディであり得る。これらの内で、血清アルブミン(特にヒト血清アルブミン)又はIgG(特にヒトIgG、例えば上記のMuyldermansによる総説に記載されているナノボディVH-1を参照されたい)と結合することができるナノボディが特に好ましい(が、例えばマウス又は霊長類での実験に関しては、それぞれマウス血清アルブミン(MSA)又は上記霊長類由来の血清アルブミンに対する、又はこれと交差反応性のナノボディを使用することができる。しかしながら、医薬用途に関しては、通常ヒト血清アルブミン又はヒトIgGに対するナノボディが好ましい)。半減期を増大させ、本発明のポリペプチドで使用することができるナノボディには、上記で言及されたようなもの等の国際公開第04/041865号、国際公開第06/122787号及びAblynx N.V.によるさらなる特許出願で記載されている血清アルブミンに指向性を有するナノボディが含まれる。

#### 【0517】

例えば、本発明で使用する半減期を増大させる、幾つかの好ましいナノボディには、血清アルブミンとFcRnとの結合に関与しない(ヒト)血清アルブミン上のアミノ酸残基と結合することができるナノボディ(例えば国際公開第06/0122787号を参照されたい);血清アルブミンのドメインIII部分を形成しない血清アルブミン上のアミノ酸残基と結合することができるナノボディ(例えば国際公開第06/0122787号を参照されたい);半減期を増大させたか又は増大させることができるナノボディ(例えば本明細書中に言及されるAblynx N.V.による米国仮特許出願第60/843,349号を参照されたい);少なくとも1種の哺乳動物由来の血清アルブミンと、特に少なくとも1種の霊長類(例えば、限定されるものではないが、マカク属のサル(例えば、特に、カニク

10

20

30

40

50

イザル（マカク・ファシクラリス）及び／又はアカゲザル（マカク・ムラット）及びヒビ（パピオ・ウルジヌス）と交差反応性であるヒト血清アルブミンに対するナノボディ（例えばAblynx N.V.による米国仮特許出願第60/843,349号を参照されたい）；pH非依存的に血清アルブミンと結合することができるナノボディ（例えば本明細書に言及されるAblynx N.V.による米国仮特許出願第60/850,774号を参照されたい）及び／又は条件付き結合剤であるナノボディ（例えばAblynx N.V.による米国仮特許出願第60/850,775号を参照されたい）が含まれる。

【0518】

半減期を増大させ、本発明のポリペプチドで使用する事ができる、幾つかの特に好ましいナノボディには、国際公開第06/122787号（表II及び表IIIを参照されたい）に開示のナノボディALB-1～ALB-10が含まれ、その中でもALB-8（国際公開第06/122787号における配列番号62）が特に好ましい。

10

【0519】

具体的であるが非限定的な本発明の態様によれば、本発明のポリペプチドは、1つ又は複数の本発明のナノボディ以外に、少なくとも1つのヒト血清アルブミンに対するナノボディを含有する。

【0520】

概して、1つ又は複数の本発明のナノボディを含有する、半減期が増大した任意の本発明のポリペプチド、及び本発明のナノボディ又は半減期が増大したこのようなポリペプチドの任意の誘導体は好ましくは、対応する本発明のナノボディ自体の少なくとも1.5倍、好ましくは少なくとも2倍（少なくとも5倍等）、例えば少なくとも10倍又は20倍を超える半減期を有する。例えば、このような半減期を増大させた誘導体又はポリペプチドは、対応する本発明のナノボディ自体に比べて、半減期が1時間を超えて、好ましくは2時間を超えて、より好ましくは6時間を超えて（12時間等を超えて）、又はさらに24時間、48時間若しくは72時間を超えて増大し得る。

20

【0521】

好ましいが非限定的な本発明の態様において、このような誘導体又はポリペプチドは、少なくとも約12時間、好ましくは少なくとも24時間、より好ましくは少なくとも48時間、さらにより好ましくは少なくとも72時間以上のヒトにおける血清半減期を示し得る。例えばこのような誘導体又はポリペプチドは、少なくとも5日（約5日～10日等）、好ましくは少なくとも9日（約9日～14日等）、より好ましくは少なくとも約10日（約10日～15日等）、若しくは少なくとも約11日（約11日～16日等）、より好ましくは少なくとも約12日（約12日～18日以上等）、又は14日超（約14日～19日等）の半減期を有し得る。

30

【0522】

本発明の一態様によれば、ポリペプチドは、*in vivo*においてポリペプチドの半減期を増大させることができる1つ又は複数の分子と結合することができる。

【0523】

本発明のポリペプチドは、*in vivo*において安定化され、これらの半減期は、分解耐性及び／又はクリアランス耐性若しくは捕捉耐性のある分子への結合により増大する。通常、このような分子は、それ自体が*in vivo*において長い半減期を有する天然タンパク質である。

40

【0524】

本発明の多重特異性ポリペプチドの好ましいが非限定的な別の例は、少なくとも1つの本発明のナノボディ、及び本発明のポリペプチドを特定の器官、組織、細胞、又は細胞の一部若しくはコンパートメントに誘導し、及び／又は本発明のポリペプチドを特定の器官、組織、細胞、又は細胞の一部若しくはコンパートメントに侵入させるか若しくは入り込ませ、及び／又はナノボディを細胞膜、上皮細胞層等の細胞層、固形腫瘍を含む腫瘍、又は血液脳関門のような生物学的障壁に侵入させるか若しくはこれらに対して横断させる、少なくとも1つのナノボディを含む。このようなナノボディの例としては、所望の器官、

50

組織又は細胞（例えば、腫瘍細胞に関連する細胞表面マーカー）の特異的な細胞表面タンパク質、マーカー又はエピトープ、並びに国際公開第02/057445号及び国際公開第06/040153号に記載の単ドメイン脳標的化抗体断片に指向性を有するナノボディが挙げられ、このうち、FC44（国際公開第06/040153号の配列番号189）及びFC5（国際公開第06/040154号の配列番号190）が好ましい例である。

【0525】

本発明のポリペプチドにおいて、1つ又は複数のナノボディ、及び1つ又は複数のポリペプチドは、（例えば、国際公開第99/23221号に記載のように）互いに直接連結していてもよく、及び/又は1つ又は複数の好適なスペーサー若しくはリンカー、又はこれらの任意の組合せを介して互いに連結していてもよい。

10

【0526】

多価及び多重特異性のポリペプチドに使用するのに好適なスペーサー又はリンカーは当業者にとって明らかであり、一般に、アミノ酸配列を連結させるのに当該技術分野で使用する任意のリンカー又はスペーサーであってよい。好ましくは、上記リンカー又はスペーサーは、医薬用途で意図されるタンパク質又はポリペプチドを構築する上での使用に好適である。

【0527】

幾つかの特に好ましいスペーサーとしては、抗体断片又は抗体ドメインを連結させるのに当該技術分野で使用されるスペーサー及びリンカーが挙げられる。これらは、上記で引用した包括的な背景技術に記載したリンカーと共に、例えば、ダイアボディ又はScFv断片を構築するのに当該技術分野で使用するリンカーを含む（しかし、この点で、ダイアボディ及びScFv断片では、使用するリンカー配列が、関連するV<sub>H</sub>ドメイン及びV<sub>L</sub>ドメインが一体となって、完全な抗原結合部位を形成することができるような長さ、柔軟性の程度、及び他の性質を有している必要があるが、それぞれのナノボディは単独で完全な抗原結合部位を形成するため、本発明のポリペプチドに使用するリンカーの長さ又は柔軟性に関しては特に制限が存在しないことに留意されたい）。

20

【0528】

例えば、リンカーは、好適なアミノ酸配列、具体的には1個～50個、好ましくは1個～30個、例えば1個～10個のアミノ酸残基のアミノ酸配列であってもよい。このようなアミノ酸配列の幾つかの好ましい例としては、（国際公開第99/42077号に記載の例えば(gly<sub>4</sub>ser)<sub>3</sub>又は(gly<sub>3</sub>ser<sub>2</sub>)<sub>3</sub>）等の(gly<sub>x</sub>ser<sub>y</sub>)<sub>z</sub>型のgly-serリンカー、本明細書で上述したAblynxによる出願に記載のGS30リンカー、GS15リンカー、GS9リンカー及びGS7リンカー（例えば国際公開第06/040153号及び国際公開第06/122825号を参照）、並びに天然型重鎖抗体のヒンジ領域等のヒンジ様領域、又は（国際公開第94/04678号に記載のもの等の）類似配列が挙げられる。

30

【0529】

幾つかの他の特に好ましいリンカーは、ポリアラニン（AAA等）、並びにGS30リンカー（国際公開第06/122825号の配列番号85）及びGS9リンカー（国際公開第06/122825号の配列番号84）である。

40

【0530】

他の好適なリンカーは一般に、有機化合物又はポリマー、特に医薬用途のタンパク質に使用するのに好適な有機化合物又はポリマーを含む。例えば、ポリ（エチレングリコール）部分が、抗体ドメインを連結させるのに使用されており、例えば、国際公開第04/081026号を参照されたい。

【0531】

使用するリンカー（複数可）の長さ、柔軟性の程度及び/又は他の性質（重要ではないが、ScFv断片に使用されるリンカーにおいて一般的なもの）は、GPCR又は1つ又は複数の他の抗原に対する親和性、特異性又は結合活性を含むがこれらに限定されない、

50

最終的に得られる本発明のポリペプチドの性質に何らかの影響を及ぼし得る点が、本発明の範囲内に包含される。本明細書中での開示に基づき、任意で、限定された日常実験を幾つか実施した後に、当業者であれば本発明の特定のポリペプチドに使用するために最適なリンカー（複数可）を決定することができるであろう。

【0532】

例えば、（多量体受容体又は他のタンパク質等の）多量体抗原に指向性を有するナノボディを含む本発明の多価のポリペプチドにおいて、リンカーは、好ましくは、ポリペプチド中に存在する本発明のそれぞれのナノボディを、多量体のそれぞれのサブユニット上の抗原決定基に結合させるような長さ及び柔軟性を有している。同様に、同一の抗原上の2つ以上の異なる抗原決定基（例えば、抗原の異なるエピトープ、及び/又は多量体受容体、チャンネル若しくはタンパク質の異なるサブユニット）に指向性を有するナノボディを含む本発明の多重特異性ポリペプチドにおいて、リンカーは、好ましくは、それぞれのナノボディを、目的の抗原決定基に結合させるような長さ及び柔軟性を有している。この場合にも、本明細書中での開示に基づき、任意で、限定された日常実験を幾つか実施した後に、当業者であれば本発明の特定のポリペプチドに使用するために最適なリンカー（複数可）を決定することができるであろう。

10

【0533】

使用するリンカー（複数可）が、本発明のポリペプチドに、1つ又は複数の他の望ましい性質又は機能を付与し、及び/又は（例えば本発明のナノボディの誘導体について本明細書中に記載の）誘導体の形成及び/又は官能基の結合のための1つ又は複数の部位をもたらすことも本発明の範囲内に包含される。例えば、1つ又は複数の荷電アミノ酸残基（上記の表A-2を参照）を含有するリンカーは、高められた親水性をもたらすことができるのに対し、小エピトープ又は標識を形成するか又はこれらを含むリンカーは、検出、同定及び/又は精製の目的で使用することができる。同様に、本明細書中での開示に基づき、任意で、限定された日常実験を幾つか実施した後に、当業者であれば本発明の特定のポリペプチドに使用するために最適なリンカーを決定することができるであろう。

20

【0534】

最終的に、本発明のポリペプチドに2つ以上のリンカーを使用する場合、これらのリンカーは同一であっても異なってもよい。この場合でも、本明細書中での開示に基づき、任意で、限定された日常実験を幾つか実施した後に、当業者であれば本発明の特定のポリペプチドに使用するために最適なリンカーを決定することができるであろう。

30

【0535】

通常、発現及び産生を容易にするため、本発明のポリペプチドは直鎖ポリペプチドである。しかしながら、本発明は、最も広範な意味ではこれらに限定されない。例えば、本発明のポリペプチドが3つ以上のナノボディを含む場合、「星型」の構築物を得るために、各「アーム」がナノボディに結合する3つ以上の「アーム」を有するリンカーを使用することによってこれらを結合させることも可能である。通常あまり好ましくないが、環状の構築物を使用することも可能である。

【0536】

また、本発明には、本発明のポリペプチドの誘導体が含まれ、これは本発明の、即ち本明細書中に記載のナノボディの誘導体に本質的に類似するものであり得る。

40

【0537】

また、本発明には、本発明のポリペプチドから「本質的に成る」タンパク質又はポリペプチドが含まれる（「から本質的に成る」という語句は、上記で示したものと本質的に同じ意味を有する）。

【0538】

本発明の一態様によれば、本発明のポリペプチドは、本明細書中に規定したように、本質的に単離形態である。

【0539】

本明細書中のさらなる説明により当業者にとって明らかであるように、本発明のアミノ

50

酸配列、ナノボディ、ポリペプチド及び核酸は、それ自体が既知の方法で調製することができる。例えば、本発明のナノボディ及びポリペプチドは、抗体の調製、特に抗体断片（（単一）ドメイン抗体及びScFv断片が挙げられるが、これらに限定されない）の調製のためのそれ自体が既知の任意の方法で調製することができる。アミノ酸配列、ナノボディ、ポリペプチド及び核酸を調製するための、好ましいが非限定的な幾つかの方法としては、本明細書中に記載の方法及び技法が挙げられる。

【0540】

当業者にとって明らかであるように、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及び/又はポリペプチドの調製に特に有用な一方法は通常、

i) 好適な宿主細胞又は宿主生物（本明細書中では「本発明の宿主」とも呼ぶ）において、又は本発明の上記アミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドをコードする核酸（本明細書中では「本発明の核酸」とも呼ぶ）の適切な別の発現系において、発現する工程と、場合によってはその後、

ii) このようにして得られる本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを単離及び/又は精製する工程とを含む。

【0541】

特に、このような方法は、

i) 本発明の上記宿主が少なくとも1つの本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及び/又はポリペプチドを発現及び/又は産生するような条件下で、本発明の宿主を培養及び/又は維持する工程と、場合によってはその後、

ii) このようにして得られる本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを単離及び/又は精製する工程とを含み得る。

【0542】

本発明の核酸は、一本鎖又は二本鎖のDNA又はRNAの形態を取ることができ、好ましくは二本鎖DNAの形態をとる。例えば、本発明のヌクレオチド配列はゲノムDNA、cDNA又は合成DNA（目的とする宿主細胞又は宿主生物内の発現に特異的に適合しているコドンの使用によるDNA等）であってもよい。

【0543】

本発明の一態様によれば、本発明の核酸は、本明細書中に記載したように、本質的に単離形態である。

【0544】

本発明の核酸は、例えば、プラスミド、コスミド又はYAC等のベクターの形態をとり、ベクター中に存在し、及び/又はその一部であってもよく、また本質的に単離形態であってもよい。

【0545】

本発明の核酸は、本明細書中に記載の本発明のポリペプチドのアミノ酸配列に関する情報に基づき、それ自体が既知の方法で調製されるか又は得ることができ、及び/又は好適な天然資源から単離することができる。類似体を得るためには、天然型V<sub>H</sub>Hドメインをコードするヌクレオチド配列に、例えば、部位特異的な突然変異誘発を起こして、上記類似体をコードする本発明の核酸を得ることができる。また、当業者にとって明らかであるように、本発明の核酸を調製するために、例えば、ナノボディをコードする少なくとも1つのヌクレオチド配列、及び例えば、1つ又は複数のリンカーをコードする核酸等の幾つかのヌクレオチド配列を好適な方法で連結することができる。

【0546】

本発明の核酸を生成するための技法は当業者にとって明らかであり、例えば、自動DNA合成、部位特異的な突然変異誘発、2つ以上の天然型配列及び/又は合成型配列（又はこれらの2つ以上の部分）の結合（combining）、切断された発現産物を発現させる突然変異の導入、（例えば、好適な制限酵素を用いて容易に消化及び/又はライゲーションすることができるカセット及び/又は領域を生成するための）1つ又は複数の制限部位の導入、及び/又は例えば、天然形態のGPCRの配列を鋳型として使用する1つ又は複数の「

10

20

30

40

50

ミスマッチ」プライマーを使用するPCR反応による突然変異の導入が挙げられ得るが、これらに限定されない。これらの技法及び他の技法は当業者にとって明らかであり、同様に上記のSambrook et al.及びAusubel et al.の文献等の標準的なハンドブック、及び以下の実施例を参照する。

【0547】

本発明の核酸はまた、当業者にとって明らかであるように、遺伝子構築物の形態をとり、遺伝子構築物中に存在し、及び/又はその一部であってもよい。このような遺伝子構築物は一般に、例えば、1つ又は複数の好適な調節要素（好適なプロモーター（複数可）、エンハンサー（複数可）、ターミネーター（複数可）等）、及び本明細書中に述べられている遺伝子構築物のさらなる要素等）といった、1つ又は複数のそれ自体が既知の遺伝子構築物の要素に、場合によっては連結する少なくとも1つの本発明の核酸を含む。少なくとも1つの本発明の核酸を含むこのような遺伝子構築物は、本明細書中において「本発明の遺伝子構築物」とも呼ばれる。

10

【0548】

本発明の遺伝子構築物は、DNAであってもRNAであってもよく、好ましくは二本鎖DNAである。また、本発明の遺伝子構築物は、目的とする宿主細胞又は宿主生物の形質転換に好適な形態、目的とする宿主細胞のゲノムDNAへの組込みに好適な形態、又は目的とする宿主生物における単独での複製、維持及び/又は継代に好適な形態をとり得る。例えば、本発明の遺伝子構築物は、例えば、プラスミド、コスミド、YAC、ウイルスベクター又はトランスポゾン等のベクターの形態をとることができる。特に、ベクターは、発現ベクター、即ち、*in vitro*及び/又は*in vivo*（例えば、好適な宿主細胞、宿主生物及び/又は発現系）での発現を提供し得るベクターであってもよい。

20

【0549】

好ましいが非限定的な一態様では、本発明の遺伝子構築物は、

i) i i) と作用可能に結合した少なくとも1つの本発明の核酸と、

i i) プロモーター、及び場合によっては好適なターミネーター等の、1つ又は複数の調節要素と、場合によってはさらに

i i i) それ自体が既知の遺伝子構築物の1つ又は複数のさらなる要素とを含み、ここで、「調節要素」、「プロモーター」、「ターミネーター」、及び「作用可能に結合した」という用語は、当該技術分野における（本明細書中に詳述するような）通常の意味を有しており、遺伝子構築物中に存在する上記「さらなる要素」とは、例えば、3'-又は5'-UTR配列、リーダー配列、選択マーカー、発現マーカー/レポーター遺伝子、及び/又は形質転換若しくは組込み（の効率）を促進又は増大させ得る要素であってもよい。このような遺伝子構築物に好適なこれら及び他の要素は当業者にとって明らかであり、例えば、使用する構築物の種類、目的とする宿主細胞又は宿主生物、対象となる本発明のヌクレオチド配列を発現させる方法（例えば、構成的発現、一時的発現、又は誘導性発現等を介するもの）、及び/又は使用する形質転換法に応じて決定することができる。例えば、抗体及び抗体断片（（単一）ドメイン抗体及びScFv断片が挙げられるが、これらに限定されない）の発現及び産生のための、それ自体が既知の制御配列、プロモーター、及びターミネーターを、ほぼ同様の方法で使用してもよい。

30

40

【0550】

好ましくは、本発明の遺伝子構築物において、上記少なくとも1つの本発明の核酸、及び上記調節要素、及び場合によっては上記1つ又は複数のさらなる要素は、互いに「作用可能に連結」しており、これにより、これらは通常互いに機能的な関係にあることが意図されている。例えば、プロモーターが、コーディング配列の転写及び/又は発現を、開始又は他の方法により制御/調節することができる場合（上記コーディング配列は、上記プロモーター「に制御されている」ものとして理解されたい）、コーディング配列に「作用可能に連結」していると考えられる。一般に、2つのヌクレオチド配列が作用可能に連結している場合、これらは同一の配向を有し、通常、同一リーディングフレーム内にもある。必ずしも必要ではないが、通常、これらは本質的に隣接している。

50

## 【0551】

好ましくは、本発明の遺伝子構築物の調節要素及びさらなる要素は、目的とする宿主細胞又は宿主生物において意図される生物学的機能を付与することができるようなものである。

## 【0552】

例えば、プロモーター、エンハンサー又はターミネーターは、目的とする宿主細胞又は宿主生物において「作用可能」であるとされ、このため（例えば）、上記プロモーターは、（本明細書で規定したように）作用可能に連結したヌクレオチド配列（例えばコーディング配列）の転写及び／又は発現を、開始、又は他の方法により制御／調節することができるものであると意図される。

10

## 【0553】

特に好ましい幾つかのプロモーターとしては、本明細書中に述べた宿主細胞における発現のためのそれ自体が既知のプロモーター、特に、本明細書中に述べたもの及び／又は実施例において使用されるもの等の、細菌細胞における発現のためのプロモーターが挙げられるが、これらに限定されない。

## 【0554】

選択マーカーは、（即ち、適切な選択条件下で）本発明のヌクレオチド配列による形質転換が（首尾良く）起こった宿主細胞及び／又は宿主生物を、形質転換が（首尾良く）起こらなかった宿主細胞及び／又は宿主生物と区別できるようなものとする。このようなマーカーの好ましいが非限定的な幾つかの例は、抗生物質（カナマイシン若しくはアンピシリン等）に対する耐性を付与する遺伝子、温度耐性を付与する遺伝子、又は形質転換されていない細胞若しくは生物が生存する上で不可欠な、培地中の或る特定の因子、化合物及び／又は（食品）成分がない状態で宿主細胞若しくは宿主生物を維持させる遺伝子である。

20

## 【0555】

リーダー配列は、（目的とする宿主細胞又は宿主生物において）所望の翻訳後修飾を可能にし、及び／又は転写されたmRNAを細胞の所望の部分又はオルガネラに配向させるようなものとする。また、リーダー配列は、上記細胞から発現産物を分泌させてもよい。そのようなものとして、リーダー配列は、宿主細胞又は宿主生物中で作用可能な任意のプロ配列、プレ配列、又はプレプロ配列であってもよい。リーダー配列は、細菌細胞中で発現しなくてもよい。例えば、抗体及び抗体断片（単ドメイン抗体及びScFv断片が挙げられるが、これらに限定されない）の発現及び産生のための、それ自体が既知であるリーダー配列を、ほぼ同様の方法で使用することができる。

30

## 【0556】

発現マーカー又はレポーター遺伝子は、（宿主細胞又は宿主生物中で）遺伝子構築物（に存在する遺伝子又はヌクレオチド配列）の発現を検出できるようなものとする。発現マーカーは、場合によっては、発現産物を、例えば、細胞の特定の部分又はオルガネラ、及び／又は多細胞生物の特定の細胞（複数可）、組織（複数可）、器官（複数可）、又は部分（複数可）に局在化させてもよい。このようなレポーター遺伝子は、本発明のアミノ酸配列とのタンパク質融合として発現させてもよい。好ましいが非限定的な幾つかの例としては、GFP等の蛍光タンパク質が挙げられる。

40

## 【0557】

好適なプロモーター、ターミネーター、及びさらなる要素の好ましいが非限定的な幾つかの例としては、本明細書で言及した宿主細胞における発現に使用することができるもの、及び具体的には本明細書で言及され、及び／又は下記の実施例で用いられているもの等の細菌細胞における発現に好適であるものが挙げられる。ターミネーター、転写及び／又は翻訳エンハンサー、及び／又は組込み因子等の、本発明の遺伝子構築物中に存在／使用し得るプロモーター、選択マーカー、リーダー配列、発現マーカー、及びさらなる要素についての（さらなる）非限定的な幾つかの例については、上記のSambrook et al.、及びA usubel et al.文献等の概説ハンドブック、並びに国際公開第95/07463号、国際

50

公開第 96 / 23810 号、国際公開第 95 / 07463 号、国際公開第 95 / 21191 号、国際公開第 97 / 11094 号、国際公開第 97 / 42320 号、国際公開第 98 / 06737 号、国際公開第 98 / 21355 号、米国特許第 7,207,410 号、米国特許第 5,693,492 号、及び欧州特許第 1085089 号に示された例を参照する。他の例は当業者にとって明らかであろう。上記の包括的な背景技術及び本明細書中にさらに引用した参考文献も参照する。

【0558】

本発明の遺伝子構築物は、通常、例えば、上記の Sambrook et al. 及び Ausubel et al. 文献等の概説ハンドブックに記載の技法を用いて、本発明のヌクレオチド配列（複数可）を、1つ又は複数の上記さらなる要素と適切に連結させることにより得ることができる。

10

【0559】

多くの場合、本発明の遺伝子構築物は、本発明のヌクレオチド配列を、それ自体が既知の好適な（発現）ベクターに挿入することによって得られる。好適な発現ベクターの好ましいが非限定的な幾つかの例は、以下の実施例において使用されるもの、及び本明細書中に記載したものである。

【0560】

本発明の核酸及び / 又は本発明の遺伝子構築物は、宿主細胞又は宿主生物の形質転換、即ち本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを発現及び / 又は産生させるために使用することができる。好適な宿主又は宿主細胞は当業者にとって明らかであり、例えば、任意の好適な真菌、原核、又は真核細胞若しくは細胞株、又は任意の好適な真菌、原核、又は真核生物、例えば：

20

大腸菌の菌株、ミラピリス変形菌 (*Proteus mirabilis*) 等のプロテウス属の菌株、蛍光菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 等のシュードモナス属の菌株等のグラム陰性菌株、及び、枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 又はブレビス菌 (*Bacillus brevis*) 等のバチルス属の菌株、ストレプトミセス・リビダンス (*Streptomyces lividans*) 等のストレプトミセス属の菌株、スタフィロコッカス・カルノサス (*Staphylococcus carnosus*) 等のスタフィロコッカス属の菌株、及び乳酸連鎖球菌 (*Lactococcus lactis*) 等のラクトコッカス属の菌株等のグラム陽性菌株が挙げられるがこれらに限定されない細菌株、

トリコデルマ・リーゼイ (*Trichoderma reesei*) 等のトリコデルマ属の種、アカパンカビ (*Neurospora crassa*) 等のニューロスポラ属の種、ソルダリア・マクロスポラ (*Sordariamacrospora*) 等のソルダリア属の種、アスペルギルス・ニゲル (*Aspergillus niger*) 又はショウコウジカビ (*Aspergillus sojae*) 等のアスペルギルス属の種、又は別の糸状菌 (*filamentous fungi*) 由来の細胞が挙げられるがこれらに限定されない真菌細胞、

30

出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 等のサッカロミセス属の種、シゾサッカロミセス・ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*) 等のシゾサッカロミセス属の種、ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) 又はピキア・メタノリカ (*Pichia methanolica*) 等のピキア属の種、ハンセヌラ・ポリモルファ (*Hansenula polymorpha*) 等のハンセヌラ属の種、クルイペロミセス・ラクティス (*Kluyveromyces lactis*) 等のクルイペロミセス属の種、アークスラ・アデニニボランス (*Arxula adeninivorans*) 等のアークスラ属の種、ヤロウイア・リポリチカ (*Yarrowialipolytica*) 等のヤロウイア属の種由来の細胞が挙げられるがこれらに限定されない酵母細胞、

40

アフリカツメガエル卵母細胞等の両生類細胞又は細胞株、

シロイチモンジヨトウ S F 9 及び S f 2 1 細胞を含むがこれらに限定されない鱗翅目に由来する細胞 / 細胞株、又はシュナイダー細胞及び K c 細胞等のショウジョウバエに由来する細胞 / 細胞株等の昆虫に由来する細胞又は細胞株、

タバコ植物等の植物又は植物細胞、及び / 又は

CHO 細胞、BHK 細胞 (BHK - 21 細胞等)、及び HeLa 細胞、COS 細胞 (COS - 7 細胞等)、及び PER.C6 細胞等のヒト細胞又は細胞株が挙げられるがこれらに限定されない、ヒトに由来する細胞又は細胞株、哺乳動物に由来する細胞又は細胞株等の哺乳動物細胞又は細胞株、及び、

50

抗体及び抗体断片（（単一）ドメイン抗体及びScFv断片が挙げられるがこれらに限定されない）を発現及び産生するそれ自体が既知の他の全ての宿主又は宿主細胞であってもよく、これらは当業者に明らかであろう。上記で引用した包括的な背景技術及び、例えば、国際公開第94/29457号、国際公開第96/34103号、国際公開第99/42077号、Frenken et al. (1998) (同上)、Riechmann and Muyldermans (1999) (同上)、van der Linden (2000) (同上)、Thomassen et al. (2002) (同上)、Joosten et al. (2003) (同上)、Joosten et al. (2005) (同上)及び本明細書中にさらに引用した文献を参照する。

#### 【0561】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドはまた、例えば予防目的及び/又は治療目的（遺伝子治療等）のために、多細胞生物の1つ又は複数の細胞、組織、又は器官に導入し、発現させることができる。このために、本発明のヌクレオチド配列を、例えば、このように（例えば、リポソームを用いて）、又は好適な（例えば、アデノウイルス、又はアデノ随伴ウイルス等のパルボウイルス等のレトロウイルスに由来する）遺伝子治療用ベクターに挿入後、任意の好適な方法で細胞又は組織に導入することができる。当業者にとって明らかであるように、このような遺伝子治療は、本発明の核酸又は本発明の核酸をコードする好適な遺伝子治療用ベクターを、患者又は患者の特定の細胞又は特定の組織若しくは器官に投与することにより患者の体内において、*in vivo*及び/又は*in situ*で行うことができ、又は好適な（多くの場合、外植リンパ球、骨髄吸引物又は組織生検試料等の、治療対象となる患者の体内から採取された）細胞は、本発明のヌクレオチド配列を用いて*in vitro*で治療した後、患者の体内に好適に（再）導入することができる。これは全て、例えばCulver, K. W., "Gene Therapy", 1994, p. xii, Mary Ann Liebert, Inc., Publishers, New York, N.Y)、Giordano, Nature F Medicine 2 (1996), 534-539、Schaper, Circ. Res. 79 (1996), 911-919、Anderson, Science 256 (1992), 808-813、Verma, Nature 389 (1994), 239、Isner, Lancet 348 (1996), 370-374、Muhlhauser, Circ. Res. 77 (1995), 1077-1086、Onodera, Blood 91; (1998), 30-36、Verma, Gene Ther. 5 (1998), 692-699、Nabel, Ann. N.Y. Acad. Sci. : 811 (1997), 289-292、Verzeletti, Hum. Gene Ther. 9 (1998), 2243-51、Wang, Nature Medicine 2 (1996), 714-716、国際公開第94/29469号、国際公開第97/00957号、米国特許第5,580,859号、米国特許第5,589,546号、又はSchaper, Current Opinion in Biotechnology 7 (1996), 635-640に記載の当業者に既知の遺伝子治療用ベクター、技法、及びデリバリーシステムを用いて行うことができる。例えば、ScFv断片(Afanasieva et al., Gene Ther., 10, 1850-1859 (2003))及びダイアボディ(Blanco et al., J. Immunol, 171, 1070-1077 (2003))の*in situ*発現は当該技術分野で説明されている。

#### 【0562】

細胞中でのナノボディの発現のために、これらは、例えば、国際公開第94/02610号、国際公開第95/22618号、及び米国特許第7004940号、国際公開第03/014960号、Cattaneo, A. & Biocca, S. (1997) Intracellular Antibodies: Development and Applications. Landes and Springer-Verlag、並びにKontermann, Methods 34, (2004), 163-170に記載の、いわゆる「細胞内抗体」として発現させることができる。

#### 【0563】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを、例えば、ウサギ、ウシ、ヤギ又はヒツジの母乳中のようなトランスジェニック哺乳動物の母乳中（トランス遺伝子を哺乳動物に導入する一般的な技法については、例えば、米国特許第6,741,957号、米国特許第6,304,489号、及び米国特許第6,849,992号を参照）、植物、又は葉、花、果実、種、根、塊茎を含むがこれらに限定されない植物の一部中（例えば、タバコ、トウモロコシ、大豆、又はアルファルファ）、又は、例えば、カイコガの蛹中で産生することもできる。

## 【0564】

さらに、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドを、細胞を含まない発現系で発現及び/又は産生してもよく、このような系の好適な例は当業者にとって明らかであろう。好ましいが非限定的な幾つかの例としては、小麦麦芽系、ウサギ網状赤血球溶解物、又はZubayの方法による大腸菌を用いた系での発現が挙げられる。

## 【0565】

上記のように、ナノボディを使用する利点の1つは、これに基づくポリペプチドを、好適な細菌系における発現によって調製することができる点であり、及び好適な細菌発現系、ベクター、宿主細胞、調節要素等は、例えば上記で引用した参考文献によって当業者にとって明らかであろう。しかしながら、本発明は、最も広範な意味では細菌系における発現に限定されないことに留意されたい。

10

## 【0566】

好ましくは、本発明では、本発明のポリペプチドを医薬用途に適した形態で提供する細菌発現系等の(in vivo又はin vitro)発現系を使用し、このような発現系も当業者にとって明らかであろう。さらに当業者にとって明らかであるように、医薬用途に適した本発明のポリペプチドは、ペプチド合成法を用いて調製することができる。

## 【0567】

工業的スケールでの製造において、ナノボディ又はナノボディを含有するタンパク質治療剤の(工業的)製造のために好ましい異種宿主としては、大規模スケールでの発現/産生/発酵、特に大規模スケールの医薬用途(即ち、GMPグレード)での発現/産生/発酵に適した大腸菌、ピキア・パストリス、出芽酵母の菌株が挙げられる。このような菌株の好適な例は、当業者にとって明らかであろう。このような菌株及び産生/発現系も、Biovitrum社(Uppsala, Sweden)等の企業から入手可能である。

20

## 【0568】

代替的には、哺乳動物細胞株、特にチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を、大規模スケールでの発現/産生/発酵、特に大規模スケールの医薬用途での発現/産生/発酵のために用いることができる。このような発現/産生系も、上記の幾つかの企業から入手可能である。

## 【0569】

特定の発現系の選択は、或る特定の翻訳後修飾、より具体的にはグリコシル化の必要条件に一部依存している。グリコシル化が望ましいか又は必要とされるナノボディを含有する組換えタンパク質の産生には、発現したタンパク質をグリコシル化する能力を有する哺乳動物発現用宿主の使用が必要である。これに関連して、得られるグリコシル化パターン(即ち、結合する残基の種類、数、及び位置)が、発現に用いられる細胞又は細胞株に依存することは、当業者にとって明らかであろう。好ましくは、ヒト細胞若しくは細胞株が用いられる(即ち、本質的にヒトのグリコシル化パターンを有するタンパク質を与える)か、又は、本質的に及び/又は機能的にヒトのグリコシル化と同一であるか、又は少なくともヒトのグリコシル化を模倣したグリコシル化パターンを与えることができる別の哺乳動物の細胞株が用いられる。一般に、大腸菌等の原核宿主はタンパク質をグリコシル化する能力を有しておらず、酵母等の下等真核細胞を使用すると、通常、ヒトのグリコシル化と異なるグリコシル化パターンがもたらされる。それにもかかわらず、上記宿主細胞及び発現系の全てを、得ようとする所望のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドに応じて、本発明に用いることができることを理解されたい。

30

40

## 【0570】

したがって、本発明の非限定的な一態様によれば、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドはグリコシル化される。本発明の別の非限定的な態様によれば、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドはグリコシル化されない。

## 【0571】

本発明の好ましいが非限定的な一態様によれば、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドは、細菌細胞中、具体的には大規模スケールでの医薬品製造に適した上記

50

の株の細胞等の細菌細胞中で産生する。

【0572】

本発明の好ましいが非限定的な別の態様によれば、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドは、酵母細胞中、具体的には大規模スケールでの医薬品製造に適した上記の種の細胞等の酵母細胞中で産生する。

【0573】

本発明のさらに好ましいが非限定的な別の態様によれば、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドは、哺乳動物細胞中、具体的にはヒト細胞又はヒト細胞株の細胞中で、さらに具体的には大規模スケールでの医薬品製造に適した上記の細胞株等のヒト細胞又はヒト細胞株の細胞中で産生する。

10

【0574】

宿主細胞中での発現が、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドの製造に用いられる場合、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、細胞内（例えば、細胞質中、ペリプラズム中、又は封入体中）で産生し、次いで宿主細胞から単離し、場合によってはさらに精製してもよく、又は細胞外（例えば、宿主細胞を培養する培地中）で産生し、次いで培地から単離し、場合によってはさらに精製してもよい。真核宿主細胞を使用する場合、得られるナノボディ及びタンパク質のさらなる単離及び下流工程での処理が大幅に容易になるため、通常、細胞外で産生されることが好ましい。通常、大腸菌の菌株等の上記細菌細胞は、毒素及び溶血素等の数種のタンパク質を除き、タンパク質を細胞外に分泌せず、大腸菌において分泌物を産生することは、内膜を通してペリプラズム空間へタンパク質を転移させることを意味する。ペリプラズムでの産生は、細胞質での産生に対して、幾つかの利点がある。例えば、分泌産物のN末端のアミノ酸配列は、特異的シグナルペプチダーゼによる分泌シグナル配列の切断後の天然遺伝子産物と同一であってもよい。また、ペリプラズム中では、細胞質中よりもプロテアーゼ活性はるかに低いと思われる。さらに、ペリプラズム中では、混入するタンパク質が少ないため、タンパク質の精製がより容易である。別の利点は、ペリプラズムが細胞質よりも酸化的な環境をもたらすため、正しいジスルフィド結合が形成される可能性があるという点である。大腸菌中で過剰発現されたタンパク質は、不溶性の凝集物、いわゆる封入体中に見られることが多い。これらの封入体は、細胞質中又はペリプラズム中に存在させることができ、これらの封入体からの生物活性タンパク質の回収は、変性/リフォールディングプロセスを必要とする。治療効果を有するタンパク質を含む多くの組換えタンパク質は、封入体から回収される。代替的には、当業者に明らかであるように、所望のタンパク質、特に本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを分泌するように遺伝的に修飾された細菌の組換え菌株を用いることができる。

20

30

【0575】

したがって、本発明の非限定的な一態様によれば、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドは、細胞内で産生され、宿主細胞から、特に細菌細胞又は細菌細胞中の封入体から単離したアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドである。本発明の別の非限定的な態様によれば、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドは、細胞外で産生され、宿主細胞を培養する培地から単離されたアミノ酸配列、ナノボディ又はポリ

40

【0576】

好ましいが非限定的な幾つかの、これらの宿主細胞で用いるためのプロモーターとしては、

大腸菌における発現のための：lacプロモーター（及び、lacUV5プロモーター等のこれらの誘導体）；アラビノースプロモーター；ファージの左側（PL）及び右側（PR）プロモーター；trpオペロンのプロモーター；ハイブリッドlac/trpプロモーター（tac及びtrc）；T7-プロモーター（より具体的にはT7-ファージ遺伝子10のプロモーター）；及び他のT-ファージプロモーター；Tn10テトラサイクリン耐性遺伝子のプロモーター；外来制御オペレーター配列の1つ又は複数のコピーを

50

含む上記プロモーターの組換え変異体；

出芽酵母における発現のための：ADH1（アルコールデヒドロゲナーゼ1）、ENO（エノラーゼ）、CYC1（チトクロームc異性化酵素1）、GAPDH（グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ）、PGK1（ホスホグリセリン酸キナーゼ）、PYK1（ピルビン酸キナーゼ）の構成的プロモーター；GAL1、GAL10、GAL7（ガラクトース代謝酵素）、ADH2（アルコールデヒドロゲナーゼ2）、PHO5（酸ホスファターゼ）、CUP1（銅メタロチオネイン）の制御的プロモーター；CaMV（カリフラワーモザイクウイルス35Sプロモーター）の異種プロモーター；

ピキア・パストリスにおける発現のための：AOX1プロモーター（アルコールオキシダーゼI）；

哺乳動物細胞における発現のための：ヒトサイトメガロウイルス（hCMV）前初期エンハンサー/プロモーター；プロモーターがTetリプレッサーによって制御可能なように2個のテトラサイクリンオペレーター配列を含有するヒトサイトメガロウイルス（hCMV）前初期プロモーター変異体；単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（TK）プロモーター；ラウス肉腫ウイルスの長末端反復配列（RSV LTR）エンハンサー/プロモーター；ヒト、チンパンジー、マウス、又はラット由来の伸長因子1（hEF-1）プロモーター；SV40初期プロモーター；HIV-1の長末端反復配列プロモーター；アクチンプロモーターが挙げられる。

#### 【0577】

好ましいが非限定的な幾つかの、これらの宿主細胞で用いるためのベクターとしては、哺乳動物細胞における発現のためのベクター：pMAMneo（Clontech）、pcDNA3（Invitrogen）、pMC1neo（Stratagene）、pSG5（Stratagene）、EBO-pSV2-neo（ATCC 37593）、pBPV-1（8-2）（ATCC 37110）、pdBPV-MMTneo（342-12）（ATCC 37224）、pRSVgpt（ATCC 37199）、pRSVneo（ATCC 37198）、pSV2-dhfr（ATCC 37146）、pUCTag（ATCC 37460）及びIZD35（ATCC 37565）、並びにアデノウイルスに基づくもの等のウイルスに基づく発現系；

細菌細胞における発現のためのベクター：pETベクター（Novagen）及びpQEベクター（Qiagen）；

酵母又は他の真菌細胞における発現のためのベクター：pYES2（Invitrogen）及びピキア発現ベクター（Invitrogen）；

昆虫細胞における発現のためのベクター：pBlueBacII（Invitrogen）及び他のバキュロウイルスベクター；

植物又は植物細胞における発現のためのベクター：例えば、カリフラワーモザイクウイルス又はタバコモザイクウイルス、アグロバクテリウムの好適な菌株又はTi-プラスミドに基づくベクターが挙げられる。

#### 【0578】

好ましいが非限定的な幾つかの、これらの宿主細胞で使用するための分泌配列としては、

大腸菌等の細菌細胞における使用のための：PelB、Bla、OmpA、OmpC、OmpF、OmpT、StII、PhoA、PhoE、MalE、Lpp、LamB等；TATシグナルペプチド、ヘモリシンC末端分泌シグナル；

酵母における使用のための：-接合因子プレプロ配列、ホスファターゼ（pho1）、インベルターゼ（Suc）等；

哺乳動物細胞における使用のための：標的タンパク質が真核細胞由来である場合には、固有シグナル、マウスIg鎖V-J2-Cシグナルペプチド等が挙げられる。

#### 【0579】

本発明の宿主又は宿主細胞を形質転換するのに好適な技法は、当業者にとって明らかであり、目的とする宿主細胞/宿主生物及び使用する遺伝子構築物に依存することもある。

10

20

30

40

50

同様に、上記ハンドブック及び特許出願を参照する。

【0580】

形質転換後、本発明のヌクレオチド配列／遺伝子構築物によって首尾よく形質転換された宿主細胞又は宿主生物を検出及び選択する工程を実行することができる。この工程は、例えば、本発明の遺伝子構築物中にある選択可能なマーカーに基づいて選択する工程、又は、例えば、特異的抗体を使用する本発明のアミノ酸配列の検出を含む工程であってもよい。

【0581】

形質転換された宿主細胞（安定な細胞株の形態を取ることができる）又は宿主生物（安定な変異体系列又は株の形態を取ることができる）は、本発明のさらなる態様をなす。

10

【0582】

好ましくは、これらの宿主細胞又は宿主生物は、（宿主生物の場合には、その少なくとも1つの細胞、部分、組織又は器官において）本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを発現し、又は（少なくとも）（例えば、好適な条件下で）発現することができるようなものである。本発明はまた、本発明の宿主細胞又は宿主生物のさらなる世代、後代及び／又は子孫を含んでおり、これらは、例えば、細胞分裂又は有性若しくは無性生殖により得られるものであってよい。

【0583】

本発明のアミノ酸配列を生成し／その発現を得るために、形質転換された宿主細胞又は形質転換された宿主生物は一般に、（所望の）本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドが発現／産生されるような条件下で保持、維持及び／又は培養され得る。好適な条件は当業者にとって明らかであり、通常、使用する宿主細胞／宿主生物に、及び（関連する）本発明のヌクレオチド配列の発現を制御する調節因子に依存する。この場合にも、本発明の遺伝子構築物に関する上記の段落に記載したハンドブック及び特許出願を参照する。

20

【0584】

一般に、好適な条件には、好適な培地の使用、好適な食餌及び／又は好適な栄養源の存在、好適な温度の使用、及び場合によっては好適な誘導因子又は化合物の存在（例えば、本発明のヌクレオチド配列が誘導性プロモーターにより制御される場合）が含まれていてもよく、これらは全て当業者が選択することができる。この場合にも、このような条件下で、本発明のアミノ酸配列は、構成的に、一時的に、又は適切に誘導された場合にのみ発現することができる。

30

【0585】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドが、（まず）未成熟型（同上）で産生され、次いで、使用する宿主細胞／宿主生物に応じて翻訳後修飾されてもよいことも、当業者にとって明らかであろう。また、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドは、この場合にも、使用する宿主細胞／宿主生物に応じてグリコシル化されてもよい。

【0586】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドは、次いで、宿主細胞／宿主生物から、及び／又は上記宿主細胞若しくは宿主生物を培養した培地から、（分取）クロマトグラフィ法、及び／又は電気泳動法、分別沈殿法、アフィニティ法（例えば、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドと融合した特定の切断可能なアミノ酸配列を用いる）、及び／又は分取免疫法（即ち、単離対象のアミノ酸配列に対する抗体を用いる）等の、それ自体が既知のタンパク質の単離技法及び／又は精製技法を用いて単離することができる。

40

【0587】

一般に、医薬用途のために、本発明のポリペプチドは、少なくとも1つの本発明のポリペプチドと、少なくとも1つの薬学的に許容可能な担体、希釈剤又は賦形剤、及び／又はアジュバントとを含み、場合によっては1つ又は複数のさらなる薬理活性ポリペプチド及

50

びノ又は化合物を含む薬学的調製剤又は薬学的組成物として製剤化することができる。非限定的な例により、このような製剤は、経口投与のため、非経口投与（静脈内、筋内若しくは皮下注射、又は静脈内点滴等による）のため、局所投与のため、吸入、経皮パッチ、インプラント、坐薬等による投与のために適した形態を取ることができる。このような好適な投与形態は、投与の方法、及びその調製剤で用いるための方法及び担体に応じて、固体、半固体又は液体であってよく、当業者にとって明らかであり、本明細書にさらに記載する。

【0588】

したがって、さらなる一態様において、本発明は、少なくとも1つの本発明のアミノ酸、少なくとも1つの本発明のナノボディ又は少なくとも1つの本発明のポリペプチド、及び少なくとも1つの好適な（即ち、医薬用途に好適な）担体、希釈剤又は賦形剤を含み、場合によっては1つ又は複数のさらなる活性物質を含有する薬学的組成物に関する。

10

【0589】

概して、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、それ自体が既知の任意の好適な方法により製剤化及び投与することができ、これらについては、例えば、上記で引用した包括的な背景技術（特に、国際公開第04/041862号、国際公開第04/041863号、国際公開第04/041865号、国際公開第04/041867号）、及びRemington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>th</sup> Ed., Mack Publishing Company, USA (1990)若しくはRemington, the Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Lippincott Williams and Wilkins (2005)等の標準的なハンドブックを参照する。

20

【0590】

例えば、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、従来の抗体及び抗体断片（例えばScFv及びダイアボディ）及び他の薬理活性タンパク質のための、それ自体が既知の任意の方法で製剤化及び投与することができる。このような製剤及びこれを調製する方法は当業者にとって明らかであり、例えば、非経口投与（例えば、静脈内、腹腔内、皮下、筋内、管腔内、動脈内若しくは髄腔内投与）又は局所（即ち、経皮若しくは皮内）投与に好適な調製剤が挙げられる。

【0591】

非経口投与のための調製剤は、例えば、点滴又は注射に好適な滅菌液、懸濁液、分散液又は乳化液であってもよい。このような調製剤に好適な担体又は希釈剤としては、例えば、限定するものではないが、滅菌水及び緩衝水溶液、並びにリン酸緩衝生理食塩水、リンゲル液、デキストロース溶液、及びハンス液等の溶液、水性油、グリセロール、エタノール、プロピレングリコール等のグリコール、又は（or as well as）鉱物油、動物油、及び植物油、例えば、落花生油、大豆油、並びに好適なこれらの混合物が挙げられる。通常、水溶液又は懸濁液が好ましい。

30

【0592】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、遺伝子治療の送達方法を使用して投与することもできる。例えば、その全文が参照により本明細書中に援用される米国特許第5,399,346号を参照されたい。遺伝子治療の送達方法を使用して、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドをコードする遺伝子によりトランスフェクトされた初代細胞を、特定の器官、組織、移植片、腫瘍又は細胞を標的とするための組織特異的プロモーターによりさらにトランスフェクトすることができ、かつ細胞内に局在化した発現のためのシグナル及び安定化配列によりさらにトランスフェクトすることもできる。

40

【0593】

このように、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、不活性希釈剤又は吸収可能な食用の担体等の薬学的に許容可能なビヒクルと組み合わせて、例えば、経口的に全身投与することができる。これらを、ハード又はソフトシェルゼラチンカプセルに封入してもよく、錠剤として打錠してもよく、又は患者の食事の食品に直接組み込んでよい。経口治療用の投与のために、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチ

50

ドを1つ又は複数の賦形剤と組み合わせ、摂取可能な錠剤、口腔錠、トローチ剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁液、シロップ剤、ウェハー剤等の形態で使用することができる。このような組成物及び調製剤は、少なくとも0.1%の本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを含有していなければならない。組成物及び調製剤中のこれらの割合は、当然ながら変えることができ、便宜的には所定の単位投薬形態の重量の約2%~約60%であろう。このような治療上有用な組成物中の本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドの量は、有効な用量レベルが得られるような量である。

#### 【0594】

また、錠剤、トローチ剤、丸剤、カプセル剤等は、トラガカントガム、アラビアゴム、コーンスターチ又はゼラチン等の結着剤；リン酸ニカルシウム等の賦形剤；コーンスターチ、ジャガイモデンプン、アルギン酸等の崩壊剤；ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤；及びスクロース、フルクトース、ラクトース又はアスパルテーム等の甘味料を含有していてもよく、又はペパーミント、冬緑油、若しくはチェリー香料等の香料を加えてもよい。単位投薬形態がカプセル剤である場合、上記のような種類の物質以外に、植物油又はポリエチレングリコール等の液体担体を含有していてもよい。種々の他の物質が、コーティングとして、又は固体状の単位投薬形態の物理的形態を他の方法により変化させるために存在していてもよい。例えば、錠剤、丸剤又はカプセル剤は、ゼラチン、ロウ、シェラック又は砂糖等でコーティングされていてもよい。シロップ剤又はエリキシル剤は、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチド、甘味料としてのスクロース又はフルクトース、保存料としてのメチルパラベン又はプロピルパラベン、色素、及びチェリー又はオレンジ香料等の香料を含有していてもよい。当然ながら、単位投薬形態の調製に使用される全ての物質は、薬学的に許容され、使用する量において実質的に無毒でなければならない。さらに、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、徐放剤及び徐放デバイス中に組み込まれていてもよい。

#### 【0595】

経口投与のための調製剤及び製剤にはまた、本発明の構築物が胃内環境に耐性を有しかつ腸内まで通過することを可能にする腸溶コーティングが付与される。より包括的には、経口投与のための調製剤及び製剤は、消化管のいずれかの所望部分に送達するのに好適に製剤化され得る。また、消化管に送達するのに好適な坐薬を使用してもよい。

#### 【0596】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドはまた、点滴又は注射によって静脈内投与又は腹腔内投与してもよい。本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチド、又はこれらの塩の溶液は、水中で調製することができ、任意で非毒性の界面活性剤と混合することができる。分散液は、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、トリアセチン、及びこれらの混合物中、並びに油中で調製することができる。通常の使用条件下において、これらの調製剤は、微生物の増殖を防ぐための保存料を含有している。

#### 【0597】

注射又は点滴に好適な薬剤投薬形態としては、滅菌注射又は滅菌点滴可能な溶液又は分散液の即時調製に適合し、場合によってはリポソームに封入された活性成分を含む、滅菌水溶液又は分散液又は滅菌粉末が挙げられ得る。全ての場合において、最終的な投薬形態は、滅菌されており、流体であり、製造及び保存条件下で安定でなければならない。液体の担体又はビヒクルは、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール等）、植物油、非毒性グリセリルエステル、及びこれらの好適な混合物を含む溶媒又は液体の分散媒であってもよい。例えば、リポソームの形成により、分散液の場合には必要な粒子サイズを維持することにより、又は界面活性剤の使用により、適切な流動性を維持することができる。例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサル等の種々の抗菌剤及び抗真菌剤により微生物の作用を妨害することができる。多くの場合において、等張剤、例えば、砂糖、緩衝剤、又は塩化ナトリウムを含んでいることが好ましい。組成物において、吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを使用するこ

10

20

30

40

50

とにより、注射可能な組成物の長時間にわたる吸収をもたらすことができる。

【0598】

滅菌注射可能な溶液は、所要の量の本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドを、必要に応じて、上記に列挙した種々の他の成分を含む適切な溶媒中に混合させた後、滅菌濾過することにより調製される。滅菌注射可能な溶液を調製するための滅菌粉末の場合、好ましい調製方法は、減圧乾燥法及び凍結乾燥法であり、活性成分の粉末、及び先に滅菌濾過された溶液中に存在する任意のさらなる望ましい成分が得られる。

【0599】

局所投与のためには、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、液体の場合には、純粋な形態で適用することができる。しかし、概して、これらは、固体であつても液体であつてもよい皮膚科学的に許容可能な担体と共に、組成物又は製剤として皮膚に投与されることが望ましい。

10

【0600】

有用な固体担体としては、タルク、粘土、微結晶セルロース、シリカ、アルミナ等の微粉砕された固体が挙げられる。有用な液体担体としては、水、ヒドロキシアルキル又はグリコール又は水-アルコール/グリコール配合物が挙げられ、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、場合によっては非毒性の界面活性剤の作用により、有効なレベルで溶解又は分散することができる。所定用途のための性質を最適化するために、芳香剤及び他の抗菌剤等のアジュバントを加えてもよい。得られる液体組成物は、絆創膏及び他の包帯に含浸させるのに用いられる吸収パッドによって塗布することができ、又はポンプ型若しくはエアロゾルスプレーを使用して患部の上に噴霧することができる。

20

【0601】

使用者の皮膚に直接塗布するための塗布用ペースト、ゲル、軟膏及び石鹸等を形成するために、合成ポリマー、脂肪酸、脂肪酸塩及びエステル、脂肪アルコール、修飾セルロース又は修飾無機物質等の増粘剤を液体担体と共に使用することができる。

【0602】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドを皮膚に送達するために使用することができる有用な皮膚科用組成物の例は当該技術分野で既知であり、例えば、Jacquet et al. (米国特許第4,608,392号)、Geria (米国特許第4,992,478号)、Smith et al. (米国特許第4,559,157号)及びWortzman (米国特許第4,820,508号)を参照されたい。

30

【0603】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドの有用な用量は、これらの *in vitro* 活性、及び動物モデルにおける *in vivo* 活性を比較することにより決定することができる。マウス及び他の動物における有効用量をヒトに外挿するための方法は当該技術分野で既知であり、例えば、米国特許第4,938,949号を参照されたい。

【0604】

概して、ローション等の液体組成物中の本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドの濃度は、約0.1重量%~25重量%、好ましくは、約0.5重量%~10重量%である。ゲル又は粉末等の半固形又は固形組成物中の濃度は、約0.1重量%~5重量%、好ましくは約0.5重量%~2.5重量%である。

40

【0605】

治療における使用に必要な本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドの量は、選択される特定のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドだけでなく、投与経路、治療する症状の性質、並びに患者の年齢及び状態によっても変動し、最終的には担当する医師又は臨床医の判断に委ねられる。また、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドの用量は、標的となる細胞、腫瘍、組織、移植片又は器官によっても変動する。

【0606】

望ましい用量は便宜上、単回用量で、又は例えば、1日2回、3回、4回以上の部分用量として、適切な間隔での分割投与で示され得る。部分用量自体を、例えば、吸入器から

50

の複数回の吸入又は複数滴の点眼投与等の、個別で、大まかな間隔の数多くの投与にさらに分割してもよい。

【0607】

投与計画には、長期間の毎日の処置が含まれ得る。「長期間」とは、少なくとも2週間、好ましくは数週間、数ヶ月、又は数年の期間を意味する。この用量範囲における必要な変更は、本明細書中で教示される日常実験のみを使用して当業者によって決定され得る。Remington's Pharmaceutical Sciences (Martin, E. W., ed. 4), Mack Publishing Co., Easton, PAを参照されたい。用量は、何らかの合併症の場合には、個々の医師が調整することもできる。

【0608】

別の態様において、本発明は、少なくとも1つのGPCR関連の疾患及び障害を予防及び/又は治療する方法であって、これを必要とする被験体に、薬学的に活性のある量の本発明のアミノ酸配列、本発明のナノボディ、本発明のポリペプチド、及び/又はこれを含む薬学的組成物を投与することを含む、予防及び/又は治療する方法に関する。

10

【0609】

本発明の文脈において、「予防及び/又は治療」という用語とは、疾患を予防及び/又は治療することを含むだけでなく、概して、疾患の発症を予防すること、疾患の進行を遅延又は退行させること、疾患に関連する1つ又は複数の症状の発症を予防又は遅延させること、疾患に関連する1つ又は複数の症状を低減及び/又は軽減すること、疾患及び/又はこれに関連するあらゆる症状の重症度及び/又は期間を低減すること、及び/又は疾患及び/又はこれに関連するあらゆる症状の重症度のさらなる増大を予防すること、疾患によって生じるあらゆる生理学的損傷を予防、低減又は退行させること、及び概して治療すべき患者に有益なあらゆる薬理作用も含む。

20

【0610】

治療すべき被験体とは、任意の温血動物であり得るが、具体的には哺乳動物、より具体的にはヒトである。当業者にとって明らかであるように、治療すべき被験体は、特に本明細書中に記載の疾患及び障害を患っているか又はこれらの危険性のあるヒトであり得る。

【0611】

本発明は、GPCRに、その生物活性若しくは薬理活性に、及び/又はGPCRが関与する生物学的経路若しくはシグナル伝達に関連がある少なくとも1つの疾患又は障害を予防及び/又は治療する方法であって、これを必要とする被験体に薬学的に活性のある量の本発明のアミノ酸配列、本発明のナノボディ、本発明のポリペプチド、及び/又はこれらを含む薬学的組成物を投与することを含む、方法に関する。特に、本発明は、GPCR、その生物活性若しくは薬理活性、及び/又はGPCRが関与する生物学的経路若しくはシグナル伝達を調節することによって治療することができる少なくとも1つの疾患又は障害を予防及び/又は治療する方法であって、これを必要とする被験体に薬学的に活性のある量の本発明のアミノ酸配列、本発明のナノボディ、本発明のポリペプチド、及び/又はこれらを含む薬学的組成物を投与することを含む、方法に関する。特に、上記の薬学的に有効な量とは、GPCR、その生物活性若しくは薬理活性、及び/又はGPCRが関与する生物学的経路又はシグナル伝達を調節するのに十分な量とすることができ、かつ/又は、GPCR、その生物学的活性又は薬理活性、及び/又はGPCRが関与する生物学的経路又はシグナル伝達を調節するのに十分な、循環血液中では本発明のアミノ酸配列、本発明のナノボディ、本発明のポリペプチドのレベルを与える量とすることができ、

30

40

【0612】

本発明はさらに、本発明のアミノ酸配列、本発明のナノボディ、又は本発明のポリペプチドを患者に投与することによって予防及び/又は治療することができる少なくとも1つの疾患又は障害を予防及び/又は治療する方法であって、これを必要とする被験体に薬学的に活性のある量の本発明のアミノ酸配列、本発明のナノボディ、本発明のポリペプチド、及び/又はこれらを含む薬学的組成物を投与することを含む、方法に関する。

【0613】

50

より具体的には、本発明は、本明細書中に列挙される疾患及び障害から成る群から選択される少なくとも1つの疾患又は障害を予防及び/又は治療する方法であって、これを必要とする被験体に薬学的に活性のある量の本発明のアミノ酸配列、本発明のナノボディ、本発明のポリペプチド、及び/又はこれらを含む薬学的組成物を投与することを含む、方法に関する。

【0614】

別の態様では、本発明は、免疫療法、特に受動免疫療法に関する方法であって、本明細書中に記載の疾患及び障害を患っているか又はこれらの危険性のある被験体に、薬学的に活性のある量の本発明のアミノ酸配列、本発明のナノボディ、本発明のポリペプチド、及び/又はこれらを含む薬学的組成物を投与することを含む、方法に関する。

10

【0615】

上記の方法において、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及び/又はポリペプチド、及び/又はこれらを含む組成物は、使用される特定の薬学的製剤又は薬学的組成物に応じて任意の好適な方法で投与することができる。したがって、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及び/又はポリペプチド、及び/又はこれらを含む組成物は、例えば、この場合にも使用される特定の薬学的製剤又は薬学的組成物に応じて経口的、腹腔内（例えば、静脈内、皮下、筋内、又は消化管を回避した投与の任意の他の経路を介して）、鼻腔内、経皮、局所的に、坐薬を用いて、吸入によって投与することができる。臨床医は、予防又は治療すべき疾患又は障害、及び臨床医に既知の他の因子に応じて、好適な投与経路、及びこのような投与に使用される好適な薬学的製剤又は薬学的組成物を選択することができるであ

20

【0616】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及び/又はポリペプチド、及び/又はこれらを含む組成物は、予防又は治療すべき疾患又は障害の予防及び/又は治療に好適な治療計画に従って投与される。臨床医は一般的に、予防又は治療すべき疾患又は障害、治療すべき疾患の重症度及び/又はその症状の重症度、使用される本発明の特定のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチド、特定の投与経路、及び使用される薬学的製剤又は薬学的組成物、患者の年齢、性別、体重、食事、全身状態、並びに臨床医に既知の同様の因子等に応じて、好適な治療計画を決定することができるであろう。

【0617】

通常、治療計画には、1つ又は複数の薬学的に有効な量又は用量の1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及び/又はポリペプチド、又はこれらを含む1つ又は複数の組成物の投与が含まれるであろう。投与される具体的な量（複数可）又は用量はこの場合でも上記の因子に基づき臨床医によって決定することができる。

30

【0618】

通常、本明細書中に記載した疾患及び障害の予防及び/又は治療に関して、また治療すべき特定の疾患又は障害、使用される本発明の特定のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドの効力、特定の投与経路、及び使用される特定の薬学的製剤又は薬学的組成物に応じて、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは概して、1g/kg（体重）/日～0.01µg/kg（体重）/日、好ましくは、0.1g/kg（体重）/日～0.1µg/kg（体重）/日、例えば、約1µg/kg（体重）/日、10µg/kg（体重）/日、100µg/kg（体重）/日又は1000µg/kg（体重）/日の量で、連続して（例えば、点滴によって）、日々の単回用量として、又は1日の中の複数回の分割用量として投与されるであろう。臨床医は一般的に、本明細書中に記載の因子に応じて好適な日用量を決定することができるであろう。特定の場合には、例えば、上記の因子及び臨床医の専門的判断に基づきこれらの量から外れるように臨床医が選択することもあることが明らかであろう。一般的に、親和性/結合活性、有効性、体内分布、半減期及び当業者に既知の同様の因子の差異は考慮するものの、本質的に同様の経路を介して投与される、同様の標的に対する類似の従来抗体又は抗体断片に関して通常投与される量から、投与量に関する指針を幾らか得ることができる。

40

50

## 【0619】

通常上記の方法では、本発明の単一アミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを使用するであろう。しかしながら、2つ以上の本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及び/又はポリペプチドを組み合わせて使用することも本発明の範囲内である。

## 【0620】

本発明のナノボディ、アミノ酸配列及びポリペプチドは、1つ又は複数のさらなる薬学的に活性のある化合物又は成分と組み合わせて、即ち、相乗効果をもたらすことも又はもたらさないこともある複合治療計画として使用することもできる。この場合でも、臨床医は、上記の因子及び臨床医の専門的判断に基づき、このようなさらなる化合物又は成分、並びに好適な複合治療計画を選択することができるであろう。

10

## 【0621】

特に、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ及びポリペプチドは、本明細書中に記載の疾患及び障害の予防及び/又は治療に用いられるか又は用いることができる他の薬学的に活性のある化合物又は成分と組み合わせて使用してもよく、その結果、相乗効果が得られることも又は得られないこともある。このような化合物及び成分、並びにこれらを投与するための経路、方法及び薬学的製剤又は薬学的組成物の例は臨床医にとって明らかであろう。

## 【0622】

2つ以上の物質又は成分を複合治療計画の一環として使用する場合、これらは、同じ投与経路を介して又は異なる投与経路を介して、本質的に同じ時間で又は異なる時間で（例えば、本質的に同時に、連続して、又は交互に）投与することができる。物質又は成分を、同じ投与経路を介して同時に投与しようとする場合、当業者にとって明らかであるような、種々の薬学的製剤又は薬学的組成物、又は併せた薬学的製剤又は薬学的組成物の一部として投与してもよい。

20

## 【0623】

また、2つ以上の活性のある物質又は成分を複合治療計画の一環として使用する場合、化合物又は成分を単独で使用する場合に用いられるものと同様の量で、また同様の計画に従って、物質又は成分の各々を投与してもよく、このような併用によって、相乗効果がもたらされることも又はもたらされないこともある。しかしながら、2つ以上の活性のある物質又は成分の併用によって相乗効果がもたらされる場合には、所望の治療作用を達成しつつも、投与される物質又は成分の1つ、複数又は全ての量を低減することも可能である。これは、例えば、所望の薬学的効果又は治療効果を依然として得ると共に、一般的な量で使用される場合の物質又は成分の1つ又は複数の使用に関連するあらゆる望ましくない副作用を回避、制限又は低減するのに有用であり得る。

30

## 【0624】

本発明に従って使用される治療計画の有効性は、臨床医にとって明らかであるように、関与する疾患又は障害についてそれ自体が既知の任意の方法で決定及び/又は追跡される。臨床医はまた、必要に応じて及びケースバイケースで、特定の治療計画を変更又は修正し、それにより、所望の治療効果を達成し、望ましくない副作用を回避、制限又は低減し、及び/又は一方で所望の治療効果を達成することと、他方で望ましくない副作用を回避、制限又は低減することとの適切な均衡を達成することができる。

40

## 【0625】

通常、所望の治療効果が達成されるまで、及び/又は所望の治療効果が維持されている限りは、治療計画は続けられる。また、これは臨床医が決定することができるものである。

## 【0626】

別の態様において、本発明は、少なくとも1つのGPCR関連の疾患及び障害を予防及び/又は治療するため；及び/又は本明細書中に言及される1つ又は複数の治療方法に使用するための薬学的組成物の調製における本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドの使用に関する。

50

## 【0627】

治療すべき被験体とは、任意の温血動物であり得るが、具体的には哺乳動物、より具体的にはヒトである。当業者にとって明らかであるように、治療すべき被験体は、特に本明細書中に記載の疾患及び障害を患っているか又はこれらの危険性のあるヒトである。

## 【0628】

本発明はまた、本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを患者に投与することによって予防及び/又は治療することができる少なくとも1つの疾患又は障害を予防及び/又は治療するための薬学的組成物の調製における本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドの使用に関する。

## 【0629】

より具体的には、本発明は、GPCR関連の疾患及び障害を予防及び/又は治療するための、並びに特に本明細書中に列挙した疾患及び障害の1つ又は複数を予防及び治療するための薬学的組成物の調製における本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドの使用に関する。

## 【0630】

また、このような薬学的組成物では、1つ又は複数の本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドを、本明細書中に記載したものの等々の1つ又は複数の他の活性のある成分と好適に組み合わせてもよい。

## 【0631】

最終的に、本発明のナノボディ（本明細書中に規定）及び本発明のポリペプチドの使用がはるかに好ましいが、本明細書中の記載に基づき、当業者であれば、同様の方法で、他のアミノ酸配列、特にGPCRに対する他の（単一）ドメイン抗体、並びにこのような（単一）ドメイン抗体を含むポリペプチドを設計及び/又は生成することもできることは明らかであろう。

## 【0632】

例えば、本発明のナノボディに関して上記で記載されるCDRの1つ又は複数をヒトの骨格又は非免疫グロブリン骨格を含むがこれらに限定されないこのような（単一）ドメイン抗体又は他のタンパク質骨格上に「グラフト化（graft）」することが可能であり得ることは、当業者にとって明らかであろう。このようなCDRグラフト化の好適な骨格及び技法は当業者にとって明らかであり、当該技術分野において既知である。例えば、米国特許第7,180,370号、国際公開第01/27160号、欧州特許第0605522号、欧州特許第0460167号、米国特許第7,054,297号、Nicaise et al., Protein Science (2004), 13: 1882-1891、Ewert et al., Methods, 2004 Oct; 34 (2): 184-199、Kettleborough et al., Protein Eng. 1991 Oct; 4 (7): 773-783、O'Brien and Jones, Methods Mol. Biol. 2003: 207: 81-100、Skerra, J. Mol. Recognit. 2000: 13: 167-187、及びSaerens et al., J. Mol. Biol. 2005 Sep 23; 352 (3): 597-607、及び本明細書中に引用したさらなる参考文献を参照されたい。例えば、マウス又はラットのCDRをヒトのフレームワーク及び骨格上にグラフト化するそれ自体が既知の技法は、本発明のナノボディのCDRの1つ又は複数と、1つ又は複数のヒトフレームワーク領域又は配列とを含むキメラタンパク質をもたらすために同様に使用することができる。

## 【0633】

本発明のナノボディが、上記の好ましいCDR配列以外の1つ又は複数の他のCDR配列を含有する場合、これらのCDR配列は、それ自体が既知の任意の方法で、例えば、（好ましい）ナノボディ、従来の抗体由来の（特にヒト抗体由来の）V<sub>H</sub>ドメイン、重鎖抗体、従来の四本鎖抗体（例えば、従来のヒト四本鎖抗体）、又はGPCRに指向性を有する他の免疫グロブリン配列から得ることができることにも留意されたい。GPCRに指向性を有するこのような免疫グロブリン配列は、当業者にとって明らかであるようにそれ自体が既知の任意の方法で、即ち、GPCRによる免疫付与によって、又はGPCRを有する免疫グロブリン配列の好適なライブラリをスクリーニングすることによって、又は任意

10

20

30

40

50

の好適なこれらの組合せによって生成することができる。任意で、この後、ランダム又は部位特異的突然変異誘発のような技法、及び/又はそれ自体が既知の親和性成熟のための他の技法を続けてもよい。このような免疫グロブリン配列を生成する好適な技法は当業者にとって明らかであり、例えば、Hoogenboom, Nature Biotechnology, 23, 9, 1105-1116 (2005) に概説されるスクリーニング法が挙げられる。特定の標的に対する免疫グロブリンを生成する他の技法としては、例えば、ナノクローン技術(例えば、公開米国特許出願第2006-0211088号に記載)、いわゆるSLAM技術(例えば、欧州特許出願第0542810号に記載)、ヒト免疫グロブリンを発現するトランスジェニックマウスの使用、又は既知のハイブリドーマ技法(例えば、Larrick et al., Biotechnology, Vol. 7, 1989, p.934を参照)が挙げられる。全てのこれらの技法は、GPCRに対する免疫グロブリンを生成するのに使用することができ、かつこのような免疫グロブリンのCDRは、本発明のナノボディにおいて、即ち上記で概説されるように使用することができる。例えば、このようなCDRの配列は、全て本明細書中に記載されるもの等のそれ自体が既知の技法を用いて、決定、合成及び/又は単離して、本発明のナノボディの配列(例えば、対応する天然のCDRに取って代わるように)に挿入することができ、又は、ここでも同様に、本明細書中に記載の技法を用いて、このようなCDR(又はこのようなCDRをコードする核酸)を含有する本発明のナノボディをデノボ合成することができる。

10

#### 【0634】

本発明のアミノ酸配列、ナノボディ、ポリペプチド、核酸、遺伝子構築物、並びに宿主及び宿主細胞のさらなる使用は、本明細書中の開示に基づき当業者にとって明らかであろう。例えば、限定するものではないが、本発明のアミノ酸配列は、好適な担体又は固体支持体と連結することができ、組成物及び組成物を含む調製剤からGPCRを精製するそれ自体が既知の方法で使用することができる培地をもたらず。好適な検出可能な標識を含む本発明のアミノ酸配列の誘導体はまた、組成物若しくは調製剤中のGPCRの存在を(定性的に又は定量的に)確定するマーカーとして、又は(例えば、好適な細胞選別技法と組み合わせる)細胞若しくは組織の表面上のGPCRの存在を選択的に検出するマーカーとして使用することができる。

20

#### 【0635】

これより本発明は、以下の非限定的な実験部によりさらに説明される。

#### 【実施例】

30

#### 【0636】

##### 実験部

実施例1: CXCR4ナノボディの生成:

方法:

##### 細胞培養及びトランスフェクション

HEK293T細胞を、37°Cで、加湿雰囲気(5%CO<sub>2</sub>、95%空気)において、2mM L-グルタミン、50IU/mlのペニシリン、50µg/mlのストレプトマイシン及び10%(v/v)ウシ胎児血清を含有するダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)中に維持した。ジャーカット細胞を、加湿雰囲気(5%CO<sub>2</sub>、95%空気)において、2mM L-グルタミン、50IU/mlのペニシリン、50µg/mlのストレプトマイシン及び10%(v/v)ウシ胎児血清を含有するダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)とハムF12培地との1:1混合物中で培養した。

40

#### 【0637】

HEK293T細胞を、以前に記載されているように(Verzijl et al, Noncompetitive Antagonism and Inverse Agonism as Mechanism of Action of Nonpeptidergic Antagonists at Primate and Rodent CXCR3 Chemokine Receptors. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics (2008) 325(2):544-55)、担体として直鎖25kDaポリエチレンイミン(Polysciences, Warrington, PA)を用いて、一定量の全DNAで一時的にトランスフェクトした。ケモカイン受容体CCR5、CCR7、CXCR1、CXCR2、CXCR3及びCXCR7をコードするcDNA(cdna.org(Missouri S&T cDN

50

A ResourceCenter, Rolla, MO) から入手) を PCR によって増幅し、発現ベクターにクローニングした。

#### 【0638】

##### [<sup>125</sup>I] - 標識化

<sup>125</sup>I によるナノボディの放射性標識化を、ヨードゲン法 (Pierce, Rockford, IL) を用いて、製造業者のプロトコルに従って行った。<sup>125</sup>I - 標識ナノボディを、Sephadex G-25 ゲル濾過カラム (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) を用いて遊離ヨウ素から分離した (>99%)。ヨウ素取り込み及び特異的活性を、トリクロ酢酸によるタンパク質の沈殿によって調整した。myo - [<sup>2-3</sup>H] - イノシトール (10 Ci / mmol ~ 20 Ci / mmol) 及び [<sup>125</sup>I] - 標識 CXCL12 (2200 Ci / mmol) は、PerkinElmer Life and Analytical Sciences (Boston, MA) から入手した。

10

#### 【0639】

##### 競合結合アッセイ

CXCR3 又は CXCR4 を一時的に発現する HEK293T 細胞から膜を、トランスフェクションの48時間後に以下のように調製した。1 mM EDTA を含有する氷冷 PBS を用いて細胞を洗浄し、細胞培養皿から掻き取った。掻き取った細胞を、4 で10分間、1500 × g でペレット化した。ペレットを洗浄した後、氷冷膜バッファー (15 mM Tris (pH 7.5)、1 mM EGTA、0.3 mM EDTA 及び 2 mM MgCl<sub>2</sub>) 中に再懸濁した。細胞懸濁液を、テフロン (登録商標) - ガラスホモジナイザー及びローターを用いて、1200 rpm で10ストロークしてホモジナイズし、さらに液体窒素を用いる3回の凍結融解サイクルに供した。膜を4、40000 g で25分間の遠心分離によって分離した。膜ペレットを洗浄し、氷冷 Tris - スクロースバッファー (20 mM Tris (pH 7.4) 及び 250 mM スクロース) 中に再懸濁し、液体窒素中で凍結した。総タンパク質量をブラッドフォードアッセイ (Bio-Rad) を用いて求めた。

20

#### 【0640】

ペリプラズム (1:10) 又はリガンドを、0.5% BSA を添加した結合バッファー (50 mM HEPES (pH 7.4)、1 mM CaCl<sub>2</sub>、5 mM MgCl<sub>2</sub>、100 mM NaCl、0.5% ウシ血清アルブミン) 中で22 で1時間膜と共にプレインキュベートし、その後 [<sup>125</sup>I] - CXCL12 (40 pM) 又は [<sup>125</sup>I] - 238D2 (3 nM) 又は [<sup>125</sup>I] - 238D4 (3 nM) を22 でさらに2時間、添加した。非特異的結合を、AMD3100 (3 μM) の存在下で求めた。次いで、膜をポリエチレンイミン (0.5%) 処理ワットマン GF/C フィルタープレート上で回収し、500 mM NaCl を含有する氷冷結合バッファーで3回洗浄した。プレートを液体シンチレーションによってカウントした。

30

#### 【0641】

##### イノシトールリン酸蓄積アッセイ

p cDNA 3.1 - CXCR4 及び p cDNA 1 - HA - mG<sub>q i 5</sub> (Verziji et al, 2008 (同上) を参照されたい) によるトランスフェクションの24時間後、250000個の細胞を、24ウェルプレート中に播種し、1 μCi の myo - [<sup>2-3</sup>H] - イノシトールを添加した、イノシトールを含まない最小必須培地を用いて一晚標識した。翌日、細胞を1回洗浄して、取り込まれなかった myo - [<sup>2-3</sup>H] - イノシトールを除去した。アンタゴニスト実験においては、細胞をアッセイ培地 (20 mM HEPES、140 mM NaCl、5 mM KCl、1 mM MgSO<sub>4</sub>、1 mM CaCl<sub>2</sub>、10 mM グルコース及び 0.05% (w/v) ウシ血清アルブミン、pH 7.4) 中で、37 で1時間試験化合物と共にプレインキュベートし、その後37 でさらに2時間、LiCl (10 mM) 及び CXCL12 (30 nM) で刺激した。アゴニスト実験においては、細胞をアッセイバッファー中、37 で2時間、試験化合物及び LiCl (10 mM) で直接刺激した。刺激培地を吸引し、10 mM 氷冷ギ酸を添加することによって刺激を

40

50

停止した。蓄積したイノシトールリン酸を、陽イオン交換クロマトグラフィによって単離し、液体シンチレーションによってカウントした。

#### 【0642】

##### CREレポーター遺伝子アッセイ

HEK239T細胞を、pCRE/ $\beta$ -ガラクトシダーゼ (Chen W, Shields TS, Stork PJS, Cone RD (1995) Anal Biochem 226:349-354)、及び指定の受容体をコードするプラスミド (pcDEF<sub>3</sub>又はpcDNA3.1) でトランスフェクトした。1ウェル当たり40000個のトランスフェクト細胞を、96ウェルプレート中に播種し、10%ウシ胎児血清を添加したDMEM中で培養した。培地をトランスフェクションの32時間後に、0.5%ウシ血清アルブミン及び指定のリガンドを添加した無血清DMEMと交換した。リガンドインキュベーションの16時間後、培地を除去し、細胞を100 $\mu$ lのアッセイバッファー (100mMリン酸ナトリウムバッファー (pH8.0)、4mM 2-ニトロフェノール - D-ピラノシド、0.5% Triton X-100、2mM MgSO<sub>4</sub>、0.1mM MnCl<sub>2</sub>及び40mM  $\beta$ -メルカプトエタノール) 中に溶解し、室温でインキュベートした。フォルスコリン (3 $\mu$ M) 対照のOD<sub>420</sub>値が0.4~0.6に達した場合、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性を、アッセイバッファーとのインキュベーション後、Powerwave X340プレートリーダー (Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT) を用いた420nmでの吸光の測定によって求めた。

10

#### 【0643】

##### 走化性アッセイ

ジャーカット3D細胞の走化性反応を、Chemotax (商標) プレート (Receptor Technologies Ltd., Oxon, UK) (上部細胞含有コンパートメントと下部化学誘引物質含有コンパートメントとが、ポリビニルピロリドンフリーのポリカーボネートフィルター (孔径5 $\mu$ m) によって隔てられている) を用いて評価した。細胞を回収し、洗浄して、0.5%ウシ血清アルブミンを含有するRPMI中に再懸濁した後、25 $\mu$ l容量の1ウェル当たり150000個の細胞を、走化性チャンバーの上部コンパートメントに投入した。膜を通して移動する細胞を刺激するために、指定の濃度のCXCL12及び/又は試験化合物を31 $\mu$ lの最終容量で、下部コンパートメントに投入した (アゴニスト実験)。アンタゴニスト性の特性化については、AMD3100又は試験化合物を、下部CXCL12 (300pM) 含有コンパートメントに投入し、上部コンパートメントの細胞と共にさらにプレインキュベートした。走化性チャンバーを37 $^{\circ}$ C、100%湿度、5%CO<sub>2</sub>で4時間インキュベートした。下部コンパートメントの各々に移動する細胞の数を、カルセインAMとのインキュベーション、及び1ウェル当たり0個~50000個のジャーカット3D細胞による較正に続く、535nmでの蛍光測定によって求めた。

20

30

#### 【0644】

##### HIV-1感染アッセイ

CXCR4使用 (X4) HIV-1分子クローンNL4.3は、National Institutes of Health NIAID AIDS Reagent program (Bethesda, MD) から入手し、CCR5使用 (R5) HIV-1株BaLは、Medical Research Council AIDS reagent project (Herts, UK) から入手した。二重指向性 (R5/X4) HIV-1 HE株は当初、ルーベン大学病院 (University Hospital in Leuven) の患者から単離され、MT-4細胞中で日常的に培養されている (Pauwels R, Andries K, Desmyter J, Schols D, Kukla MJ, Breslin HJ, Raeymaeckers A, Van Gelder J, Woestenborghs R, Heykants J. Potent and selective inhibition of HIV-1 replication in vitro by a novel series of TIBO derivatives. Nature 1990; 343:470-474)。MT-4細胞を96ウェルプレート上に、U87細胞を24ウェルプレート上に播種した。試験化合物をHIV-1と共に種々の濃度で添加し、プレートを37 $^{\circ}$ Cで10%CO<sub>2</sub>中に維持した。ウイルスによって誘導される細胞変性効果を、ウイルス感染細胞培養物の毎日の微視的評価によってモニタリングした。感染後4日~5日目に、陽性対照 (即ち、未処理HIV感染細胞) において強い細胞変性効果が観察され、細胞生存率を、Cell Titer 96 (登録商標) Aqueous One

40

50

S o l u t i o n 細胞増殖アッセイ (Promega, Madison, WI) を用いて、テトラゾリウム化合物 M T S の i n s i t u 還元によって評価した。次いで、96 ウェルプレートリーダー (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) を用いて、490 nm で分光光度法によって吸光度を測定し、4 つの細胞対照複製物 (replicates) (ウイルス及び薬物を含まない細胞) 並びに 4 つのウイルス対照ウェル (薬物を含まないウイルス感染細胞) と比較した。50% 阻害濃度 (I C<sub>50</sub>、即ち、H I V 誘導性細胞死を 50% 阻害する薬物濃度) を、各々の化合物について用量応答曲線から算出した。各々の化合物の C C<sub>50</sub> 又は 50% 細胞毒性濃度を、上記の M T S 法によって測定されるように、薬剤に曝露された非感染細胞の生存率の低下から求めた。

【0645】

末梢血単核細胞 (P B M C) を、密度勾配遠心分離法 (L y m p h o p r e p ; Nycomed Pharma, AS Diagnostics, Oslo, Norway) によって健常ドナーから単離し、フィトヘムアグルチニン (P H A) (Sigma Chemical Co., Bornem, Belgium) で 3 日間刺激した。活性化細胞 (P H A で刺激した芽球) を P B S で洗浄し、ウイルス感染を以前に記載されているように (Schols D, Struyf S, Van Damme J, Este JA, Henson G, De Clercq E. Inhibition of T-tropic HIV strains by selective antagonization of the chemokine receptor CXCR4. J Exp Med 1997; 186:1383-1388) 行った。感染開始後 8 日 ~ 10 日目に、ウイルス p 2 4 A g を、酵素結合免疫吸着アッセイ (Perkin Elmer, Brussels, Belgium) によって培養上清中で検出した。

【0646】

データ分析及び提示

データは、n 回の独立実験からの平均 ± 標準誤差として提示する。濃度応答曲線 (E / [A] 曲線) を、逐次最小二乗法 (G r a p h P a d P r i s m 4 . 0 ; GraphPad Software, San Diego, CA) を用いてヒルの式に当てはめ、最大阻害効果 (I<sub>m a x</sub>)、50% 効果濃度 (E C<sub>50</sub>) 又は 50% 阻害濃度 (I C<sub>50</sub>) を得た。競合結合親和性及び機能的アンタゴニスト親和性 (p K<sub>i</sub>) を、チェン - ブルソフ式:  $p K_i = I C_{50} / (1 + [アゴニスト] / E C_{50})$  (Cheng & Prusoff, 1973) を用いて算出した。任意で、アンタゴニスト親和性を、式:  $p K_B = - \log [アンタゴニスト] + \log (C R - 1)$  (式中、C R はアンタゴニストの存在下及び非存在下でのアゴニスト E C<sub>50</sub> の比率を表す) に基づき、Arunlakshana and Schild (1959) の方法を用いて p K<sub>B</sub> 値として表した。

【0647】

結果を、スチューデントの t 検定又は一元配置分散分析、その後多重比較を行う場合には、段階的比較のためのボンフェローニ補正 t 検定を用いて比較した。0.05 未満の P 値を有意であると見なした。

【0648】

シーケンス標的 (SEQUENCE TARGETS) :

異名: C X C R - 4 / ストロマ細胞由来因子 1 受容体 (S D F - 1 受容体) / フェシン / 白血球由来 7 回膜貫通ドメイン受容体 (L E S T R) / L C R 1 / F B 2 2 / N P Y R L / H M 8 9 / C D 1 8 4 抗原

【0649】

ヒト C X C R 4 を選択に使用した:

【0650】

表 B - 1 : ヒト配列に対する相同性:

マカク 95%、ブタ 92%、イヌ 93%、ウサギ 91%、マウス 88%、ニワトリ 80%

10

20

30

40

【表 27】

アミノ酸配列	クローン名	配列番号
MEGISSIPLPLLQIYTSADNYTEEMGSGDYDSMKEP CFREENANFNKIFLPTIYSIIFLTGIVGNGLVILVMG YQKKLRSMMDKYRLHLSVADLLFVITLFWAVD AVANWYFGNFLCKAVHVIYTVNLYSSVLILAFIS LDRYLAIHVHATNSQRPRKLLAEKVVYVGVWIPAL LLTIPDFIFANVSEADDRYICDRFYPNDLWVVVFQ FQHIMVGLILPGIVILSCYCIISKLSHSGHQRKA LKTTVILILAFFACWLPYYIGISIDSFILLEIHKQGCE FENTVHKWISITEALAFFHCCLNPILYAFLGAKFK TSAQHALTSVSRGSSLKILSKGKRGGHSSVSTESE SSSFHSS	HUMAN gi 3059120 emb CA A12166.1  CXCR4 [Homo sapiens]	254
IYTSADNYTEEMGSGDYDSIKEPCFREENAHFNRIF LPTIYSIIFLTGIVGNGLVILVMGYQKKLRSMMDK YRLHLSVADLLFVITLFWAVDAVANWYFGNFL CKAVHVIYTVNLYSSVLILAFISLDRYLAIHVHATN SQKPRKLLAEKVVYVGVWIPALLLTIPDFIFASVS EADDRYICDRFYPNDLWVVVFQFQHIMVGLILPG IVILSCYCIISKLSHSGHQRKALKTTVILILAFF ACWLPYYIGISIDSFILLEIHKQGCEFENTVHKWIS ITEALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKTSAQHALTSV SRGSSLKILSKGKRGGHSSVSTESESSSFHSS	MACACA6 gi 9587708 gb AAF8 9346.1 AF172226_1 chemokine receptor CXCR4 [Macaca nemestrina]	255
MEELHIYPSADNYTEEDLGSGDYDSMKEPCFREEN AHFNRIPLPTVYSIIFLTGIVGNGLVILVMGYQKKL RSMMDKYRLHLSVADLLFVLTLPFWAVEAVANW YFGNFLCKAVHVIYTVNLYSSVLILAFISLDRYLAI VHATNSQRPRKLLAEKVVYVGVWIPALLLTIPDFI FANVREADDRYICDRFYPNDSWLVVFQFQHIMV	DOG gi 114149257 sp Q3LSL 6.1 CXCR4_CANFA C- X-C chemokine receptor type 4 (CXC-R4) (CXCR-4) (CD184 antigen)	256

10

20

30

GLILPGIVILSCYCIISKLSHSGYQKRKALKTTVI LILAFFACWLPYYIGISIDSFILLEIIKQGCEFEKTV HKWISITEALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKTSAQH ALTSVSRGSSLKILSKGKRGGHSSVSTESESSSFHS S			
MDGFRIFTS DNYTEDDLGSGDYDSIKEPCFREENA HFNRIFLPTVYSIIFLTGIVGNGLVILVMGYQKKLR SMTDKYRLHLSVADLLFVLTLPFWAVDAVANW YFGKFLCKAVHVIYTVNLYSSVLILAFISLDRYLAI VHATNSQRPRKLLAEKVYVGVWIPALLLTIPDFI FANVREGDGRYICDRFYPNDLWLVVFQFQHIMV GLILPGIVILSCYCIISKLSHSGYQKRKALKTTVI LILAFFACWLPYYIGISIDSFILLEIQQGCEFESTVH KWISITEALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKTSAQHA LTSVSRGSSLKILSKGKRGGHSSVSTESESSSFHSS	PIG gi 71493324 gb AAZ 32767.1  CXCR4 [Sus scrofa]	257	10
MDGLDLSSGILIEFADNGSEEIGSADYGDYGEPCF QHENADFNRIFLPTIYSIIFLTGIIGNGLVIIVMGYQ KKQRSMTDKYRLHLSVADLLFVITLPFWSVDAAI SWYFGNVLCKAVHVIYTVNLYSSVLILAFISLDRY LAI VHATNSQRPRKLLAEKIVYVGVWLPVLLTV PDIIFASTSEVEGRYLCDRMYPHDNWLISFRFQHI LVGLVLPGLIILTCYCIISKLSHSGHQRKALKT TVILILTFACWLPYYIGISIDTFILLGVIRHRCSLD TIVHKWISITEALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKTSA QNALTSVSRGSSLKILSKSKRGGHSSVSTESESSSF HSS	CHICK gi 9954428 gb AAG0 9054.1 AF294794_1 chemokine receptor CXCR4 [Gallus gallus]	258	20  30
TSDNYTEELGSGDYDSIKEPCFREENA HFNRIFLP TIYSIIFLTGIVGNGLVILVMGYQKKQRSMTDKYR LHLSVADLLFVITLPFWAVDAVANWYFGKFLCK AVHVIYTVNLYSSVLILAFISLDRYLAI VHATNSQ KPRKLLAEKVYVGVWIPALLLTIPDFIFANVREA EGRYICDRFYPSDLWVVVFQFQHIMVGLILPGIVI	RABBIT gi 161177115 gb ABX59 689.1  chemokine receptor CXCR4 [Oryctolagus cuniculus]	259	40

LSCYCHISKLSHSHKQKRKALKTTVILILAFFAC WLPYYIGISIDSFILLEIKQGCEFENTVHKWISITE ALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKTSAQHALTSVSR GSSLKILSKGKRGGHSSVSTES		
MEPISVSIYTSNDYSEEVGSGDYDSNKEPCFRDEN VHFNRIFLPTIYFIIFLTGIVGNGLVILVMGYQKKL RSMTDKYRLHLSVADLLFVITLFWAVDAMADW YFGKFLCKAVHIYTVNLYSSVLILAFISLDRYLAI VHATNSQRPRKLLAEKAVYVGVWIPALLLTIPDFI FADVSQGDISQGDRIYCDRLYPDSLWMVVFQF QHIMVGLILPGIVILSCYCHISKLSHSHKQKRKA LKTTVILILAFFACWLPYYVIGISIDSFILLGVKQG CDFESIVHKWISITEALAFFHCCLNPILYAFLGAKF KSSAQHALNSMSRGSSLKILSKGKRGGHSSVSTES ESSSFHSS	MOUSE1 gi 2494970 sp P7065 8.2 CXCR4_MOUS E C-X-C chemokine receptor type 4 (CXC-R4) (CXCR- 4) (Stromal cell- derived factor 1 receptor) (SDF-1 receptor) (Fusin) (Leukocyte-derived seven transmembrane domain receptor) (LESTR) (Pre-B- cell-derived chemokine receptor) (PB-CKR) (CD184 antigen)	260

10

20

30

【 0 6 5 1 】

配列：

【 0 6 5 2 】

表 B - 1 . 1 : 選択されたナノボディの配列：

【表 2 8】

アミノ酸配列	クローン名	配列番号
EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTFSSYAM SWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGR FTISRDNAMNMLYLQMYSLKPEDTAVYYCAKSR VSRTGLYTYDNRGQGTQVTVSS	238C1,D2 or 238D2	238
EVQLMESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFNHYA MGWFRRAPGKEREVFAAITRSGVRSVSAIYGDS VKDRFTISRDNAMNTLYLQMNSLKPEDTAVYTC AASAIGSGALRRFEYDYSGQGTQVTVSS	238D4,G3 or 238D4	239
KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFASIHMT SWVRQAPGKGPVSTIKPSGDTTNYANAVKGR FTISRDNAMNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAKDY FGTGVRGQGTQVTVSS	237B5	240
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYA MSWVRQAPGKGLEWVSAISWNGGSTDYADSVK GRFTISRDNAMNTLYLQMNSLKSEDTAEYYCARD QGPFFYSGTYYYTRQYGYRGQGTQVTVSS	237B6,A5,D2,D3,E4 ,F4,G2,G4,xH5,237F 1,C5,G1	241
EVQLVESGGGFVQAGGSLRLSCETSGRPLLGYTI AWFRQVPGKEREVFAVYHRWSDGANLYADSVKGR RFTISGHNAKNTVSLQMNSLKPEDTAVYYCAAA RMTTSNDKEYLYWGQGTQVTVSS	238B10	242
EVQLVESGGGFVQAGGSLRLSCETSGRPLLGYTI AWFRQVPGKEREVFAVYHRWSDGANLYADSVKGR RFTISGHNAKNTVSLQMNSLKPEDTAVYYCAAA WMTTSNDKEYLYWGQGTQVTVSS	238F7	244
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGLTFSPSAM AWYRQPGKERDFVASTIWSRGDTYFADSVKGR FTISRDTANYTLYLQMNNLKPEDTAVYYCSLRVR PYGQYDYWGQGTQVTVSS	238H2	245

10

20

30

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYA MSWVRQAPGKGLEWVSAISWNGGSADYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNSLKSEDTAVYYCAK DQGPFFYSGTYYYTKGYAYWGQGTQVTVSS	237D4	246
EVQLVESGGGLAQAAGGSLRLSCAASGRTYAMG WFRQAPGKEREVTTSLRLITDNIYADSVKGRFTL TRDNGKNTVYVLQMDSLKPDDTAVYFCAARQNY SRSVFGAKDYDYWGQGTQVTVSS	238F3	247
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIFSLNAM GWYRQAPGKQRELVAGITSSTSTYYADSVKGRFT ISRDNKNTVYVLQMNSLKPEDTAVYYCNVDCPD YYSDYECPLEDRGQGTQVTVSS	237A6	248
EVQLVESGGGLAQPGGPLRLTCEASGVIYSVNDM GWYRQAPGKQRELVAVITSGGGTNYVDSVKGRF TISGDNRKKTVYVLQMNSLKPEDTAVYYCSIYYSS GISTLRSWGQGTQVTVSS	237D1	249
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEVSGFTRDYITI GWFRQAPGKEREVSCISSSDGSTAYLGSVQGRF TVSRDNAKNTVYVLQMNNLKPEDTAVYYCALBSA DSRCSIGSIGFTWLYNNWGQGTQVTVSS	237E1	250
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASSFIGNYHAIV WLRQAPGKELEGVSCITSRDSITYYASFVKGRFTI SRDDAKNTVYVLQMNNLKPEDTAVYYCAVBTSM TCPTLIVRFNYRGQGTQVTVSS	237G7	251
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCKASGGTFNNYA MGWFRRAPGKEREVAAITRSGVRSVSAIYGDS VKDRFTISRDNVKNLTYLQMNTLKPEDTAVYTC AASAIGSGALRRFEYDYSGQGTQVTVSS	238C4	252
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSFFSINAM GWYRQAPGKQRELVASITSGGSTVYADSVKGRF TISRDNNTVYVLQMNSLKPEDTAVYYCNADGVP EWGKVQYPDTYRGQGTQVTVSS	237C1	253
EVQLMESGGGLVQAGGSLRLACAASGFTFEDYAI GWFRKAPGKEREVSCISGSDGSTTYADSVKGRF TISTDNAKNTVYLEMNSLKPEDTAVYYCAQQYG VGGRVVCPPYEYDVWGQGTQVTVSS	238C5,G2,xH5,238C 3,D6,E6	243

10

20

30

40

## 【 0 6 5 3 】

実施例 1 . 1 : 免疫付与

免疫付与のために、ヒトCXCR4を一時的に発現するHEK293細胞(ヒト胎児腎臓)を「抗原」として使用した。

50

## 【0654】

2頭のラマを、標準的なプロトコルに従って、0日目、7日目、21日目、32日目、43日目及び56日目に細胞（ $1 \times 10^7$ 個の細胞）で6回の追加免疫を行うことによって免疫付与した。6回目の追加免疫後4日目及び8日目に、これらの動物から血液を採取した。

## 【0655】

## 実施例1.2：ライブラリ構築

製造業者の取扱説明書に従ってフィコール・ハイパークを使用して、末梢血単核細胞を血液試料から調製した。次に、全RNAをこれらの細胞及びリンパ節弓（bow）細胞から抽出し、RT-PCRの出発材料として使用し、ナノボディをコードする遺伝子断片を増幅した。これらの断片をファージミドベクターpAX50にクローニングした。ファージを標準的な方法に従って調製し（例えば本明細書中で言及された従来技術及び出願人によって提出された出願を参照されたい）、さらなる使用（ファージライブラリ217及び218の作製）のために4で保存した。

## 【0656】

## 実施例1.3：2回のトリプシン溶出を用いた選択

CXCR4を認識するナノボディを同定するために、ファージライブラリ（217、218）をファージディスプレイ選択において使用した。

## 【0657】

hCXCR4は内在性膜貫通タンパク質であるため、hCXCR4の天然立体構造を保存することが不可欠である。したがって、ファージディスプレイ選択は、hCXCR4を過剰発現するCHO細胞及びCOS7細胞の細胞膜調製物に対して行った。膜を4で一晩、Maxisorpプレート上に塗布した（100ulのPBS中10ug）。

## 【0658】

翌日、4%ミルク-PBS中で1時間ブロックした後、ライブラリからのファージを、1%ミルク-PBS及び非関連GPCRを発現するCHO膜調製物の存在下（及び並行して非存在下）で、塗布した膜と共にインキュベートした。2時間のインキュベーションの後、プレートをPBSで十分に洗浄した。洗浄後、結合したファージをトリプシン（1ug/ml）を用いて室温で15分間溶出した。

## 【0659】

ファージを回収し（rescued）、TG1中で通常通り再増幅して、R1ポリクローナルファージを得た。

## 【0660】

これらのR1ファージを、1回目と同様の（唯一の違いは、1回目でCHO-CXCR4膜に対して選択したファージをCOS7-CXCR4膜にも使用して、入れ替えた（reverse）ことである）2回目の選択に使用した。この独自の戦略によって、非CXCR4特異的ファージの除去（depletion）が可能となる。2時間のインキュベーションの後、プレートをPBSで十分に洗浄し、結合したファージをトリプシン（1ug/ml）を用いて室温で15分間溶出した。

## 【0661】

R2選択の産出物（Output）を、濃縮係数（対照と比較して、溶出液中に存在するファージ）について分析した。これらのパラメータに基づき、最良の選択をさらなる分析のために選択した。ポリクローナル産出物をTG1において回収し、個々のTG1コロニーを取り出し、96ディープウェルプレート（1ml容）中で培養して、モノクローナルファージ（ヘルパーファージの添加）又はモノクローナル（IPTGの添加）を産生させ、ペリプラズム画分を作製した。ペリプラズム抽出物（容量：約90ul）を、標準的な方法に従って調製した（例えば本明細書中で言及された従来技術及び出願人によって提出された出願を参照されたい）。

## 【0662】

選択の概略図は図1に見ることができる。

10

20

30

40

50

## 【0663】

略称：

CHO - CXCR4 はヒトCXCR4で一時的にトランスフェクトしたCHO (チャイニーズハムスター卵巣) 細胞の膜であり、COS7 - CXCR4 はヒトCXCR4で一時的にトランスフェクトしたCOS7 (サル細胞) 細胞の膜であり、R1は1回目の選択であり、R2は2回目の選択であり、対抗選択とは、CHO膜 (CXCR4を発現しない) の存在下で選択を行ったことを意味し、リガンドはCXCL12 / SDF1 (100 u l のPBS中3 u g) であり、アンタゴニストはAMD3100 (50 u M) であり、抗体は12G5 (100 u l のPBS中5 u g) である。

## 【0664】

実施例1.4：2回の特異的 (競合的) 溶出を用いた選択

非特異的トリプシン溶出の代替手段は、化合物の結合部位に結合するファージの溶出 (競合) に、特異的CXCR4結合化合物を使用することである。この場合、2.5 u gの膜調製物を4で一晚、100 u lのPBS中で塗布し、溶出を過剰の：

CXCR4に対する天然リガンドであるCXCL12 / SDF1 (100 u lのPBS中3 u g)、

既知の化学的アンタゴニストであるAMD3100 (50 u M) (Sigma Aldrich製)

、  
既知の中和抗体である12G5 (100 u lのPBS中5 u g) (R&D System製) によって室温で30分間行った。

## 【0665】

溶出したファージを回収し、TG1中で通常通り再増幅して、R1ポリクローナルファージを得た。

## 【0666】

これらのR1ファージを、1回目と同様の (唯一の違いは、1回目でCHO - CXCR4膜に対して選択したファージをCOS7 - CXCR4膜にも使用して、入れ替えたことである) 2回目の選択に使用した。この独自の戦略によって、非CXCR4特異的ファージの除去が可能となる (膜特異的)。2時間のインキュベーションの後、プレートをPBSで十分に洗浄し、結合したファージを1回目と同様に溶出した。このように、2回のAMD3100に加えて2回のCXCL12 / SDF1を行った。

## 【0667】

R2選択の産出物を、濃縮係数 (対照と比較して、溶出液中に存在するファージ) について分析した。これらのパラメータに基づき、最良の選択をさらなる分析のために選択した。ポリクローナル産出物をTG1において回収し、個々のTG1コロニーを取り出し、96ディープウェルプレート (1 ml 容) 中で培養して、モノクローナルファージ (ヘルパーファージの添加) 又はモノクローナル (IPTGの添加) を産生させ、ペリプラズム画分を作製した。ペリプラズム抽出物 (容量：約90 u l) を、標準的な方法に従って調製した (例えば本明細書中で言及された従来技術及び出願人によって提出された出願を参照されたい)。

## 【0668】

実施例1.5：結合のスクリーニング

ナノボディの結合特異性を求めるために、15 u lの産生したファージをファージELISA結合アッセイにおいて試験した。

## 【0669】

簡潔に述べると、CXCR4を発現する膜 (CHO - CXCR4) 又は非関連GPCRを発現する膜 (CHO) のいずれか (100 u lのPBS中2 u g) を、Maxisorpマイクロタイタープレート (Nunc) 上に直接、4で一晚塗布した。自由結合部位を、PBS中4% Marvelを用いて1時間ブロックした。次いで、15 u lのモノクローナルファージを、100 u lの1% Marvel / PBSで2時間添加した。インキュベーション及び十分なPBS洗浄工程の後、抗M13 - HRP O抗体を用いてファージ

10

20

30

40

50

結合を明らかにした。結合特異性 (CHO - CXCR4 への結合) を、対照 (CHO への結合) と比較した OD 値に基づいて求めた。

#### 【0670】

一例を図2に示す。

#### 【0671】

実施例1.6: [<sup>125</sup>I] - CXCL12 の置換による CXCR4 結合ナノボディのスクリーニング

180個のクローンを分析し、それらのペリプラズム画分を CXCR4 競合結合アッセイを用いてスクリーニングした。CXCR4 を一時的に発現する HEK293T 細胞に由来する膜を用いた一次スクリーニングにおいては、クローンのおよそ13%が、CXCR4 への結合について放射性標識化内因性 CXCR4 リガンド [<sup>125</sup>I] - CXCL12 と競合し、少なくとも30%の特異的 [<sup>125</sup>I] - CXCL12 結合の阻害をもたらすことが見出された (図3)。合計して (A total amount of) 5つのクローン (およそ3%) が、特異的 [<sup>125</sup>I] - CXCL12 結合を強く (70%超) 阻害する。CXCR4 とは異なる膜タンパク質に指向性を有するナノボディを発現する対照ファージについては阻害は観察されなかった。一次スクリーニングでヒットしたものを全て、二次スクリーニングで確認し (図3b)、それにより CXCL12 を置換するナノボディを産生するクローンの V<sub>H</sub>H コード DNA をシーケンシングした。シーケンシング分析によって、[<sup>125</sup>I] - CXCL12 を強く (2つのプール) 又は部分的に (5つのプール) 置換する、同一の又は非常に良く似たクローンの7つのプールが得られる (表B-2)。これらのプールを代表するナノボディ、即ち237A6、237D1、237D2、237G7、238C5、238D2及び238D4を精製し、さらに薬理的に分析した。

#### 【0672】

CXCR4 に結合するナノボディの特性化

精製の後、237A6、237D1、237D2、237G7、238C5、238D2及び238D4についての受容体結合特性を、一時的に CXCR4 を発現する HEK293T 細胞に由来する細胞膜上で調査した。ナノボディ238D2及び238D4は、特異的に結合した [<sup>125</sup>I] - CXCL12 の全てを完全に置換し、CXCR4 に対して低ナノモル範囲の親和性を示す (表2)。他の全てのナノボディは、0.5 μM という最も高い試験濃度であっても、[<sup>125</sup>I] - CXCL12 を置換することはできなかった (237A6、237D1、237D2、237G7及び238C5) (図4A; 表B-3)。

#### 【0673】

この2つの [<sup>125</sup>I] - CXCL12 を強く置換するナノボディ (238D2及び238D4) の CXCR4 に対する結合特性をさらに調査するため、<sup>125</sup>I 標識ナノボディを競合結合研究のために作製した。[<sup>125</sup>I] - 238D2及び[<sup>125</sup>I] - 238D4の両方が、CXCR4 を一時的に発現する HEK293T 細胞に由来する膜に、CXCR3を発現する細胞に由来する膜と比べて選択的に結合する (図4D)。238D4による [<sup>125</sup>I] - 238D2の完全な置換、及び238D2による [<sup>125</sup>I] - 238D4結合の完全な阻害によって示されるように、両方のナノボディが CXCR4 への結合について競合する (図4B、図4C)。さらに、小分子リガンド AMD3100 は、[<sup>125</sup>I] - CXCL12 に対して得られる親和性に匹敵する親和性をもって、[<sup>125</sup>I] - 238D2及び[<sup>125</sup>I] - 238D4を置換し (表B-3)、AMD3100も同じ受容体についてナノボディ238D2及び238D4と競合することが示唆される。CXCR4 の或る特定の亜集団を標識することが以前に報告されている (J. Virol. Baribaud et al. 75 (19): 8957) モノクローナル抗体 12G5 は、特異的に結合した [<sup>125</sup>I] - CXCL12、[<sup>125</sup>I] - 238D2及び[<sup>125</sup>I] - 238D4を CXCR4 から、強くではあるが不完全にしか置換しない。237A6、237D1、237D2及び237G7は、CXCR4 への [<sup>125</sup>I] - 238D2又は[<sup>125</sup>I] - 238D4の結合を阻害することができなかった。238C5は、[<sup>125</sup>I] - 2

10

20

30

40

50

38D2及び[<sup>125</sup>I]-238D4を置換するが、高濃度(100nM以上)の[<sup>125</sup>I]-CXCL12を置換せず、このナノボディが低親和性のアロステリックなCXCR4リガンドとして受容体に結合することが示唆される(図4B、図4C)。

【0674】

表B-2:

[<sup>125</sup>I]-CXCL12を置換するナノボディクロンのスクリーニング及びシーケンシング。結合効率は、CXCR4を一時的に発現するHEK293T細胞に由来する膜上で、[<sup>125</sup>I]-CXCL12との競合結合によって求めた。

【表29】

プール	クローン	結合 <sup>a</sup>
237A6	237A6	+
237D1	237D1	+
237D2	237B6、237C1、237C5、237D2、237D4、237E4、237F4、237H1、237G1、237G4、237H5	-/+
237G7	237G7	+
238C5	238C5、238D6、238E6	+
238D2	238C1、238D2	++
238D4	238C4、238D4、238G3	++

10

20

<sup>a</sup> - = 0%~29%; + = 30%~69%; ++ = 70%~100%。

【0675】

表B-3:

一価ナノボディ及びCXCR4参照リガンドについての[<sup>125</sup>I]-CXCL12、[<sup>125</sup>I]-238D2及び[<sup>125</sup>I]-238D4の受容体親和性(pK<sub>i</sub>)及び最大置換度。実験は、CXCR4を一時的に発現するHEK293T細胞に由来する膜上で行った。データは平均±標準誤差として示す。実験の回数はnとして示す。

【表 3 0】

	$[^{125}\text{I}]$ -CXCL12			$[^{125}\text{I}]$ -238D2			$[^{125}\text{I}]$ -238D4		
	置換度 (%)	$pK_i$	n	置換度 (%)	$pK_i$	n	置換度 (%)	$pK_i$	n
238D2	93±5	8.01 ±0.12	6	97±6	8.41 ±0.11	4	105±4	8.23 ±0.23	4
238D4	99±5	8.22 ±0.16	6	101±1	8.80 ±0.23	4	103±1	8.55 ±0.09	4
237A6	0 <sup>a</sup>	<6.3	4	0 <sup>a</sup>	<6.3	2	0 <sup>a</sup>	<6.3	2
237D1	0 <sup>a</sup>	<6.3	3	0 <sup>a</sup>	<6.3	2	0 <sup>a</sup>	<6.3	2
237D2	0 <sup>a</sup>	<6.3	4	0 <sup>a</sup>	<6.3	2	0 <sup>a</sup>	<6.3	2
237G7	0 <sup>a</sup>	<6.3	4	0 <sup>a</sup>	<6.3	2	0 <sup>a</sup>	<6.3	2
238C5	0 <sup>a</sup>	<6.3	4	45±5 <sup>b</sup>	<7.0	3	38±4 <sup>b</sup>	<7.0	3
116B2	0 <sup>a</sup>	<6.3	2	0 <sup>a</sup>	<6.3	2	0 <sup>a</sup>	<6.3	2
CXCL12	105±2	9.84 ±0.13	3	98±8	7.46 ±0.17	4	93±2	7.45 ±0.12	4
AMD3100	94±2	7.41 ±0.28	3	102±1	7.74 ±0.19	4	99±4	7.34 ±0.16	4
12G5	54±5 <sup>c</sup>	9.19 ±0.19	3	89±2 <sup>c</sup>	9.65 ±0.17	4	90±1 <sup>c</sup>	9.31 ±0.16	4

<sup>a</sup> 0.5 μMで有意な置換は見られなかった。

<sup>b</sup> 0.5 μMという最も高い試験濃度で最大値に到達しない、0.5 μMでの置換度。

<sup>c</sup> 100%と有意に異なる。

10

20

## 【0676】

## 実施例 1.7: CXCR4 媒介性シグナル変換の阻害

ナノボディ 238D2 及び 238D4 を機能的に特性化する目的で、CXCR4 及び  $G_{q_i5}$  をコードする cDNA で一時的に同時トランスフェクトした HEK293T 細胞において、Gタンパク質シグナル伝達を活性化するか、又は CXCL12 誘導性 Gタンパク質シグナル伝達を阻害するそれらの能力を測定した。このアッセイは、5つの C末端アミノ酸が  $G_i$  由来のものに置き換わった  $G_q$  骨格を含有する、キメラ  $G_{q_i5}$  タンパク質の使用に基づく。このキメラ Gタンパク質は、 $G_i$  サブユニットのように CXCR4 によって活性化されるが、シグナルを  $G_q$  タンパク質のように変換する (Coward, P., et al., Chimeric G Proteins Allow a High-Throughput Signaling Assay of G1-Coupled Receptors, Analytical Biochemistry (1999) 270: 242-248)。このため、 $G_{q_i5}$  の活性化は、蓄積したイノシトールリン酸の測定によって定量化することができる。CXCL12 は、イノシトールリン酸蓄積を  $7.89 \pm 0.21$  という  $pEC_{50}$  ( $n = 4$ ) で刺激した。ナノボディ 238D2 又は 238D4 については、アゴニスト活性は 100 nM の濃度に至るまで観察されなかった。しかしながら、238D2 及び 238D4 は、イノシトールリン酸の CXCL12 誘導性蓄積を濃度依存的に完全に阻害した (図 5A)。

30

40

## 【0677】

また、cAMP 応答要素 (CRE) の制御下の、pcDNA3.1-CXCR4 及び -ガラクトシダーゼレポーター遺伝子で一時的にトランスフェクトした HEK293T 細胞において、シグナル変換の後半の工程で CXCL12 誘導性活性化を阻害するナノボディ 238D2 及び 238D4 の能力を調査した。CXCR4 のような  $G_i$  タンパク質共役受容体の刺激は、CRE のフォスコリン誘導性活性化の阻害をもたらし得る。実際に、CXCL12 が -ガラクトシダーゼの CRE 依存性転写のフォスコリン (3 μM) 誘導性活性化を、 $9.78 \pm 0.09$  という  $pEC_{50}$  ( $n = 11$ ) で強く阻害した一方で、ナノボディ 238D2 及び 238D4 は、CXCL12 の非存在下でいかなるアゴニスト活性も示さなかった (図 5B)。しかしながら、その両方のナノボディが、ナノボディ

50

濃度を増大させる際にその最大効果に影響を及ぼさず、CXCL12の濃度応答曲線の右方平行移動によってCXCL12応答を阻害した。シルド分析によって、 $\log(CR - 1)$ と $-\log[\text{ナノボディ}](M)$ との間に直線性が示され、238D2及び238D4の両方に対する傾きがそれぞれ $0.91 \pm 0.20$ 及び $0.71 \pm 0.17$ (1 (unity)と有意に異なる)であった(図5B)。これらの結果は、両方のナノボディに対するシグナル変換のCXCL12誘導性活性化の競合的拮抗作用を示唆する。シルドプロットデータに基づき、238D2及び238D4に対する $pK_B$ 値は、それぞれ $7.64 \pm 0.16$ 及び $7.70 \pm 0.16$ であると算出された。

#### 【0678】

CXCR4に対するナノボディの特異性を実証するために、CRE $\beta$ -ガラクトシダーゼレポーター遺伝子を用いて、他のケモカイン受容体シグナル伝達及び非ケモカイン受容体シグナル伝達に対する238D2及び238D4の効果も調査した。3 $\mu$ Mフォルスコリンの非存在下又は存在下での最大下(Sub-maximally)有効アゴニスト濃度(50%~80%  $E_{max}$ )を用いて、細胞を刺激した。ナノボディ238D2及び238D4は、最大で2.5 $\mu$ Mの濃度であっても、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR6、CCR5、CCR7又はヒスタミンH4受容体をそれぞれコードするcDNAで一時的にトランスフェクトしたHEK293T細胞において、CREのフォルスコリン(3 $\mu$ M)誘導性活性化のアゴニスト誘導性阻害を変更しない(図7)。さらに、238D2及び238D4(2.5 $\mu$ M)は、 $\beta_2$ アドレナリン受容体アゴニストサルブタモール(100nM)による内因性発現した $\beta_2$ アドレナリン受容体の活性化を阻害しなかった。これらの結果によって、CXCR4に対する238D2及び238D4の選択性が、試験した全ての他の受容体と比べて100倍を超えることが実証される。

#### 【0679】

CXCL12及びナノボディの化学誘引物質効果又は抗化学誘引物質効果を、CXCR4を内因性発現するジャーカット白血病T細胞において調査した。CXCL12は、濃度応答曲線の第1相について、 $9.41 \pm 0.26$ という $pEC_{50}$ ( $n=5$ )で、典型的な釣り鐘型プロファイルを有するジャーカット細胞の移動を誘導した。238D2及び238D4は単独では、ジャーカット細胞の任意の有意な移動を誘導することができなかった(図5C)。対照的に、238D2及び238D4の両方が300pMのCXCL12に対し、ジャーカット細胞の移動を濃度依存的に阻害した(図5C)。

#### 【0680】

表B-4: ナノボディ238D2及び238D4の最大阻害( $I_{max}$ )及び機能阻害効力( $pK_i$ 又は $pIC_{50}$ )。データは平均 $\pm$ 標準誤差として示す。実験の回数は $n$ として示す。

#### 【表31】

	238D2		n	238D4		n
	$I_{max}$ (%)	$pK_i$ 又は $pIC_{50}$		$I_{max}$ (%)	$pK_i$ 又は $pIC_{50}$	
IP蓄積						
HEK293T-CXCR4-G $\alpha_{q15}$ /30nM CXCL12	86 $\pm$ 12	8.51 $\pm$ 0.11	4	90 $\pm$ 5	8.39 $\pm$ 0.24	4
CRE活性化						
HEK293T-CXCR4-CR Ebgal/0.01nM~100nM CXCL12	104 $\pm$ 5*	7.64 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	4	90 $\pm$ 15*	7.70 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	6
走化性						
ジャーカット/0.3nM CXCL12	106 $\pm$ 2	8.33 $\pm$ 0.16	4	101 $\pm$ 4	8.31 $\pm$ 0.22	4

#### 【0681】

実施例2: ヒトCXCR7に指向性を有するナノボディの生成

ヒトCXCR4に指向性を有するナノボディに対するものと同じ手法。特に、該方法は

、少なくとも以下の工程：

a) ヒト C X C R 7 を過剰発現する全生細胞 (例えば、H E K 2 9 3) による免疫付与

b) 異なる細胞型 (例えば、免疫付与に対しては H E K 2 9 3、1 回目の選択に対してはヒト C X C R 7 について富化した C H O 膜、2 回目の選択に対してはヒト C X C R 7 について富化した C O S 7 膜) を用いた免疫付与及び選択、

c) 任意で、穏やかな緩衝剤、例えば P B S (洗浄剤を含まない) を用いた洗浄を使用する。

【0682】

例えば、Swissprot データベースに「P25106」として見ることができる C X C R 7 のヒトタンパク質配列も参照する。

【0683】

実施例 3 : H I V アッセイの例

実施例 3 . 1 : 単回偽ウイルス中和アッセイ

James M. Binley,<sup>1</sup> Terri Wrin,<sup>2</sup> Bette Korber,<sup>3</sup> Michael B. Zwick,<sup>1</sup> Meng Wang,<sup>1</sup> Colombe Chappey,<sup>2</sup> Gabriela Stiegler,<sup>4</sup> Renate Kunert,<sup>4</sup> Susan Zolla-Pazner,<sup>5</sup> Hermann Katinger,<sup>4</sup> Christos J. Petropoulos,<sup>2</sup> and Dennis R. Burton Comprehensive Cross-Clade Neutralization Analysis of a Panel of Anti-Human Immunodeficiency Virus Type 1 Monoclonal Antibodies Journal of Virology, December 2004, p.13232-13252, Vol. 78, No. 23 を参照する。

【0684】

単回のウイルス感染を含む組換えウイルスアッセイを用いて、中和を測定する。組換えルシフェラーゼ偽ウイルスを、M A b 又は熱不活性化血漿の 10 段階 4 倍希釈物 (通常は 50 μg/ml (M A b) 又は 20 倍希釈 (血漿) から始める) と共に、37 °C で 1 時間インキュベートする。別のプロトコルでは、ウイルスを抗体と共に 18 時間インキュベートした後、混合物を標的細胞に添加する。C D 4 に加えて C C R 5 コレセプター及び C X C R 4 コレセプターを発現する U 8 7 細胞に、ウイルス - 抗体 (A b) 希釈物を添加カチオンの非存在下で接種する。ウイルスストックをスクリーニングして、それらが機能的であり、標的細胞溶解物において高いルシフェラーゼレポーター光シグナルを生じたことを確認する。各々の実験において使用される投入 (Input) ウイルスは標準化していない。ウイルス感染性を、感染細胞において発現されるルシフェラーゼ活性量を測定することによって接種の 72 時間後に求める。中和活性は、感染の 50% (I C<sub>50</sub>) 又は 90% (I C<sub>90</sub>) の阻害 (阻害率 = { 1 - [ルシフェラーゼ + A b / ルシフェラーゼ - A b] } × 100) をもたらすのに必要な、各々の M A b 又は血漿の濃度又は希釈率として報告する。非特異的中和を排除するために、真の中和の基準は、H I V - 1 に対する力価が、広宿主性対照 M u L V に対する力価よりも少なくとも 2 . 5 倍高いものでなければならない。この研究は大規模であるため、個々のウイルス - A b の組合せは各々、通常は 1 回しか試験されない。結果が再現可能であることを確実にするために、全てのアッセイで、対照ウイルス J R - C S F (R 5 向性) 及び N L 4 - 3 (X 4 向性) について少なくとも 6 回実行する。アッセイの同時及び日差 (within and between runs) 再現性は、これらの対照を検討することによって評価する。

【0685】

実施例 3 . 2 : G H O S T アッセイ

Steyaert et al., 2007. Inhibition of replication of primary HIV-1 isolates in huPBL-NOD/Scid mice by antibodies from HIV-1 infected patients. Antiviral Res. 2007 Aug;75(2):129-38. Epub 2007 Mar 6 を参照する。高感度 G H O S T 細胞ベースアッセイ (Donnerset al., 2003) を用いて、ヒト血漿及び精製免疫グロブリンを中和活性についてスクリーニングする。これらの細胞をヒト骨肉種細胞から誘導し、H I V コレセプター (C C R 5 又は C X C R 4) の 1 つであるヒト C D 4 をコードする遺伝子、及び H I V - 2 L T R プロモーターの制御下の緑色蛍光タンパク質でトランスフェクトする。感

10

20

30

40

50

染細胞数をFACSによって測定する。血漿試料は20倍に希釈し、精製IgGは500ug/mlの濃度まで希釈する。中和アッセイのフォーマットは24/24/48であり、ここで24/x/xは抗体及びウイルスをプレインキュベートする期間(時間)であり、x/24/xは細胞をこれらの混合物に曝露する期間(時間)であり、x/x/48はウイルス接種の開始からFACS分析までの期間(時間)である。中和率は100-[ (試験した試料の感染細胞数/血清陰性対照の感染細胞数) × 100 ]として算出する。

【0686】

#### 実施例3.3: PBMCアッセイ

Beirnaert et al., 2000を参照する。ウイルス中和アッセイを以前に記載されるように [Nyambi et al., 1996] (幾らか変更して) 行う。簡潔に述べると、ウイルス感染PBMCの培養上清(50 TCID50/ウェル)及び熱不活性化血清(56で30分間)の2倍段階希釈物(1/10~1/1280)を96ウェルトレイ中で混合し、5%CO<sub>2</sub>雰囲気において37で1時間インキュベートする。各実験において、HIV(-)血清を試料血清と同じ条件でアッセイして、陰性対照とする。続いて、7.5 × 10<sup>4</sup>/ウェルのPHA刺激した、IL-2を維持するPBMCを添加する。2時間のインキュベーションの後、細胞を3回洗浄し、20U/mlのIL-2、15%FCS、0.03%L-グルタミン、2mg/mlのポリブレン、5mg/mlのヒドロコルチゾン及び抗生物質を添加したRPMI 1640培地中でインキュベートする。中和実験毎に、ウイルスを再度滴定し、種々のドナーPBMCにおけるウイルスストックの感染性を比較する。ウイルス力価が投入ウイルス力価と3倍超異なる場合、中和実験は無効であると見なす。グループM及びグループOに属するHIV-1の抗原を捕捉する非商業的抗原捕捉ELISAを用いて、ウイルス複製を7日後に評価する [Beirnaert et al., 1998, Identification and characterization of sera from HIV-infected individuals with broad cross-neutralizing activity against group M (env clade A-H) and group O primary HIV-1 isolates. J Med Virol. 2000 Sep;62(1): 14-24]。50%阻害量(ID<sub>50</sub>)は、抗原捕捉アッセイにおいて、陰性血清対照に比べて吸光度値の50%の低下をもたらした最も高い血清希釈率の逆数であると定義される。1/10未満の血清中和力価を陰性であると見なす。血清は二連でアッセイし、試験は少なくとも3回行う。

【0687】

#### 実施例3.4: HIV in vivo中和モデル

##### 実施例3.4.1: Hu-PBL(NOD/SCID)

Gauduin, M. C., Parren, P.W., Weir, R., Barbas, C. F., Burton, D.R., Koup, R.A., 1997. Passive immunization with a human monoclonal antibody protectshu-PBL-SCID mice against challenge by primary isolates of HIV-1. Nat. Med. 3,1389-1393, Steyaert et al., 2007を参照する。

【0688】

ウイルス阻害活性をin vivoで評価するために、ヒトポリクローナル免疫グロブリンを、再構築の6日後及びウイルス抗原投与(challenge: チャレンジ)の1日前にhuPBL-NOD/Scidマウスに投与する。全ての注射は腹腔内(i.p.)に行った。各々の実験群は4匹のマウスから成り得る。全てのマウスを感染させるのに必要な最小ウイルス接種量(inoculum)は、事前の滴定において求める。移植片対宿主反応を免れたキメラマウス(82%)を抗原投与の14日後に屠殺し、その血漿中のウイルス負荷を、COBAS Amplicor HIV-1 Monitor T(商標)バージョン1.5(Roche)を製造業者の取扱説明書に従って使用して測定する。マウス血漿の可用性は限られるため、これを100倍に希釈してもよく、それによりこのアッセイの検出下限が約3.70 log当量/mlとなる。

【0689】

##### 実施例3.4.2: SHIVマカクモデル

抗体点滴、膈内抗原投与並びに血液及び粘膜採取のために、マカクにケタミンHClで軽度麻酔をかける。SHIV89.9PD抗原投与ストックをアカゲザルPBMC中で培

養し、滴定する。抗体をウイルス抗原投与の24時間前に静脈内点滴する。ウイルスストックの5倍希釈物(600 TCID<sub>50</sub>) 1mlを、1ml容シリンジを用いてマカクの臍管にゆっくりと導入することによって臍内SHIV抗原投与を行う。マカクを抗原投与後少なくとも15分間腹臥位に保つ。臍内抗原投与の30日前、マカクに30mgの酢酸メドロキシプロゲステロン(デボプロベラ; Upjohn, Kalamazoo, Michigan)を筋内注射によって与えてもよい。プロゲステロン処理したマカクの最近の滴定実験によって、サルが10~50動物感染量のSHIV 89.6PDに曝露されていることが実証された。臍内抗原投与後、サルを臨床的に、日常的な血液学測定、リンパ球サブセット測定及び血液化学測定によって追跡調査する。ウイルス同時培養及びウイルスDNAのPCRのための鼠径リンパ節生検を、ウイルス抗原投与の3週間後に全てのサルに対して行う。

10

**【0690】**

実施例4: hCXCR4に指向性を有する機能的ナノボディプロファイルの最適化

実施例4.1: 二価ナノボディの生成

機能的阻害プロファイルを工学(engineering)によって改善するために、238D2及び238D4に基づく一連の二価ナノボディを作製した(表B-5)。

**【0691】**

表B-5: 選択された二価ナノボディの配列

【表 3 2】

アミノ酸配列	クローン名	配列番号
EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTFSSYAM SWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGR FTISRDNAMNMLYLQMYSLKPEDTAVYYCAKSR VSRTGLYTYDNRGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRF TISRDNAMNMLYLQMYSLKPEDTAVYYCAKSRV SRTGLYTYDNRGQGTQVTVSS	238D2-10GS-238D2	261
EVQLMESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFNNTYA MGWFRRAPGKEREVFAAITRSGVRSVSAIYGDS VKDRFTISRDNAMNMLYLQMNLSLKPEDTAVYTC AASAIGSGALRRFEYDYSGQGTQVTVSSGGGGSG GGGSGGGGGSGGGGSEVQLMESGGGLVQAGGSLR LSCAASGRTFNNTYAMGWFRRAPGKEREVFAAIT RSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNAMNMLYLQ MNLSLKPEDTAVYTCAASAIGSGALRRFEYDYSGQ GTQVTVSS	238D4-20GS-238D4	262
EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTFSSYAM SWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGR FTISRDNAMNMLYLQMYSLKPEDTAVYYCAKSR VSRTGLYTYDNRGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSEVQLMESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTF NNTYAMGWFRRAPGKEREVFAAITRSGVRSVSAI YGDSVKDRFTISRDNAMNMLYLQMNLSLKPEDT VYTCAASAIGSGALRRFEYDYSGQGTQVTVSS	238D2-15GS-238D4	263

10

20

30

EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTFSSYAM SWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGR FTISRDNAKRMLYLQMYSLKPEDTAVYYCAKSR VSRTGLYTYDNRGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSEVQLMESGGGLVQAGGSLRLSCAA SGRTFNRYAMGWFRRAPGKEREFVAITRSGVR SGVSAIYGDSVKDRFTISRDNAKNTLYLQMNSLK PEDTAVYTCAASAIGSGALRRFEYDYSGQGTQVT VSS	238D2-20GS-238D4	264	10
EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTFSSYAM SWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGR FTISRDNAKRMLYLQMYSLKPEDTAVYYCAKSR VSRTGLYTYDNRGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSEVQLMESGGGLVQAGGSLRLACAA SGFTFEDYAIGWFRKAPGKEREGVSCISGSDGSTT YADSVKGRFTISTDNAKNTVYLEMNSLKPEDTAV YYCAQYGVGGRVVCPPYEYDVWGQGTQVTV SS	238D2-20GS-238C5	265	20
EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTFSSYAM SWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGR FTISRDNAKRMLYLQMYSLKPEDTAVYYCAKSR VSRTGLYTYDNRGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSEVQLVESGGGFVQAGGSLRLSCETS GRPLLYGTIAWFRQVPGKEREFVAYHRWSDGAN LYADSVKGRFTISGHNAKNTVSLQMNSLKPEDTA	238D2-20GS- 238B10	266	30

## 【 0 6 9 2 】

## 実施例 4 . 2 : 二価ナノボディの効力

異なるサイズの反復 G G G G S 配列を有するアミノ酸リンカーを用いた、238D2と238D2との組換え連結及び238D4と238D4との組換え連結は、CXCR4に対する親和性をそれぞれ1.4倍及び4.4倍増大させる(表B-6、表B-6)。見掛けの親和性の有意な増大が、238D2を238D4に連結した場合にも観察された。得られたヘテロ二価ナノボディ238D2-20GS-238D4の場合、CXCR4に対する親和性が、それぞれの一価対応物238D2及び238D4から2.7倍及び1.7倍増大した。15アミノ酸と20アミノ酸との間でのリンカーサイズの変更は、受容体親和性に関するいかなる影響も示さない。しかしながら、238D2を不活性ナノボディ238B10又は低親和性ナノボディ238C5に連結することによって、受容体親和性は増大しないばかりか、低下した。これらの結果は、リンカー自体が受容体親和性を増大させる可能性を排除するものである。さらに、238D2と238D4との結合における競合(図4B、図4C)、及び238D2と238D4との等モル量の(equi-molar)混合による[<sup>125</sup>I]-CXCL12置換効力の増大の欠如は、同じ受容体分子に対するアロステリック結合による正の共同的效果に相反するものである。

## 【 0 6 9 3 】

表B-6: 二価ナノボディによる、それらの一価対応物と比較した受容体親和性(pK<sub>i</sub>)

40

50

)、相対効力、及び [ <sup>1 2 5</sup> I ] - C X C L 1 2 の最大置換度。実験は、C X C R 4 を一時的に発現する H E K 2 9 3 T 細胞に由来する膜上で行った。データは平均 ± 標準誤差として示す。実験の回数は n として示す。

【表 3 3】

代替名	クローン名 (表B-5を参照されたい)	置換度 (%)	p K <sub>i</sub>	相対効力	n
L 9	2 3 8 D 2 - 1 0 G S - 2 3 8 D 2	9 5 ± 5	9 . 1 6 ± 0 . 0 8	1 4 <sup>a</sup>	3
L 1 3	2 3 8 D 4 - 2 0 G S - 2 3 8 D 4	9 6 ± 5	8 . 8 5 ± 0 . 0 8	4 . 4 <sup>b</sup>	4
L 3	2 3 8 D 2 - 1 5 G S - 2 3 8 D 4	9 2 ± 6	9 . 4 5 ± 0 . 0 9	2 8 <sup>a</sup> / 1 7 3 <sup>b</sup>	3
L 8	2 3 8 D 2 - 2 0 G S - 2 3 8 D 4	1 0 3 ± 4	9 . 4 4 ± 0 . 0 7	2 7 <sup>a</sup> / 1 7 3 <sup>b</sup>	3
L 6	2 3 8 D 2 - 2 0 G S - 2 3 8 C 5	1 1 0 ± 2	7 . 3 5 ± 0 . 0 7	0 . 1 8 <sup>a</sup>	2
L 1 0	2 3 8 D 2 - 2 0 G S - 2 3 8 B 1 0	4 3 ± 1 1 <sup>c</sup>	< 7 . 0 0	< 0 . 1 <sup>a</sup>	2
	2 3 8 D 2 + 2 3 8 D 4 ( 1 : 1 )	9 2 ± 1 1	8 . 0 0 ± 0 . 3 6	1 . 0 <sup>a</sup> / 0 . 3 6 <sup>b</sup>	3

<sup>a</sup> 一価 2 3 8 D 2 の効力に対する効力。

<sup>b</sup> 一価 2 3 8 D 4 の効力に対する効力。

<sup>c</sup> 0 . 5 μ M という最も高い試験濃度で最大値に到達しない、0 . 5 μ M での置換度。

10

20

## 【 0 6 9 4 】

表 B - 7 : 走化性

化合物 2 3 8 D 2 - 1 5 G S - 2 3 8 D 4 及び化合物 2 3 8 D 2 - 2 0 G S - 2 3 8 D 4 の最大阻害 ( I<sub>max</sub> ) 及び機能的阻害効力 ( p K<sub>i</sub> 又は p I C<sub>50</sub> ) 。データは平均 ± 標準誤差として示す。実験の回数は n として示す。

【表 3 4】

2 3 8 D 2 - 1 5 G S - 2 3 8 D 4			2 3 8 D 2 - 2 0 G S - 2 3 8 D 4		
I <sub>max</sub> (%)	p K <sub>i</sub> 又は p I C <sub>50</sub>	n	p K <sub>i</sub> 又は p I C <sub>50</sub>	n	

走化性

ジャーカット / 0 . 3 n M 1 0 7 ± 5 9 . 8 6 ± 0 . 0 4 3 1 0 . 1 9 ± 0 . 2 7 3

C X C L 1 2

30

## 【 0 6 9 5 】

最も強力な二価ナノボディ 2 3 8 D 2 - 1 5 G S - 2 3 8 D 4 及び 2 3 8 D 2 - 2 0 G S - 2 3 8 D 4 を、さらに機能的に特性化した。2 3 8 D 2 - 1 5 G S - 2 3 8 D 4 及び 2 3 8 D 2 - 2 0 G S - 2 3 8 D 4 の両方が、ナノモル濃度以下の C X C L 1 2 の化学誘引物質効果と完全に拮抗していた ( p K<sub>i</sub> = それぞれ 9 . 8 6 ± 0 . 0 4 及び 1 0 . 1 9 ± 0 . 2 7 ; n = 3 ) 。結論として、一本鎖分子へのナノボディ 2 3 8 D 2 及び 2 3 8 D 4 の連結は、C X C R 4 のブロックングを介して、実に 1 桁 ~ 2 桁の抗走化能の有意な増大をもたらす ( 表 B - 7 と共に表 B - 4 を参照されたい ) 。

40

## 【 0 6 9 6 】

実施例 4 . 3 : 1 2 G 5 対一価 2 3 8 D 2 、 2 3 8 D 4 及び二価ナノボディの有効性比較膜結合実験では、1 2 G 5 は <sup>1 2 5</sup> I - C X C L 1 2 の 5 0 % しか置換しないようである。このため、本発明者らは 1 2 G 5 が C X C R 4 機能を効果的に阻害するかを試験することに興味を持った。

50

## 【0697】

## イノシトールリン酸測定

12G5を、hCXCR4/G<sub>q</sub>i5に対する完全曲線(full curve)(n=2)及び単一点(10nM)として試験した。細胞は30nM CXCL12で刺激した。

## 【0698】

## 方法：

1日目に、HEK293T細胞を200000細胞/皿の密度でプレATINGした。2日目に、これらの細胞をPEI方法を用いて、2.5μgのCXCR4 DNA及び2.5μgのG<sub>q</sub>i5でトランスフェクトした。翌日、細胞をポリ-L-リシンコーティング24ウェルプレートにプレATINGし(500μl/ウェル)、4時間~6時間後にイノシトールを含まない培地において2μCi/mlの3H-イノシトールで標識化した。4日目に、細胞をRosenkildeバッファー中、37℃で2時間、ナノボディ12G5又は1μM AMD3100のいずれかで前刺激した。この前刺激の後、30nM CXCL12(又は基礎(basal)シグナル伝達用のバッファー)及び10mM LiClの両方を各ウェルに添加し(最終濃度)、その後、37℃で2時間の最後のインキュベーションを行った。この最後のインキュベーションの後、刺激培地を吸引し、10mM ギ酸を添加することによって反応を停止した(図9)。

## 【0699】

## 実施例5：ナノボディの作用様式

実施例5.1：CXCR4特異的ナノボディは、CXCR4の構成的活性化突然変異体のニュートラルアンタゴニスト又はインバースアンタゴニストとして働く

CXCR4特異的一価ナノボディ238D2及び238D4、並びにそれらの二価融合産物L3及びL8を、構成的活性化CXCR4突然変異体N119A(A群GPCRのBallestros-Weinstein)ナンバリングにおいてN3.35Aと等価である)に関して調査した。N119の突然変異体は以前、Peiper及び共同研究者らによって、構成的活性化突然変異体(CAM)について、酵母レポーター遺伝子アッセイを用いて、CXCR4ランダム突然変異誘発ライブラリから選択された唯一の突然変異体であるとして同定されている(Zhang W.B., Navenot J.M., Haribabu B., Tamamura H., Hiramatu K., Omagari A., Pei G., Manfredi J. P., Fujii N., Broach J. R., Peiper S. C. (2002). A point mutation that confers constitutive activity to CXCR4 reveals that T140 is an inverse agonist and that AMD3100 and ALX40-4 C are weak partial agonists. J. Biol. Chem. 277:24515-24521.)。他のA群GPCRに対する多数のCAM、及びCXCR4に対するさらなるCAMを生成するさらなる試み(Berchiche et al., 2007)にも関わらず、CXCR4のN119突然変異体は、依然としてこの受容体に対する唯一の既知のCAMである。調査した一価ナノボディ238D2及び238D4の両方が、CXCR4(N119A)に結合可能であった。それらの結合親和性は、野生型受容体に比べて幾らか低かった。低い親和性のために、2μMという最も高いナノボディ試験濃度であっても水平状態に達しなかった(図10)。

## 【0700】

## 方法：

膜の調製及び[<sup>125</sup>I]-CXCL12(40pM)を用いた競合結合実験を、野生型CXCR4に関して上述したように行った(上記参照)。

## 【0701】

CXCR4(N119A)に対する一価ナノボディ238D2及び238D4並びに二価構築物L3及びL8の機能的プロファイルを、基礎イノシトールリン酸蓄積のリガンド誘導性変化を測定することによって調査した。CXCR4(N119A)を一時的に発現するHEK293T細胞は、野生型CXCR4又はモック(これらは実質的に同じレベルである)に比べて3倍~8倍高い基礎イノシトールリン酸蓄積速度を示す。突然変異受容体をさらに刺激するCXCL12の能力は、野生型に比べて低下する(基礎レベルの0.4倍)(図11A)。238D4、L3及びL8は、この突然変異体でパーシャルインバ

ースアゴニストとして働き、CXCR4 (N119A) の構成的に増大した基礎シグナル伝達を、それぞれ49%、64%及び65%低減する(図11A)。基礎イノシトールリン酸蓄積のナノボディ誘導性低下は、選択的CXCR4ニュートラルアンタゴニストプレリキサフォルによって拮抗され、観察されたインバースアンタゴニスト作用がCXCR4 (N119A) を介してもたらされることが確認された(図11B~図11D)。238D2及びプレリキサフォルについて、有意なアゴニスト活性もインバースアンタゴニスト活性も観察されなかったが(図11A)、これらのリガンドは突然変異受容体に明らかに結合する(上記参照)。

#### 【0702】

本発明者らの結果は、ナノボディが構成的活性化CXCR4突然変異体に対してニュートラルアンタゴニスト又はインバースアンタゴニストとして作用することができることを示す。最もよく売れているGPCR薬物の大多数が、ニュートラルアンタゴニストではなくインバースアンタゴニストとして働き(Milligan G. (2003). Constitutive activity and inverse agonists of G protein-coupled receptors: a current perspective. Mol. Pharmacol. 64:1271-1276)、インバースアゴニストが癌を含む幾つかの疾患に対して、ニュートラルアンタゴニストと比較して特定の治療効果を有し得ることが主張されている(Kenakin T. (2004). Efficacy as a vector: the relative prevalence and paucity of inverse agonism. Mol. Pharmacol. 65:2-11)。CXCR4特異的ナノボディがインバースアンタゴニストとして働き得るという本発明者らの観察結果の目新しさにも関わらず、CXCR4インバースアゴニスト作用の生理学的関連性は明らかでない。イノシトールリン酸蓄積アッセイにおいて、モックと比較したCXCR4(野生型)のいかなる有意な基礎活性も検出することができなかったため、少なくともこのアッセイにおいて任意のインバースアゴニスト作用を検出することは不可能である。さらに、最も明らかなCXCR4の機能は、骨髄への幹細胞の走化性動員(chemotactic recruitment)である。走化性は、細胞を化学誘引物質勾配へと移動させる細胞表面受容体の不斉活性化によって媒介される。このため、走化性は完全に化学誘引物質リガンドに依存する。しかしながら、インバースアンタゴニストは、化学運動性又は腫瘍成長促進といったCXCR4の他の機能を阻害する上でニュートラルアンタゴニストよりも優れている場合がある。

#### 【0703】

実施例6：CXCR4に指向性を有するナノボディ又はナノボディ構築物の潜在的用途

- ・免疫不全症
- ・WHIM症候群：疣贅、低ガンマグロブリン血症、感染症及び先天性好中球減少症(Myelokathexis)症候群
- ・癌：
  - ・造血癌：CLL、AML、ALL、MM、非ホジキンリンパ腫
  - ・固形腫瘍：乳癌、肺癌、脳腫瘍等
  - ・腫瘍の間質性化学療法抵抗性(Stromal chemoresistance)
  - ・白血病及び他の癌
  - ・幹細胞動員
  - ・腫瘍細胞生存及び薬物耐性をもたらす接着性間質相互作用の阻害
  - ・組織部位からの腫瘍細胞の動員、及び腫瘍細胞を従来の療法に対してより感受性(accessible)にすること
    - ・腫瘍細胞の移動及び播種(転移)の遮断
    - ・パラクリン成長及び生存シグナルの遮断
    - ・SDF-1の血管新生促進(pro-angiogenesis)効果の遮断
- ・炎症性疾患
- ・RA、喘息、肺線維症、SLE
- ・損傷組織(心臓、脳)への幹細胞動員
- ・神経炎症性疾患
- ・MS、脳卒中、HIV関連認知症

・ 感染性疾患

・ H I V / A I D S、西ナイルウイルス脳炎

【 0 7 0 4 】

実施例 7 : 表 C : 幾つかの治療的に関連する G P C R ( 及び本発明のアミノ酸配列、ナノボディ又はポリペプチドの所望の作用 ) の非限定的なリスト。

【 0 7 0 5 】

A 群 G P C R

- アセチルコリン受容体 ( アゴニスト )、
- ムスカリン性受容体 ( アゴニスト )、
- ムスカリン性 M 1 受容体 ( アゴニスト )、
- ムスカリン性 M 2 受容体 ( アゴニスト )、
- ムスカリン性 M 3 受容体 ( アゴニスト )、
- ムスカリン性 M 4 受容体 ( アゴニスト )、
- ムスカリン性 M 5 受容体 ( アゴニスト )、
- ムスカリン性受容体 ( パーシャルアゴニスト )、
- アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 1 アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 1 A アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 1 B アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 1 D アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 2 アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 2 A アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 2 B アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 2 C アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 2 アドレナリン受容体 ( パーシャルアゴニスト )、
- 3 アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 1 アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 2 アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- 3 アドレナリン受容体 ( アゴニスト )、
- ドーパミン受容体 ( アゴニスト )、
- ドーパミン D 5 受容体 ( アゴニスト )、
- ドーパミン D 1 受容体 ( アゴニスト )、
- ドーパミン D 2 受容体 ( アゴニスト )、
- ドーパミン D 3 受容体 ( アゴニスト )、
- ドーパミン D 4 受容体 ( アゴニスト )、
- ヒスタミン受容体 ( アゴニスト )、
- ヒスタミン H 1 受容体 ( アゴニスト )、
- ヒスタミン H 2 受容体 ( アゴニスト )、
- ヒスタミン H 3 受容体 ( アゴニスト )、
- ヒスタミン H 4 受容体 ( アゴニスト )、
- 5 - H T G P C R ( アゴニスト )、
- 5 - H T 1 ( アゴニスト )、
- 5 - H T 2 ( アゴニスト )、
- 5 - H T 4 ( アゴニスト )、
- 5 - H T 5 a ( アゴニスト )、
- 5 - H T 5 b ( アゴニスト )、
- 5 - H T 6 ( アゴニスト )、
- 5 - H T 7 ( アゴニスト )、

10

20

30

40

50

微量アミン関連受容体 (アゴニスト)、	
微量アミン関連受容体 - 1 (アゴニスト)、	
微量アミン関連受容体 - 2 (アゴニスト)、	
微量アミン関連受容体 - 3 (アゴニスト)、	
微量アミン関連受容体 - 4 (アゴニスト)、	
微量アミン関連受容体 - 5 (アゴニスト)、	
微量アミン関連受容体 - 6 (アゴニスト)、	
微量アミン関連受容体 - 7 (アゴニスト)、	
微量アミン関連受容体 - 8 (アゴニスト)、	
微量アミン関連受容体 - 9 (アゴニスト)、	10
アペリン受容体 (アゴニスト)、	
カンナビノイド受容体 (アゴニスト)、	
カンナビノイド C B 1 受容体 (アゴニスト)、	
カンナビノイド C B 2 受容体 (アゴニスト)、	
リゾスフィンゴ脂質受容体 (アゴニスト)、	
スフィンゴシン - 1 - リン酸受容体 - 1 (アゴニスト)、	
リゾホスファチジン酸 - 1 受容体 (アゴニスト)、	
スフィンゴシン - 1 - リン酸受容体 - 3 (アゴニスト)、	
リゾホスファチジン酸 - 2 受容体 (アゴニスト)、	
スフィンゴシン - 1 - リン酸受容体 - 2 (アゴニスト)、	20
スフィンゴシン - 1 - リン酸受容体 - 4 (アゴニスト)、	
リゾホスファチジン酸 - 3 受容体 (アゴニスト)、	
スフィンゴシン - 1 - リン酸受容体 - 5 (アゴニスト)、	
A 群ホルモンタンパク質 G P C R (アゴニスト)、	
F S H (アゴニスト)、	
黄体形成ホルモン受容体 (アゴニスト)、	
T S H (アゴニスト)、	
ロイコトリエン (アゴニスト)、	
ロイコトリエン B L T 受容体 (アゴニスト)、	
システニルロイコトリエン受容体 (アゴニスト)、	30
メラトニン (アゴニスト)、	
メラトニン M T 1 (アゴニスト)、	
メラトニン M T 2 (アゴニスト)、	
メラトニン M T 3 (アゴニスト)、	
A 群ヌクレオチド様 G P C R (アゴニスト)、	
アデノシン受容体 (アゴニスト)、	
P 2 Y 受容体 (アゴニスト)、	
A 群オーファン G P C R (アゴニスト)、	
グレリン (アゴニスト)、	
A 群ペプチド G P C R (アゴニスト)、	40
アンジオテンシン受容体 (アゴニスト)、	
アンジオテンシン I 受容体 (アゴニスト)、	
アンジオテンシン I I 受容体 (アゴニスト)、	
ボンベシン受容体 (アゴニスト)、	
ボンベシン B B 1 受容体 (アゴニスト)、	
ボンベシン B B 2 受容体 (アゴニスト)、	
ボンベシン b b 3 受容体 (アゴニスト)、	
ガストリン放出ペプチドリガンド、	
ニューロメディン B リガンド、	
ニューロメディン C リガンド、	50

ブラジキニン受容体 (アゴニスト)、	
ブラジキニン B 1 受容体 (アゴニスト)、	
ブラジキニン B 2 受容体 (アゴニスト)、	
C 3 a 受容体 (アゴニスト)、	
C 5 a (アゴニスト)、	
CCK 受容体 (アゴニスト)、	
CCK 1 受容体 (アゴニスト)、	
CCK 2 受容体 (アゴニスト)、	
ガストリン (アゴニスト)、	
ケモカイン (アゴニスト)、	10
CCR 受容体 (アゴニスト)、	
CCR 1 ケモカイン (アゴニスト)、	
CCR 2 ケモカイン (アゴニスト)、	
CCR 3 ケモカイン (アゴニスト)、	
CCR 4 ケモカイン (アゴニスト)、	
CCR 5 ケモカイン (アゴニスト)、	
CCR 6 ケモカイン (アゴニスト)、	
CCR 7 ケモカイン (アゴニスト)、	
CCR 8 ケモカイン (アゴニスト)、	
CCR 9 ケモカイン (アゴニスト)、	20
CCR 10 ケモカイン (アゴニスト)、	
CCR 11 ケモカイン (アゴニスト)、	
CX3C ケモカイン受容体 (アゴニスト)、	
CX3CR 1 ケモカイン (アゴニスト)、	
XCR 1 ケモカイン (アゴニスト)、	
CXC ケモカイン受容体 (アゴニスト)、	
CXCR 1 ケモカイン (アゴニスト)、	
CXCR 3 ケモカイン (アゴニスト)、	
CXCR 4 ケモカイン (アゴニスト)、	
CXCR 5 ケモカイン (アゴニスト)、	30
アドレノメデュリン受容体 (アゴニスト)、	
エンドセリン (アゴニスト)、	
エンドセリン ET - A (アゴニスト)、	
エンドセリン ET - B (アゴニスト)、	
ガラニン (アゴニスト)、	
ガラニン GAL 1 (アゴニスト)、	
ガラニン GAL 2 (アゴニスト)、	
ガラニン GAL 3 (アゴニスト)、	
IL - 9 (アゴニスト)、	
KISS - 1 受容体 (アゴニスト)、	40
メラニン凝集ホルモン (アゴニスト)、	
MCH 受容体 - 1 (アゴニスト)、	
MCH 受容体 - 2 (アゴニスト)、	
メラノコルチン (アゴニスト)、	
メラノコルチン MC 1 (アゴニスト)、	
ACTH 受容体 (アゴニスト)、	
メラノコルチン MC 3 (アゴニスト)、	
メラノコルチン MC 4 (アゴニスト)、	
メラノコルチン MC 5 (アゴニスト)、	
NK (アゴニスト)、	50

N K 1 (アゴニスト)、	
N K 2 (アゴニスト)、	
N K 3 (アゴニスト)、薬物：1	
神経ペプチド Y 受容体 (アゴニスト)、	
神経ペプチド Y 1 受容体 (アゴニスト)、	
神経ペプチド Y 2 受容体 (アゴニスト)、	
神経ペプチド Y 4 受容体 (アゴニスト)、	
神経ペプチド Y 5 受容体 (アゴニスト)、	
神経ペプチド Y 6 受容体 (アゴニスト)、	
ニューロテンシン受容体 (アゴニスト)、	10
ニューロテンシン N T S 1 (アゴニスト)、	
ニューロテンシン N T S 2 (アゴニスト)、	
オレキシン及び神経ペプチド F F 受容体 (アゴニスト)、	
オレキシン (アゴニスト)、	
オピオイド (アゴニスト)、	
オピオイド (アゴニスト)、	
オピオイド (アゴニスト)、	
μ オピオイド (アゴニスト)、	
O R L 1 受容体 (アゴニスト)、	
オピオイド (パーシャルアゴニスト)、	20
オピオイド (アゴニスト)、	
オレキシン及び神経ペプチド F F 受容体 (アゴニスト)、	
神経ペプチド F F 受容体 (アゴニスト)、	
神経ペプチド F F 1 受容体 (アゴニスト)、	
神経ペプチド F F 2 受容体 (アゴニスト)、	
オレキシン (アゴニスト)、	
オレキシン - 1 (アゴニスト)、	
オレキシン - 2 (アゴニスト)、	
プロテアーゼ活性化受容体 (アゴニスト)、	
プロテアーゼ活性化受容体 - 1 (アゴニスト)、	30
プロテアーゼ活性化受容体 - 2 (アゴニスト)、	
プロテアーゼ活性化受容体 - 3 (アゴニスト)、	
プロテアーゼ活性化受容体 - 4 (アゴニスト)、	
プロキネチシン受容体 (アゴニスト)、	
プロキネチシン受容体 - 1 (アゴニスト)、	
プロキネチシン受容体 - 2 (アゴニスト)、	
ソマトスタチン (アゴニスト)、	
ソマトスタチン 1 (アゴニスト)、	
ソマトスタチン 2 (アゴニスト)、	
ソマトスタチン 3 (アゴニスト)、	40
ソマトスタチン 4 (アゴニスト)、	
ソマトスタチン 5 (アゴニスト)、	
ウロテンシン I I (アゴニスト)、	
バソプレシン様受容体 (アゴニスト)、	
オキシトシン (アゴニスト)、	
バソプレシン (アゴニスト)、	
バソプレシン V 1 (アゴニスト)、	
バソプレシン V 2 (アゴニスト)、	
プロスタノイド受容体 (アゴニスト)、	
D P プロスタノイド (アゴニスト)、	50

P G D 2 (アゴニスト)、	
E P 1 プロスタノイド (アゴニスト)、	
P G E 2 (アゴニスト)、	
E P 2 プロスタノイド (アゴニスト)、	
P G E 2 (アゴニスト)、	
E P 3 プロスタノイド (アゴニスト)、	
P G E 2 (アゴニスト)、	
E P 4 プロスタノイド (アゴニスト)、	
P G E 2 (アゴニスト)、	
F P プロスタノイド (アゴニスト)、	10
P G F 2 (アゴニスト)、	
I P プロスタノイド (アゴニスト)、	
プロスタサイクリン (アゴニスト)、	
プロスタノイド受容体 (パーシャルアゴニスト)、	
T P プロスタノイド (アゴニスト)、	
トロンボキサン A 2 (アゴニスト)、	
コハク酸受容体 1 (アゴニスト)、	
T R H (アゴニスト)、	
T R H 1 (アゴニスト)、	
T R H 2 (アゴニスト)、	20
1 型鋤鼻受容体 (アゴニスト)、	
1 型鋤鼻受容体 - 1 (アゴニスト)、	
1 型鋤鼻受容体 - 2 (アゴニスト)、	
1 型鋤鼻受容体 - 3 (アゴニスト)、	
1 型鋤鼻受容体 - 4 (アゴニスト)、	
1 型鋤鼻受容体 - 5 (アゴニスト)、	
アペリン受容体 (モジュレータ)、	
カンナビノイド受容体 (モジュレータ)、	
ケモカイン受容体様 1 (モジュレータ)、	
リゾスフィンゴ脂質受容体 (モジュレータ)、	30
A 群ホルモンタンパク質 G P C R (モジュレータ)、	
ロイコトリエン受容体 (モジュレータ)、	
メラトニン受容体 (モジュレータ)、	
A 群ヌクレオチド様 G P C R (モジュレータ)、	
A 群オーファン G P C R (モジュレータ)、	
P A F 受容体 (モジュレータ)、	
A 群ペプチド G P C R (モジュレータ)、	
プロスタノイド受容体 (モジュレータ)、	
コハク酸受容体 1 (モジュレータ)、	
T R H 受容体 (モジュレータ)、	40
1 型鋤鼻受容体 (モジュレータ)	
<b>【 0 7 0 6 】</b>	
<b>B 群 G P C R</b>	
G タンパク質共役受容体 - 3 (モジュレータ)、	
G タンパク質共役受容体 - 3 (アゴニスト)、	
G タンパク質共役受容体 - 3 (アンタゴニスト)、	
G タンパク質共役受容体 - 6 (モジュレータ)、	
G タンパク質共役受容体 - 6 (アゴニスト)、	
G タンパク質共役受容体 - 6 (アンタゴニスト)、	
G タンパク質共役受容体 - 1 2 (モジュレータ)、	50

Gタンパク質共役受容体 - 1 2 (アゴニスト)、	
Gタンパク質共役受容体 - 1 2 (アンタゴニスト)、	
Gタンパク質共役受容体 - 1 4 (モジュレータ)、	
Gタンパク質共役受容体 - 1 4 (アゴニスト)、	
Gタンパク質共役受容体 - 1 4 (アンタゴニスト)、	
B群GPCR (アゴニスト)、	
CRF - 1受容体 (アゴニスト)、	
CRF - 2受容体 (アゴニスト)、	
カルシトニン受容体 (モジュレータ)、	
カルシトニン (アゴニスト)、	10
カルシトニン (アンタゴニスト)、	
ACTH放出因子受容体 (モジュレータ)、	
CRF - 1受容体 (モジュレータ)、	
CRF - 1受容体 (アゴニスト)、	
CRF - 1受容体 (アンタゴニスト)、	
CRF - 2受容体 (モジュレータ)、	
CRF - 2受容体 (アゴニスト)、	
CRF - 2受容体 (アンタゴニスト)、	
ACTH放出因子 (アゴニスト)、	
CRF - 1受容体 (アゴニスト)、	20
CRF - 2受容体 (アゴニスト)、	
ACTH放出因子 (アンタゴニスト)、	
CRF - 1受容体 (アンタゴニスト)、	
CRF - 2受容体 (アンタゴニスト)、	
グルカゴン様ペプチド受容体 (モジュレータ)、	
グルカゴン様ペプチド1受容体 (モジュレータ)、	
グルカゴン様ペプチド2受容体 (モジュレータ)、	
グルカゴン様ペプチド (アゴニスト)、	
グルカゴン様ペプチド (アンタゴニスト)、	
グルカゴン受容体 (モジュレータ)、	30
グルカゴン (アゴニスト)、	
グルカゴン (アンタゴニスト)、	
GHRH受容体 (モジュレータ)、	
GHRH (アゴニスト)、	
成長ホルモン放出因子 (アンタゴニスト)、	
I型PACAP受容体 (モジュレータ)、	
I型PACAP受容体 (アゴニスト)、	
I型PACAP受容体 (アンタゴニスト)	
PTH受容体 (モジュレータ)、	
PTH - 1受容体 (モジュレータ)	40
PTH - 2受容体 (モジュレータ)	
PTH (アゴニスト)、	
PTH (アンタゴニスト)、	
セクレチン受容体 (モジュレータ)、	
セクレチン (アゴニスト)、	
セクレチン (アンタゴニスト)、	
VIP受容体 (モジュレータ)、	
VIP - 1受容体 (モジュレータ)、	
VIP - 2受容体 (モジュレータ)、	
VIP (アゴニスト)、	50

V I P ( ア ン タ ゴ ニ ス ト ) 、

【 0 7 0 7 】

C 群 G P C R

C 群 G P C R ( モ ジ ュ レ ー タ ) 、

C 群 G P C R ( ア ゴ ニ ス ト ) 、

G A B A B 受 容 体 ( ア ゴ ニ ス ト ) 、

代 謝 型 グ ル タ ミ ン 酸 受 容 体 ( ア ゴ ニ ス ト ) 、

代 謝 型 グ ル タ ミ ン 酸 受 容 体 1 ( ア ゴ ニ ス ト ) 、

代 謝 型 グ ル タ ミ ン 酸 受 容 体 2 ( ア ゴ ニ ス ト ) 、

代 謝 型 グ ル タ ミ ン 酸 受 容 体 3 ( ア ゴ ニ ス ト ) 、

代 謝 型 グ ル タ ミ ン 酸 受 容 体 4 ( ア ゴ ニ ス ト ) 、

代 謝 型 グ ル タ ミ ン 酸 受 容 体 5 ( ア ゴ ニ ス ト ) 、

代 謝 型 グ ル タ ミ ン 酸 受 容 体 6 ( ア ゴ ニ ス ト ) 、

代 謝 型 グ ル タ ミ ン 酸 受 容 体 7 ( ア ゴ ニ ス ト ) 、

代 謝 型 グ ル タ ミ ン 酸 受 容 体 8 ( ア ゴ ニ ス ト )

【 0 7 0 8 】

表 D : 非 限 定 的 な リ ス ト ヒ ト G P C R

【表 3 5】

5HT1A_HUMAN (P08908)	HTR1A	セロトニン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
5HT1B_HUMAN (P28222)	HTR1B	セロトニン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
5HT1D_HUMAN (P28221)	HTR1D	セロトニン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
5HT1E_HUMAN (P28566)	HTR1E	セロトニン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
5HT1F_HUMAN (P30939)	HTR1F	セロトニン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
5HT2A_HUMAN (P28223)	HTR2A	セロトニン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	10
5HT2B_HUMAN (P41595)	HTR2B	セロトニン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
5HT2C_HUMAN (P28335)	HTR2C	セロトニン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
5HT4R_HUMAN (Q13639)	HTR4	セロトニン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
5HT5A_HUMAN (P47898)	HTR5A	セロトニン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
5HT6R_HUMAN (P50406)	HTR6	セロトニン6型	ホモ・サピエンス (ヒト)	20
5HT7R_HUMAN (P34969)	HTR7	セロトニン7型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
AA1R_HUMAN (P30542)	ADORA1	アデノシン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
AA2AR_HUMAN (P29274)	ADORA2A	アデノシン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
AA2BR_HUMAN (P29275)	ADORA2B	アデノシン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
AA3R_HUMAN (P33765)	ADORA3	アデノシン3型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
ACM1_HUMAN (P11229)	CHRM1	ムスカリン性 (Musc.)	アセチルコリン脊椎動物1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
ACM2_HUMAN (P08172)	CHRM2	ムスカリン性アセチルコリン	脊椎動物2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
ACM3_HUMAN (P20309)	CHRM3	ムスカリン性アセチルコリン	脊椎動物3型	ホモ・サピエンス (ヒト)
ACM4_HUMAN (P08173)	CHRM4	ムスカリン性アセチルコリン	脊椎動物4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
ACM5_HUMAN (P08912)	CHRM5	ムスカリン性アセチルコリン	脊椎動物5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
ACTHR_HUMAN (Q01718)	MC2R	副腎皮質刺激ホルモン		ホモ・サピエンス (ヒト)
ADA1A_HUMAN (P35348)	ADRA1A	$\alpha$ アドレナリン受容体1型		ホモ・サピエンス (ヒト)
ADA1B_HUMAN (P35368)	ADRA1B	$\alpha$ アドレナリン受容体1型		ホモ・サピエンス (ヒト)
ADA1D_HUMAN (P25100)	ADRA1D	$\alpha$ アドレナリン受容体1型		ホモ・サピエンス (ヒト)
ADA2A_HUMAN (P08913)	ADRA2A	$\alpha$ アドレナリン受容体2型		ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

・サピエンス (ヒト)				
ADA2B_HUMAN (P18089)	ADRA2B	$\alpha$ アドレナリン受容体2型	ホモ	
・サピエンス (ヒト)				
ADA2C_HUMAN (P18825)	ADRA2C	$\alpha$ アドレナリン受容体2型	ホモ	
・サピエンス (ヒト)				
ADMR_HUMAN (O15218)	ADMR	アドレノメデュリン (G10D)	ホモ	
・サピエンス (ヒト)				
ADRB1_HUMAN (P08588)	ADRB1	$\beta$ アドレナリン受容体1型	ホモ・	
サピエンス (ヒト)				
ADRB2_HUMAN (P07550)	ADRB2	$\beta$ アドレナリン受容体2型	ホモ・	
サピエンス (ヒト)				
ADRB3_HUMAN (P13945)	ADRB3	$\beta$ アドレナリン受容体3型	ホモ・	10
サピエンス (ヒト)				
AGTR1_HUMAN (P30556)	AGTR1	アンジオテンシン1型	ホモ・サピ	
エンス (ヒト)				
AGTR2_HUMAN (P50052)	AGTR2	アンジオテンシン2型	ホモ・サピ	
エンス (ヒト)				
APJ_HUMAN (P35414)	AGTRL1	APJ様	ホモ・サピエンス (ヒト)	
BAI1_HUMAN (O14514)	BAI1	脳特異的血管新生抑制因子 (BAI)		
ホモ・サピエンス (ヒト)				
BAI2_HUMAN (O60241)	BAI2	脳特異的血管新生抑制因子 (BAI)		
ホモ・サピエンス (ヒト)				
BAI3_HUMAN (O60242)	BAI3	脳特異的血管新生抑制因子 (BAI)		20
ホモ・サピエンス (ヒト)				
BKRB1_HUMAN (P46663)	BDKRB1	ブラジキニン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
BKRB2_HUMAN (P30411)	BDKRB2	ブラジキニン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
BRS3_HUMAN (P32247)	BRS3	ボンベシン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
C3AR_HUMAN (Q16581)	C3AR1	C5aアナフィラトキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
C5ARL_HUMAN (Q9P296)	GPR77	C5aアナフィラトキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
C5AR_HUMAN (P21730)	C5AR1	C5aアナフィラトキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CALCR_HUMAN (P30988)	CALCR	カルシトニン	ホモ・サピエンス (ヒト)	30
CALRL_HUMAN (Q16602)	CALCRL	カルシトニン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CASR_HUMAN (P41180)	CASR	細胞外カルシウム感知 (calcium-sensing)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CCBP2_HUMAN (O00590)	CCBP2	C-CケモカインX型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CCKAR_HUMAN (P32238)	CCKAR	CCK A型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CCR10_HUMAN (P46092)	CCR10	C-Cケモカイン10型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CCR1_HUMAN (P32246)	CCR1	C-Cケモカイン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
CCR2_HUMAN (P41597)	CCR2	C-Cケモカイン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CCR3_HUMAN (P51677)	CCR3	C-Cケモカイン3型	ホモ・サピエンス (ヒト)	

ス (ヒト)				
CCR4_HUMAN (P51679)	CCR4	C-Cケモカイン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CCR5_HUMAN (P51681)	CCR5	C-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CCR6_HUMAN (P51684)	CCR6	C-Cケモカイン6型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CCR7_HUMAN (P32248)	CCR7	C-Cケモカイン7型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CCR8_HUMAN (P51685)	CCR8	C-Cケモカイン8型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CCR9_HUMAN (P51686)	CCR9	C-Cケモカイン9型	ホモ・サピエンス (ヒト)	10
CCRL1_HUMAN (Q9NPB9)	CCRL1	C-Cケモカイン11型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CD97_HUMAN (P48960)	CD97	EMR1	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CELR1_HUMAN (Q9NYQ6)	CELSR1	カドヘリンEGF LAG	(CELSR) ホモ・サピエンス (ヒト)	
CELR2_HUMAN (Q9HCU4)	CELSR2	カドヘリンEGF LAG	(CELSR) ホモ・サピエンス (ヒト)	
CELR3_HUMAN (Q9NYQ7)	CELSR3	カドヘリンEGF LAG	(CELSR) ホモ・サピエンス (ヒト)	
CLTR1_HUMAN (Q9Y271)	CYSLTR1	システイニルロイコトリエン	ホモ・サピエンス (ヒト)	20
CLTR2_HUMAN (Q9NS75)	CYSLTR2	システイニルロイコトリエン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CML1_HUMAN (Q99788)	CMKLR1	ケモカイン受容体様1	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CML2_HUMAN (Q99527)	GPR30	ケモカイン受容体様2	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CNR1_HUMAN (P21554)	CNR1	カンナビノイド	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CNR2_HUMAN (P34972)	CNR2	カンナビノイド	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CRFR1_HUMAN (P34998)	CRHR1	コルチコトロピン放出因子	ホモ・サピエンス (ヒト)	30
CRFR2_HUMAN (Q13324)	CRHR2	コルチコトロピン放出因子	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CX3C1_HUMAN (P49238)	CX3CR1	C-X3-Cケモカイン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CXCR1_HUMAN (P25024)	IL8RA	インターロイキン-8 A型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CXCR3_HUMAN (P49682)	CXCR3	C-X-Cケモカイン3型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CXCR4_HUMAN (P61073)	CXCR4	C-X-Cケモカイン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
CXCR5_HUMAN (P32302)	BLR1	C-X-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
CXCR6_HUMAN (O00574)	CXCR6	C-X-Cケモカイン6型 (Bonz o)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
DRD1_HUMAN (P21728)	DRD1	ドーパミン脊椎動物1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	

DRD2_HUMAN (P14416)	DRD2	ドーパミン脊椎動物2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
DRD3_HUMAN (P35462)	DRD3	ドーパミン脊椎動物3型	ホモ・サピエンス (ヒト)
DRD4_HUMAN (P21917)	DRD4	ドーパミン脊椎動物4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
DRD5_HUMAN (P21918)	DRD5	ドーパミン脊椎動物1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
DUFFY_HUMAN (Q16570)	DARC	Duffy抗原	ホモ・サピエンス (ヒト)
EBI2_HUMAN (P32249)	EBI2	EBV誘導性 (EBV-induced)	ホモ・サピエンス (ヒト)
EDG1_HUMAN (P21453)	EDG1	スフィンゴシン1-リン酸	Edg-1 ホモ・サピエンス (ヒト)
EDG2_HUMAN (Q92633)	EDG2	リゾホスファチジン酸	Edg-2 ホモ・サピエンス (ヒト)
EDG3_HUMAN (Q99500)	EDG3	スフィンゴシン1-リン酸	Edg-3 ホモ・サピエンス (ヒト)
EDG4_HUMAN (Q9HBW0)	EDG4	リゾホスファチジン酸	Edg-4 ホモ・サピエンス (ヒト)
EDG5_HUMAN (O95136)	EDG5	スフィンゴシン1-リン酸	Edg-5 ホモ・サピエンス (ヒト)
EDG6_HUMAN (O95977)	EDG6	スフィンゴシン1-リン酸	Edg-6 ホモ・サピエンス (ヒト)
EDG7_HUMAN (Q9UBY5)	EDG7	リゾホスファチジン酸	Edg-7 ホモ・サピエンス (ヒト)
EDG8_HUMAN (Q9H228)	EDG8	スフィンゴシン1-リン酸	Edg-8 ホモ・サピエンス (ヒト)
EDNRA_HUMAN (P25101)	EDNRA	エンドセリン	ホモ・サピエンス (ヒト)
EDNRB_HUMAN (P24530)	EDNRB	エンドセリン	ホモ・サピエンス (ヒト)
ELTD1_HUMAN (Q9HBW9)	ELTD1	ETL受容体	ホモ・サピエンス (ヒト)
EMR1_HUMAN (Q14246)	EMR1	EMR1	ホモ・サピエンス (ヒト)
EMR2_HUMAN (Q9UHX3)	EMR2	EMR1	ホモ・サピエンス (ヒト)
EMR3_HUMAN (Q9BY15)	EMR3	EMR1	ホモ・サピエンス (ヒト)
EMR4_HUMAN (Q86SQ3)	EMR4	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
ETBR2_HUMAN (O60883)	GPR37L1	GPR37/エンドセリンB様	ホモ・サピエンス (ヒト)
FEAR1_HUMAN (O14842)	FEAR1	遊離脂肪酸受容体 (GP40、GP41、GP43)	ホモ・サピエンス (ヒト)
FEAR2_HUMAN (O15552)	FEAR2	遊離脂肪酸受容体 (GP40、GP41、GP43)	ホモ・サピエンス (ヒト)
FEAR3_HUMAN (O14843)	FEAR3	遊離脂肪酸受容体 (GP40、GP41、GP43)	ホモ・サピエンス (ヒト)
FPR1_HUMAN (P21462)	FPR1	Fmet-leu-phe	ホモ・サピエンス (ヒト)
FPRL1_HUMAN (P25090)	FPRL1	Fmet-leu-phe	ホモ・サピエンス (ヒト)
FPRL2_HUMAN (P25089)	FPRL2	Fmet-leu-phe	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

F SHR_HUMAN (P 2 3 9 4 5)	F SHR	卵胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
F Z D 1 0 _HUMAN (Q 9 U L W 2)	F Z D 1 0	f r i z z l e d	A群 (F z 1 及び 2 及び 4 及び 5 及び 7 ~ 9)	ホモ・サピエンス (ヒト)
F Z D 1 _HUMAN (Q 9 U P 3 8)	F Z D 1	f r i z z l e d	A群 (F z 1 及び 2 及び 4 及び 5 及び 7 ~ 9)	ホモ・サピエンス (ヒト)
F Z D 2 _HUMAN (Q 1 4 3 3 2)	F Z D 2	f r i z z l e d	A群 (F z 1 及び 2 及び 4 及び 5 及び 7 ~ 9)	ホモ・サピエンス (ヒト)
F Z D 3 _HUMAN (Q 9 N P G 1)	F Z D 3	f r i z z l e d	B群 (F z 3 及び 6)	ホモ・サピエンス (ヒト)
F Z D 4 _HUMAN (Q 9 U L V 1)	F Z D 4	f r i z z l e d	A群 (F z 1 及び 2 及び 4 及び 5 及び 7 ~ 9)	ホモ・サピエンス (ヒト)
F Z D 5 _HUMAN (Q 1 3 4 6 7)	F Z D 5	f r i z z l e d	A群 (F z 1 及び 2 及び 4 及び 5 及び 7 ~ 9)	ホモ・サピエンス (ヒト)
F Z D 6 _HUMAN (O 6 0 3 5 3)	F Z D 6	f r i z z l e d	B群 (F z 3 及び 6)	ホモ・サピエンス (ヒト)
F Z D 7 _HUMAN (O 7 5 0 8 4)	F Z D 7	f r i z z l e d	A群 (F z 1 及び 2 及び 4 及び 5 及び 7 ~ 9)	ホモ・サピエンス (ヒト)
F Z D 8 _HUMAN (Q 9 H 4 6 1)	F Z D 8	f r i z z l e d	A群 (F z 1 及び 2 及び 4 及び 5 及び 7 ~ 9)	ホモ・サピエンス (ヒト)
F Z D 9 _HUMAN (O 0 0 1 4 4)	F Z D 9	f r i z z l e d	A群 (F z 1 及び 2 及び 4 及び 5 及び 7 ~ 9)	ホモ・サピエンス (ヒト)
G 1 0 9 A _HUMAN (Q 8 T D S 4)	G P R 1 0 9 A	推定 / 未分類	A群 G P C R	ホモ・サピエンス (ヒト)
G 1 0 9 B _HUMAN (P 4 9 0 1 9)	G P R 1 0 9 B	推定 / 未分類	A群 G P C R	ホモ・サピエンス (ヒト)
G A B R 1 _HUMAN (Q 9 U B S 5)	G A B B R 1	G A B A - B	1 亜型	ホモ・サピエンス (ヒト)
G A B R 2 _HUMAN (O 7 5 8 9 9)	G A B B R 2	G A B A - B	2 亜型	ホモ・サピエンス (ヒト)
G A L R 1 _HUMAN (P 4 7 2 1 1)	G A L R 1	ガラニン		ホモ・サピエンス (ヒト)
G A L R 2 _HUMAN (O 4 3 6 0 3)	G A L R 2	ガラニン		ホモ・サピエンス (ヒト)
G A L R 3 _HUMAN (O 6 0 7 5 5)	G A L R 3	ガラニン		ホモ・サピエンス (ヒト)
G A S R _HUMAN (P 3 2 2 3 9)	C C K B R	C C K	B型	ホモ・サピエンス (ヒト)
G H R H R _HUMAN (Q 0 2 6 4 3)	G H R H R	成長ホルモン放出ホルモン		ホモ・サピエンス (ヒト)
G H S R _HUMAN (Q 9 2 8 4 7)	G H S R	成長ホルモン分泌促進因子		ホモ・サピエンス (ヒト)
G I P R _HUMAN (P 4 8 5 4 6)	G I P R	胃抑制ペプチド		ホモ・サピエンス (ヒト)
G L P 1 R _HUMAN (P 4 3 2 2 0)	G L P 1 R	グルカゴン		ホモ・サピエンス (ヒト)
G L P 2 R _HUMAN (O 9 5 8 3 8)	G L P 2 R	グルカゴン		ホモ・サピエンス (ヒト)
G L R _HUMAN (P 4 7 8 7 1)	G C G R	グルカゴン		ホモ・サピエンス (ヒト)
G N R H R _HUMAN (P 3 0 9 6 8)	G N R H R	ゴナドトロピン放出ホルモン I 型		ホモ・サピエンス (ヒト)
G N R R 2 _HUMAN (Q 9 6 P 8 8)	G N R H R 2	ゴナドトロピン放出ホルモン I I 型		ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

ホモ・サピエンス (ヒト)					
GP101_HUMAN	(Q96P66)	GPR101	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP107_HUMAN	(Q5VW38)	GPR107	推定/未分類 他	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP110_HUMAN	(Q5T601)	GPR110	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP111_HUMAN	(Q8IZF7)	GPR111	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP112_HUMAN	(Q8IZF6)	GPR112	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP113_HUMAN	(Q8IZF5)	GPR113	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	10
GP114_HUMAN	(Q8IZF4)	GPR114	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP115_HUMAN	(Q8IZF3)	GPR115	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP116_HUMAN	(Q8IZF2)	GPR116	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP119_HUMAN	(Q8TDV5)	GPR119	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP120_HUMAN	(Q5NUL3)	GPR120	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP123_HUMAN	(Q86SQ6)	GPR123	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	20
GP124_HUMAN	(Q96PE1)	GPR124	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP125_HUMAN	(Q8IWK6)	GPR125	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP126_HUMAN	(Q86SQ4)	GPR126	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP128_HUMAN	(Q96K78)	GPR128	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP132_HUMAN	(Q9UNW8)	GPR132	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP133_HUMAN	(Q6QNK2)	GPR133	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	30
GP135_HUMAN	(Q8IZ08)	GPR135	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP139_HUMAN	(Q6DWJ6)	GPR139	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP141_HUMAN	(Q7Z602)	GPR141	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP142_HUMAN	(Q7Z601)	GPR142	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP143_HUMAN	(P51810)	GPR143	眼白子症タンパク質	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP144_HUMAN	(Q7Z7M1)	GPR144	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
GP146_HUMAN	(Q96CH1)	GPR146	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP148_HUMAN	(Q8TDV2)	GPR148	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	

・サピエンス (ヒト)					
GP149__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q86SP6)	GPR149	推定/未分類A群GPCR	ホモ	
GP150__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q8NGU9)	GPR150	推定/未分類A群GPCR	ホモ	
GP151__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q8TDV0)	GPR151	推定/未分類A群GPCR	ホモ	
GP152__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q8TDT2)	GPR152	推定/未分類A群GPCR	ホモ	
GP153__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q6NV75)	GPR153	推定/未分類A群GPCR	ホモ	
GP154__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q6W5P4)	GPR154	推定/未分類A群GPCR	ホモ	10
GP155__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q7Z3F1)	GPR155	推定/未分類 他	ホモ・サピエンス	
GP156__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q8NFN8)	GPR156	GABA-B様	ホモ・サピエンス	
GP157__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q5UAW9)	GPR157	推定/未分類B群GPCR	ホモ	
GP158__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q5T848)	GPR158	推定/未分類C群GPCR	ホモ	
GP160__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q9UJ42)	GPR160	推定/未分類A群GPCR	ホモ	
GP161__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q8N6U8)	GPR161	推定/未分類A群GPCR	ホモ	20
GP162__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q16538)	GPR162	推定/未分類A群GPCR	ホモ	
GP171__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(O14626)	GPR171	推定/未分類A群GPCR	ホモ	
GP173__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q9NS66)	GPR173	SREB	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP174__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q9BXC1)	GPR174	プリノセプターP2RY5、8、9、10	GPR35、92、174 ホモ・サピエンス (ヒト)	
GP175__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q86W33)	GPR175	推定/未分類 他	ホモ・サピエンス	
GP176__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q14439)	GPR176	推定/未分類A群GPCR	ホモ	30
GP179__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q6PRD1)	GPR179	推定/未分類C群GPCR	ホモ	
GPBAR__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q8TDU6)	GPBAR1	G-タンパク質結合胆汁酸受容体		
GPC5B__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q9NZH0)	GPRC5B	オーファンGPRC5	ホモ・サピエンス	
GPC5C__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q9NQ84)	GPRC5C	オーファンGPRC5	ホモ・サピエンス	
GPC5D__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q9NZD1)	GPRC5D	オーファンGPRC5	ホモ・サピエンス	
GPC6A__HUMAN ・サピエンス (ヒト)	(Q5T6X5)	GPRC6A	オーファンGPCR6	ホモ・サピエンス	40
GPR12__HUMAN	(P47775)	GPR12	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR15__HUMAN	(P49685)	GPR15	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR17__HUMAN	(Q13304)	GPR17	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	

GPR18_HUMAN (Q14330)	GPR18	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR19_HUMAN (Q15760)	GPR19	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR1_HUMAN (P46091)	GPR1	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR20_HUMAN (Q99678)	GPR20	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR21_HUMAN (Q99679)	GPR21	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR22_HUMAN (Q99680)	GPR22	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR25_HUMAN (O00155)	GPR25	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR26_HUMAN (Q8NDV2)	GPR26	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR27_HUMAN (Q9NS67)	GPR27	SREB	ホモ・サピエンス (ヒト)	10
GPR31_HUMAN (O00270)	GPR31	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR32_HUMAN (O75388)	GPR32	ケモカイン受容体様1	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR33_HUMAN (Q49SQ1)	GPR33	ケモカイン受容体様1	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR34_HUMAN (Q9UPC5)	GPR34	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR35_HUMAN (Q9HC97)	GPR35	プリノセプターP2RY5、8、9、10	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR37_HUMAN (O15354)	GPR37	GPR37/エンドセリンB様	ホモ・サピエンス (ヒト)	20
GPR39_HUMAN (O43194)	GPR39	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR3_HUMAN (P46089)	GPR3	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR42_HUMAN (O15529)	GPR42	遊離脂肪酸受容体 (GP40、GP41、GP43)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR44_HUMAN (Q9Y5Y4)	GPR44	ケモカイン受容体様1	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR45_HUMAN (Q9Y5Y3)	GPR45	GPR45様	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR4_HUMAN (P46093)	GPR4	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR52_HUMAN (Q9Y2T5)	GPR52	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR55_HUMAN (Q9Y2T6)	GPR55	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	30
GPR56_HUMAN (Q9Y653)	GPR56	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR61_HUMAN (Q9BZJ8)	GPR61	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR62_HUMAN (Q9BZJ7)	GPR62	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR63_HUMAN (Q9BZJ6)	GPR63	GPR45様	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR64_HUMAN (Q8IZP9)	GPR64	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR6_HUMAN (P46095)	GPR6	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR75_HUMAN (O95800)	GPR75	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
GPR78_HUMAN (Q96P69)	GPR78	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR81_HUMAN (Q9BXC0)	GPR81	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	

サピエンス (ヒト)				
GPR82_HUMAN (Q96P67)	GPR82	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR83_HUMAN (Q9NYM4)	GPR83	神経ペプチドY 他	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR84_HUMAN (Q9NQS5)	GPR84	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR85_HUMAN (P60893)	GPR85	SREB	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR87_HUMAN (Q9BY21)	GPR87	プリノセプターP2RY12~14	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR87 (UDP-グルコース)				
GPR88_HUMAN (Q9GZN0)	GPR88	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR92_HUMAN (Q9H1C0)	GPR92	プリノセプターP2RY5、8、9、10	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GPR92、GPR35、92、174				
GPR97_HUMAN (Q86Y34)	GPR97	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
GRPR_HUMAN (P30550)	GRPR	ボンベシン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
HRH1_HUMAN (P35367)	HRH1	ヒスタミン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
HRH2_HUMAN (P25021)	HRH2	ヒスタミン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
HRH3_HUMAN (Q9Y5N1)	HRH3	ヒスタミン3型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
HRH4_HUMAN (Q9H3N8)	HRH4	ヒスタミン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
KISSR_HUMAN (Q969F8)	KISS1R	Kiss受容体 (GPR54)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
LGR4_HUMAN (Q9BXB1)	LGR4	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
LGR5_HUMAN (O75473)	LGR5	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
LGR6_HUMAN (Q9HBX8)	LGR6	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
LGR8_HUMAN (Q8WXD0)	LGR8	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
LPHN1_HUMAN (O94910)	LPHN1	ラトロフィリン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
LPHN2_HUMAN (O95490)	LPHN2	ラトロフィリン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
LPHN3_HUMAN (Q9HAR2)	LPHN3	ラトロフィリン3型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
LSHR_HUMAN (P22888)	LHCGR	ルトロピン-絨毛性ゴサドトロピンホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
LT4R1_HUMAN (Q15722)	LTB4R	ロイコトリエンB4受容体	BLT1	
LT4R1	ホモ・サピエンス (ヒト)			
LT4R2_HUMAN (Q9NPC1)	LTB4R2	ロイコトリエンB4受容体	BLT2	
LT4R2	ホモ・サピエンス (ヒト)			
MAS1L_HUMAN (P35410)	MAS1L	Masプロトオンコジーン及びMas関連 (MRG)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
MASS1_HUMAN (Q8WVG9)	MASS1	巨大 (Very large) G-タンパク質結合受容体	ホモ・サピエンス (ヒト)	

10

20

30

40

MAS_HUMAN (P04201) MRG) ホモ・サピエンス (ヒト)	MAS1 Mas プロトオンコジーン及びMas 関連	
MC3R_HUMAN (P41968) ンス (ヒト)	MC3R メラノコルチンホルモン	ホモ・サピエ
MC4R_HUMAN (P32245) ンス (ヒト)	MC4R メラノコルチンホルモン	ホモ・サピエ
MC5R_HUMAN (P33032) ンス (ヒト)	MC5R メラノコルチンホルモン	ホモ・サピエ
MCHR1_HUMAN (Q99705) ・サピエンス (ヒト)	MCHR1 メラニン凝集ホルモン受容体	ホモ
MCHR2_HUMAN (Q969V1) ・サピエンス (ヒト)	MCHR2 メラニン凝集ホルモン受容体	ホモ
MGR1_HUMAN (Q13255) ンス (ヒト)	GRM1 代謝型グルタミン酸 I 群	ホモ・サピエ
MGR2_HUMAN (Q14416) エンス (ヒト)	GRM2 代謝型グルタミン酸 I I 群	ホモ・サピ
MGR3_HUMAN (Q14832) エンス (ヒト)	GRM3 代謝型グルタミン酸 I I 群	ホモ・サピ
MGR4_HUMAN (Q14833) ピエンス (ヒト)	GRM4 代謝型グルタミン酸 I I I 群	ホモ・サ
MGR5_HUMAN (P41594) エンス (ヒト)	GRM5 代謝型グルタミン酸 I 群	ホモ・サピエ
MGR6_HUMAN (O15303) ピエンス (ヒト)	GRM6 代謝型グルタミン酸 I I I 群	ホモ・サ
MGR7_HUMAN (Q14831) ピエンス (ヒト)	GRM7 代謝型グルタミン酸 I I I 群	ホモ・サ
MGR8_HUMAN (O00222) ピエンス (ヒト)	GRM8 代謝型グルタミン酸 I I I 群	ホモ・サ
MRGRD_HUMAN (Q8TDS7) MRG) ホモ・サピエンス (ヒト)	MRGPRD Mas プロトオンコジーン及びMas 関連	
MRGRE_HUMAN (Q86SM8) MRGPRE 断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
MRGRF_HUMAN (Q96AM1) MRGPRF 推定/未分類A群GPCR		ホモ
MRGRG_HUMAN (Q86SM5) MRGPRG 断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
MRGX1_HUMAN (Q96LB2) MRGPRX1 Mas プロトオンコジーン及びM a s 関連 (MRG) ホモ・サピエンス (ヒト)		
MRGX2_HUMAN (Q96LB1) MRGPRX2 Mas プロトオンコジーン及びM a s 関連 (MRG) ホモ・サピエンス (ヒト)		
MRGX3_HUMAN (Q96LB0) MRGPRX3 Mas プロトオンコジーン及びM a s 関連 (MRG) ホモ・サピエンス (ヒト)		
MRGX4_HUMAN (Q96LA9) MRGPRX4 Mas プロトオンコジーン及びM a s 関連 (MRG) ホモ・サピエンス (ヒト)		
MSHR_HUMAN (Q01726) エンス (ヒト)	MC1R メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピ
MTLR_HUMAN (O43193) ピエンス (ヒト)	MLNR 成長ホルモン分泌促進因子様	ホモ・サ
MTR1A_HUMAN (P48039) ヒト)	MTNR1A メラトニン	ホモ・サピエンス (
MTR1B_HUMAN (P49286) ヒト)	MTNR1B メラトニン	ホモ・サピエンス (
MTR1L_HUMAN (Q13585) ヒト)	GPR50 メラトニン	ホモ・サピエンス (ヒ

10

20

30

40

NK1R_HUMAN (P25103)	TACR1	サブスタンスP (NK1)	ホモ・サピエンス (ヒト)
NK2R_HUMAN (P21452)	TACR2	サブスタンスK (NK2)	ホモ・サピエンス (ヒト)
NK3R_HUMAN (P29371)	TACR3	ニューロメジンK (NK3)	ホモ・サピエンス (ヒト)
NMBR_HUMAN (P28336)	NMBR	ボンベシン	ホモ・サピエンス (ヒト)
NMUR1_HUMAN (Q9HB89)	NMUR1	ニューロメジンU	ホモ・サピエンス (ヒト)
NMUR2_HUMAN (Q9GZQ4)	NMUR2	ニューロメジンU	ホモ・サピエンス (ヒト)
NPBW1_HUMAN (P48145)	NPBWR1	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)
NPBW2_HUMAN (P48146)	NPBWR2	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)
NPFF1_HUMAN (Q9GZQ6)	NPFFR1	神経ペプチドFF	ホモ・サピエンス (ヒト)
NPFF2_HUMAN (Q9Y5X5)	NPFFR2	神経ペプチドFF	ホモ・サピエンス (ヒト)
NPY1R_HUMAN (P25929)	NPY1R	神経ペプチドY 1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
NPY2R_HUMAN (P49146)	NPY2R	神経ペプチドY 2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
NPY4R_HUMAN (P50391)	PPYR1	神経ペプチドY 4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
NPY5R_HUMAN (Q15761)	NPY5R	神経ペプチドY 5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
NTR1_HUMAN (P30989)	NTSR1	ニューロテンシン	ホモ・サピエンス (ヒト)
NTR2_HUMAN (O95665)	NTSR2	ニューロテンシン	ホモ・サピエンス (ヒト)
O00325_HUMAN (O00325)	PTGER3	プロスタグランジンE2	EP3 亜型 ホモ・サピエンス (ヒト)
O00421_HUMAN (O00421)	ccr6	C-Cケモカイン	他 ホモ・サピエンス (ヒト)
O10A1_HUMAN (O95223)	OR10A1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
O10A3_HUMAN (P58181)	OR10A3	嗅覚 (Olfactory) I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9 ホモ・サピエンス (ヒト)
O10A4_HUMAN (Q9H209)	OR10A4	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9 ホモ・サピエンス (ヒト)
O10A5_HUMAN (Q9H207)	OR10A5	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9 ホモ・サピエンス (ヒト)
O10A6_HUMAN (Q8NH74)	OR10A6	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9 ホモ・サピエンス (ヒト)
O10A7_HUMAN (Q8NGE5)	OR10A7	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9 ホモ・サピエンス (ヒト)
O10AD_HUMAN (Q8NGE0)	OR10AD1	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9 ホモ・サピエンス (ヒト)
O10AG_HUMAN (Q8NH19)	OR10AG1	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9 ホモ・サピエンス (ヒト)
O10C1_HUMAN (Q96KK4)	OR10C1	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9 ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

O10D4__HUMAN (Q8NGN7) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10D4	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10G2__HUMAN (Q8NGC3) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10G2	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10G3__HUMAN (Q8NGC4) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10G3	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10G4__HUMAN (Q8NGN3) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10G4	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10G6__HUMAN (Q8NH81) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10G6	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10G7__HUMAN (Q8NGN6) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10G7	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10G8__HUMAN (Q8NGN5) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10G8	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10G9__HUMAN (Q8NGN4) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10G9	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10H1__HUMAN (Q9Y4A9) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10H1	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10H2__HUMAN (O60403) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10H2	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10H3__HUMAN (O60404) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10H3	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10H4__HUMAN (Q8NGA5) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10H4	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10H5__HUMAN (Q8NGA6) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10H5	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10J1__HUMAN (P30954) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10J1	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10J3__HUMAN (Q5JRS4) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10J3	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10J5__HUMAN (Q8NHC4) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10J5	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10J6__HUMAN (Q8NGY7) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10J6	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10K1__HUMAN (Q8NGX5) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10K1	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10K2__HUMAN (Q6IF99) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10K2	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10P1__HUMAN (Q8NGE3) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10P1	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10Q1__HUMAN (Q8NGQ4) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10Q1	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10R2__HUMAN (Q8NGX6) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10R2	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10S1__HUMAN (Q8NGN2) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10S1	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10T2__HUMAN (Q8NGX3) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10T2	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10V1__HUMAN (Q8NGI7) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10V1	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6
O10W1__HUMAN (Q8NGF6) 3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10W1	嗅覚II	f a m 1 0 / MOR 2 6

10

20

30

40

O10X1_HUMAN (Q8NGY0)	OR10X1	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6
3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O10Z1_HUMAN (Q8NGY1)	OR10Z1	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6
3~269 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O11A1_HUMAN (Q9GZK7)	OR11A1	嗅覚 I I	f a m 1 1 / MOR 1 0
6、121、122 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O11G2_HUMAN (Q8NGC1)	OR11G2	嗅覚 I I	f a m 1 1 / MOR 1 0
6、121、122 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O11H1_HUMAN (Q8NG94)	OR11H1	嗅覚 I I	f a m 1 1 / MOR 1 0
6、121、122 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O11H4_HUMAN (Q8NGC9)	OR11H4	嗅覚 I I	f a m 1 1 / MOR 1 0
6、121、122 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O11H6_HUMAN (Q8NGC7)	OR11H6	嗅覚 I I	f a m 1 1 / MOR 1 0
6、121、122 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O11L1_HUMAN (Q8NGX0)	OR11L1	嗅覚 I I	f a m 1 1 / MOR 1 0
6、121、122 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O12D2_HUMAN (P58182)	OR12D2	嗅覚 I I	f a m 1 2 / MOR 2 5
0 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O12D3_HUMAN (Q9UGF7)	OR12D3	嗅覚 I I	f a m 1 2 / MOR 2 5
0 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13A1_HUMAN (Q8NGR1)	OR13A1	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13C2_HUMAN (Q8NGS9)	OR13C2	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13C3_HUMAN (Q8NGS6)	OR13C3	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13C4_HUMAN (Q8NGS5)	OR13C4	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13C5_HUMAN (Q8NGS8)	OR13C5	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13C8_HUMAN (Q8NGS7)	OR13C8	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13C9_HUMAN (Q8NGT0)	OR13C9	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13D1_HUMAN (Q8NGV5)	OR13D1	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13F1_HUMAN (Q8NGS4)	OR13F1	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13G1_HUMAN (Q8NGZ3)	OR13G1	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13H1_HUMAN (Q8NG92)	OR13H1	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O13J1_HUMAN (Q8NGT2)	OR13J1	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5
3 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O14694_HUMAN (O14694)	CCR5	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
O2A12_HUMAN (Q8NGT7)	OR2A12	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6
~262、270~285 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O2A14_HUMAN (Q96R47)	OR2A14	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6
~262、270~285 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O2A42_HUMAN (Q8NGT9)	OR2A42	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6
~262、270~285 ホモ・サピエンス (ヒト)			
O2AE1_HUMAN (Q8NHA4)	OR2AE1	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6

10

20

30

40

~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2AG1_HUMAN	(Q9H205)	OR2AG1	嗅覚II	fam2/MOR256	
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2AJ1_HUMAN	(Q8NGZ0)	OR2AJ1	嗅覚II	fam2/MOR256	
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2AK2_HUMAN	(Q8NG84)	OR2AK2	嗅覚II	fam2/MOR256	
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2AP1_HUMAN	(Q8NGE2)	OR2AP1	嗅覚II	fam6/MOR103	
~105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2T10_HUMAN	(Q8NGZ9)	OR2T10	嗅覚II	fam2/MOR256	
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2T11_HUMAN	(Q8NH01)	OR2T11	嗅覚II	fam2/MOR256	10
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2T12_HUMAN	(Q8NG77)	OR2T12	嗅覚II	fam2/MOR256	
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2T27_HUMAN	(Q8NH04)	OR2T27	嗅覚II	fam2/MOR256	
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2T29_HUMAN	(Q8NH02)	OR2T29	嗅覚II	fam2/MOR256	
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2T33_HUMAN	(Q8NG76)	OR2T33	嗅覚II	fam2/MOR256	
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2T34_HUMAN	(Q8NGX1)	OR2T34	嗅覚II	fam2/MOR256	
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O2T35_HUMAN	(Q8NGX2)	OR2T35	嗅覚II	fam2/MOR256	20
~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
O43192_HUMAN	(O43192)	パソプレシン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)		
O43200_HUMAN	(O43200)	TSHR	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43624_HUMAN	(O43624)	OLFR 42A	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43625_HUMAN	(O43625)	OLFR 42A	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43626_HUMAN	(O43626)	OLFR 42B	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43627_HUMAN	(O43627)	OR2H5P	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43789_HUMAN	(O43789)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)		30
O43871_HUMAN	(O43871)	OR16-36	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43872_HUMAN	(O43872)	OR16-37	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43873_HUMAN	(O43873)	OR16-88	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43874_HUMAN	(O43874)	OR16-89	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43875_HUMAN	(O43875)	OR16-90	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43876_HUMAN	(O43876)	OR17-130	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
O43878_HUMAN	(O43878)	OR17-137	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
O43879_HUMAN	(O43879)	OR17-15	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	

O43880__HUMAN (O43880)	OR17-16	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
O43886__HUMAN (O43886)	OR7-139	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
O43887__HUMAN (O43887)	OR7-140	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
O43898__HUMAN (O43898)	GPR45様		ホモ・サピエンス (ヒト)
O4A15__HUMAN (Q8NGL6) ~248 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4A15	嗅覚II	fam4/MOR225
O4A16__HUMAN (Q8NH70) ~248 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4A16	嗅覚II	fam4/MOR225
O4A47__HUMAN (Q6IF82) ~248 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4A47	嗅覚II	fam4/MOR225
O4F15__HUMAN (Q8NGB8) ~248 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4F15	嗅覚II	fam4/MOR225
O4F17__HUMAN (Q8NGA8) ~248 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4F17	嗅覚II	fam4/MOR225
O4F29__HUMAN (Q6IEY1) ~248 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4F29	嗅覚II	fam4/MOR225
O51A2__HUMAN (Q8NGJ7) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51A2	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51A4__HUMAN (Q8NGJ6) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51A4	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51A7__HUMAN (Q8NH64) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51A7	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51B2__HUMAN (Q9Y5P1) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51B2	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51B4__HUMAN (Q9Y5P0) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51B4	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51B5__HUMAN (Q9H339) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51B5	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51B6__HUMAN (Q9H340) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51B6	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51D1__HUMAN (Q8NGF3) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51D1	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51E1__HUMAN (Q8TCB6) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51E1	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51E2__HUMAN (Q9H255) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51E2	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51F1__HUMAN (Q8NH61) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51F2	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51G1__HUMAN (Q8NGK1) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51G1	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51G2__HUMAN (Q8NGK0) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51G2	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51H1__HUMAN (Q8NH63) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51H1	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51I1__HUMAN (Q9H343) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51I1	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51I2__HUMAN (Q9H344) 1~42 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR51I2	嗅覚I	fam51, 52/MOR
O51L1__HUMAN (Q8NGJ5)	OR51L1	嗅覚I	fam51, 52/MOR

10

20

30

40

1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O51M1	_HUMAN (Q9H341)	OR51M1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O51Q1	_HUMAN (Q8NH59)	OR51Q1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O51S1	_HUMAN (Q8NGJ8)	OR51S1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O51T1	_HUMAN (Q8NGJ9)	OR51T1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O51V1	_HUMAN (Q9H2C8)	OR51V1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52A1	_HUMAN (Q9UKL2)	OR52A1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52A5	_HUMAN (Q9H2C5)	OR52A5	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52B2	_HUMAN (Q96RD2)	OR52B2	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52B4	_HUMAN (Q8NGK2)	OR52B4	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52B6	_HUMAN (Q8NGF0)	OR52B6	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52D1	_HUMAN (Q9H346)	OR52D1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52E1	_HUMAN (Q8NGJ3)	OR52E1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52E2	_HUMAN (Q8NGJ4)	OR52E2	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52E4	_HUMAN (Q8NGH9)	OR52E4	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52E5	_HUMAN (Q8NH55)	OR52E5	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52E6	_HUMAN (Q96RD3)	OR52E6	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52E8	_HUMAN (Q6IFG1)	OR52E8	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52H1	_HUMAN (Q8NGJ2)	OR52H1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52I1	_HUMAN (Q8NGK6)	OR52I1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52I2	_HUMAN (Q8NH67)	OR52I2	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52J3	_HUMAN (Q8NH60)	OR52J3	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52K1	_HUMAN (Q8NGK4)	OR52K1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52K2	_HUMAN (Q8NGK3)	OR52K2	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52L1	_HUMAN (Q8NGH7)	OR52L1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52L2	_HUMAN (Q8NGH6)	OR52L2	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52M1	_HUMAN (Q8NGK5)	OR52M1	嗅覚I	f a m 5 1、5 2/MOR

10

20

30

40

1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52N1	_HUMAN (Q8NH53)	OR52N1	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52N2	_HUMAN (Q8NGI0)	OR52N2	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52N4	_HUMAN (Q8NGI2)	OR52N4	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52N5	_HUMAN (Q8NH56)	OR52N5	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52P1	_HUMAN (Q8NH57)	OR52P1	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52R1	_HUMAN (Q8NGF1)	OR52R1	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O52W1	_HUMAN (Q6IF63)	OR52W1	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O56A1	_HUMAN (Q8NGH5)	OR56A1	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O56A3	_HUMAN (Q8NH54)	OR56A3	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O56A4	_HUMAN (Q8NGH8)	OR56A4	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O56B1	_HUMAN (Q8NGI3)	OR56B1	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O56B2	_HUMAN (Q8NGI1)	OR56B2P	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MO
R1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O56B4	_HUMAN (Q8NH76)	OR56B4	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2/MOR
1～42	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AC2	_HUMAN (Q9NZP5)	OR5AC2	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AK2	_HUMAN (Q8NH90)	OR5AK2	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AK3	_HUMAN (Q8NH89)	OR5AK3	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AN1	_HUMAN (Q8NGI8)	OR5AN1	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AP2	_HUMAN (Q8NGF4)	OR5AP2	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AR1	_HUMAN (Q8NGP9)	OR5AR1	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AS1	_HUMAN (Q8N127)	OR5AS1	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AT1	_HUMAN (Q8NHC5)	OR5AT1	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AU1	_HUMAN (Q8NGC0)	OR5AU1	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AV1	_HUMAN (Q8NHC6)	OR5AV1P	嗅覚 I I	f a m 5/MOR17
2～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5AY1	_HUMAN (Q8NGZ2)	OR5AY1	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O5BF1	_HUMAN (Q8NHC7)	OR5BF1	嗅覚 I I	f a m 5/MOR172
～224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
O60411	_HUMAN (O60411)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	

10

20

30

40

O75228_HUMAN (O75228)	TBXA2R	トロンボキサン	ホモ・サピエンス (ヒト)
O75307_HUMAN (O75307)	CCRL2	C-Cケモカイン	他 ホモ・サピエンス (ヒト)
O75824_HUMAN (O75824)	CCKBR	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
O95220_HUMAN (O95220)	OR5D3	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
O95499_HUMAN (O95499)	olf r89	嗅覚II	fam2/MOR256~262、270~285 ホモ・サピエンス (ヒト)
O95950_HUMAN (O95950)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
OPN3_HUMAN (Q9H1Y3)	OPN3	ロドプシン	他 ホモ・サピエンス (ヒト)
OPN4_HUMAN (Q9UHM6)	OPN4	ロドプシン	他 ホモ・サピエンス (ヒト)
OPN5_HUMAN (Q6U736)	OPN5	ロドプシン	他 ホモ・サピエンス (ヒト)
OPRD_HUMAN (P41143)	OPRD1	オピオイドD型	ホモ・サピエンス (ヒト)
OPRK_HUMAN (P41145)	OPRK1	オピオイドK型	ホモ・サピエンス (ヒト)
OPRM_HUMAN (P35372)	OPRM1	オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)
OPRX_HUMAN (P41146)	OPRL1	オピオイドX型	ホモ・サピエンス (ヒト)
OPSB_HUMAN (P03999)	OPN1SW	ロドプシン脊椎動物3型	ホモ・サピエンス (ヒト)
OPSD_HUMAN (P08100)	RHO	ロドプシン脊椎動物1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
OPSG_HUMAN (P04001)	OPN1MW	ロドプシン脊椎動物2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
OPSR_HUMAN (P04000)	OPN1LW	ロドプシン脊椎動物2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
OPSX_HUMAN (O14718)	RRH	ロドプシン	他 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR1A1_HUMAN (Q9P1Q5)	OR1A1	嗅覚II	fam1/MOR125~138、156 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR1A2_HUMAN (Q9Y585)	OR1A2	嗅覚II	fam1/MOR125~138、156 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR1B1_HUMAN (Q8NGR6)	OR1B1	嗅覚II	fam1/MOR125~138、156 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR1C1_HUMAN (Q15619)	OR1C1	嗅覚II	fam1/MOR125~138、156 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR1D2_HUMAN (P34982)	OR1D2	嗅覚II	fam1/MOR125~138、156 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR1D4_HUMAN (P47884)	OR1D4	嗅覚II	fam1/MOR125~138、156 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR1D5_HUMAN (P58170)	OR1D5	嗅覚II	fam1/MOR125~138、156 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR1E1_HUMAN (P30953)	OR1E1	嗅覚II	fam1/MOR125~138、156 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR1E2_HUMAN (P47887)	OR1E2	嗅覚II	fam1/MOR125~138、156 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR1F1_HUMAN (O43749)	OR1F1	嗅覚II	fam1/MOR125~

10

20

30

40

138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1F2_HUMAN	(Q96R84)	OR1F2	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1FC_HUMAN	(Q8NHA8)	OR1F12P	嗅覚II fam1/MOR125~
5~138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1G1_HUMAN	(P47890)	OR1G1	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1I1_HUMAN	(O60431)	OR1I1	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1J1_HUMAN	(Q8NGS3)	OR1J1	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1J2_HUMAN	(Q8NGS2)	OR1J2	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1J4_HUMAN	(Q8NGS1)	OR1J4	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1K1_HUMAN	(Q8NGR3)	OR1K1	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1L1_HUMAN	(Q8NH94)	OR1L1	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1L3_HUMAN	(Q8NH93)	OR1L3	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1L4_HUMAN	(Q8NGR5)	OR1L4	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1L6_HUMAN	(Q8NGR2)	OR1L6	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1L8_HUMAN	(Q8NGR8)	OR1L8	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1M1_HUMAN	(Q8NGA1)	OR1M1	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1N1_HUMAN	(Q8NGS0)	OR1N1	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1N2_HUMAN	(Q8NGR9)	OR1N2	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1Q1_HUMAN	(Q15612)	OR1Q1	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1S1_HUMAN	(Q8NH92)	OR1S1	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR1S2_HUMAN	(Q8NGQ3)	OR1S2	嗅覚II fam1/MOR125~
138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR2A2_HUMAN	(Q6IF42)	OR2A2	嗅覚II fam2/MOR256~
262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR2A4_HUMAN	(O95047)	OR2A4	嗅覚II fam2/MOR256~
262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR2A5_HUMAN	(Q96R48)	OR2A5	嗅覚II fam2/MOR256~
262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR2A7_HUMAN	(Q96R45)	OR2A7	嗅覚II fam2/MOR256~
262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR2B2_HUMAN	(Q9GZK3)	OR2B2	嗅覚II fam2/MOR256~
262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR2B3_HUMAN	(O76000)	OR2B3	嗅覚II fam2/MOR256~
262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR2B6_HUMAN	(P58173)	OR2B6	嗅覚II fam2/MOR256~

10

20

30

40

262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)			
OR2B8_HUMAN 262、270~285	(P59922) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2B8	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2BB_HUMAN ~262、270~285	(Q5JQS5) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2B11	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2C1_HUMAN 262、270~285	(O95371) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2C1	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2C3_HUMAN 262、270~285	(Q8N628) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2C3	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2D2_HUMAN 262、270~285	(Q9H210) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2D2	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2D3_HUMAN 262、270~285	(Q8NGH3) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2D3	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2F1_HUMAN 262、270~285	(Q13607) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2F1	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2F2_HUMAN 262、270~285	(O95006) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2F2	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2G2_HUMAN 262、270~285	(Q8NGZ5) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2G2	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2G3_HUMAN 262、270~285	(Q8NGZ4) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2G3	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2G6_HUMAN 262、270~285	(Q5TZ20) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2G6	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2H1_HUMAN 262、270~285	(Q9GZK4) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2H1	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2H2_HUMAN 262、270~285	(O95918) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2H2	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2I1_HUMAN ~262、270~285	(Q8NGU4) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2I1P	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2J1_HUMAN 262、270~285	(Q9GZK6) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2J1	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2J2_HUMAN 262、270~285	(O76002) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2J2	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2J3_HUMAN 262、270~285	(O76001) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2J3	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2K1_HUMAN ホモ・サピエンス (ヒト)	(Q8NGT1)	OR2K2	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5 3
OR2L2_HUMAN 262、270~285	(Q8NH16) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2L2	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2L3_HUMAN 262、270~285	(Q8NG85) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2L3	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2L5_HUMAN 262、270~285	(Q8NG80) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2L5	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2L8_HUMAN 262、270~285	(Q8NGY9) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2L8	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2LD_HUMAN ~262、270~285	(Q8N349) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2L13	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2M2_HUMAN 262、270~285	(Q96R28) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2M2	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2M3_HUMAN 262、270~285	(Q8NG83) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2M3	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~
OR2M4_HUMAN	(Q96R27)	OR2M4	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~

10

20

30

40

262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR2M7__HUMAN 262、270~285	(Q8NG81) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2M7	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	
OR2S1__HUMAN ホモ・サピエンス (ヒト)	(Q9NQN1)	OR2S2	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5 3	
OR2T1__HUMAN 262、270~285	(O43869) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2T1	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	
OR2T2__HUMAN 262、270~285	(Q6IF00) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2T2	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	
OR2T3__HUMAN 262、270~285	(Q8NH03) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2T3	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	
OR2T4__HUMAN 262、270~285	(Q8NH00) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2T4	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	10
OR2T5__HUMAN 262、270~285	(Q6IEZ7) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2T5	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	
OR2T6__HUMAN 262、270~285	(Q8NHC8) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2T6	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	
OR2V2__HUMAN 262、270~285	(Q96R30) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2V2	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	
OR2W1__HUMAN 262、270~285	(Q9Y3N9) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2W1	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	
OR2W3__HUMAN 262、270~285	(Q7Z3T1) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2W3	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	
OR2Y1__HUMAN 262、270~285	(Q8NGV0) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2Y1	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	20
OR2Z1__HUMAN 262、270~285	(Q8NG97) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2Z1	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~	
OR3A1__HUMAN ホモ・サピエンス (ヒト)	(P47881)	OR3A1	嗅覚 I I	f a m 3 / MOR 2 5 5	
OR3A2__HUMAN ホモ・サピエンス (ヒト)	(P47893)	OR3A2	嗅覚 I I	f a m 3 / MOR 2 5 5	
OR3A3__HUMAN ホモ・サピエンス (ヒト)	(P47888)	OR3A3	嗅覚 I I	f a m 3 / MOR 2 5 5	
OR3A4__HUMAN ホモ・サピエンス (ヒト)	(P47883)	OR3A4	嗅覚 I I	f a m 3 / MOR 2 5 5	
OR4A4__HUMAN 248	(Q8NGN8) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4A4	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~	30
OR4A5__HUMAN 248	(Q8NH83) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4A5	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~	
OR4B1__HUMAN 248	(Q8NGF8) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4B1	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~	
OR4C3__HUMAN 248	(Q8NH37) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4C3	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~	
OR4C5__HUMAN 248	(Q8NGB2) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4C5	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~	
OR4C6__HUMAN 248	(Q8NH72) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4C6	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~	
OR4CB__HUMAN ~248	(Q6IEV9) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4C11	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5	40
OR4CC__HUMAN ~248	(Q96R67) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR4C12	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5	
OR4CD__HUMAN	(Q8NGP0)	OR4C13	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5	

~248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4CF__HUMAN	(Q8NGM1)	OR4C15	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5
~248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4CG__HUMAN	(Q8NGL9)	OR4C16	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5
~248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4D1__HUMAN	(Q15615)	OR4D1	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4D2__HUMAN	(P58180)	OR4D2	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4D5__HUMAN	(Q8NGN0)	OR4D5	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4D6__HUMAN	(Q8NGJ1)	OR4D6	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4D9__HUMAN	(Q8NGE8)	OR4D9	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4DA__HUMAN	(Q8NGI6)	OR4D10	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5
~248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4DB__HUMAN	(Q8NGI4)	OR4D11	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5
~248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4E2__HUMAN	(Q8NGC2)	OR4E2	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4F3__HUMAN	(O95013)	OR4F3	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4F4__HUMAN	(Q96R69)	OR4F4	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4F5__HUMAN	(Q8NH21)	OR4F5	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4F6__HUMAN	(Q8NGB9)	OR4F6	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4K1__HUMAN	(Q8NGD4)	OR4K1	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4K2__HUMAN	(Q8NGD2)	OR4K2	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4K3__HUMAN	(Q96R72)	OR4K3	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4K5__HUMAN	(Q8NGD3)	OR4K5	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4KD__HUMAN	(Q8NH42)	OR4K13	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5
~248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4KE__HUMAN	(Q8NGD5)	OR4K14	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5
~248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4KF__HUMAN	(Q8NH41)	OR4K15	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5
~248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4KH__HUMAN	(Q8NGC6)	OR4K17	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5
~248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4L1__HUMAN	(Q8NH43)	OR4L1	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4M1__HUMAN	(Q8NGD0)	OR4M1	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4M2__HUMAN	(Q8NGB6)	OR4M2	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4N2__HUMAN	(Q8NGD1)	OR4N2	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~

10

20

30

40

248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4N4	_HUMAN (Q8N0Y3)	OR4N4	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4N5	_HUMAN (Q8IXE1)	OR4N5	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4P4	_HUMAN (Q8NGL7)	OR4P4	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4Q3	_HUMAN (Q8NH05)	OR4Q3	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4S1	_HUMAN (Q8NGB4)	OR4S1	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4S2	_HUMAN (Q8NH73)	OR4S2	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4X1	_HUMAN (Q8NH49)	OR4X1	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR4X2	_HUMAN (Q8NGF9)	OR4X2	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~
248	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5A1	_HUMAN (Q8NGJ0)	OR5A1	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5A2	_HUMAN (Q8NGI9)	OR5A2	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5B2	_HUMAN (Q96R09)	OR5B2	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5B3	_HUMAN (Q8NH48)	OR5B3	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5BC	_HUMAN (Q96R08)	OR5B12	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5BH	_HUMAN (Q8NGF7)	OR5B17	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5C1	_HUMAN (Q8NGR4)	OR5C1	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5DD	_HUMAN (Q8NGL4)	OR5D13	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5DE	_HUMAN (Q8NGL3)	OR5D14	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5DG	_HUMAN (Q8NGK9)	OR5D16	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5DI	_HUMAN (Q8NGL1)	OR5D18	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5F1	_HUMAN (O95221)	OR5F1	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5H2	_HUMAN (Q8NGV7)	OR5H2	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5H6	_HUMAN (Q8NGV6)	OR5H6	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5I1	_HUMAN (Q13606)	OR5I1	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5J2	_HUMAN (Q8NH18)	OR5J2	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5K1	_HUMAN (Q8NHB7)	OR5K1	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR5K2	_HUMAN (Q8NHB8)	OR5K2	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~

10

20

30

40

224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
OR5L1__HUMAN 224、249、254	(Q8NGL2) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5L1	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5L2__HUMAN 224、249、254	(Q8NGL0) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5L2	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5M1__HUMAN 224、249、254	(Q8NGP8) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5M1	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5M3__HUMAN 224、249、254	(Q8NGP4) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5M3	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5M8__HUMAN 224、249、254	(Q8NGP6) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5M8	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5M9__HUMAN 224、249、254	(Q8NGP3) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5M9	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5MA__HUMAN ~224、249、254	(Q6IEU7) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5M10	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5MB__HUMAN ~224、249、254	(Q96RB7) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5M11	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5P2__HUMAN 224、249、254	(Q8WZ92) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5P2	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5P3__HUMAN 224、249、254	(Q8WZ94) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5P3	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5R1__HUMAN 171	(Q8NH85) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5R1	嗅覚 I I	f a m 8 / MOR 161 ~
OR5T1__HUMAN 224、249、254	(Q8NG75) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5T1	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5T2__HUMAN 224、249、254	(Q8NGG2) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5T2	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5T3__HUMAN 224、249、254	(Q8NGG3) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5T3	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5U1__HUMAN 224、249、254	(Q9UGF5) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5U1	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5V1__HUMAN 224、249、254	(Q9UGF6) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5V1	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR5W2__HUMAN 224、249、254	(Q8NH69) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR5W2	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 172 ~
OR6A2__HUMAN 105、107~119	(O95222) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR6A2	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~
OR6B1__HUMAN 105、107~119	(O95007) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR6B1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~
OR6B2__HUMAN 105、107~119	(Q6IFH4) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR6B2	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~
OR6B3__HUMAN 105、107~119	(Q8NGW1) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR6B3	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~
OR6C1__HUMAN 105、107~119	(Q96RD1) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR6C1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~
OR6C2__HUMAN 105、107~119	(Q9NZP2) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR6C2	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~
OR6C3__HUMAN 105、107~119	(Q9NZP0) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR6C3	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~
OR6C4__HUMAN 105、107~119	(Q8NGE1) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR6C4	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~
OR6F1__HUMAN	(Q8NGZ6)	OR6F1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~

10

20

30

40

105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6J1_HUMAN	(Q8NGC5)	OR6J1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6K2_HUMAN	(Q8NGY2)	OR6K2	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6K3_HUMAN	(Q8NGY3)	OR6K3	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6K6_HUMAN	(Q8NGW6)	OR6K6	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6M1_HUMAN	(Q8NGM8)	OR6M1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6N1_HUMAN	(Q8NGY5)	OR6N1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	10
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6N2_HUMAN	(Q8NGY6)	OR6N2	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6P1_HUMAN	(Q8NGX9)	OR6P1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6Q1_HUMAN	(Q8NGQ2)	OR6Q1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6S1_HUMAN	(Q8NH40)	OR6S1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6T1_HUMAN	(Q8NGN1)	OR6T1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6V1_HUMAN	(Q8N148)	OR6V1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	20
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6X1_HUMAN	(Q8NH79)	OR6X1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR6Y1_HUMAN	(Q8NGX8)	OR6Y1	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 103 ~	
105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7A2_HUMAN	(Q8NGA2)	OR7A2	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	
155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7A5_HUMAN	(Q15622)	OR7A5	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	
155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7AA_HUMAN	(O76100)	OR7A10	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	
~155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7AH_HUMAN	(O14581)	OR7A17	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	30
~155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7C1_HUMAN	(O76099)	OR7C1	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	
155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7C2_HUMAN	(O60412)	OR7C2	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	
155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7D2_HUMAN	(Q96RA2)	OR7D2	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	
155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7D4_HUMAN	(Q8NG98)	OR7D4	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	
155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7G1_HUMAN	(Q8NGA0)	OR7G1	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	
155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7G2_HUMAN	(Q8NG99)	OR7G2	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	40
155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR7G3_HUMAN	(Q8NG95)	OR7G3	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 139 ~	
155	ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR8A1_HUMAN	(Q8NGG7)	OR8A1	嗅覚 I I	f a m 8 / MOR 161 ~	

171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8B2	__HUMAN (Q96RD0)	OR8B2	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8B3	__HUMAN (Q8NGG8)	OR8B3	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8B4	__HUMAN (Q96RC9)	OR8B4	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8B8	__HUMAN (Q15620)	OR8B8	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8BC	__HUMAN (Q8NGG6)	OR8B12	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
~171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8D1	__HUMAN (Q8WZ84)	OR8D1	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8D2	__HUMAN (Q9GZM6)	OR8D2	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8D4	__HUMAN (Q8NGM9)	OR8D4	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8G1	__HUMAN (Q15617)	OR8G1	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8G2	__HUMAN (Q15614)	OR8G2	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8G5	__HUMAN (Q8NG78)	OR8G5	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8H1	__HUMAN (Q8NGG4)	OR8H1	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8H2	__HUMAN (Q8N162)	OR8H2	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8H3	__HUMAN (Q8N146)	OR8H3	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8I2	__HUMAN (Q8N0Y5)	OR8I2	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8J1	__HUMAN (Q8NGP2)	OR8J1	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8J3	__HUMAN (Q8NGG0)	OR8J3	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8K1	__HUMAN (Q8NGG5)	OR8K1	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~
224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8K3	__HUMAN (Q8NH51)	OR8K3	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8K5	__HUMAN (Q8NH50)	OR8K5	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR8S1	__HUMAN (Q8NH09)	OR8S1	嗅覚 未分類 I I 群 ホモ・サピエンス (ヒト)
OR8U1	__HUMAN (Q8NH10)	OR8U1	嗅覚 I I f a m 8 / MOR 1 6 1 ~
171	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR9A2	__HUMAN (Q8NGT5)	OR9A2	嗅覚 I I f a m 9 / MOR 1 2 0
	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR9A4	__HUMAN (Q8NGU2)	OR9A4	嗅覚 I I f a m 9 / MOR 1 2 0
	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR9G1	__HUMAN (Q8NH87)	OR9G1	嗅覚 I I f a m 9 / MOR 1 2 0
	ホモ・サピエンス (ヒト)		
OR9G4	__HUMAN (Q8NGQ1)	OR9G4	嗅覚 I I f a m 9 / MOR 1 2 0

10

20

30

40

ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR9G5_HUMAN (Q8NGQ0)	OR9G5	嗅覚II	fam9/MOR120	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR9I1_HUMAN (Q8NGQ6)	OR9I1	嗅覚II	fam9/MOR120	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR9K2_HUMAN (Q8NGE7)	OR9K2	嗅覚II	fam9/MOR120	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR9Q1_HUMAN (Q8NGQ5)	OR9Q1	嗅覚II	fam9/MOR120	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
OR9Q2_HUMAN (Q8NGE9)	OR9Q2	嗅覚II	fam9/MOR120	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
OX1R_HUMAN (O43613)	HCRTR1	オレキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)	10
OX2R_HUMAN (O43614)	HCRTR2	オレキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
OXER1_HUMAN (Q8TDS5)	OXER1	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
OXGR1_HUMAN (Q96P68)	OXGR1	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
OXYR_HUMAN (P30559)	OXYR	オキシトシン/メソトシン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
P2RY1_HUMAN (P47900)	P2RY1	プリノセプター	P2RY1-4、6、11 GPR91	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2RY2_HUMAN (P41231)	P2RY2	プリノセプター	P2RY1-4、6、11 GPR91	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2RY4_HUMAN (P51582)	P2RY4	プリノセプター	P2RY1-4、6、11 GPR91	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2RY5_HUMAN (P43657)	P2RY5	プリノセプター	P2RY5、8、9、10 GPR35、92、174	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2RY6_HUMAN (Q15077)	P2RY6	プリノセプター	P2RY1-4、6、11 GPR91	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2RY8_HUMAN (Q86VZ1)	P2RY8	プリノセプター	P2RY5、8、9、10 GPR35、92、174	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2RY9_HUMAN (Q99677)	GPR23	プリノセプター	P2RY5、8、9、10 GPR35、92、174	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2Y10_HUMAN (O00398)	P2RY10	プリノセプター	P2RY5、8、9、10 GPR35、92、174	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2Y11_HUMAN (Q96G91)	P2RY11	プリノセプター	P2RY1-4、6、11 GPR91	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2Y12_HUMAN (Q9H244)	P2RY12	プリノセプター	P2RY12-14 GPR87 (UDP-グルコース)	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2Y13_HUMAN (Q9BPV8)	P2RY13	プリノセプター	P2RY12-14 GPR87 (UDP-グルコース)	ホモ・サピエンス (ヒト)
P2Y14_HUMAN (Q15391)	P2RY14	プリノセプター	P2RY12-14 GPR87 (UDP-グルコース)	ホモ・サピエンス (ヒト)
P78470_HUMAN (P78470)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
P78471_HUMAN (P78471)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
PACR_HUMAN (P41586)	ADCYAP1R1	PACAP	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
PAR1_HUMAN (P25116)	F2R	トロンビン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
PAR2_HUMAN (P55085)	F2RL1	プロテイナーゼ活性化	ホモ・サピエンス (ヒト)	

PAR3_HUMAN (O00254)	F2RL2	プロテイナーゼ活性化	ホモ・サピエンス (ヒト)	
PAR4_HUMAN (Q96RI0)	F2RL3	プロテイナーゼ活性化	ホモ・サピエンス (ヒト)	
PD2R_HUMAN (Q13258) 亜型 ホモ・サピエンス (ヒト)	PTGDR	プロスタグランジンE2/D2	EP2	
PE2R1_HUMAN (P34995) 型 ホモ・サピエンス (ヒト)	PTGER1	プロスタグランジンE2	EP1	
PE2R2_HUMAN (P43116) P2亜型 ホモ・サピエンス (ヒト)	PTGER2	プロスタグランジンE2/D2	E	
PE2R3_HUMAN (P43115) 型 ホモ・サピエンス (ヒト)	PTGER3	プロスタグランジンE2	EP3	
PE2R4_HUMAN (P35408) 型 ホモ・サピエンス (ヒト)	PTGER4	プロスタグランジンE2	EP4	
PF2R_HUMAN (P43088) ホモ・サピエンス (ヒト)	PTGFR	プロスタグランジンF2- $\alpha$	ホモ・サピエンス (ヒト)	
PI2R_HUMAN (P43119) ホモ・サピエンス (ヒト)	PTGIR	プロスタサイクリン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
PKR1_HUMAN (Q8TCW9) ホモ・サピエンス (ヒト)	PROKR1	プロキネチシン受容体	ホモ・サピエンス (ヒト)	
PKR2_HUMAN (Q8NFJ6) ホモ・サピエンス (ヒト)	PROKR2	プロキネチシン受容体	ホモ・サピエンス (ヒト)	
PRLHR_HUMAN (P49683) 0) ホモ・サピエンス (ヒト)	PRLHR	プロラクチン放出ペプチド	GPR1	
PSYR_HUMAN (Q8IYL9) ホモ・サピエンス (ヒト)	GPR65	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
PTAFR_HUMAN (P25105) ホモ・サピエンス (ヒト)	PTAFR	血小板活性化因子	ホモ・サピエンス (ヒト)	
PTHR1_HUMAN (Q03431) ホモ・サピエンス (ヒト)	PTHR1	副甲状腺ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
PTHR2_HUMAN (P49190) ホモ・サピエンス (ヒト)	PTHR2	副甲状腺ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q13027_HUMAN (Q13027) 断片		ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q13167_HUMAN (Q13167) ホモ・サピエンス (ヒト)	DRD3	ドーパミン脊椎動物3型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q14968_HUMAN (Q14968) ホモ・サピエンス (ヒト)		推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q15613_HUMAN (Q15613) 断片	tpcr110	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q15616_HUMAN (Q15616) 断片	OR5E1P	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q15618_HUMAN (Q15618) 断片	OR7E18P	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q16144_HUMAN (Q16144) ホモ・サピエンス (ヒト)	CCK B型	ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q16292_HUMAN (Q16292) 断片		トロンピン受容体	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q16303_HUMAN (Q16303) 断片		ドーパミンD4受容体	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q16503_HUMAN (Q16503) 断片		ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q2F3K1_HUMAN (Q2F3K1) 断片	CASR	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q2HIZ3_HUMAN (Q2HIZ3) 63~269	OR10H3	嗅覚II fam10/MOR2	ホモ・サピエンス (ヒト)	

10

20

30

40

Q 2 I 7 G 5 _HUMAN (Q 2 I 7 G 5)	EMR 1	EMR 1	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 I 8 G 2 _HUMAN (Q 2 I 8 G 2)	ADRA 2 A	$\alpha$ アドレナリン受容体2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 KHP 3 _HUMAN (Q 2 KHP 3)	PTGFR	プロスタグランジンF <sub>2</sub> - $\alpha$	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 L 7 J 7 _HUMAN (Q 2 L 7 J 7)	ADORA 2 B	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 1 L 3 _HUMAN (Q 2 M 1 L 3)	GPR 1 3 3	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 1 M 6 _HUMAN (Q 2 M 1 M 6)	OR 1 0 J 1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	10
Q 2 M 1 M 8 _HUMAN (Q 2 M 1 M 8)	OR 1 0 J 1	嗅覚II fam 1 0/MOR 2	ホモ・サピエンス (ヒト)	
6 3 ~ 2 6 9			ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 1 T 0 _HUMAN (Q 2 M 1 T 0)	CASR	細胞外カルシウム感知	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 1 U 3 _HUMAN (Q 2 M 1 U 3)	PTH 1 R	副甲状腺ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 1 V 1 _HUMAN (Q 2 M 1 V 1)	TAAR 5	微量アミン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 1 V 7 _HUMAN (Q 2 M 1 V 7)	MRGPRE	Masプロトオンコジーン及びMas関連(MRG)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 1 W 5 _HUMAN (Q 2 M 1 W 5)	TAAR 1	微量アミン	ホモ・サピエンス (ヒト)	20
Q 2 M 1 Y 3 _HUMAN (Q 2 M 1 Y 3)	OR 2 H 2	嗅覚II fam 2/MOR 2 5 6	ホモ・サピエンス (ヒト)	
~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5			ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 2 1 5 _HUMAN (Q 2 M 2 1 5)	RXFP 1	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 2 2 9 _HUMAN (Q 2 M 2 2 9)	GLP 1 R	グルカゴン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 2 4 9 _HUMAN (Q 2 M 2 4 9)	RHO	ロドプシン脊椎動物1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 2 D 2 _HUMAN (Q 2 M 2 D 2)	HTR 5 A	セロトニン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 2 E 2 _HUMAN (Q 2 M 2 E 2)	GPR 2 6	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	30
Q 2 M 3 3 9 _HUMAN (Q 2 M 3 3 9)	TRHR	チロトロピン放出ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 3 6 9 _HUMAN (Q 2 M 3 6 9)	GPR 1 4 8	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 3 C 0 _HUMAN (Q 2 M 3 C 0)	PROKR 2	プロキネチシン受容体	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 3 E 2 _HUMAN (Q 2 M 3 E 2)	VN 1 R 4	鋤鼻受容体 V 1 R L	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 3 F 7 _HUMAN (Q 2 M 3 F 7)	GPR 1 7 4	プリノセプターP 2 R Y 5、8、9、10	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 3 L 0 _HUMAN (Q 2 M 3 L 0)	OR 2 S 2	嗅覚II fam 1 3/MOR 2 5 3	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
Q 2 M 3 M 4 _HUMAN (Q 2 M 3 M 4)	OR 1 3 A 1	嗅覚II fam 1 3/MOR 2 5 3	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 2 M 3 M 5 _HUMAN (Q 2 M 3 M 5)	GCGR	グルカゴン	ホモ・サピエンス (ヒト)	

Q2M3T5_HUMAN ~262、270~285	(Q2M3T5) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2L2	嗅覚II fam2/MOR256	
Q2MZ38_HUMAN	(Q2MZ38)	GNRHR2	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q2NKN6_HUMAN ホモ・サピエンス (ヒト)	(Q2NKN6)	BAI3	脳特異的血管新生抑制因子 (BAI)	
Q2NL85_HUMAN ホモ・サピエンス (ヒト)	(Q2NL85)	GPRC5C	オーファンGPRC5	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q2PNZ0_HUMAN ホモ・サピエンス (ヒト)	(Q2PNZ0)	GPR115	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q2PNZ1_HUMAN ホモ・サピエンス (ヒト)	(Q2PNZ1)	GPR111	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q2TBC9_HUMAN 関連 (MRG)	(Q2TBC9) ホモ・サピエンス (ヒト)	MAS1	Ma sプロトオンコジーン及びMa s	
Q2VPE4_HUMAN	(Q2VPE4)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q2YD84_HUMAN (ヒト)	(Q2YD84)	C-X-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q2YD89_HUMAN (ヒト)	(Q2YD89)	プロスタサイクリン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q2YDB9_HUMAN (ヒト)	(Q2YDB9)	C-Cケモカイン3型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q2YEF8_HUMAN (ヒト)	(Q2YEF8)	インターロイキン-8	A型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q2YEG4_HUMAN (ヒト)	(Q2YEG4)	インターロイキン-8	A型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q2YEG5_HUMAN (ヒト)	(Q2YEG5)	インターロイキン-8	A型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q2YEG7_HUMAN (ヒト)	(Q2YEG7)	インターロイキン-8	A型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q2YEG8_HUMAN (ヒト)	(Q2YEG8)	インターロイキン-8	A型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q32MN8_HUMAN (ヒト)	(Q32MN8)	GALR2	ガラニン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q32VQ0_HUMAN 225~248	(Q32VQ0) ホモ・サピエンス (ヒト)	GPCRLTM7	嗅覚II fam4/MOR	
Q38L21_HUMAN (ヒト)	(Q38L21)	CCR5	C-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q3C1V7_HUMAN	(Q3C1V7)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3KNQ8_HUMAN (ヒト)	(Q3KNQ8)	CCR8	C-Cケモカイン8型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q3KNR3_HUMAN (ヒト)	(Q3KNR3)	CCR8	C-Cケモカイン8型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q3KNS9_HUMAN (ヒト)	(Q3KNS9)	GPR22	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q3KNV3_HUMAN (ヒト)	(Q3KNV3)	GPRC5D	オーファンGPRC5	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q3KPF37_HUMAN (ヒト)	(Q3KPF37)	CMKLR1	ケモカイン受容体様1	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q3KPF5_HUMAN 、10	(Q3KPF5) GPR35、92、174	P2RY5	プリノセプターP2RY5、8、9	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q3KRG8_HUMAN (ヒト)	(Q3KRG8)	CEACAM1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

Q3KU23_HUMAN (Q3KU23)	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3KU24_HUMAN (Q3KU24)	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3KU25_HUMAN (Q3KU25)	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3L3Q6_HUMAN (Q3L3Q6)	CCR5 C-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3MI45_HUMAN (Q3MI45)	MC2R 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3MIJ6_HUMAN (Q3MIJ6)	MC4R メラノコルチンホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3MIL4_HUMAN (Q3MIL4)	GPR15 GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	10
Q3MIS8_HUMAN (Q3MIS8)	OR5P2 嗅覚II fam5/MOR172	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3MIV9_HUMAN (Q3MIV9)	GRM8 代謝型グルタミン酸III群	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3MJ87_HUMAN (Q3MJ87)	PTGER4 プロスタグランジンE2 EP4 亜型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3MJB1_HUMAN (Q3MJB1)	RXFP4 ソマトスタチン様及びアンジオゲニン様ペプチド	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3MJC7_HUMAN (Q3MJC7)	OR6A2 嗅覚II fam6/MOR103	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3MJD3_HUMAN (Q3MJD3)	AVPR2 バソプレシン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	20
Q3S2J4_HUMAN (Q3S2J4)	AVPR1 バソプレシン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3SAH0_HUMAN (Q3SAH0)	GPR34 推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3SAH2_HUMAN (Q3SAH2)	GPR34 推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q3ZAR0_HUMAN (Q3ZAR0)	GPR50 メラトニン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q495D1_HUMAN (Q495D1)	OR5F1 嗅覚II fam5/MOR172	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q495H1_HUMAN (Q495H1)	GPR120 推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	30
Q495H7_HUMAN (Q495H7)	GPR119 推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q499G4_HUMAN (Q499G4)	OPRK1 オピオイドK型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q499H0_HUMAN (Q499H0)	GPR64 推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4G0I6_HUMAN (Q4G0I6)	HRH4 ヒスタミン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4G0K7_HUMAN (Q4G0K7)	GPR116 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4G0Q6_HUMAN (Q4G0Q6)	MGC72080 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
Q4KKW2_HUMAN (Q4KKW2)	PPYR1 神経ペプチドY 4型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4KN04_HUMAN (Q4KN04)	TAS2R8 味覚受容体T2R	ホモ・サピエンス (ヒト)	

エンス (ヒト)				
Q4KN27_HUMAN (Q4KN27)	MC3R	メラノコルチンホルモン	ホモ・サ	
ピエンス (ヒト)				
Q4KN29_HUMAN (Q4KN29)	TAS2R8	味覚受容体T2R	ホモ・サピ	
エンス (ヒト)				
Q4QRI5_HUMAN (Q4QRI5)	TACR2	サブスタンスK (NK2)	ホモ	
・サピエンス (ヒト)				
Q4QRI9_HUMAN (Q4QRI9)	HTR1F	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4QRJ0_HUMAN (Q4QRJ0)	DRD1	ドーパミン脊椎動物1型	ホモ・サ	
ピエンス (ヒト)				
Q4QRJ1_HUMAN (Q4QRJ1)	CRHR1	コルチコトロピン放出因子	ホモ	10
・サピエンス (ヒト)				
Q4QRJ3_HUMAN (Q4QRJ3)	FSHR	卵胞刺激ホルモン	ホモ・サピエン	
ス (ヒト)				
Q4QRJ4_HUMAN (Q4QRJ4)	CRHR2	コルチコトロピン放出因子	ホモ	
・サピエンス (ヒト)				
Q4V749_HUMAN (Q4V749)	CCR10	C-Cケモカイン10型	ホモ・	
サピエンス (ヒト)				
Q4V9L2_HUMAN (Q4V9L2)	MRGPRX1	Ma sプロトオンコジーン及び		
Ma s関連 (MRG)		ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q4VAM0_HUMAN (Q4VAM0)	LGR5	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ	
・サピエンス (ヒト)				
Q4VAM2_HUMAN (Q4VAM2)	LGR5	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ	20
・サピエンス (ヒト)				
Q4VAT1_HUMAN (Q4VAT1)	GLP2R	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VAT2_HUMAN (Q4VAT2)	GLP2R	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VAT3_HUMAN (Q4VAT3)	GLP2R	グルカゴン	ホモ・サピエンス (	
ヒト)				
Q4VAT4_HUMAN (Q4VAT4)	GLP2R	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VAV7_HUMAN (Q4VAV7)		神経ペプチドY 4型	ホモ・サピエンス (ヒ	
ト)				
Q4VAY7_HUMAN (Q4VAY7)	HTR1B	セロトニン1型	ホモ・サピエン	
ス (ヒト)				
Q4VB06_HUMAN (Q4VB06)	OR3A1	嗅覚I I f a m3/MOR255		
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q4VBB0_HUMAN (Q4VBB0)	CCRL2	C-Cケモカイン 他	ホモ・サ	30
ピエンス (ヒト)				
Q4VBB4_HUMAN (Q4VBB4)	GPR68	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト	
)				
Q4VBK6_HUMAN (Q4VBK6)	CHRM2	ムスカリン性アセチルコリン脊椎動		
物2型		ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q4VBK7_HUMAN (Q4VBK7)	CHRM4	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBK8_HUMAN (Q4VBK8)	CNR2	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBL0_HUMAN (Q4VBL0)	NMBR	ボンベシン	ホモ・サピエンス (ヒ	
ト)				
Q4VBL2_HUMAN (Q4VBL2)	CCR2	C-Cケモカイン2型	ホモ・サピ	
エンス (ヒト)				
Q4VBL3_HUMAN (Q4VBL3)	GPR31	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
Q4VBL6_HUMAN (Q4VBL6)	GPR52	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト	
)				
Q4VBL7_HUMAN (Q4VBL7)	GALR1	ガラニン	ホモ・サピエンス (ヒ	
ト)				

Q4VBL8_HUMAN	(Q4VBL8)	TACR1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBL9_HUMAN	(Q4VBL9)	TACR3	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBM3_HUMAN	(Q4VBM3)	CCR9	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBM7_HUMAN	(Q4VBM7)	ADRA1A	$\alpha$ アドレナリン受容体1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBN0_HUMAN	(Q4VBN0)	GPR61	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBN1_HUMAN	(Q4VBN1)	GPR81	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBN3_HUMAN	(Q4VBN3)	GPR119	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBN4_HUMAN	(Q4VBN4)	CCRL1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBN5_HUMAN	(Q4VBN5)	GPR35	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBN6_HUMAN	(Q4VBN6)	F2RL2	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	10
Q4VBN7_HUMAN	(Q4VBN7)	P2RY10	プリノセプターP2RY5、8、9、10	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBP0_HUMAN	(Q4VBP0)	SSTR2	ソマトスタチン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VBP1_HUMAN	(Q4VBP1)	GIPR	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VWM1_HUMAN	(Q4VWM1)	OPRM1	オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VWM2_HUMAN	(Q4VWM2)	OPRM1	オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VWM3_HUMAN	(Q4VWM3)	OPRM1	オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VWM4_HUMAN	(Q4VWM4)	OPRM1	オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)	20
Q4VWM6_HUMAN	(Q4VWM6)	OPRM1	オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4VWX6_HUMAN	(Q4VWX6)	OPRM	オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4W594_HUMAN	(Q4W594)	ADRA2C	$\alpha$ アドレナリン受容体2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4W5G7_HUMAN	(Q4W5G7)	NPY2R	神経ペプチドY 2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4Zfv2_HUMAN	(Q4Zfv2)	GPR35	プリノセプターP2RY5、8、9、10	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q4ZIL0_HUMAN	(Q4ZIL0)		断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	30
Q502U7_HUMAN	(Q502U7)	GPR32	ケモカイン受容体様1	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q502U9_HUMAN	(Q502U9)	GPR23	プリノセプターP2RY5、8、9、10	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q502V0_HUMAN	(Q502V0)	XCR1	XCケモカイン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q502V1_HUMAN	(Q502V1)	MC5R	メラノコルチンホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q502V2_HUMAN	(Q502V2)	RXFP3	ソマトスタチン様及びアンジオゲニン様ペプチド	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q502V7_HUMAN	(Q502V7)	TAS2R9	味覚受容体T2R	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
Q502V9_HUMAN	(Q502V9)	MAS1L	Masプロトオンコジーン及びMas関連 (MRG)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q504X6_HUMAN	(Q504X6)	MC2R	副腎皮質刺激ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)	

Q506J9__HUMAN (Q506J9)	カンナビノイド	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q50KD4__HUMAN (Q50KD4)	H o s a (Biaka) -T2R55	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q50KD6__HUMAN (Q50KD6)	H o s a (Aydgei) -T2R55	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q50KT0__HUMAN (Q50KT0)	H o s a (Biaka) -T2R9	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q50KT1__HUMAN (Q50KT1)	H o s a (日本) -T2R9	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q50KU1__HUMAN (Q50KU1)	H o s a (Biaka) -T2R8	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q50KU2__HUMAN (Q50KU2)	H o s a (日本) -T2R8	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q50KV5__HUMAN (Q50KV5)	H o s a (Biaka) -T2R7	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q50KV7__HUMAN (Q50KV7)	H o s a (Aydgei) -T2R7	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q52LG8__HUMAN (Q52LG8)	PTGER2	プロスタグランジンE2/D2 EP2亜型 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q52M04__HUMAN (Q52M04)	GIPR	胃抑制ペプチド ホモ・サピエンス (ヒト)
Q52M68__HUMAN (Q52M68)	F2RL2	プロテイナーゼ活性化 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q52R92__HUMAN (Q52R92)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q52R93__HUMAN (Q52R93)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q52R94__HUMAN (Q52R94)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53EM0__HUMAN (Q53EM0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53EZ5__HUMAN (Q53EZ5)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53F99__HUMAN (Q53F99)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53FA0__HUMAN (Q53FA0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53FA1__HUMAN (Q53FA1)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53GA6__HUMAN (Q53GA6)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53GM2__HUMAN (Q53GM2)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53GP0__HUMAN (Q53GP0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53PC4__HUMAN (Q53PC4)	IL8RB	インターロイキン-8 B型 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53QQ5__HUMAN (Q53QQ5)	NTSR2	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53QT9__HUMAN (Q53QT9)	GPR73	プロキネチシン受容体 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53R18__HUMAN (Q53R18)	IL8RA	インターロイキン-8 A型 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53R22__HUMAN (Q53R22)	FZD5	f r i z z l e d A群 (Fz 1及び2及び4及び5及び7~9) ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53RU7__HUMAN (Q53RU7)	GPR39	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53RV4__HUMAN (Q53RV4)	t m p _ l o c u s _ 3 5	RDC1 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53S49__HUMAN (Q53S49)	LHCGR	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53S59__HUMAN (Q53S59)	FZD7	f r i z z l e d A群 (Fz 1及び2及び4及び5及び7~9) ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53S69__HUMAN (Q53S69)	CXCR4	C-X-Cケモカイン4型 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53SF6__HUMAN (Q53SF6)	PTHR2	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

Q53T00__HUMAN (Q53T00)	SCTR	セクレチン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53T35__HUMAN (Q53T35)	PTHR2	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53TA5__HUMAN (Q53TA5)	GPR113	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53TI1__HUMAN (Q53TI1)	HTR2B	セロトニン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53TQ2__HUMAN (Q53TQ2)	TACR1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53TR1__HUMAN (Q53TR1)	TACR1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53TS5__HUMAN (Q53TS5)	CALCRL	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53XJ8__HUMAN (Q53XJ8)	F2RL1	プロテイナーゼ活性化	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53XV0__HUMAN (Q53XV0)	トロンビン		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53XV5__HUMAN (Q53XV5)	ロイコトリエンB4受容体	BLT1	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53XZ3__HUMAN (Q53XZ3)	ムスカリン性アセチルコリン	脊椎動物1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53Y09__HUMAN (Q53Y09)	血管作動性腸管ポリペプチド		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53YA1__HUMAN (Q53YA1)	CCBP2	C-CケモカインX型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53YJ4__HUMAN (Q53YJ4)	GALR3	ガラニン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53YY0__HUMAN (Q53YY0)	AGTR1	アンジオテンシン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q53ZR7__HUMAN (Q53ZR7)	SSTR3	ソマトスタチン3型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q541E0__HUMAN (Q541E0)	ソマトスタチン5型		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q546Q1__HUMAN (Q546Q1)	HTR4	セロトニン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q548M6__HUMAN (Q548M6)	HRH3	ヒスタミン3型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q548Y0__HUMAN (Q548Y0)	HCRTR2	オレキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q549E0__HUMAN (Q549E0)	CCR9	C-Cケモカイン9型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q57Z87__HUMAN (Q57Z87)	NTSR2	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59EH9__HUMAN (Q59EH9)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59ER8__HUMAN (Q59ER8)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59ES7__HUMAN (Q59ES7)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59FC0__HUMAN (Q59FC0)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59FW2__HUMAN (Q59FW2)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59G39__HUMAN (Q59G39)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59G72__HUMAN (Q59G72)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59G95__HUMAN (Q59G95)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59GA2__HUMAN (Q59GA2)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59GB1__HUMAN (Q59GB1)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59GE5__HUMAN (Q59GE5)	グルタミン酸受容体相同体	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q59GI0__HUMAN (Q59GI0)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

Q59GL3__HUMAN (Q59GL3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q59GP3__HUMAN (Q59GP3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q59H16__HUMAN (Q59H16)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q59HC2__HUMAN (Q59HC2)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q59HG8__HUMAN (Q59HG8)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q5CZ57__HUMAN (Q5CZ57)	EP3-I	プロスタグランジンE2	EP3亜型
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q5CZ59__HUMAN (Q5CZ59)	EP3e	プロスタグランジンE2	EP3亜型
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q5CZ60__HUMAN (Q5CZ60)	EP3f	プロスタグランジンE2	EP3亜型
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q5CZ61__HUMAN (Q5CZ61)	EP3-VI	プロスタグランジンE2	EP3
亜型			
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q5CZ62__HUMAN (Q5CZ62)	EP3-V	プロスタグランジンE2	EP3亜型
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q5CZ63__HUMAN (Q5CZ63)	EP3-IV	プロスタグランジンE2	EP3
亜型			
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q5CZ64__HUMAN (Q5CZ64)	EP3-III	プロスタグランジンE2	EP3
亜型			
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q5EGP2__HUMAN (Q5EGP2)	GPR112	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5EKM8__HUMAN (Q5EKM8)	CCR5	C-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5EKM9__HUMAN (Q5EKM9)	CCR5	C-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5EKN0__HUMAN (Q5EKN0)	CCR5	C-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5HYM4__HUMAN (Q5HYM4)	DKFZ p686H1993	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5HYQ4__HUMAN (Q5HYQ4)	GPR173	SREB	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5IFH6__HUMAN (Q5IFH6)	GPR24	メラニン凝集ホルモン受容体	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5IFI4__HUMAN (Q5IFI4)	GPR24	メラニン凝集ホルモン受容体	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5ISU3__HUMAN (Q5ISU3)	PPYR1	神経ペプチドY 4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JNZ1__HUMAN (Q5JNZ1)	DAQB-117011.7-001	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JPQ2__HUMAN (Q5JPQ2)	GPR64	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JPQ3__HUMAN (Q5JPQ3)	GPR64	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JPQ4__HUMAN (Q5JPQ4)	GPR64	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JPQ5__HUMAN (Q5JPQ5)	GPR64	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JPQ6__HUMAN (Q5JPQ6)	GPR64	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JQT0__HUMAN (Q5JQT0)	RP11-978I15.6	嗅覚II fam 5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JRH7__HUMAN (Q5JRH7)	CNR2	カンナビノイド	ホモ・サピエンス

10

20

30

40

(ヒト)				
Q5JSM8_HUMAN (ヒト)	(Q5JSM8)	GPR101	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JU89_HUMAN (ヒト)	(Q5JU89)	GPR112	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JUH7_HUMAN (ヒト)	(Q5JUH7)	EBI2	EBV誘導性	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JUH9_HUMAN (ヒト)	(Q5JUH9)	GPR18	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JVI7_HUMAN (ヒト)	(Q5JVI7)	PTGFR	プロスタグランジンF2- $\alpha$	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JVK3_HUMAN (ヒト)	(Q5JVK3)	GPR112	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5JVL5_HUMAN (ヒト)	(Q5JVL5)	CNR1	カンナビノイド	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5KSY4_HUMAN (ヒト)	(Q5KSY4)	CCR5	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5KU14_HUMAN (ヒト)	(Q5KU14)	KPG_013	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5KU17_HUMAN (ヒト)	(Q5KU17)	KPG_011	システイニルロイコトリエン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5KU18_HUMAN (ヒト)	(Q5KU18)	KPG_010	プリノセプターP2RY5、8、9、10	GPR35、92、174
Q5KU19_HUMAN (ヒト)	(Q5KU19)	KPG_009	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5KU20_HUMAN (ヒト)	(Q5KU20)	KPG_008	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5KU21_HUMAN (ヒト)	(Q5KU21)	KPG_007	プリノセプターP2RY5、8、9、10	GPR35、92、174
Q5KU22_HUMAN (ヒト)	(Q5KU22)	KPG_006	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5KU27_HUMAN (ヒト)	(Q5KU27)	KPG_005	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5KU28_HUMAN (ヒト)	(Q5KU28)	KPG_004	ロイコトリエンB4受容体	BLT2
Q5KU34_HUMAN (ヒト)	(Q5KU34)	KPG_003	ETL受容体	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5KU35_HUMAN (ヒト)	(Q5KU35)	KPG_002	プリノセプターP2RY12-14	GPR87 (UDP-グルコース)
Q5QIN9_HUMAN (ヒト)	(Q5QIN9)	CCR5	C-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5QIP0_HUMAN (ヒト)	(Q5QIP0)	CCR5	C-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5QIP1_HUMAN (ヒト)	(Q5QIP1)	CCR5	C-Cケモカイン5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5RJ87_HUMAN (ヒト)	(Q5RJ87)	DAQB-36F16.7-002	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5S4P5_HUMAN (ヒト)	(Q5S4P5)	POGR	嗅覚I fam51、52/MOR1~42	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5SQD8_HUMAN (ヒト)	(Q5SQD8)	EDG3	スフィンゴシン1-リン酸Edg-3	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5SQI9_HUMAN (ヒト)	(Q5SQI9)	XXbac-BCX92J3.1-001	嗅覚II fam5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5ST16_HUMAN (ヒト)	(Q5ST16)	DAQB-304F3.2-001	嗅覚II	

10

20

30

40

f a m 1 1 / M O R 1 0 6、1 2 1、1 2 2	ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q 5 S T 2 7 _ H U M A N (Q 5 S T 2 7)	XX b a c - B C X 1 4 7 D 4. 2 - 0 0 1	嗅覚 I I	f a m 5 / M O R 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S T 3 9 _ H U M A N (Q 5 S T 3 9)	OR 2 J 2	嗅覚 I I	f a m 2 / M O R 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S T L 4 _ H U M A N (Q 5 S T L 4)	G A B B R 1	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S T L 7 _ H U M A N (Q 5 S T L 7)	G A B B R 1	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S U J 6 _ H U M A N (Q 5 S U J 6)	XX b a c - B P G 1 7 1 B 1 1. 5 - 0 0 1	嗅覚 I I	f a m 2 / M O R 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S U J 7 _ H U M A N (Q 5 S U J 7)	XX b a c - B P G 1 7 1 B 1 1. 3 - 0 0 1	嗅覚 I I	f a m 2 / M O R 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S U J 8 _ H U M A N (Q 5 S U J 8)	G A B B R 1	G A B A - B	1 亜型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S U J 9 _ H U M A N (Q 5 S U J 9)	G A B B R 1	G A B A - B	1 亜型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S U K 1 _ H U M A N (Q 5 S U K 1)	OR 2 H 2	嗅覚 I I	f a m 2 / M O R 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S U L 3 _ H U M A N (Q 5 S U L 3)	G A B B R 1	G A B A - B	1 亜型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S U N 5 _ H U M A N (Q 5 S U N 5)	M A S 1 L	M a s	プロトオンコジーン及び M a s 関連 (MRG)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S U N 6 _ H U M A N (Q 5 S U N 6)	DAQB - 1 2 N 1 4. 4 - 0 0 1	嗅覚 I I	f a m 2 / M O R 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S U N 7 _ H U M A N (Q 5 S U N 7)	XX b a c - B P G 1 3 B 8. 1 - 0 0 1	嗅覚 I I	f a m 1 0 / M O R 2 6 3 ~ 2 6 9	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S U N 9 _ H U M A N (Q 5 S U N 9)	XX b a c - B P G 1 3 B 8. 6 - 0 0 1	嗅覚 I I	f a m 1 2 / M O R 2 5 0	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S W W 2 _ H U M A N (Q 5 S W W 2)	ELTD 1	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S W W 3 _ H U M A N (Q 5 S W W 3)	ELTD 1	ETL 受容体		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S X P 7 _ H U M A N (Q 5 S X P 7)	RP 1 1 - 2 9 4 K 2 4. 1 - 0 0 1	G P R 3 7 / エンドセリン B 様		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S Y 2 2 _ H U M A N (Q 5 S Y 2 2)	T A S 1 R 1	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S Y 2 3 _ H U M A N (Q 5 S Y 2 3)	T A S 1 R 1	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 S Y 2 4 _ H U M A N (Q 5 S Y 2 4)	T A S 1 R 1	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 T 2 3 4 _ H U M A N (Q 5 T 2 3 4)	G P R 1 2 3	推定 / 未分類 B 群 G P C R		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 T 2 6 1 _ H U M A N (Q 5 T 2 6 1)	EDG 2	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 T 2 X 9 _ H U M A N (Q 5 T 2 X 9)	P P Y R 1	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 T 2 Y 7 _ H U M A N (Q 5 T 2 Y 7)	C E L S R 2	カドヘリン EGF	LAG (C E L S R)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 T 5 Y 4 _ H U M A N (Q 5 T 5 Y 4)	A D R B 1	$\beta$ アドレナリン受容体 1 型		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 T 6 D 8 _ H U M A N (Q 5 T 6 D 8)	G P R 1 4 7	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q 5 T 6 K 0 _ H U M A N (Q 5 T 6 K 0)	B A I 2	脳特異的血管新生抑制因子 (B A I)		ホモ・サピエンス (ヒト)	

10

20

30

40

Q5T7Z3_HUMAN (Q5T7Z3)	RP11-64P14.4-001	嗅覚II fam1/MOR125~138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5T8C0_HUMAN (Q5T8C0)	HTR2A	セロトニン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5T8P3_HUMAN (Q5T8P3)	GPR12	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5T9D2_HUMAN (Q5T9D2)	LPHN2	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5TBX0_HUMAN (Q5TBX0)	OPRM1	オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5TF06_HUMAN (Q5TF06)	RP3-365O12.1-001	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5TGK2_HUMAN (Q5TGK2)	GPR161	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5TGN7_HUMAN (Q5TGN7)	GPR126	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5TGZ1_HUMAN (Q5TGZ1)	HTR6	セロトニン6型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5TH86_HUMAN (Q5TH86)	PTGER3	プロスタグランジンE2	EP3 亜型
Q5TH88_HUMAN (Q5TH88)	PTGER3	プロスタグランジンE2	EP3 亜型
Q5U003_HUMAN (Q5U003)	C-Cケモカイン1型		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5U0H0_HUMAN (Q5U0H0)	ケモカイン受容体様1		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5U5U4_HUMAN (Q5U5U4)	PTGER1	プロスタグランジンE2	EP1 亜型
Q5VSV1_HUMAN (Q5VSV1)	RP11-180D21.2-001	嗅覚II fam10/MOR263~269	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VT13_HUMAN (Q5VT13)	GPR82	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VT14_HUMAN (Q5VT14)	GPR34	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VT23_HUMAN (Q5VT23)	RP11-34P13.6-001	嗅覚II fam4/MOR225~248	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VTM0_HUMAN (Q5VTM0)	SLC31A2	オレキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VTV7_HUMAN (Q5VTV7)	GPR145	メラニン凝集ホルモン受容体	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VUF8_HUMAN (Q5VUF8)	HTR2C	セロトニン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VUF9_HUMAN (Q5VUF9)	HTR2C	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VUK8_HUMAN (Q5VUK8)	NMBR	ボンベシン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX01_HUMAN (Q5VX01)	HTR7	セロトニン7型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX02_HUMAN (Q5VX02)	HTR7	セロトニン7型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX03_HUMAN (Q5VX03)	HTR7	セロトニン7型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX04_HUMAN (Q5VX04)	HTR7	セロトニン7型	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

Q5VX75_HUMAN (Q5VX75)	LPHN2	ラトロフィリン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX77_HUMAN (Q5VX77)	LPHN2	ラトロフィリン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX78_HUMAN (Q5VX78)	LPHN2	ラトロフィリン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX79_HUMAN (Q5VX79)	LPHN2	ラトロフィリン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX80_HUMAN (Q5VX80)	LPHN2	ラトロフィリン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX81_HUMAN (Q5VX81)	LPHN2	ラトロフィリン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX82_HUMAN (Q5VX82)	LPHN2	ラトロフィリン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VX83_HUMAN (Q5VX83)	LPHN2	ラトロフィリン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VXR2_HUMAN (Q5VXR2)	ADRA1D	$\alpha$ アドレナリン受容体1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VXY3_HUMAN (Q5VXY3)	CHRM3	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VY37_HUMAN (Q5VY37)	BAI3	脳特異的血管新生抑制因子 (BAI)	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5VZX0_HUMAN (Q5VZX0)	EDG2	リゾホスファチジン酸	Edg-2 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5W0G9_HUMAN (Q5W0G9)	EDNRB	エンドセリン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5W0N7_HUMAN (Q5W0N7)	RP11-432E15.1	LGR様	ホルモン受容体 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5Y190_HUMAN (Q5Y190)	RESDA1	カドヘリンEGF	LAG (CELLSR) ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5ZGL8_HUMAN (Q5ZGL8)	HCTR-6	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q5ZGX3_HUMAN (Q5ZGX3)	5HT1A	セロトニン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q63ZY2_HUMAN (Q63ZY2)	GPR30	ケモカイン受容体様2	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q645Y1_HUMAN (Q645Y1)	TAS2R7	味覚受容体T2R	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q659U6_HUMAN (Q659U6)	HCTR-5	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q66K38_HUMAN (Q66K38)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q66X57_HUMAN (Q66X57)	嗅覚I	fam51、52/MOR1~42	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q684M0_HUMAN (Q684M0)	HTR4	セロトニン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q68CR4_HUMAN (Q68CR4)	DKFZ p781I1948	ロドプシン脊椎動物2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q68DM8_HUMAN (Q68DM8)	DKFZ p686O088	ブラジキニン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6B0G7_HUMAN (Q6B0G7)	CNR2	カンナビノイド	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6DHZ4_HUMAN (Q6DHZ4)	GPR126	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

モ・サピエンス (ヒト)			
Q6DJW7_HUMAN	(Q6DJW7)	OR6W1P	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6DKN4_HUMAN	(Q6DKN4)	P2RY13	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6F3F5_HUMAN	(Q6F3F5)	DREG	推定/未分類B群GPCR ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6F3F6_HUMAN	(Q6F3F6)	GPR126	推定/未分類B群GPCR ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6F3F7_HUMAN	(Q6F3F7)	DREG	推定/未分類B群GPCR ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6F3F8_HUMAN	(Q6F3F8)	DREG	推定/未分類B群GPCR ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6FGM5_HUMAN	(Q6FGM5)	OPRL1	オピオイドX型 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6FH06_HUMAN	(Q6FH06)	PPYR1	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6FH34_HUMAN	(Q6FH34)	DRD1	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6FHI8_HUMAN	(Q6FHI8)	GPR35	プリノセプターP2RY5、8、9、10 GPR35、92、174 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6FHK3_HUMAN	(Q6FHK3)	ADORA1	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6FHL1_HUMAN	(Q6FHL1)	GPR30	ケモカイン受容体様2 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6FHU6_HUMAN	(Q6FHU6)	GPR30	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6GMT1_HUMAN	(Q6GMT1)	OPN3	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6GMT4_HUMAN	(Q6GMT4)	ADRB2	βアドレナリン受容体2型 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6GPG7_HUMAN	(Q6GPG7)	EDG2	リゾホスファチジン酸 Edg-2 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6GTR7_HUMAN	(Q6GTR7)	NPY5R	神経ペプチドY 5型 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6I939_HUMAN	(Q6I939)	OR17-219	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6I940_HUMAN	(Q6I940)	OR17-207	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6I941_HUMAN	(Q6I941)	OR17-82	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IBH2_HUMAN	(Q6IBH2)	GPR19	GPR ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IET8_HUMAN	(Q6IET8)	RP1-154J13.4-001	嗅覚II fam13/MOR253 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IET9_HUMAN	(Q6IET9)	OR12D2	嗅覚II fam12/MOR250 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IEU0_HUMAN	(Q6IEU0)	OR2W1	嗅覚II fam2/MOR256~262、270~285 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IEU2_HUMAN	(Q6IEU2)	嗅覚II	fam5/MOR172~224、249、254 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IEV0_HUMAN	(Q6IEV0)	嗅覚II	fam9/MOR120 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IEV1_HUMAN	(Q6IEV1)	嗅覚II	fam9/MOR120 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IEV3_HUMAN	(Q6IEV3)	嗅覚II	fam10/MOR263~269

10

20

30

40

ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IEW6__HUMAN (Q6IEW6)	嗅覚II	f a m 8 / MOR 1 6 1 ~ 1 7 1	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IEW7__HUMAN (Q6IEW7)	嗅覚II	f a m 8 / MOR 1 6 1 ~ 1 7 1	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IEX0__HUMAN (Q6IEX0)	嗅覚II	f a m 1 1 / MOR 1 0 6、1 2 1、1 2 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IEX5__HUMAN (Q6IEX5)	嗅覚II	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~ 2 4 8	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IEY2__HUMAN (Q6IEY2)	嗅覚II	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~ 2 4 8	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IEY3__HUMAN (Q6IEY3)	嗅覚II	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~ 2 4 8	10
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IEZ1__HUMAN (Q6IEZ1)	嗅覚II	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IEZ2__HUMAN (Q6IEZ2)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IEZ4__HUMAN (Q6IEZ4)	嗅覚II	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~ 2 4 8	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IEZ6__HUMAN (Q6IEZ6)	OR5BF1 嗅覚II	f a m 5 / MOR 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF01__HUMAN (Q6IF01)	嗅覚II	f a m 6 / MOR 1 0 3 ~ 1 0 5、1 0 7 ~ 1 1 9	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF09__HUMAN (Q6IF09)	嗅覚II	f a m 1 1 / MOR 1 0 6、1 2 1、1 2 2	20
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF12__HUMAN (Q6IF12)	嗅覚II	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~ 2 4 8	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF17__HUMAN (Q6IF17)	嗅覚II	f a m 1 / MOR 1 2 5 ~ 1 3 8、1 5 6	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF20__HUMAN (Q6IF20)	RP11-112J3. 12-001 嗅覚II	f a m 1 3 / MOR 2 5 3	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF23__HUMAN (Q6IF23)	OR12D3 嗅覚II	f a m 1 2 / MOR 2 5 0	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF24__HUMAN (Q6IF24)	OR2J2 嗅覚II	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF25__HUMAN (Q6IF25)	DAQB-117O11. 4-001 嗅覚II	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	30
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF31__HUMAN (Q6IF31)	OR52A1 嗅覚I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF34__HUMAN (Q6IF34)	嗅覚II	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF35__HUMAN (Q6IF35)	嗅覚II	f a m 6 / MOR 1 0 3 ~ 1 0 5、1 0 7 ~ 1 1 9	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF36__HUMAN (Q6IF36)	嗅覚II	f a m 8 / MOR 1 6 1 ~ 1 7 1	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF40__HUMAN (Q6IF40)	嗅覚II	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF41__HUMAN (Q6IF41)	嗅覚II	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	40
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF43__HUMAN (Q6IF43)	嗅覚II	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF44__HUMAN (Q6IF44)	嗅覚II	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	

70~285	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IF46	_HUMAN (Q6IF46)	嗅覚II	fam5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF50	_HUMAN (Q6IF50)	RP11-317C20.1-001	fam13/MOR253	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF51	_HUMAN (Q6IF51)	RP11-317C20.4-001	fam13/MOR253	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF52	_HUMAN (Q6IF52)	嗅覚II	fam13/MOR253	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF53	_HUMAN (Q6IF53)	RP11-317C20.6-001	fam13/MOR253	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF54	_HUMAN (Q6IF54)	RP11-413C10.2-001	fam13/MOR253	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF55	_HUMAN (Q6IF55)	嗅覚II	fam2/MOR256~262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF56	_HUMAN (Q6IF56)	嗅覚II	fam4/MOR225~248	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF57	_HUMAN (Q6IF57)	嗅覚II	fam4/MOR225~248	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF58	_HUMAN (Q6IF58)	嗅覚II	fam10/MOR263~269	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF59	_HUMAN (Q6IF59)	嗅覚II	fam10/MOR263~269	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF60	_HUMAN (Q6IF60)	嗅覚II	fam5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF61	_HUMAN (Q6IF61)	嗅覚II	fam5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF62	_HUMAN (Q6IF62)	嗅覚II	fam9/MOR120	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF65	_HUMAN (Q6IF65)	嗅覚II	fam5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF66	_HUMAN (Q6IF66)	嗅覚II	fam5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF67	_HUMAN (Q6IF67)	嗅覚II	fam5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF68	_HUMAN (Q6IF68)	嗅覚II	fam5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF69	_HUMAN (Q6IF69)	嗅覚II	fam5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF70	_HUMAN (Q6IF70)	嗅覚II	fam6/MOR103~105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF71	_HUMAN (Q6IF71)	嗅覚II	fam9/MOR120	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF72	_HUMAN (Q6IF72)	嗅覚II	fam4/MOR225~248	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF73	_HUMAN (Q6IF73)	嗅覚II	fam4/MOR225~248	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF74	_HUMAN (Q6IF74)	嗅覚II	fam4/MOR225~248	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF77	_HUMAN (Q6IF77)	嗅覚I	fam51、52/MOR1~42	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IF78	_HUMAN (Q6IF78)	嗅覚I	fam51、52/MOR1~42	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 7 9 _ H U M A N ( Q 6 I F 7 9 )	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / M O R 1 ~ 4 2
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 8 5 _ H U M A N ( Q 6 I F 8 5 )	嗅覚 I I	f a m 5 / M O R 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 8 6 _ H U M A N ( Q 6 I F 8 6 )	嗅覚 I I	f a m 1 3 / M O R 2 5 3
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 8 7 _ H U M A N ( Q 6 I F 8 7 )	嗅覚 I I	f a m 5 / M O R 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 8 8 _ H U M A N ( Q 6 I F 8 8 )	嗅覚 I I	f a m 5 / M O R 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 8 9 _ H U M A N ( Q 6 I F 8 9 )	OR 2 B 6 嗅覚 I I	f a m 2 / M O R 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 9 1 _ H U M A N ( Q 6 I F 9 1 )	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / M O R 1 ~ 4 2
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 9 3 _ H U M A N ( Q 6 I F 9 3 )	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / M O R 1 ~ 4 2
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 9 4 _ H U M A N ( Q 6 I F 9 4 )	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / M O R 1 ~ 4 2
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 9 5 _ H U M A N ( Q 6 I F 9 5 )	嗅覚 I I	f a m 4 / M O R 2 2 5 ~ 2 4 8
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F 9 6 _ H U M A N ( Q 6 I F 9 6 )	嗅覚 I I	f a m 5 / M O R 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F A 1 _ H U M A N ( Q 6 I F A 1 )	嗅覚 I I	f a m 2 / M O R 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F A 2 _ H U M A N ( Q 6 I F A 2 )	嗅覚 I I	f a m 4 / M O R 2 2 5 ~ 2 4 8
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F A 3 _ H U M A N ( Q 6 I F A 3 )	嗅覚 I I	f a m 4 / M O R 2 2 5 ~ 2 4 8
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F A 4 _ H U M A N ( Q 6 I F A 4 )	嗅覚 I I	f a m 4 / M O R 2 2 5 ~ 2 4 8
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F A 5 _ H U M A N ( Q 6 I F A 5 )	嗅覚 I I	f a m 4 / M O R 2 2 5 ~ 2 4 8
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F A 7 _ H U M A N ( Q 6 I F A 7 )	嗅覚 I I	f a m 4 / M O R 2 2 5 ~ 2 4 8
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F A 8 _ H U M A N ( Q 6 I F A 8 )	嗅覚 I I	f a m 1 0 / M O R 2 6 3 ~ 2 6 9
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F A 9 _ H U M A N ( Q 6 I F A 9 )	嗅覚 I I	f a m 1 / M O R 1 2 5 ~ 1 3 8、1 5 6
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F B 0 _ H U M A N ( Q 6 I F B 0 )	嗅覚 I I	f a m 1 / M O R 1 2 5 ~ 1 3 8、1 5 6
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F B 4 _ H U M A N ( Q 6 I F B 4 )	嗅覚 I I	f a m 4 / M O R 2 2 5 ~ 2 4 8
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F B 5 _ H U M A N ( Q 6 I F B 5 )	嗅覚 I I	f a m 8 / M O R 1 6 1 ~ 1 7 1
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F B 6 _ H U M A N ( Q 6 I F B 6 )	嗅覚 I I	f a m 8 / M O R 1 6 1 ~ 1 7 1
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F B 7 _ H U M A N ( Q 6 I F B 7 )	嗅覚 I I	f a m 8 / M O R 1 6 1 ~ 1 7 1
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F B 8 _ H U M A N ( Q 6 I F B 8 )	嗅覚 I I	f a m 5 / M O R 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4
ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q 6 I F B 9 _ H U M A N ( Q 6 I F B 9 )	嗅覚 I I	f a m 5 / M O R 1 7 2 ~ 2 2 4、2

10

20

30

40

49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFC0	_HUMAN (Q6IFC0)	嗅覚II	f a m 8 / MOR 161 ~ 171	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFC1	_HUMAN (Q6IFC1)	嗅覚II	f a m 8 / MOR 161 ~ 171	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFC2	_HUMAN (Q6IFC2)	嗅覚II	f a m 8 / MOR 161 ~ 171	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFC3	_HUMAN (Q6IFC3)	嗅覚II	f a m 8 / MOR 161 ~ 171	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFC4	_HUMAN (Q6IFC4)	嗅覚II	f a m 8 / MOR 161 ~ 171	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFC5	_HUMAN (Q6IFC5)	嗅覚II	f a m 8 / MOR 161 ~ 171	10
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFC7	_HUMAN (Q6IFC7)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 172 ~ 224、2	
49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFC8	_HUMAN (Q6IFC8)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 172 ~ 224、2	
49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFC9	_HUMAN (Q6IFC9)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 172 ~ 224、2	
49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFD0	_HUMAN (Q6IFD0)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 172 ~ 224、2	
49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFD1	_HUMAN (Q6IFD1)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q6IFD3	_HUMAN (Q6IFD3)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 172 ~ 224、2	20
49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFD4	_HUMAN (Q6IFD4)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 172 ~ 224、2	
49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFD5	_HUMAN (Q6IFD5)	嗅覚II	f a m 10 / MOR 263 ~ 269	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFD6	_HUMAN (Q6IFD6)	嗅覚II	f a m 9 / MOR 120	ホモ・サ ピエンス (ヒト)
Q6IFD7	_HUMAN (Q6IFD7)	嗅覚I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFD9	_HUMAN (Q6IFD9)	嗅覚II	f a m 10 / MOR 263 ~ 269	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFE0	_HUMAN (Q6IFE0)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 172 ~ 224、2	30
49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFE1	_HUMAN (Q6IFE1)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 172 ~ 224、2	
49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFE4	_HUMAN (Q6IFE4)	嗅覚I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFE5	_HUMAN (Q6IFE5)	嗅覚I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFE7	_HUMAN (Q6IFE7)	嗅覚II	f a m 6 / MOR 103 ~ 105、1	
07 ~ 119	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFE8	_HUMAN (Q6IFE8)	嗅覚II	f a m 10 / MOR 263 ~ 269	
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFE9	_HUMAN (Q6IFE9)	嗅覚II	f a m 8 / MOR 161 ~ 171	40
ホモ・サピエンス (ヒト)				
Q6IFF2	_HUMAN (Q6IFF2)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 172 ~ 224、2	
49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFF4	_HUMAN (Q6IFF4)	嗅覚II	f a m 5 / MOR 172 ~ 224、2	
49、254	ホモ・サピエンス (ヒト)			

Q6IFF6_HUMAN (Q6IFF6)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFF7_HUMAN (Q6IFF7)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFF8_HUMAN (Q6IFF8)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFF9_HUMAN (Q6IFF9)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFG0_HUMAN (Q6IFG0)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFG2_HUMAN (Q6IFG2)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			10
Q6IFG3_HUMAN (Q6IFG3)	嗅覚 I I	f a m 1 / MOR 1 2 5 ~ 1 3 8、1 5 6	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFG4_HUMAN (Q6IFG4)	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFG5_HUMAN (Q6IFG5)	嗅覚 I I	f a m 1 / MOR 1 2 5 ~ 1 3 8、1 5 6	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFG6_HUMAN (Q6IFG6)	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFG7_HUMAN (Q6IFG7)	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFG8_HUMAN (Q6IFG8)	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	
ホモ・サピエンス (ヒト)			20
Q6IFG9_HUMAN (Q6IFG9)	嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFH0_HUMAN (Q6IFH0)	嗅覚 I I	f a m 9 / MOR 1 2 0	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFH1_HUMAN (Q6IFH1)	嗅覚 I I	f a m 6 / MOR 1 0 3 ~ 1 0 5、1 0 7 ~ 1 1 9	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFH2_HUMAN (Q6IFH2)	OR 1 0 J 5 嗅覚 I I	f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFH6_HUMAN (Q6IFH6)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFH7_HUMAN (Q6IFH7)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			30
Q6IFH8_HUMAN (Q6IFH8)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFH9_HUMAN (Q6IFH9)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFI0_HUMAN (Q6IFI0)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFI1_HUMAN (Q6IFI1)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFI2_HUMAN (Q6IFI2)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFI3_HUMAN (Q6IFI3)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q6IFI4_HUMAN (Q6IFI4)	嗅覚 I I	f a m 9 / MOR 1 2 0	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFI5_HUMAN (Q6IFI5)	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5 3	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

Q6IFI7_HUMAN (Q6IFI7) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 I fam51、52/MOR1~42	
Q6IFI8_HUMAN (Q6IFI8) 70~285 ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam2/MOR256~262、2	
Q6IFI9_HUMAN (Q6IFI9) 56 ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam1/MOR125~138、1	
Q6IFJ0_HUMAN (Q6IFJ0) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam10/MOR263~269	
Q6IFJ2_HUMAN (Q6IFJ2) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam10/MOR263~269	
Q6IFJ3_HUMAN (Q6IFJ3) 56 ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam1/MOR125~138、1	10
Q6IFJ4_HUMAN (Q6IFJ4) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam7/MOR139~155	
Q6IFJ5_HUMAN (Q6IFJ5) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam7/MOR139~155	
Q6IFJ6_HUMAN (Q6IFJ6) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam7/MOR139~155	
Q6IFJ7_HUMAN (Q6IFJ7) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam7/MOR139~155	
Q6IFJ8_HUMAN (Q6IFJ8) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 I fam51、52/MOR1~42	
Q6IFJ9_HUMAN (Q6IFJ9) 07~119 ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam6/MOR103~105、1	20
Q6IFK1_HUMAN (Q6IFK1) 07~119 ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam6/MOR103~105、1	
Q6IFK4_HUMAN (Q6IFK4) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 I fam51、52/MOR1~42	
Q6IFK5_HUMAN (Q6IFK5) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 I fam51、52/MOR1~42	
Q6IFK7_HUMAN (Q6IFK7) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 I fam51、52/MOR1~42	
Q6IFK8_HUMAN (Q6IFK8) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 I fam51、52/MOR1~42	
Q6IFK9_HUMAN (Q6IFK9) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 I fam51、52/MOR1~42	30
Q6IFL0_HUMAN (Q6IFL0) ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 I fam51、52/MOR1~42	
Q6IFL1_HUMAN (Q6IFL1) fam13/MOR253 ホモ・サピエンス (ヒト)	RP11-413C10.1-001 嗅覚 II	
Q6IFL2_HUMAN (Q6IFL2) fam13/MOR253 ホモ・サピエンス (ヒト)	RP11-413C10.9-001 嗅覚 II	
Q6IFL7_HUMAN (Q6IFL7) 56 ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam1/MOR125~138、1	
Q6IFL8_HUMAN (Q6IFL8) ~138、156 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR1D2 嗅覚 II fam1/MOR125	
Q6IFL9_HUMAN (Q6IFL9) 56 ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam1/MOR125~138、1	40
Q6IFM2_HUMAN (Q6IFM2) 56 ホモ・サピエンス (ヒト)	嗅覚 II fam1/MOR125~138、1	
Q6IFM3_HUMAN (Q6IFM3) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR3A2 嗅覚 II fam3/MOR255	

Q6IFM4_HUMAN (Q6IFM4) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR3A1	嗅覚II	fam3/MOR255	
Q6IFM5_HUMAN (Q6IFM5) 56 ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam1/MOR125~138、1	
Q6IFM6_HUMAN (Q6IFM6) ホモ・サピエンス (ヒト)	OR3A3	嗅覚II	fam3/MOR255	
Q6IFM7_HUMAN (Q6IFM7) 56 ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam1/MOR125~138、1	
Q6IFM8_HUMAN (Q6IFM8) 56 ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam1/MOR125~138、1	
Q6IFM9_HUMAN (Q6IFM9) 49、254 ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam5/MOR172~224、2	10
Q6IFN0_HUMAN (Q6IFN0) 56 ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam1/MOR125~138、1	
Q6IFN2_HUMAN (Q6IFN2) 56 ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam1/MOR125~138、1	
Q6IFN5_HUMAN (Q6IFN5) ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam7/MOR139~155	
Q6IFN7_HUMAN (Q6IFN7) 70~285 ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam2/MOR256~262、2	
Q6IFP1_HUMAN (Q6IFP1) ~155 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR7A5	嗅覚II	fam7/MOR139	
Q6IFP2_HUMAN (Q6IFP2) ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam7/MOR139~155	20
Q6IFP3_HUMAN (Q6IFP3) ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam4/MOR225~248	
Q6IFP4_HUMAN (Q6IFP4) 70~285 ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam2/MOR256~262、2	
Q6IFP6_HUMAN (Q6IFP6) 07~119 ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam6/MOR103~105、1	
Q6IFP7_HUMAN (Q6IFP7) ~262、270~285 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR2F1	嗅覚II	fam2/MOR256	
Q6IFP9_HUMAN (Q6IFP9) ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam7/MOR139~155	
Q6IFQ0_HUMAN (Q6IFQ0) ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam10/MOR263~269	30
Q6IFQ1_HUMAN (Q6IFQ1) 63~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR10H2	嗅覚II	fam10/MOR2	
Q6IFQ2_HUMAN (Q6IFQ2) ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam10/MOR263~269	
Q6IFQ5_HUMAN (Q6IFQ5) fam10/MOR263~269 ホモ・サピエンス (ヒト)	DAQB-304F3.1-001	嗅覚II		
Q6IFQ6_HUMAN (Q6IFQ6) 9~155 ホモ・サピエンス (ヒト)	OR7A17	嗅覚II	fam7/MOR13	
Q6IFQ7_HUMAN (Q6IFQ7) ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam8/MOR161~171	
Q6IFQ8_HUMAN (Q6IFQ8) ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam8/MOR161~171	40
Q6IFR0_HUMAN (Q6IFR0) ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam8/MOR161~171	
Q6IFR1_HUMAN (Q6IFR1) ホモ・サピエンス (ヒト)		嗅覚II	fam10/MOR263~269	

Q6IFR2_HUMAN (Q6IFR2)	OR6N2	嗅覚II	fam6/MOR103	105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFR3_HUMAN (Q6IFR3)		嗅覚II	fam6/MOR103	105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFR4_HUMAN (Q6IFR4)		嗅覚II	fam6/MOR103	105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFR5_HUMAN (Q6IFR5)		嗅覚II	fam6/MOR103	105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFR6_HUMAN (Q6IFR6)	OR6K2	嗅覚II	fam6/MOR103	105、107~119	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFR7_HUMAN (Q6IFR7)		嗅覚II	fam10/MOR263	269	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFS1_HUMAN (Q6IFS1)		嗅覚II	fam10/MOR263	269	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IFS2_HUMAN (Q6IFS2)	OR10K1	嗅覚II	fam10/MOR263	269	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IN95_HUMAN (Q6IN95)	IL8RA	インターロイキン-8	A型		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6IPX0_HUMAN (Q6IPX0)	CCRL2	C-Cケモカイン	他		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6ISR6_HUMAN (Q6ISR6)	OR6W1P	断片			ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6ISR8_HUMAN (Q6ISR8)	GHSR	成長ホルモン分泌促進因子			ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6J164_HUMAN (Q6J164)	GRM5	代謝型グルタミン酸I群			ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6KH09_HUMAN (Q6KH09)	OR5D4	断片			ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6L5J4_HUMAN (Q6L5J4)	Fmet-leu-phe				ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6LAJ3_HUMAN (Q6LAJ3)	gamrh	アドレノメデュリン	(G10D)		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6LD06_HUMAN (Q6LD06)	ADRA1C	断片			ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6LDH7_HUMAN (Q6LDH7)	DRD2	断片			ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6LEE7_HUMAN (Q6LEE7)	CMKLR1	断片			ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6N055_HUMAN (Q6N055)	DKFZp686O11112	断片			ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6N0A5_HUMAN (Q6N0A5)	DKFZp686I13174	frizzled	B群 (Fz 3及び6)		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NSL8_HUMAN (Q6NSL8)	FZD10	frizzled	A群 (Fz 1及び2及び4及び5及び7~9)		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NSP5_HUMAN (Q6NSP5)	GPR23	プリノセプター	P2RY5、8、9、10	GPR35、92、174	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NSY0_HUMAN (Q6NSY0)	CNR2	カンナビノイド			ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NTA9_HUMAN (Q6NTA9)	OR1A1	嗅覚II	fam1/MOR125	138、156	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NTB3_HUMAN (Q6NTB3)	OR2C1	嗅覚II	fam2/MOR256	262、270~285	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NTB5_HUMAN (Q6NTB5)	OR5V1	断片			ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NTC7_HUMAN (Q6NTC7)	NPBWR1	GPR			ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

ト)			
Q6NTD7_HUMAN (Q6NTD7)	OR51B4	嗅覚I fam51、52/MOR1~42	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NTI7_HUMAN (Q6NTI7)	GPR143	眼白子症タンパク質	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NUM3_HUMAN (Q6NUM3)	CHRM5	ムスカリン性アセチルコリン脊椎動物5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NUP5_HUMAN (Q6NUP5)	AGTR1	アンジオテンシン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWM4_HUMAN (Q6NWM4)	GPR4	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWM5_HUMAN (Q6NWM5)	GPR21	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWQ5_HUMAN (Q6NWQ5)	NPBWR2	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWQ6_HUMAN (Q6NWQ6)	NPBWR2	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWQ8_HUMAN (Q6NWQ8)	GPR77	C5aアナフィラトキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWQ9_HUMAN (Q6NWQ9)	GPR77	C5aアナフィラトキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWR0_HUMAN (Q6NWR0)	GPR77	C5aアナフィラトキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWR3_HUMAN (Q6NWR3)	GPR83	神経ペプチドY 他	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWR4_HUMAN (Q6NWR4)	GPR83	神経ペプチドY 他	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWR5_HUMAN (Q6NWR5)	GPR68	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWR6_HUMAN (Q6NWR6)	GPR68	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWR7_HUMAN (Q6NWR7)	GPR63	GPR45様	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWR8_HUMAN (Q6NWR8)	GPR63	GPR45様	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWR9_HUMAN (Q6NWR9)	GPR63	GPR45様	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWS6_HUMAN (Q6NWS6)	GPR12	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWS7_HUMAN (Q6NWS7)	GPR12	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NWS8_HUMAN (Q6NWS8)	GPR12	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6NXU6_HUMAN (Q6NXU6)	GPR45	GPR45様	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6P2M6_HUMAN (Q6P2M6)	VIPR1	血管作動性腸管ポリペプチド	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6P4D8_HUMAN (Q6P4D8)		断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6P523_HUMAN (Q6P523)	HTR2B	セロトニン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6P5R4_HUMAN (Q6P5R4)	MGC72080	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6P5W7_HUMAN (Q6P5W7)	OPN3	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6P7P0_HUMAN (Q6P7P0)	C10orf97	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6P9E5_HUMAN (Q6P9E5)	HRH1	ヒスタミン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q6PK25_HUMAN (Q6PK25)	LOC441453	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

(ヒト)				
Q6RKA2_HUMAN (ヒト)	(Q6RKA2)	ADCYAP1R1	断片	ホモ・サピエンス
Q6RKA3_HUMAN (ヒト)	(Q6RKA3)	ADCYAP1R1	断片	ホモ・サピエンス
Q6RYQ6_HUMAN (ヒト)	(Q6RYQ6)	PTGFR	プロスタグランジンF2- $\alpha$	ホモ・サピエンス
Q6S991_HUMAN (ヒト)	(Q6S991)	ADCYAP1R1	断片	ホモ・サピエンス
Q6S992_HUMAN (ヒト)	(Q6S992)	ADCYAP1R1	断片	ホモ・サピエンス
Q6SL56_HUMAN (ヒト)	(Q6SL56)	CHRM2	断片	ホモ・サピエンス
Q6TTN3_HUMAN (ヒト)	(Q6TTN3)	PTGER3	プロスタグランジンE2 EP3	ホモ・サピエンス
Q6UPP1_HUMAN (ヒト)	(Q6UPP1)	OPRM1	オピオイドM型	ホモ・サピエンス
Q6UQ80_HUMAN (ヒト)	(Q6UQ80)	OPRM1	オピオイドM型	ホモ・サピエンス
Q6UR92_HUMAN (ヒト)	(Q6UR92)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス
Q6UR93_HUMAN (ヒト)	(Q6UR93)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス
Q6UR94_HUMAN (ヒト)	(Q6UR94)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス
Q6UR95_HUMAN (ヒト)	(Q6UR95)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス
Q6UR96_HUMAN (ヒト)	(Q6UR96)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス
Q6UR97_HUMAN (ヒト)	(Q6UR97)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス
Q6UR98_HUMAN (ヒト)	(Q6UR98)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス
Q6UR99_HUMAN (ヒト)	(Q6UR99)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス
Q6URA0_HUMAN (ヒト)	(Q6URA0)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス
Q6UVH2_HUMAN (ヒト)	(Q6UVH2)	ATGR2	断片	ホモ・サピエンス
Q6UXT6_HUMAN (ヒト)	(Q6UXT6)	UNQ9373	嗅覚II fam5/MOR172~224、249、254	ホモ・サピエンス
Q6XGY1_HUMAN (ヒト)	(Q6XGY1)		断片	ホモ・サピエンス
Q6ZMH0_HUMAN (ヒト)	(Q6ZMH0)		推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス
Q6ZMH4_HUMAN (ヒト)	(Q6ZMH4)		推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス
Q6ZMI9_HUMAN (ヒト)	(Q6ZMI9)	ETL受容体		ホモ・サピエンス
Q6ZMN0_HUMAN (ヒト)	(Q6ZMN0)	EMR1		ホモ・サピエンス
Q6ZMN6_HUMAN (ヒト)	(Q6ZMN6)		嗅覚II fam13/MOR253	ホモ・サピエンス
Q6ZMP1_HUMAN (ヒト)	(Q6ZMP1)		推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス
Q6ZMP9_HUMAN (ヒト)	(Q6ZMP9)		プリノセプターP2RY5、8、9、10 GP35、92、174	ホモ・サピエンス

10

20

30

40

Q 6 Z M Q 2 _ HUMAN (Q 6 Z M Q 2)	代謝型グルタミン酸 I I I 群	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 6 Z N 2 2 _ HUMAN (Q 6 Z N 2 2)	血管作動性腸管ポリペプチド	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 6 Z P B 0 _ HUMAN (Q 6 Z P B 0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 6 Z S 4 4 _ HUMAN (Q 6 Z S 4 4)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 6 Z T E 9 _ HUMAN (Q 6 Z T E 9)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 6 Z W 6 2 _ HUMAN (Q 6 Z W 6 2)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 1 1 G 2 _ HUMAN (Q 7 1 1 G 2)	P 2 Y 2 様 推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 1 2 M 9 _ HUMAN (Q 7 1 2 M 9)	h t r 4 セロトニン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 1 U 7 5 _ HUMAN (Q 7 1 U 7 5)	味覚受容体T2R	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 1 V 9 0 _ HUMAN (Q 7 1 V 9 0)	OPRM1 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 5 L H 0 _ HUMAN (Q 7 5 L H 0)	HTR5A 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 6 E 7 6 _ HUMAN (Q 7 6 E 7 6)	DRD4 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 6 L 8 8 _ HUMAN (Q 7 6 L 8 8)	GPCR 推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 K Y P 5 _ HUMAN (Q 7 K Y P 5)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 K Y Z 9 _ HUMAN (Q 7 K Y Z 9)	$\alpha 1 c$ -アドレナリン受容体亜型	断片 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 K Z S 6 _ HUMAN (Q 7 K Z S 6)	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 L 8 5 3 _ HUMAN (Q 7 L 8 5 3)	EDG1 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 M 4 L 8 _ HUMAN (Q 7 M 4 L 8)	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 Z 3 W 3 _ HUMAN (Q 7 Z 3 W 3)	DKFZ p 6 8 6 N 1 7 8 2 プロテイナーゼ活性化	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 Z 5 8 0 _ HUMAN (Q 7 Z 5 8 0)	HTR2B 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 Z 5 8 1 _ HUMAN (Q 7 Z 5 8 1)	GPR50 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 Z 5 8 2 _ HUMAN (Q 7 Z 5 8 2)	GPR50 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 Z 5 R 9 _ HUMAN (Q 7 Z 5 R 9)	ヒスタミン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 Z 7 I 1 _ HUMAN (Q 7 Z 7 I 1)	CCBP2 C-CケモカインX型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 7 Z 7 Q 5 _ HUMAN (Q 7 Z 7 Q 5)	DRD4 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S E 3 _ HUMAN (Q 8 6 S E 3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S F 1 _ HUMAN (Q 8 6 S F 1)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S F 3 _ HUMAN (Q 8 6 S F 3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S F 4 _ HUMAN (Q 8 6 S F 4)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S G 0 _ HUMAN (Q 8 6 S G 0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S G 8 _ HUMAN (Q 8 6 S G 8)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S G 9 _ HUMAN (Q 8 6 S G 9)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S H 1 _ HUMAN (Q 8 6 S H 1)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S H 3 _ HUMAN (Q 8 6 S H 3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S I 3 _ HUMAN (Q 8 6 S I 3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S I 5 _ HUMAN (Q 8 6 S I 5)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S I 8 _ HUMAN (Q 8 6 S I 8)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S J 4 _ HUMAN (Q 8 6 S J 4)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S M 2 _ HUMAN (Q 8 6 S M 2)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 S P 4 _ HUMAN (Q 8 6 S P 4)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q 8 6 U G 6 _ HUMAN (Q 8 6 U G 6)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

Q86UG7__HUMAN	(Q86UG7)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q86UG8__HUMAN	(Q86UG8)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q86UG9__HUMAN	(Q86UG9)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q86UH0__HUMAN	(Q86UH0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q86UK4__HUMAN	(Q86UK4)	PTC	味覚受容体T2R	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q86UN1__HUMAN	(Q86UN1)	HTR5A	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q86UN7__HUMAN	(Q86UN7)	CASR	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q86UZ8__HUMAN	(Q86UZ8)	FZD2	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q86V80__HUMAN	(Q86V80)	オピオイドM型		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q86XI5__HUMAN	(Q86XI5)	GLP2R	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q86YF2__HUMAN	(Q86YF2)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q86YG3__HUMAN	(Q86YG3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q86YG9__HUMAN	(Q86YG9)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q86YW1__HUMAN	(Q86YW1)	MC1R	メラニン細胞刺激ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IU63__HUMAN	(Q8IU63)	6M1-16	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IV06__HUMAN	(Q8IV06)	GPR171	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IV17__HUMAN	(Q8IV17)	SCTR	セクレチン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IV19__HUMAN	(Q8IV19)	CYSLTR1	システイニルロイコトリエン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IV68__HUMAN	(Q8IV68)	LOC442421	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IVW0__HUMAN	(Q8IVW0)	CHRM5	ムスカリン性アセチルコリン脊椎動物5型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IW08__HUMAN	(Q8IW08)	GABBR1	GABA-B 1亜型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IWP3__HUMAN	(Q8IWP3)	オピオイドK型		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IWW3__HUMAN	(Q8IWW3)	OPRM	オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IWW4__HUMAN	(Q8IWW4)	OPRM	オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IXA4__HUMAN	(Q8IXA4)	GPR126	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IXB0__HUMAN	(Q8IXB0)	オピオイドX型		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IXD9__HUMAN	(Q8IXD9)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8IXE0__HUMAN	(Q8IXE0)	OR11H13P	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IXE2__HUMAN	(Q8IXE2)	推定/未分類A群GPCR		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IXE4__HUMAN	(Q8IXE4)	推定/未分類B群GPCR		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IXE5__HUMAN	(Q8IXE5)	推定/未分類A群GPCR		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8IXE7__HUMAN	(Q8IXE7)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8IXH9__HUMAN	(Q8IXH9)	HTR4B	セロトニン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NOW0__HUMAN	(Q8NOW0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NOW1__HUMAN	(Q8NOW1)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	

10

20

30

40

Q8N0X1_HUMAN	(Q8N0X1)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8N0Y1_HUMAN	(Q8N0Y1)	嗅覚 I I	f a m 8 / MOR 1 6 1 ~ 1 7 1	
Q8N0Z0_HUMAN	(Q8N0Z0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8N164_HUMAN	(Q8N164)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8N2R3_HUMAN	(Q8N2R3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8N537_HUMAN	(Q8N537)	LGR4	LGR様 (ホルモン受容体)	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8N5S7_HUMAN	(Q8N5S7)	GPR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8N6T6_HUMAN	(Q8N6T6)	IL8RA	インターロイキン-8 A型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8N7J6_HUMAN	(Q8N7J6)	推定 / 未分類A群	GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NCH4_HUMAN	(Q8NCH4)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NEI9_HUMAN	(Q8NEI9)	OR7E91P	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NEN2_HUMAN	(Q8NEN2)	GPR85	SREB	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NG71_HUMAN	(Q8NG71)	コルチコトロピン放出因子		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NG73_HUMAN	(Q8NG73)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NG79_HUMAN	(Q8NG79)	嗅覚	未分類 I I 群	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NG87_HUMAN	(Q8NG87)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NG89_HUMAN	(Q8NG89)	OR7E86P	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NG90_HUMAN	(Q8NG90)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NG91_HUMAN	(Q8NG91)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGA3_HUMAN	(Q8NGA3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGA4_HUMAN	(Q8NGA4)	ケモカイン受容体様1		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NGA9_HUMAN	(Q8NGA9)	推定 / 未分類B群	GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NGB0_HUMAN	(Q8NGB0)	GPR142	推定 / 未分類A群	GPCR
Q8NGB5_HUMAN	(Q8NGB5)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGC8_HUMAN	(Q8NGC8)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGD6_HUMAN	(Q8NGD6)	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~ 2 4 8	
Q8NGD7_HUMAN	(Q8NGD7)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGD8_HUMAN	(Q8NGD8)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGE6_HUMAN	(Q8NGE6)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGF2_HUMAN	(Q8NGF2)	嗅覚 I	f a m 5 1, 5 2 / MOR 1 ~ 4 2	
Q8NGG1_HUMAN	(Q8NGG1)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGG9_HUMAN	(Q8NGG9)	嗅覚 I I	f a m 8 / MOR 1 6 1 ~ 1 7 1	
Q8NGH0_HUMAN	(Q8NGH0)	嗅覚 I I	f a m 8 / MOR 1 6 1 ~ 1 7 1	
Q8NGH1_HUMAN	(Q8NGH1)	嗅覚 I I	f a m 8 / MOR 1 6 1 ~ 1 7 1	
Q8NGH2_HUMAN	(Q8NGH2)	嗅覚 I I	f a m 8 / MOR 1 6 1 ~ 1 7 1	

10

20

30

40

ホモ・サピエンス (ヒト)			
Q8NGH4__HUMAN (Q8NGH4)	嗅覚 I I f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGI5__HUMAN (Q8NGI5)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGK8__HUMAN (Q8NGK8)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGL5__HUMAN (Q8NGL5)	嗅覚 I I f a m 5 / MOR 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGM0__HUMAN (Q8NGM0)	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~ 2 4 8	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGM3__HUMAN (Q8NGM3)	OR 5 E 1 P 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGM4__HUMAN (Q8NGM4)	嗅覚 I I f a m 1 0 / MOR 2 6 3 ~ 2 6 9	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGM5__HUMAN (Q8NGM5)	ドーパミン脊椎動物 4 型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGM6__HUMAN (Q8NGM6)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGM7__HUMAN (Q8NGM7)	嗅覚 I f a m 5 1、5 2 / MOR 1 ~ 4 2	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGN9__HUMAN (Q8NGN9)	嗅覚 I I f a m 4 / MOR 2 2 5 ~ 2 4 8	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGP1__HUMAN (Q8NGP1)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGP5__HUMAN (Q8NGP5)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGP7__HUMAN (Q8NGP7)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGQ7__HUMAN (Q8NGQ7)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGQ8__HUMAN (Q8NGQ8)	サブスタンス K (NK 2)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGT3__HUMAN (Q8NGT3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGT4__HUMAN (Q8NGT4)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGU0__HUMAN (Q8NGU0)	嗅覚 I I f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGU1__HUMAN (Q8NGU1)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGU3__HUMAN (Q8NGU3)	推定 / 未分類 A 群 G PCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGU6__HUMAN (Q8NGU6)	OR 2 J 4 P 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGU7__HUMAN (Q8NGU7)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGV4__HUMAN (Q8NGV4)	嗅覚 I I f a m 1 3 / MOR 2 5 3	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGV8__HUMAN (Q8NGV8)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGV9__HUMAN (Q8NGV9)	カルシウム感知様 他	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGW2__HUMAN (Q8NGW2)	DRD 5 P 1 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGW3__HUMAN (Q8NGW3)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGW5__HUMAN (Q8NGW5)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGW8__HUMAN (Q8NGW8)	脳特異的血管新生抑制因子 (BAI)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGX4__HUMAN (Q8NGX4)	OR 1 0 K 2 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGX7__HUMAN (Q8NGX7)	OR 1 0 R 3 P 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8NGY4__HUMAN (Q8NGY4)	嗅覚 I I f a m 6 / MOR 1 0 3 ~ 1 0 5、1		

10

20

30

40

07~119	ホモ・サピエンス (ヒト)		
Q8NGY8	_HUMAN (Q8NGY8)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH06	_HUMAN (Q8NH06)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH07	_HUMAN (Q8NH07)	嗅覚 I I	f a m 1 1 / M O R 1 0 6、1 2 1、1 2 2 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH08	_HUMAN (Q8NH08)	嗅覚 未分類 I I 群	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH11	_HUMAN (Q8NH11)	嗅覚 I I	f a m 8 / M O R 1 6 1 ~ 1 7 1 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH13	_HUMAN (Q8NH13)	脳特異的血管新生抑制因子 (BAI)	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH14	_HUMAN (Q8NH14)	嗅覚 未分類 I I 群	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH17	_HUMAN (Q8NH17)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH20	_HUMAN (Q8NH20)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH22	_HUMAN (Q8NH22)	DRD5P2 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH23	_HUMAN (Q8NH23)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH24	_HUMAN (Q8NH24)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH25	_HUMAN (Q8NH25)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH27	_HUMAN (Q8NH27)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH28	_HUMAN (Q8NH28)	C-X-Cケモカイン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH29	_HUMAN (Q8NH29)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH32	_HUMAN (Q8NH32)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH33	_HUMAN (Q8NH33)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH36	_HUMAN (Q8NH36)	嗅覚 I I	f a m 1 0 / M O R 2 6 3 ~ 2 6 9 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH38	_HUMAN (Q8NH38)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH44	_HUMAN (Q8NH44)	嗅覚 未分類 I I 群	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH45	_HUMAN (Q8NH45)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH46	_HUMAN (Q8NH46)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH47	_HUMAN (Q8NH47)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH52	_HUMAN (Q8NH52)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH58	_HUMAN (Q8NH58)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH62	_HUMAN (Q8NH62)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH65	_HUMAN (Q8NH65)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH66	_HUMAN (Q8NH66)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / M O R 1 ~ 4 2 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH68	_HUMAN (Q8NH68)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / M O R 1 ~ 4 2 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH71	_HUMAN (Q8NH71)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH75	_HUMAN (Q8NH75)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH77	_HUMAN (Q8NH77)	嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / M O R 1 ~ 4 2 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH78	_HUMAN (Q8NH78)	OR52W1 嗅覚 I	f a m 5 1、5 2 / M O R 1 ~ 4 2 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH80	_HUMAN (Q8NH80)	嗅覚 I I	f a m 1 0 / M O R 2 6 3 ~ 2 6 9 ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH82	_HUMAN (Q8NH82)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

Q8NH84__HUMAN (Q8NH84)	嗅覚 I I	f a m 4 / MOR 2 2 5 ~ 2 4 8	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH86__HUMAN (Q8NH86)	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH88__HUMAN (Q8NH88)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH91__HUMAN (Q8NH91)	嗅覚 I I	f a m 5 / MOR 1 7 2 ~ 2 2 4、2 4 9、2 5 4	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH95__HUMAN (Q8NH95)	嗅覚 I I	f a m 1 3 / MOR 2 5 3	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH96__HUMAN (Q8NH96)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH97__HUMAN (Q8NH97)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH98__HUMAN (Q8NH98)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NH99__HUMAN (Q8NH99)	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 1 3 9 ~ 1 5 5	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHA0__HUMAN (Q8NHA0)	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 1 3 9 ~ 1 5 5	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHA1__HUMAN (Q8NHA1)	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 1 3 9 ~ 1 5 5	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHA2__HUMAN (Q8NHA2)	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHA5__HUMAN (Q8NHA5)	GABA-B	1 亜型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHA6__HUMAN (Q8NHA6)	嗅覚 I I	f a m 2 / MOR 2 5 6 ~ 2 6 2、2 7 0 ~ 2 8 5	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHA7__HUMAN (Q8NHA7)	嗅覚 I I	f a m 1 2 / MOR 2 5 0	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHA9__HUMAN (Q8NHA9)	代謝型グルタミン酸 I I I 群		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHB0__HUMAN (Q8NHB0)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHB1__HUMAN (Q8NHB1)	OR2V1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHB3__HUMAN (Q8NHB3)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHB4__HUMAN (Q8NHB4)	副甲状腺ホルモン		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHB5__HUMAN (Q8NHB5)	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 1 3 9 ~ 1 5 5	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHB6__HUMAN (Q8NHB6)	OR5H14	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHB9__HUMAN (Q8NHB9)	OR7E85P	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHC0__HUMAN (Q8NHC0)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHC1__HUMAN (Q8NHC1)	嗅覚 I I	f a m 7 / MOR 1 3 9 ~ 1 5 5	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHC2__HUMAN (Q8NHC2)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHC3__HUMAN (Q8NHC3)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NHD6__HUMAN (Q8NHD6)	断片		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NI49__HUMAN (Q8NI49)	HRH3	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8NI50__HUMAN (Q8NI50)	HRH3	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8TAM0__HUMAN (Q8TAM0)	GPR62	推定 / 未分類 A 群 GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8TAN2__HUMAN (Q8TAN2)	FZD9	f r i z z l e d A 群 (Fz 1 及び 2 及び 4 及び 5 及び 7 ~ 9)	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q8TBK4__HUMAN (Q8TBK4)	AGTR1	アンジオテンシン 1 型	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

Q8TD34_HUMAN (Q8TD34)	OPRL1	オピオイドX型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDP5_HUMAN (Q8TDP5)	CCR3	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDP6_HUMAN (Q8TDP6)	CCR3	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDP8_HUMAN (Q8TDP8)	CCR3	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDS9_HUMAN (Q8TDS9)	GPCR	推定/未分類 他	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDT0_HUMAN (Q8TDT0)	GPCR	推定/未分類 他	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDT1_HUMAN (Q8TDT1)	GPCR	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDT4_HUMAN (Q8TDT4)	GPCR	推定/未分類B群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)	10
Q8TDT7_HUMAN (Q8TDT7)	GPCR	推定/未分類 他	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDT8_HUMAN (Q8TDT8)	GPCR	frizzled A群 (Fz 1及び2及び4及び5及び7~9)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDT9_HUMAN (Q8TDT9)	GPCR	frizzled B群 (Fz 3及び6)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDU0_HUMAN (Q8TDU0)	GPCR	推定/未分類 他	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDU1_HUMAN (Q8TDU1)	GPCR	カルシウム感知様 他	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDU5_HUMAN (Q8TDU5)	GPCR	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	20
Q8TDV1_HUMAN (Q8TDV1)	GPCR	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TDV3_HUMAN (Q8TDV3)	GPCR	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8TEV7_HUMAN (Q8TEV7)	MTNR1B	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WUR8_HUMAN (Q8WUR8)		断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WW42_HUMAN (Q8WW42)		断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WXR5_HUMAN (Q8WXR5)	CRHR1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WXR6_HUMAN (Q8WXR6)	CRHR1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WXR7_HUMAN (Q8WXR7)	CRHR1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WXR9_HUMAN (Q8WXR9)	FZD6	frizzled B群 (Fz 3及び6)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WXV1_HUMAN (Q8WXV1)		断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	30
Q8WXV2_HUMAN (Q8WXV2)		断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WXZ9_HUMAN (Q8WXZ9)	HRH3	ヒスタミン3型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WY00_HUMAN (Q8WY00)	HRH3	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WY01_HUMAN (Q8WY01)	HRH3	ヒスタミン3型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WZ72_HUMAN (Q8WZ72)	MTNR1A	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WZ85_HUMAN (Q8WZ85)	PJCG2	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WZ86_HUMAN (Q8WZ86)	JCG4	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WZ87_HUMAN (Q8WZ87)	PJCG1	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q8WZA6_HUMAN (Q8WZA6)	OR17~210	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	40
Q92492_HUMAN (Q92492)	CCKBR	CCK B型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q93003_HUMAN (Q93003)	hA2aR	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q96CD9_HUMAN (Q96CD9)	OR7E91P	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	

ト)			
Q96EC3__HUMAN	(Q96EC3)	ADRB2 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96HT6__HUMAN	(Q96HT6)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96KE0__HUMAN	(Q96KE0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96KP5__HUMAN	(Q96KP5)	CCR11 C-Cケモカイン 他	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96LC6__HUMAN	(Q96LC6)	CCKBR CCK B型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96LD9__HUMAN	(Q96LD9)	ヒスタミン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96N54__HUMAN	(Q96N54)	OR7E5P 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96R43__HUMAN	(Q96R43)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96R54__HUMAN	(Q96R54)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96RE8__HUMAN	(Q96RE8)	ADRA1A $\alpha$ アドレナリン受容体1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96RG8__HUMAN	(Q96RG8)	CHRM4 ムスカリン性アセチルコリン脊椎動物4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96RG9__HUMAN	(Q96RG9)	CHRM3 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96RH0__HUMAN	(Q96RH0)	CHRM2 ムスカリン性アセチルコリン脊椎動物2型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96RH1__HUMAN	(Q96RH1)	CHRM1 ムスカリン性アセチルコリン脊椎動物1型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q96T96__HUMAN	(Q96T96)	CCR3 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q99412__HUMAN	(Q99412)	5-HT7 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q99463__HUMAN	(Q99463)	NPY6R 神経ペプチドY 6/7型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q99586__HUMAN	(Q99586)	ドーパミンD4受容体 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q99587__HUMAN	(Q99587)	ドーパミンD4受容体 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q99642__HUMAN	(Q99642)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q99997__HUMAN	(Q99997)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9BSP0__HUMAN	(Q9BSP0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9BXA0__HUMAN	(Q9BXA0)	C-X-Cケモカイン4型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9BXX6__HUMAN	(Q9BXX6)	DRD3 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9BY61__HUMAN	(Q9BY61)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9BYT4__HUMAN	(Q9BYT4)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9BYX5__HUMAN	(Q9BYX5)	CCR8 C-Cケモカイン8型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9BYY6__HUMAN	(Q9BYY6)	CNR1 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9BYZ0__HUMAN	(Q9BYZ0)	ADRB2 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9BZC5__HUMAN	(Q9BZC5)	FKSG35 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9H011__HUMAN	(Q9H011)	GIR 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9H208__HUMAN	(Q9H208)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9H2C6__HUMAN	(Q9H2C6)	嗅覚I fam51、52/MOR1~42	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9H2C7__HUMAN	(Q9H2C7)	嗅覚I fam51、52/MOR1~42	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9H2L2__HUMAN	(Q9H2L2)	推定/未分類A群GPCR	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

Q9H342_HUMAN (Q9H342)	嗅覚I fam51、52/MOR1~42	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9H345_HUMAN (Q9H345)	嗅覚I fam51、52/MOR1~42	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9H573_HUMAN (Q9H573)	OPRM1 オピオイドM型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9H7M4_HUMAN (Q9H7M4)	FLJ00046 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9H7Q2_HUMAN (Q9H7Q2)	FLJ00015 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9HB44_HUMAN (Q9HB44)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9HB45_HUMAN (Q9HB45)	成長ホルモン放出ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9HBV6_HUMAN (Q9HBV6)	HCRTR1 オレキシン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9HD50_HUMAN (Q9HD50)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9NRB8_HUMAN (Q9NRB8)	リゾホスファチジン酸 Edg-7	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9NSC9_HUMAN (Q9NSC9)	OR51A1P 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9NSM3_HUMAN (Q9NSM3)	DKFZp434B1272 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9NYK7_HUMAN (Q9NYK7)	CCK B型	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9NYN8_HUMAN (Q9NYN8)	CHEDG1 スフィンゴシン1-リン酸Edg-1	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9NZP3_HUMAN (Q9NZP3)	HSA12 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9NZP4_HUMAN (Q9NZP4)	HSA10 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9P1R1_HUMAN (Q9P1R1)	OR7E35P 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9P1T4_HUMAN (Q9P1T4)	CCR5 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9P1T5_HUMAN (Q9P1T5)	CCR5 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9P1V4_HUMAN (Q9P1V4)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9P2Q4_HUMAN (Q9P2Q4)	HTR1F 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9P2Q9_HUMAN (Q9P2Q9)	HTR2A 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UBJ7_HUMAN (Q9UBJ7)	CCR5 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UBT9_HUMAN (Q9UBT9)	CCR5 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UCW0_HUMAN (Q9UCW0)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UD23_HUMAN (Q9UD23)	エンドセリン	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UD67_HUMAN (Q9UD67)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UDD7_HUMAN (Q9UDD7)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UDD8_HUMAN (Q9UDD8)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UDD9_HUMAN (Q9UDD9)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UDE6_HUMAN (Q9UDE6)	サブスタンスK (NK2)	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UEB1_HUMAN (Q9UEB1)	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UJ48_HUMAN (Q9UJ48)	LPHH1 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UJ49_HUMAN (Q9UJ49)	LPHH1 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UJ50_HUMAN (Q9UJ50)	LPHH1 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UJ51_HUMAN (Q9UJ51)	LPHH1 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UJ52_HUMAN (Q9UJ52)	LPHH1 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UL14_HUMAN (Q9UL14)	OR17-1 断片	ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

)					
Q9UM77_HUMAN	(Q9UM77)	OR1E3P	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q9UN23_HUMAN	(Q9UN23)	CCR5	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q9UN24_HUMAN	(Q9UN24)	CCR5	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q9UN25_HUMAN	(Q9UN25)	CCR5	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q9UN26_HUMAN	(Q9UN26)	CCR5	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q9UN27_HUMAN	(Q9UN27)	CCR5	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q9UN28_HUMAN	(Q9UN28)	CCR5	断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q9UPG0_HUMAN	(Q9UPG0)	CRAM-B	C-Cケモカイン	他	ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UPJ0_HUMAN	(Q9UPJ0)		断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q9UPJ1_HUMAN	(Q9UPJ1)		断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
Q9UQQ6_HUMAN	(Q9UQQ6)	CCR9	C-Cケモカイン9型		ホモ・サピエンス (ヒト)
Q9UQS0_HUMAN	(Q9UQS0)		断片	ホモ・サピエンス (ヒト)	
QRFP_R_HUMAN	(Q96P65)	GPR103	食欲促進神経ペプチドQRFP		ホモ・サピエンス (ヒト)
RAI3_HUMAN	(Q8NFJ5)	GPRC5A	オーファンGPRC5		ホモ・サピエンス (ヒト)
RDC1_HUMAN	(P25106)	CMKOR1	RDC1		ホモ・サピエンス (ヒト)
RGR_HUMAN	(P47804)	RGR	ロドプシン	他	ホモ・サピエンス (ヒト)
RL3R1_HUMAN	(Q9NSD7)	RXFP3	ソマトスタチン様及びアンジオゲニン様ペプチド		ホモ・サピエンス (ヒト)
RL3R2_HUMAN	(Q8TDU9)	RXFP4	ソマトスタチン様及びアンジオゲニン様ペプチド		ホモ・サピエンス (ヒト)
RXFP1_HUMAN	(Q9HBX9)	RXFP1	LGR様 (ホルモン受容体)		ホモ・サピエンス (ヒト)
SCTR_HUMAN	(P47872)	SCTR	セクレチン		ホモ・サピエンス (ヒト)
SMO_HUMAN	(Q99835)	SMO	平滑化		ホモ・サピエンス (ヒト)
SNSR2_HUMAN	(Q8TDE0)	SNSR2	Ma sプロトオンコジーン及びMa s関連 (MRG)		ホモ・サピエンス (ヒト)
SNSR3_HUMAN	(Q8TDD9)	SNSR3	Ma sプロトオンコジーン及びMa s関連 (MRG)		ホモ・サピエンス (ヒト)
SNSR5_HUMAN	(Q8TDD7)	SNSR5	Ma sプロトオンコジーン及びMa s関連 (MRG)		ホモ・サピエンス (ヒト)
SPR1_HUMAN	(Q15743)	GPR68	GPR		ホモ・サピエンス (ヒト)
SSR1_HUMAN	(P30872)	SSTR1	ソマトスタチン1型		ホモ・サピエンス (ヒト)
SSR2_HUMAN	(P30874)	SSTR2	ソマトスタチン2型		ホモ・サピエンス (ヒト)
SSR3_HUMAN	(P32745)	SSTR3	ソマトスタチン3型		ホモ・サピエンス (ヒト)
SSR4_HUMAN	(P31391)	SSTR4	ソマトスタチン4型		ホモ・サピエンス (ヒト)
SSR5_HUMAN	(P35346)	SSTR5	ソマトスタチン5型		ホモ・サピエンス (ヒト)
SUCR1_HUMAN	(Q9BXA5)	SUCNR1	プリノセプターP2RY1-4、6、11		GPR91 ホモ・サピエンス (ヒト)
T2R10_HUMAN	(Q9NYW0)	TAS2R10	味覚受容体T2R		ホモ・サピエンス (ヒト)

10

20

30

40

T 2 R 1 2 _HUMAN (P 5 9 5 3 1)	T A S 2 R 1 2	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 1 3 _HUMAN (Q 9 N Y V 9)	T A S 2 R 1 3	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 1 4 _HUMAN (Q 9 N Y V 8)	T A S 2 R 1 4	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 1 6 _HUMAN (Q 9 N Y V 7)	T A S 2 R 1 6	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 3 8 _HUMAN (P 5 9 5 3 3)	T A S 2 R 3 8	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 3 9 _HUMAN (P 5 9 5 3 4)	T A S 2 R 3 9	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 4 0 _HUMAN (P 5 9 5 3 5)	T A S 2 R 4 0	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 4 1 _HUMAN (P 5 9 5 3 6)	T A S 2 R 4 1	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 4 3 _HUMAN (P 5 9 5 3 7)	T A S 2 R 4 3	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 4 4 _HUMAN (P 5 9 5 3 8)	T A S 2 R 4 4	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 4 5 _HUMAN (P 5 9 5 3 9)	T A S 2 R 4 5	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 4 6 _HUMAN (P 5 9 5 4 0)	T A S 2 R 4 6	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 4 7 _HUMAN (P 5 9 5 4 1)	T A S 2 R 4 7	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 4 8 _HUMAN (P 5 9 5 4 2)	T A S 2 R 4 8	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 4 9 _HUMAN (P 5 9 5 4 3)	T A S 2 R 4 9	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 5 0 _HUMAN (P 5 9 5 4 4)	T A S 2 R 5 0	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 5 5 _HUMAN (Q 7 R T R 8)	T A S 2 R 5 5	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T 2 R 6 0 _HUMAN (P 5 9 5 5 1)	T A S 2 R 6 0	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピ
エンス (ヒト)			
T A 2 R 1 _HUMAN (Q 9 N Y W 7)	T A S 2 R 1	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピエ
エンス (ヒト)			
T A 2 R 3 _HUMAN (Q 9 N Y W 6)	T A S 2 R 3	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピエ
エンス (ヒト)			
T A 2 R 4 _HUMAN (Q 9 N Y W 5)	T A S 2 R 4	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピエ
エンス (ヒト)			
T A 2 R 5 _HUMAN (Q 9 N Y W 4)	T A S 2 R 5	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピエ
エンス (ヒト)			
T A 2 R 7 _HUMAN (Q 9 N Y W 3)	T A S 2 R 7	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピエ
エンス (ヒト)			
T A 2 R 8 _HUMAN (Q 9 N Y W 2)	T A S 2 R 8	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピエ
エンス (ヒト)			
T A 2 R 9 _HUMAN (Q 9 N Y W 1)	T A S 2 R 9	味覚受容体 T 2 R	ホモ・サピエ
エンス (ヒト)			
T A 2 R _HUMAN (P 2 1 7 3 1)	T B X A 2 R	トロンボキサン	ホモ・サピエンス
(ヒト)			

10

20

30

40

TAAR1_HUMAN (Q96RJ0)	TAAR1	微量アミン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
TAAR2_HUMAN (Q9P1P5)	TAAR2	微量アミン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
TAAR3_HUMAN (Q9P1P4)	TAAR3	微量アミン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
TAAR5_HUMAN (O14804)	TAAR5	微量アミン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
TAAR6_HUMAN (Q96RI8)	TAAR6	微量アミン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
TAAR8_HUMAN (Q969N4)	TAAR8	微量アミン	ホモ・サピエンス (ヒト)	10
TAAR9_HUMAN (Q96RI9)	TAAR9	微量アミン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
TRFR_HUMAN (P34981)	TRHR	チロトロピン放出ホルモン	ホモ・サピエンス (ヒト)	
TS1R1_HUMAN (Q7RTX1)	TAS1R1	味覚受容体 (T1R)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
TS1R2_HUMAN (Q8TE23)	TAS1R2	味覚受容体 (T1R)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
TS1R3_HUMAN (Q7RTX0)	TAS1R3	味覚受容体 (T1R)	ホモ・サピエンス (ヒト)	
TSHR_HUMAN (P16473)	TSHR	チロトロピン	ホモ・サピエンス (ヒト)	20
UR2R_HUMAN (Q9UKP6)	UTS2R	ウロテンシン I I	ホモ・サピエンス (ヒト)	
V1AR_HUMAN (P37288)	AVPR1A	バソプレシン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
V1BR_HUMAN (P47901)	AVPR1B	バソプレシン1型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
V2R_HUMAN (P30518)	AVPR2	バソプレシン2型	ホモ・サピエンス (ヒト)	
VIPR1_HUMAN (P32241)	VIPR1	血管作動性腸管ポリペプチド	ホモ・サピエンス (ヒト)	
VIPR2_HUMAN (P41587)	VIPR2	血管作動性腸管ポリペプチド	ホモ・サピエンス (ヒト)	30
VN1R1_HUMAN (Q9GZP7)	VN1R1	鋤鼻受容体V1RL	ホモ・サピエンス (ヒト)	
VN1R2_HUMAN (Q8NFZ6)	VN1R2	鋤鼻受容体V1RL	ホモ・サピエンス (ヒト)	
VN1R3_HUMAN (Q9BXE9)	VN1R3	鋤鼻受容体V1RL	ホモ・サピエンス (ヒト)	
VN1R4_HUMAN (Q7Z5H5)	VN1R4	鋤鼻受容体V1RL	ホモ・サピエンス (ヒト)	
VN1R5_HUMAN (Q7Z5H4)	VN1R5	鋤鼻受容体 他	ホモ・サピエンス (ヒト)	
XCR1_HUMAN (P46094)	XCR1	XCケモカイン	ホモ・サピエンス (ヒト)	40

## 【0709】

当業者は、単なる日常実験を使用して、本明細書に記載された本発明の特定の実施形態に対する多数の均等物を認識する、又は確認することができるだろう。このような均等物は、以下の態様により包含されることが意図される。

## 【0710】

本明細書で開示された全ての参考文献は、本明細書に示した目的及び情報のために、その全体が参照により援用される。

## 【0711】

好ましい態様

1. GPCRに指向性を有する、及び/又はGPCRと特異的に結合すると共に、上記G

10

20

30

40

50

P C R に対してアンタゴニスト性を有する、好ましくはアンタゴニスト性だけを有する、即ちアゴニスト性を有しない、アミノ酸配列、例えば単一可変ドメイン。

2 . G P C R に指向性を有する、及び / 又は G P C R と特異的に結合すると共に、上記 G P C R に対してアンタゴニスト性又はインバースアゴニスト性、好ましくはインバースアゴニスト性を有する、アミノ酸配列、例えば単一可変ドメイン。

3 . G P C R に指向性を有する、及び / 又は G P C R と特異的に結合すると共に、上記 G P C R に対してインバースアゴニスト性を有する、好ましくは例えば I P 蓄積によって測定される活性を、基礎活性の 90 % 以上、好ましくは基礎活性の 80 % 以上、より好ましくは基礎活性の 70 % 以上、さらにより好ましくは基礎活性の 60 % 以上、最も好ましくは基礎活性の 50 % 以上に低減することができる、アミノ酸配列、例えば単一可変ドメイン。

4 . G P C R に指向性を有する、及び / 又は a ) G P C R と特異的に結合すると共に、 b ) 上記 G P C R のリガンド依存性の活性化を完全に阻害するアミノ酸配列、例えば単一可変ドメインであって、該リガンドが 100 n M 以下、より好ましくは 30 n M 以下の濃度で存在する、アミノ酸配列、例えば単一可変ドメイン。

5 . G P C R に指向性を有する、及び / 又は a ) G P C R と特異的に結合すると共に、 b ) 上記 G P C R のリガンド依存性の活性化を完全に阻害すると共に、 c ) 上記 G P C R の活性化を与えないアミノ酸配列、例えば単一可変ドメインであって、該リガンドが 100 n M 以下、より好ましくは 30 n M 以下の濃度で存在する、アミノ酸配列、例えば単一可変ドメイン。

6 . b ) i . ラクダ科動物に、生きた状態で、かつ天然立体構造における表面上で上記 G P C R 、例えばヒト C X C R 4 及び / 又はヒト C X C R 7 の所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ ( 複数可 ) を過剰発現する全細胞を免疫付与する工程と、

i i . 上記 G P C R 、例えばヒト C X C R 4 及び / 又はヒト C X C R 7 を過剰発現する異なる ( 免疫付与に使用したもの以外の ) 細胞型の細胞膜調製物を使用して、所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ ( 複数可 ) との結合に関して選択する工程と、

i i i . 任意で洗浄剤を用いずに P B S 等のバッファで穏やかに洗浄する工程とを少なくとも含む方法によって得ることができる、上記の態様のいずれかに記載のアミノ酸配列、例えば単一可変ドメイン。

7 . ラクダ科動物がラマである、態様 6 に記載のアミノ酸配列。

8 . 選択を 2 回行い、2 つの異なる細胞型の細胞膜調製物を使用する、態様 6 又は 7 に記載のアミノ酸配列。

9 . 本質的に単離形態である、態様 1 ~ 8 のいずれかに記載のアミノ酸配列。

10 . 被験体に投与するためのものであり、上記被験体において自然発生しない、態様 1 ~ 9 のいずれかに記載のアミノ酸配列。

11 .  $10^{-5}$  モル / L ~  $10^{-12}$  モル / L 以下、好ましくは  $10^{-7}$  モル / L ~  $10^{-12}$  モル / L 以下、より好ましくは  $10^{-8}$  モル / L ~  $10^{-12}$  モル / L の解離定数 (  $K_D$  ) で G P C R と特異的に結合することができる、態様 1 ~ 10 のいずれかに記載のアミノ酸配列。

12 .  $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ~ 約  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  、好ましくは  $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  、より好ましくは  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (  $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  等 ) の結合速度 (  $k_{on}$  速度 ) で G P C R と特異的に結合することができる、態様 1 ~ 10 のいずれかに記載のアミノ酸配列。

13 .  $1 \text{ s}^{-1}$  ~  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$  、好ましくは  $10^{-2} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$  、より好ましくは  $10^{-3} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$  (  $10^{-4} \text{ s}^{-1}$  ~  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$  等 ) の解離速度 (  $k_{off}$  速度 ) で G P C R と特異的に結合することができる、態様 1 ~ 10 のいずれかに記載のアミノ酸配列。

14 . 500 n M 未満、好ましくは 200 n M 未満、より好ましくは 10 n M 未満 ( 50

10

20

30

40

50

0 p M未満等)の親和性でGPCRと特異的に結合することができる、態様1~10のいずれかに記載のアミノ酸配列。

15.天然アミノ酸配列(任意の好適な種由来)又は合成若しくは半合成のアミノ酸配列である、態様1~14のいずれかに記載のアミノ酸配列。

16.免疫グロブリンフォールドを含むか、又は好適な条件下で免疫グロブリンフォールドを形成することが可能である、態様1~15のいずれかに記載のアミノ酸配列。

17.4つのフレームワーク領域(それぞれ、FR1~FR4)と、3つの相補性決定領域(それぞれ、CDR1~CDR3)とから本質的に成る、態様1~16のいずれかに記載のアミノ酸配列。

18.免疫グロブリン配列である、態様1~17のいずれかに記載のアミノ酸配列。

19.天然免疫グロブリン配列(任意の好適な種由来)又は合成若しくは半合成の免疫グロブリン配列である、態様1~18のいずれかに記載のアミノ酸配列。

20.ヒト化免疫グロブリン配列、ラクダ化免疫グロブリン配列、又は親和性成熟等の技法によって得られた免疫グロブリン配列である、態様1~19のいずれかに記載のアミノ酸配列。

21.軽鎖可変ドメイン配列(例えばV<sub>L</sub>配列)又は重鎖可変ドメイン配列(例えばV<sub>H</sub>配列)から本質的に成る、態様1~20のいずれかに記載のアミノ酸配列。

22.従来 of 四本鎖抗体由来の重鎖可変ドメイン配列から本質的に成るか、又は重鎖抗体由来の重鎖可変ドメイン配列から本質的に成る、態様1~21のいずれかに記載のアミノ酸配列。

23.ドメイン抗体(又はドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列)、単ドメイン抗体(又は単ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列)、「dAb」(又はdAbとしての使用に好適なアミノ酸配列)、又はナノボディ(商標)(V<sub>H</sub><sub>H</sub>配列を含むが、これに限定されない)から本質的に成る、態様1~22のいずれかに記載のアミノ酸配列。

24.ナノボディ(商標)から本質的に成る、態様1~23のいずれかに記載のアミノ酸配列。

25.配列番号1~配列番号22のアミノ酸配列の少なくとも1つとの80%のアミノ酸同一性を有するナノボディ(商標)から本質的に成り、ここでアミノ酸同一性の程度を決定するためにCDR配列を形成するアミノ酸残基は無視し、好ましくは、カバットナンバリングによる11位、37位、44位、45位、47位、83位、84位、103位、104位及び108位のアミノ酸残基の1つ又は複数は、表A-3で言及する特徴的な残基から選択される、態様1~24のいずれかに記載のアミノ酸配列。

26.配列番号238~配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239のアミノ酸配列の少なくとも1つとの80%のアミノ酸同一性を有するナノボディ(商標)から本質的に成り、ここでアミノ酸同一性の程度を決定するためにCDR配列を形成するアミノ酸残基は無視し、好ましくは、カバットナンバリングによる11位、37位、44位、45位、47位、83位、84位、103位、104位及び108位のアミノ酸残基の1つ又は複数は、表A-3で言及する特徴的な残基から選択される、態様1~24のいずれかに記載のアミノ酸配列。

27.ヒト化ナノボディ(商標)から本質的に成る、態様1~26のいずれかに記載のアミノ酸配列。

28.GPCRとの結合のための少なくとも1つの結合部位の他に、他の抗原、タンパク質又は標的との結合のためのさらなる結合部位を1つ又は複数含有する、態様1~27のいずれかに記載のアミノ酸配列。

29.CXCR4の成員の少なくとも1つと特異的に結合する単一可変ドメイン。

30.CXCR4の成員がヒトCXCR4である、態様29に記載の単一可変ドメイン。

31.CXCR4から成る群の成員の少なくとも1つ、例えばヒトCXCR4と、配列番号238~配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメインの少なくとも1つとの間の相互作用をさらに遮断する、態様29に

10

20

30

40

50

記載の単一可変ドメイン。

32. a) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメイン；及びb) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択される配列の少なくとも1つとの、80%の配列同一性を有する単一可変ドメインから成る群から選択される、態様29に記載の単一可変ドメイン。

33. a) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメイン；及びb) 最大10個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択される、態様29に記載の単一可変ドメイン。

34. a) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメイン；及びb) 最大8個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択される、態様29に記載の単一可変ドメイン。

35. a) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメイン；及びb) 最大5個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択される、態様29に記載の単一可変ドメイン。

36. a) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメイン；及びb) 最大3個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択される、態様29に記載の単一可変ドメイン。

37. a) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメイン；及びb) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239を有する配列から成る群から選択される配列の少なくとも1つとの、80%の配列同一性を有する単一可変ドメインから成る群から選択され；a) 群及びb) 群から選択された上記単一可変ドメインが、 $10^{-7}$ モル/L～ $10^{-12}$ モル/L以下の解離定数( $K_D$ )でGPCR受容体の成員の少なくとも1つと結合する、態様29に記載の単一可変ドメイン。

38. a) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメイン；及びb) 最大10個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択され；a) 群及びb) 群から選択された上記単一可変ドメインが、 $10^{-7}$ モル/L～ $10^{-12}$ モル/L以下の解離定数( $K_D$ )でGPCR受容体の成員の少なくとも1つと結合する、態様29に記載の単一可変ドメイン。

39. a) 配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメイン；及びb) 最大8個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号238～配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択され；a) 群及びb) 群から選択された上記

10

20

30

40

50

単一可変ドメインが、 $10^{-7}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下の解離定数 ( $K_D$ ) で N o t c h 受容体の成員の少なくとも1つと結合する、態様 29 に記載の単一可変ドメイン。

40 . a ) 配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメイン；及び b ) 最大 5 個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択され；a ) 群及び b ) 群から選択された上記単一可変ドメインが、 $10^{-7}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下の解離定数 ( $K_D$ ) で N o t c h 受容体の成員の少なくとも1つと結合する、態様 29 に記載の単一可変ドメイン。

10

41 . a ) 配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメイン；及び b ) 最大 3 個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択され；a ) 群及び b ) 群から選択された上記単一可変ドメインが、 $10^{-7}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下の解離定数 ( $K_D$ ) で N o t c h 受容体の成員の少なくとも1つと結合する、態様 29 に記載の単一可変ドメイン。

42 . a ) 配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメイン；及び b ) 配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 を有する配列から成る群から選択される配列の少なくとも1つとの、80% の配列同一性を有する単一可変ドメインから成る群から選択され；a ) 群及び b ) 群から選択された上記単一可変ドメインが、 $10^{-8}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下の解離定数 ( $K_D$ ) で N o t c h シグナル伝達経路の成員と結合する、態様 29 に記載の単一可変ドメイン。

20

43 . a ) 配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメイン；及び b ) 最大 10 個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択され；a ) 群及び b ) 群から選択された上記単一可変ドメインが、 $10^{-8}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下の解離定数 ( $K_D$ ) で N o t c h 受容体の成員の少なくとも1つと結合する、態様 29 に記載の単一可変ドメイン。

30

44 . a ) 配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメイン；及び b ) 最大 8 個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択され；a ) 群及び b ) 群から選択された上記単一可変ドメインが、 $10^{-8}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下の解離定数 ( $K_D$ ) で G P C R 受容体の成員の少なくとも1つと結合する、態様 29 に記載の単一可変ドメイン。

40

45 . a ) 配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメイン；及び b ) 最大 5 個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号 238 ~ 配列番号 253、より好ましくは配列番号 238、配列番号 239 の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択され；a ) 群及び b ) 群から選択された上記単一可変ドメインが、 $10^{-8}$  モル/L ~  $10^{-12}$  モル/L 以下の解離定数 ( $K_D$ ) で G P C R 受容体の成員の少なくとも1つと結合する、態様 29 に記載の単一可変ドメイン。

50

46. a) 配列番号238~配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメイン;及びb)最大3個のアミノ酸残基が天然アミノ酸に置き換わり、上記置き換わったアミノ酸がフレームワーク領域内に位置している配列番号238~配列番号253、より好ましくは配列番号238、配列番号239の配列を有する単一可変ドメインから成る群から選択され; a)群及びb)群から選択された上記単一可変ドメインが、 $10^{-8}$ モル/L~ $10^{-12}$ モル/L以下の解離定数( $K_D$ )でGPCR受容体の成員の少なくとも1つと結合する、態様29に記載の単一可変ドメイン

。47. CXCR7の成員の少なくとも1つと特異的に結合する単一可変ドメイン。

48. CXCR7の成員がヒトCXCR7である、態様29に記載の単一可変ドメイン。

49. a) 態様1~29のいずれかに記載のアミノ酸配列を1つ又は複数含むか若しくはこれから本質的に成るか、又はb)態様30~48のいずれかに記載の単一可変ドメインを1つ又は複数含むか若しくは本質的にこれから成り、任意で1つ又は複数のリンカーを介して連結した、1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位をさらに任意で含む、化合物又は構築物。

50. 上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位がアミノ酸配列である、態様49に記載の化合物又は構築物。

51. 上記1つ又は複数のリンカーが存在する場合、該リンカーが1つ又は複数のアミノ酸配列である、態様50に記載の化合物又は構築物。

52. 上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位が免疫グロブリン配列である、態様49~51のいずれかに記載の化合物又は構築物。

53. 上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位が単一ドメイン抗体から成る群から選択される、態様49~52のいずれかに記載の化合物又は構築物。

54. 上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位がナノボディである、態様49~53のいずれかに記載の化合物又は構築物。

55. 例えば配列番号261~配列番号266、好ましくは配列番号263、264のような多価構築物、及びa)配列番号261~配列番号266との80%の同一性を有し、b)上記GPCRのリガンド依存性の活性化を完全に阻害する、例えば化合物又は構築物のような機能的同等物であり、該リガンドは、 $100\text{ nM}$ 以下、より好ましくは $30\text{ nM}$ 以下の濃度で存在するか、又は該GPCRが基礎活性を有する場合、完全なアンタゴニストであるか若しくは好ましくは活性を、基礎活性の90%以上、より好ましくは基礎活性の80%以上、さらにより好ましくは基礎活性の70%以上、さらにより好ましくは基礎活性の60%以上に低減する、態様49~54のいずれかに記載の化合物又は構築物。

56. 多重特異性構築物である、態様49~55のいずれかに記載の化合物又は構築物。

57. 態様1~48のいずれかに記載の対応するアミノ酸配列又は単一可変ドメイン自体と比較して半減期が増大している、態様49~56のいずれかに記載の化合物又は構築物

。58. 上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位が、態様1~48のいずれかに記載の対応するアミノ酸配列又は単一可変ドメイン自体と比較して半減期が増大している化合物又は構築物を提供する、態様57に記載の化合物又は構築物。

59. 半減期が増大している化合物又は構築物を提供する、上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位が、血清タンパク質又はその断片、血清タンパク質と結合することができる結合単位、Fc部分、及び血清タンパク質と結合することができる小タンパク質又は小ペプチドから成る群から選択される、態様58に記載の化合物又は構築物。

60. 半減期が増大している化合物又は構築物を提供する、上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位が、ヒト血清アルブミン又はその断片から成る群から選択される、態様58又は59に記載の化合物又は構築物。

61. 半減期が増大している化合物又は構築物を提供する、上記1つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位が、血清アルブミン(例えばヒト血清アルブミン)又は血清免疫グロブリン(例えばIgG)と結合することができる結合単位から成る群から選択される

10

20

30

40

50

、態様 60 に記載の化合物又は構築物。

62. 半減期が増大している化合物又は構築物を提供する、上記 1 つ又は複数の他の基、残基、部分又は結合単位が、ドメイン抗体、ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列、単一ドメイン抗体、単一ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列、「dAb」、dAb としての使用に好適なアミノ酸配列、又は血清アルブミン（例えばヒト血清アルブミン）若しくは血清免疫グロブリン（例えば IgG）と結合することができるナノボディからなる群から選択される、態様 61 に記載の化合物又は構築物。

63. 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載の対応するアミノ酸配列又は単一可変ドメイン自体より少なくとも 1.5 倍、好ましくは少なくとも 2 倍、例えば少なくとも 5 倍、例えば少なくとも 10 倍又は 20 倍超大きい血清半減期を有する、態様 57 ~ 62 のいずれかに記載の化合物又は構築物。

64. 血清半減期が、態様 1 ~ 48 のいずれかに記載の対応するアミノ酸配列又は単一可変ドメイン自体と比較して 1 時間超、好ましくは 2 時間超、より好ましくは 6 時間超、例えば 12 時間超、又はさらに 24 時間超、48 時間超又は 72 時間超増大している、態様 57 ~ 62 のいずれかに記載の化合物又は構築物。

65. ヒトにおける血清半減期が少なくとも約 12 時間、好ましくは少なくとも 24 時間、より好ましくは少なくとも 48 時間、さらにより好ましくは少なくとも 72 時間以上、例えば少なくとも 5 日（約 5 日 ~ 10 日等）、好ましくは少なくとも 9 日（約 9 日 ~ 14 日等）、より好ましくは少なくとも約 10 日（約 10 日 ~ 15 日等）、若しくは少なくとも約 11 日（約 11 日 ~ 16 日等）、より好ましくは少なくとも約 12 日（約 12 日 ~ 18 日以上等）、又は 14 日超（約 14 日 ~ 19 日等）である、態様 57 ~ 64 のいずれかに記載の化合物又は構築物。

66. 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列又は単一可変ドメインを 1 つ含むか又はこれから本質的に成る一価構築物。

67. 上記本発明のアミノ酸配列が、ドメイン抗体、ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列、単一ドメイン抗体、単一ドメイン抗体としての使用に好適なアミノ酸配列、「dAb」、dAb としての使用に好適なアミノ酸配列、又はナノボディから成る群から選択される、態様 66 に記載の一価構築物。

68. 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物をコードする、核酸又はヌクレオチド配列。

69. 遺伝子構築物の形態である、態様 68 に記載の核酸又はヌクレオチド配列。

70. 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物を発現する、又は好適な状況下で発現することが可能である、及び/又は態様 68、69 のいずれかに記載の核酸若しくはヌクレオチド配列を含む、宿主又は宿主細胞。

71. 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物を作製する方法であって、

a) 好適な宿主細胞若しくは宿主生物又は別の好適な発現系において、態様 68 に記載の核酸若しくはヌクレオチド配列又は態様 69 に記載の遺伝子構築物を発現する工程と、場合によってはその後、

b) 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物を単離及び/又は精製する工程とを少なくとも含む、方法。

72. 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物を作製する方法であって、

a) 態様 70 に記載の宿主又は宿主細胞が少なくとも 1 つの態様 1 ~ 48 のいずれかに

10

20

30

40

50

記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物を発現及び / 又は産生するような条件下で、上記宿主又は宿主細胞を培養及び / 又は維持する工程と、場合によってはその後、

b) 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物を単離及び / 又は精製する工程とを少なくとも含む、方法。

73. 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物を少なくとも 1 つ含む組成物。

74. 薬学的組成物である、態様 73 に記載の組成物。

75. 少なくとも 1 つの薬学的に許容可能な担体、希釈剤又は賦形剤、及び / 又はアジュバントをさらに含み、任意で 1 つ又は複数のさらなる薬学的に活性のあるポリペプチド及び / 又は化合物を含む、態様 74 に記載の組成物。

76. 少なくとも 1 つの GPCR 関連の疾患又は障害を予防及び / 又は治療する方法であって、少なくとも 1 つの態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物、又は態様 74 若しくは 75 に記載の組成物を、それを必要とする被験体に薬学的に活性のある量投与することを含む、方法。

77. GPCR、その生物学的又は薬理的な活性、及び / 又は GPCR が関与する生物学的経路又はシグナル伝達に関連する少なくとも 1 つの疾患又は障害を予防及び / 又は治療する方法であって、少なくとも 1 つの態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物、又は態様 74 若しくは 75 に記載の組成物を、それを必要とする被験体に薬学的に活性のある量投与することを含む、方法。

78. 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物を、それを必要とする被験体に投与することにより予防及び / 又は治療することができる少なくとも 1 つの疾患又は障害を予防及び / 又は治療する方法であって、少なくとも 1 つの態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物、又は態様 76 若しくは 77 に記載の組成物を、それを必要とする被験体に薬学的に活性のある量投与することを含む、方法。

79. 免疫療法であって、少なくとも 1 つの態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物、又は態様 72 若しくは 73 に記載の組成物を、それを必要とする被験体に薬学的に活性のある量投与することを含む、免疫療法。

80. 少なくとも 1 つの GPCR 関連の疾患又は障害の予防及び / 又は治療用の薬学的組成物の調製における態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物の使用。

81. 態様 1 ~ 48 のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメイン、態様 49 ~ 65 のいずれかに記載の化合物若しくは構築物の少なくとも 1 つの構成要素、又は態様 66、67 のいずれかに記載の一価構築物の少なくとも 1 つの構成要素を生成する方法であって、

a) ラクダ科動物、好ましくはラマに、生きた状態で、かつ天然立体構造における表面上で上記 GPCR、例えばヒト CXCR4 及び / 又はヒト CXCR7 の所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ (複数可) を過剰発現する全細胞を免疫付与する工程と、

10

20

30

40

50

b) GPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7を過剰発現する異なる(免疫付与に使用したもの以外の)細胞型の細胞膜調製物を使用して、所望の細胞外の部分、領域、ドメイン、ループ又は他の細胞外エピトープ(複数可)との結合に関して選択する工程と、

c) 任意で洗浄剤を用いずにPBS等のバッファーで穏やかに洗浄する工程とを少なくとも含む、方法。

82. GPCR、例えばヒトCXCR4及び/又はヒトCXCR7に指向性を有するアミノ酸配列、例えば単一可変ドメインを同定するためにスクリーニングする方法であって、態様1~48のいずれかに記載のアミノ酸配列若しくは単一可変ドメインのいずれか、態様49~65のいずれかに記載の化合物若しくは構築物のいずれか、又は態様66、67のいずれかに記載の一価構築物のいずれかを上記GPCRに接触させる工程を含む、方法

10

83. i) 結合の際、インバーサゴニスト作用又はインバーサアンタゴニスト作用を引き起こすことが可能であるエピトープに指向性を有するか又はこれに対して親和性を有する、第1のリガンドと、ii) 結合の際、アンタゴニスト作用を引き起こすことが可能であるエピトープに指向性を有するか又はこれに対して親和性を有する、第2のリガンドとを含む構築物。

84. リガンドの少なくとも1つが免疫グロブリン配列である、態様83に記載の構築物。

85. リガンドの少なくとも1つがdAb又はナノボディ、好ましくはナノボディである、態様83又は84に記載の構築物。

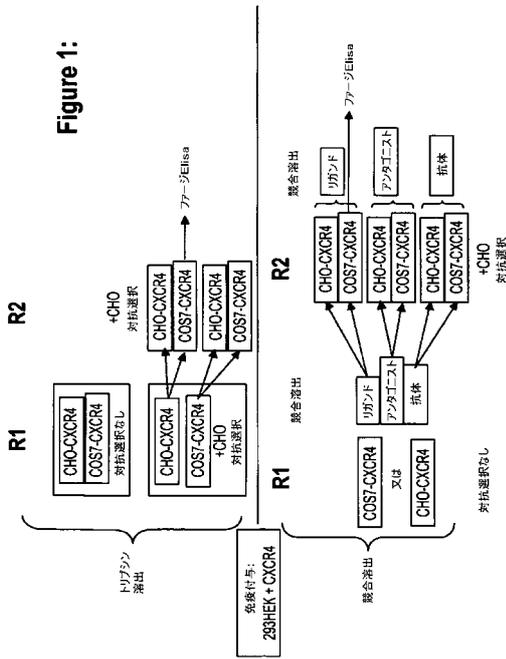
20

86. 両方のリガンドが免疫グロブリン配列である、態様83~85のいずれかに記載の構築物。

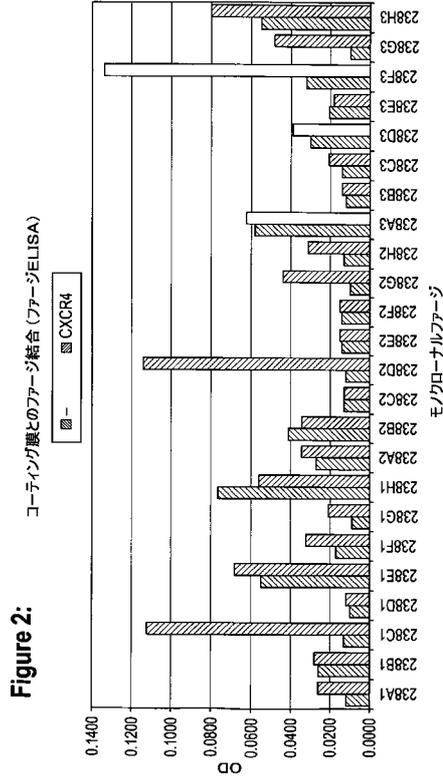
87. 両方のリガンドがdAb又はナノボディ、好ましくはナノボディである、態様83~86のいずれかに記載の構築物。

88. ポリペプチドである、態様83~87のいずれかに記載の構築物。

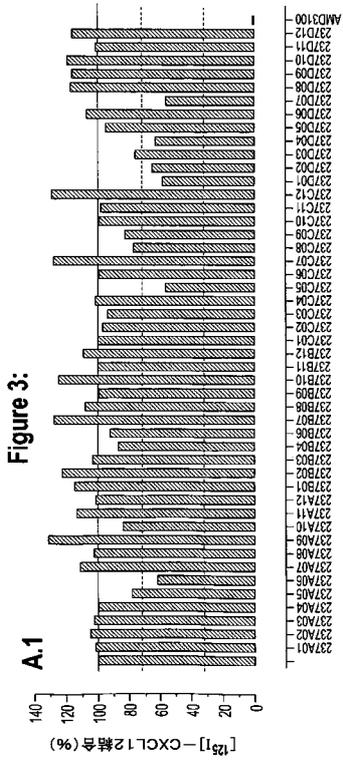
【 図 1 】



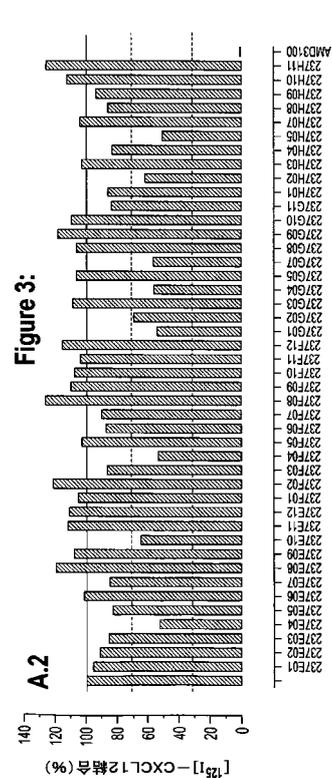
【 図 2 】



【 図 3 - 1 】



【 図 3 - 2 】



【 図 3 - 3 】

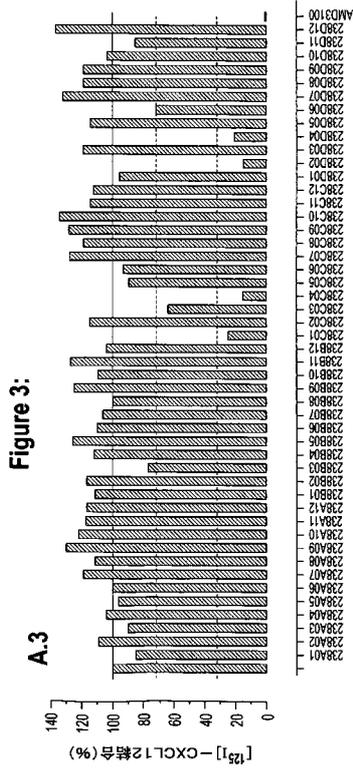


Figure 3:

A.3

【 図 3 - 4 】

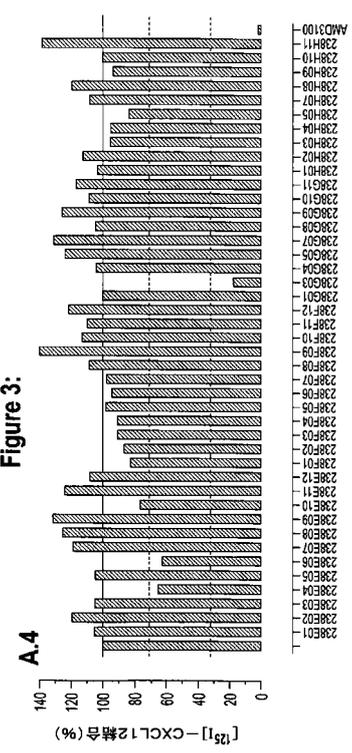


Figure 3:

A.4

【 図 3 - 5 】

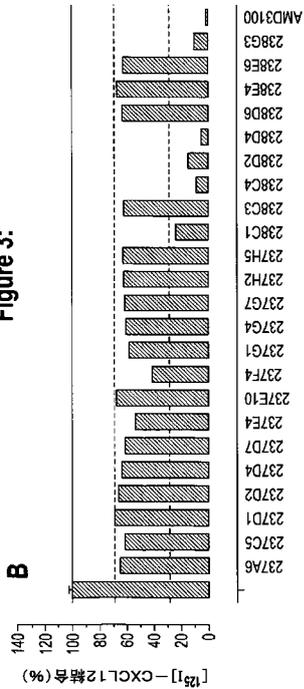


Figure 3:

B

【 図 4 】

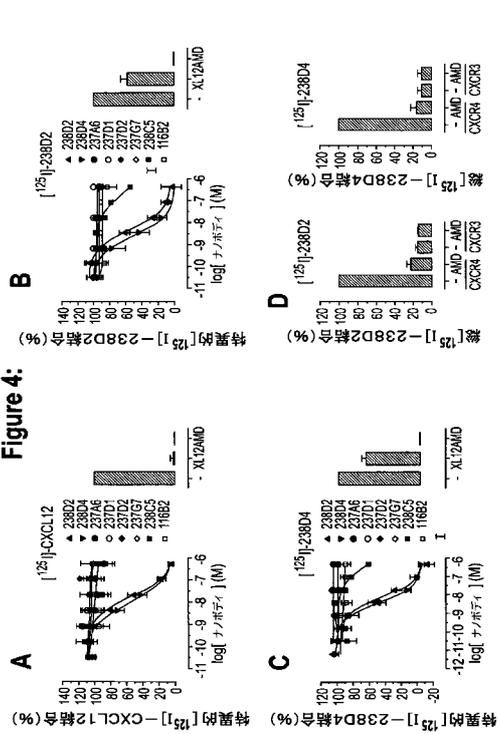


Figure 4:

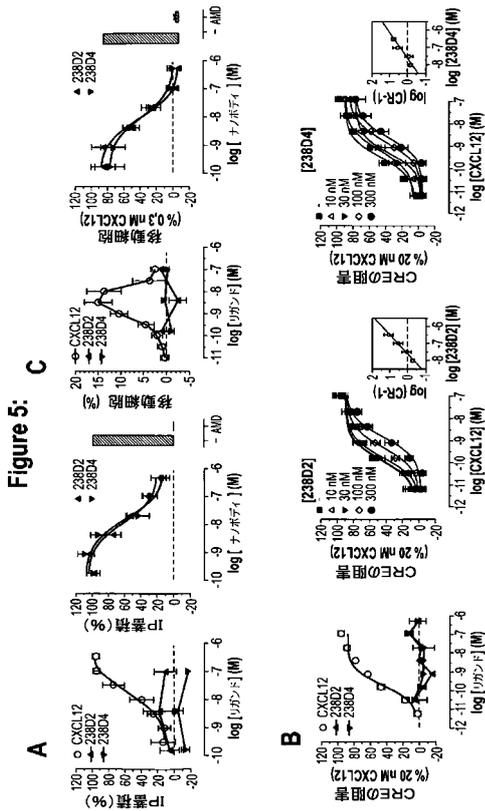
A

C

B

D

【 図 5 】



【 図 6 】

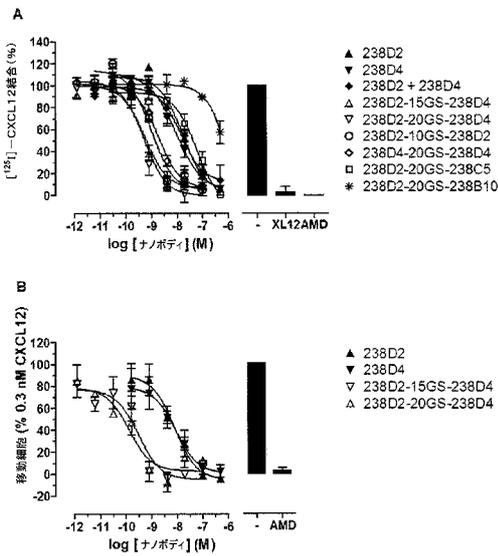
Figure 6:

CXCR4ファミリーグループ分け

1	237B6, A5, D2, D3, E4, F4, G2, G4, xh5, F1, C5, G1	FAM 1
2	237D4	
3	238B10	FAM 2
4	238F7	
5	238C5, G2, xH5, C3, D6, E8	u (4)
6	238D4, G3	FAM 3
	238C4	
7	238C1, D2	u (5)
8	237B5	u
9	238H2	u
10	238F3	u
11	238D8	?
12	237F11	?
13	237A6	u
14	xx237C1	u
15	237D1	u
16	237E1	u
17	237G7	u

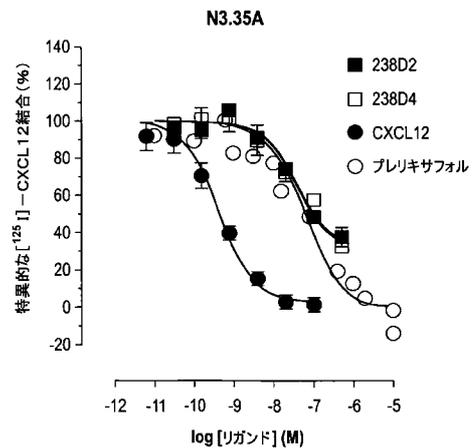
【 図 8 】

Figure 8:

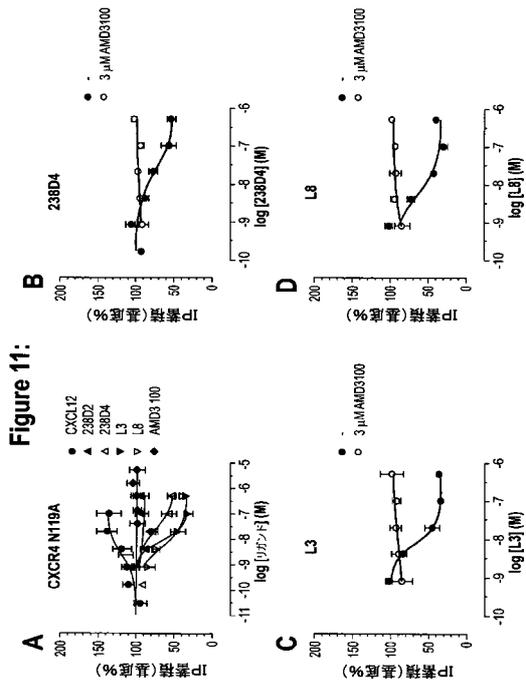


【 図 10 】

Figure 10:

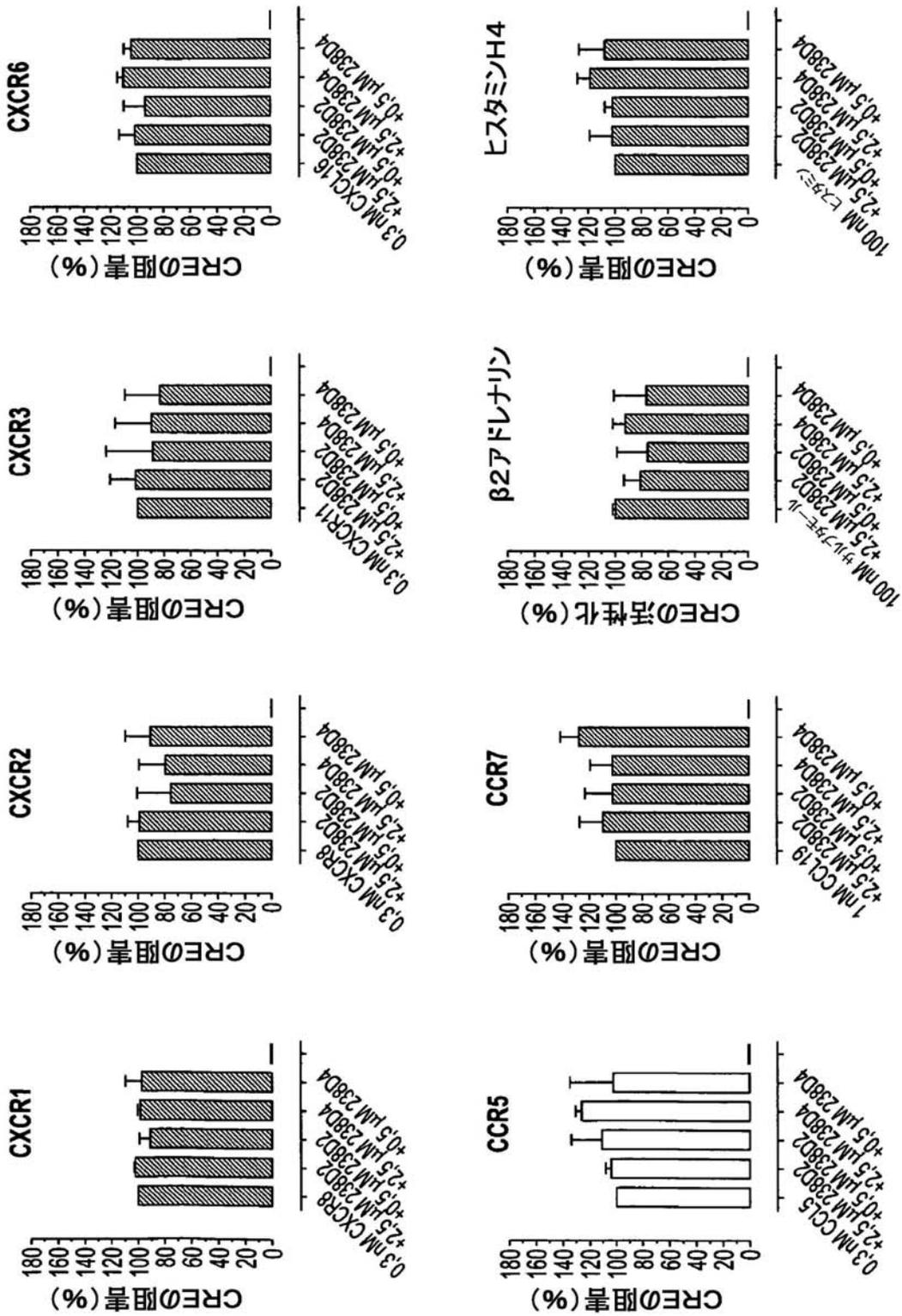


【 図 1 1 】



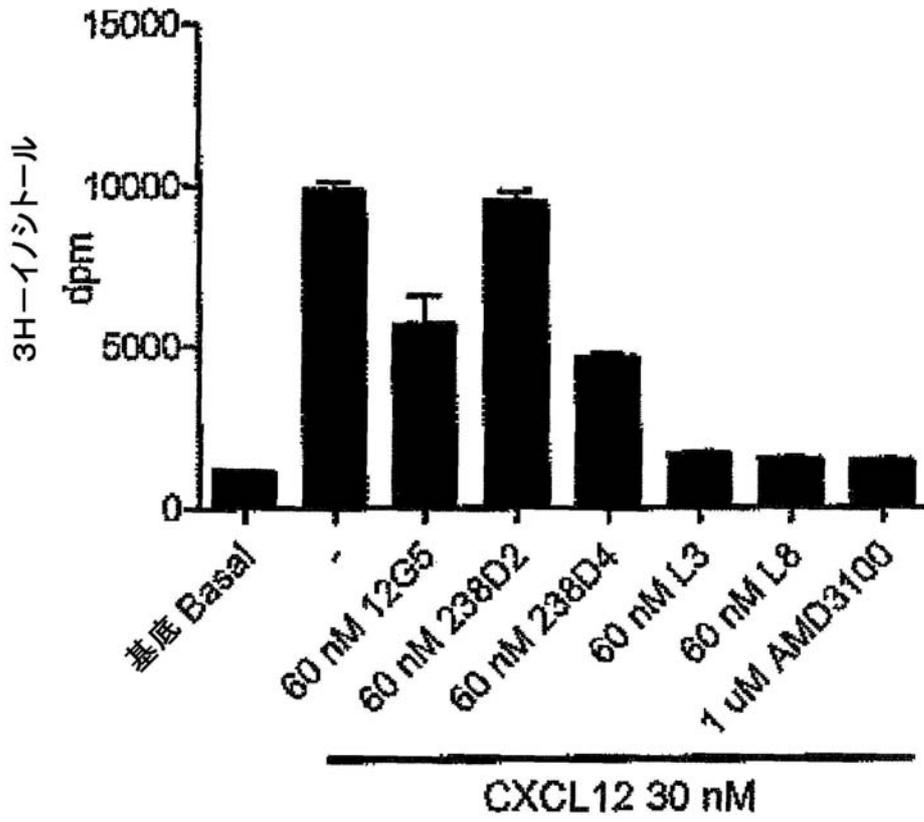
【 図 7 】

Figure 7:



【 図 9 】

Figure 9:



【 配列表 】

[2011523550000001.app](#)

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International application No PCT/EP2009/056026
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 A61K39/395 A61P31/18 A61P35/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P 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, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/089141 A (DANA FARBER CANCER INST INC [US]; MARASCO WAYNE A [US]; SUI JIANHUA [U] 24 August 2006 (2006-08-24) examples 1-9	1-15
X	WO 03/066830 A (GENETASTIX CORP [US]; HUA SHAOBING [US]; PAULING MICHELLE H [US]; ZHU) 14 August 2003 (2003-08-14) figures 15,16; examples 1,7-9 -/--	1-15
<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 3 September 2009		Date of mailing of the international search report 17/09/2009
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Cilensek, Zoran

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2009/056026
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VADAY GAYLE G ET AL: "CXCR4 and CXCL12 (SDF-1) in prostate cancer: inhibitory effects of human single chain Fv antibodies" CLINICAL CANCER RESEARCH, THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 10, no. 16, 15 August 2004 (2004-08-15), pages 5630-5639, XP002397863 ISSN: 1078-0432 figures 1-8	1-15
X	MISUMI SHOGO ET AL: "A novel cyclic peptide immunization strategy for preventing HIV-1/AIDS infection and progression." THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 22 AUG 2003, vol. 278, no. 34, 22 August 2003 (2003-08-22), pages 32335-32343, XP002544062 ISSN: 0021-9258 page 32336, left-hand column, paragraphs 4,5 figures 4-9	1-15
X	CARNEC XAVIER ET AL: "Anti-CXCR4 monoclonal antibodies recognizing overlapping epitopes differ significantly in their ability to inhibit entry of human immunodeficiency virus type 1" JOURNAL OF VIROLOGY, THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 79, no. 3, 1 February 2005 (2005-02-01), pages 1930-1933, XP002518542 ISSN: 0022-538X the whole document	1-15
X	WO 99/50461 A (NORTHWEST BIOTHERAPEUTICS INC [US]; MURPHY GERALD P [US]; BOYNTON ALTO) 7 October 1999 (1999-10-07) page 95 - page 105 figures 13-16	1-15
X	WO 03/050531 A (ALGONOMICS N V [BE]; ABLYNX NV [BE]; LASTERS IGNACE [BE]; PLETINCKX JU) 19 June 2003 (2003-06-19) example 3	1-15
X	EP 1 316 801 A (CHEMOCENTRYX INC [US]) 4 June 2003 (2003-06-04) page 24, lines 50-52 figure 1	1-15

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2009/056026

C(Continuation), DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/051063 A (MULTISPAN INC [US]; MANCEBO HELENA S [US]; HER JENG-HORNG [US]; LI SAM) 3 May 2007 (2007-05-03) examples 1-8 figure 8	1-15
A	HOFFMAN T L ET AL: "A biosensor assay for studying ligand-membrane receptor interactions: Binding of antibodies and HIV-1 Env to chemokine receptors" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 97, no. 21, 10 October 2000 (2000-10-10), pages 11215-11220, XPO03006201 ISSN: 0027-8424	1-15

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2009/056026

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006089141 A	24-08-2006	CA 2597717 A1	24-08-2006
		EP 1871807 A2	02-01-2008
WO 03066830 A	14-08-2003	AU 2003209059 A1	02-09-2003
WO 9950461 A	07-10-1999	AU 766675 B2	23-10-2003
		AU 3470299 A	18-10-1999
		AU 2004200560 A1	11-03-2004
		CA 2323525 A1	07-10-1999
		DE 1068357 T1	19-07-2001
		EP 1068357 A1	17-01-2001
		ES 2156581 T1	01-07-2001
		GR 2001300028 T1	29-06-2001
		JP 2002509734 T	02-04-2002
		NZ 507161 A	19-12-2003
		NZ 528767 A	26-08-2005
WO 03050531 A	19-06-2003	AU 2002351896 A1	23-06-2003
		US 2005214857 A1	29-09-2005
EP 1316801 A	04-06-2003	AT 310955 T	15-12-2005
		DE 60207514 D1	29-12-2005
		DE 60207514 T2	10-08-2006
		DK 1316801 T3	06-03-2006
		US 2003124628 A1	03-07-2003
WO 2007051063 A	03-05-2007	WO 2007055823 A2	18-05-2007

## 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 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
G 0 1 N 33/68 (2006.01)	G 0 1 N 33/68	
G 0 1 N 33/531 (2006.01)	G 0 1 N 33/531	A
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/15	Z

(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, MK, 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 ブランチェットト, クリストフ  
オランダ, エンエル 2 8 0 6 アールジー ハウダ, ラインビスファイトストラート 9
- (72)発明者 スミット, マーティン  
オランダ, エンエル 1 0 6 0 テーパー アムステルダム, プロフェッサー ハンズ ファンク  
ファーザーシングル 2 3 6
- (72)発明者 ルール, レゴリアス  
オランダ, エンエル 1 0 7 5 セーバー アムステルダム, サッセン ワイマルラーン 2 2 -  
3
- (72)発明者 イェーニチェン, スヴェン  
ドイツ, 2 7 3 2 7 シュヴァルメ, リュッチェンカンブ 1 6
- (72)発明者 サンダース, ミカエル, ジョン, スコット  
ベルギー, ベー 1 1 9 0 ブリュッセル, アベニュー デ ラ ジョンクシオン 3 8
- (72)発明者 デ ハールト, ヨハネス, ジョゼフ, ヴィルヘルムス  
オランダ, エンエル 4 4 3 6 エンアー アウデランデ, 'テー ズヴィント 1
- (72)発明者 ヴァンランドショット, ピーター  
ベルギー, ベー 9 8 8 1 ベレム, マルケッテストラート 2 0 アー

Fターム(参考) 2G045 AA25 AA40 BB20 DA36 DA37 FB01 FB02 FB03 GC10  
4B024 AA01 BA61 CA01  
4B065 AA01X AA57X AA87X AA90Y AB01 BA02 CA24 CA44  
4C084 AA03 BA01 BA21 CA17 CA53 DC50 MA16 MA27 MA31 MA32

MA34 MA52 MA55 MA57 MA63 MA66 MA67 NA14 ZA15 ZA51  
ZA59 ZB07 ZB11 ZB26 ZB27 ZB33 ZB35 ZC02  
4H045 AA11

专利名称(译)	对CXCR4和其他GPCR具有方向性的氨基酸序列和含有该氨基酸序列的化合物		
公开(公告)号	<a href="#">JP2011523550A</a>	公开(公告)日	2011-08-18
申请号	JP2011508949	申请日	2009-05-18
[标]申请(专利权)人(译)	埃博灵克斯股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	阿布链接日元.Weserblick.		
[标]发明人	ブランチェットトクリストフ スミットマーティン ルールレゴリアス イエーニチエンスヴェン サンダースミカエルジョンスコット デハールトヨハネスジョゼフヴィルヘルムス ヴァンランドショットピーター		
发明人	ブランチェットト,クリストフ スミット,マーティン ルール,レゴリアス イエーニチエン,スヴェン サンダース,ミカエル,ジョン,スコット デハールト,ヨハネス,ジョゼフ,ヴィルヘルムス ヴァンランドショット,ピーター		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/18 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K38/00 A61P43/00 A61P31/18 A61P31/04 A61P31/12 A61P25/00 A61P9/10 A61P25/28 A61P37/02 A61P35/00 A61P35 /02 A61P29/00 A61P11/06 G01N33/68 G01N33/531 G01N33/50 G01N33/15		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P11/06 A61P25/00 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P31/18 A61P35/00 A61P35/02 C07K16/2866 C07K2317/22 C07K2317/31 C07K2317/76 C07K2317/92		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K16/18 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 A61K37/02 A61P43/00.111 A61P31/18 A61P31/04 A61P31/12 A61P25/00 A61P9/10 A61P25/28 A61P37/02 A61P35/00 A61P35/02 A61P29/00 A61P11/06 G01N33/68 G01N33/531.A G01N33/50.Z G01N33/15.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BB20 2G045/DA36 2G045/DA37 2G045/FB01 2G045/FB02 2G045 /FB03 2G045/GC10 4B024/AA01 4B024/BA61 4B024/CA01 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065 /AA87X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4C084/AA03 4C084/BA01 4C084/BA21 4C084/CA17 4C084/CA53 4C084/DC50 4C084/MA16 4C084/MA27 4C084/MA31 4C084 /MA32 4C084/MA34 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/MA57 4C084/MA63 4C084/MA66 4C084/MA67 4C084/NA14 4C084/ZA15 4C084/ZA51 4C084/ZA59 4C084/ZB07 4C084/ZB11 4C084/ZB26 4C084 /ZB27 4C084/ZB33 4C084/ZB35 4C084/ZC02 4H045/AA11		
代理人(译)	庄司隆 Shinobe百合子		
优先权	61/053847 2008-05-16 US 61/102142 2008-10-02 US		
其他公开文献	JP2011523550A5 JP6034023B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		
摘要(译)			

本发明中，G蛋白偶联受体（GPCR），特别是（如本文定义），以针对CXCR4和CXCR7的氨基酸序列和这类的氨基酸序列的包含一个或多个，特别是蛋白质和多肽（在本文中称为“本发明的氨基酸序列”“本发明化合物”和“本发明多肽”）。本发明进一步涉及产生跨膜蛋白的新方法，特别是针对多种跨膜蛋白（例如通常为GPCR）的氨基酸序列，其中天然构象不能在其他“体外”系统中再现。它提供了一个方法。【选择图】无