(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2017-19787
(P2017-19787A)
(43)公開日　平成29年1月26日(2017.1.26)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 14/47	(2006.01)	C07K	14/47	ZNA	
C07K 1/22	(2006.01)	C07K	1/22		
A61K 47/50	(2017.01)	A61K	47/48		
A61K 47/42	(2017.01)	A61K	47/42		
A61K 49/00	(2006.01)	A61K	49/00	C	

審査請求 有　請求項の数 14　ＯＬ　（全 125 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-137140 (P2016-137140)
(22)出願日　平成28年7月11日 (2016.7.11)
(62)分割の表示　特願2014-68150 (P2014-68150)の分割
原出願日　平成16年3月3日 (2004.3.3)
(31)優先権主張番号　60/451,588
(32)優先日　平成15年3月3日 (2003.3.3)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　502352519
ダイアックス、コープ
ＤＹＡＸ　ＣＯＲＰ.
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０１８０３，バーリントン，ネットワーク・ドライブ　５５
(71)出願人　511044009
ブラッコ・スイス・ソシエテ・アノニム
スイス国　６９２８　マンノ，ヴィア・カントナーレ　２
(74)代理人　100140109
弁理士　小野　新次郎
(74)代理人　100075270
弁理士　小林　泰

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＨＧＦレセプター（ｃＭｅｔ）を特異的に結合するペプチドおよびその使用

(57)【要約】　（修正有）
【課題】肝細胞増殖因子レセプター（ｃＭｅｔ）へ結合する新規結合部分の探索とその使用方法の提供。
【解決手段】ｃＭｅｔに結合するポリペプチド（多量体ポリペプチド構築物）、またはｃＭｅｔとＨＧＦの複合体に結合するポリペプチドであって、標識又は治療剤にリンカーを介して結合している診断検出に適した画像診断造影剤を形成し、特定のアミノ酸配列からなるポリペプチド。標識又は治療剤が、リンカーを介してポリペプチドに結合しており、標識が、酵素、蛍光性化合物、超音波造影剤、リポソーム、及び光学色素常磁性金属イオン。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ｃＭｅｔ又はｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体に結合する単離されたポリペプチドであって、該ポリペプチドは、以下から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、前記ポリペプチド：
（ａ）　Ｇ－Ｓ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－X_5－X_6－X_7－Ｃ－X_8－X_9－X_{10}－Ａ－Ｐ－Ｇ－Ｇ－Ｋ（配列番号５２５）、式中、
X_1は、Ｆ、Ｌ、Ｓ、Ｗ、Ｙ、又はＭであり；
X_2は、Ｉ、Ｙ、Ｈ、Ｔ、又はＮであり；
X_3は、Ｉ、Ｌ、Ｄ、Ｍ、Ｆ、又はＳであり；
X_4は、Ｐ、Ｒ、Ｗ、Ｎ、又はＥであり；
X_5は、Ｗ、Ｙ、Ｅ、Ｐ、Ｌ、Ｔ、又はＧであり；
X_6は、Ｓ、Ｔ、Ｄ、Ｆ、Ｅ、Ｗ、Ｇ、又はＱであり；
X_7は、Ｆ、Ｗ、Ｎ、Ｑ、Ｅ、Ｒ、又はＡであり；
X_8は、Ｇ、Ｎ、Ｈ、Ｒ、Ｍ、Ｉ、Ｄ、Ｖ、又はＴであり；
X_9は、Ｓ、Ｋ、Ｆ、Ｍ、Ｔ、Ｄ、又はＬであり；及び
X_{10}は、Ｓ、Ｐ、Ｔ、Ｌ、Ｙ、Ｎ、Ｈ、Ｑ、又はＷである；
（ｂ）　Ａ－Ｇ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－Ｃ－X_{10}－X_{11}－X_{12}－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｋ（配列番号５２６）、式中、X_1～X_{12}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；
（ｃ）　Ｇ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－Ｇ－X_5－Ｐ－X_6－Ｆ－X_7－Ｃ－X_8－X_9－X_{10}－Ｇ－Ｔ（配列番号５２７）、式中、X_1～X_{10}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；
（ｄ）　Ｇ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－Ｇ－Ｐ－Ｐ－X_5－Ｆ－X_6－Ｃ－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－X_{12}－Ｐ－Ｔ－Ｅ（配列番号５２８）、式中、X_1～X_{12}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；
（ｅ）　Ｔ－X_1－X_2－X_3－X_4－X_5－X_6－Ｃ－X_7－Ｇ－Ｐ－Ｐ－X_8－Ｆ－X_9－Ｃ－X_{10}－X_{11}－X_{12}－Ｇ（配列番号５２９）、式中、X_1～X_{12}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；
（ｆ）　Ｓ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－Ｃ－X_{12}－X_{13}－X_{14}－Ａ－Ｐ（配列番号５３０）、式中、
X_1は、Ｗ、Ｈ、Ｆ、Ｔ、又はＰのうちの１つであり；
X_2は、Ｒ、Ｈ、Ａ、Ｋ、Ｅ、又はＦのうちの１つであり；
X_3は、Ｆ、Ｔ、Ｐ、Ｖ、又はＭのうちの１つであり；
X_4は、Ｆ、Ｌ、Ｈ、Ｍ、又はＷのうちの１つであり；
X_5は、Ｇ、Ｄ、Ｗ、Ｅ、Ｍ、又はＲのうちの１つであり；
X_6は、Ｅ、Ｇ、Ｐ、Ｋ、Ｆ、又はＩのうちの１つであり；
X_7は、Ｙ、Ｆ、Ｓ、Ｗ、Ｐ、又はＤのうちの１つであり；
X_8は、Ｓ、Ａ、Ｆ、Ｎ、又はＲのうちの１つであり；
X_9は、Ｆ、Ｇ、Ａ、Ｑ、又はＬのうちの１つであり；
X_{10}は、Ｑ、Ｗ、Ｉ、Ｌ、Ｙ、又はＧのうちの１つであり；
X_{11}は、Ｖ、Ｒ、Ｄ、Ｆ、Ｐ、又はＹのうちの１つであり；
X_{12}は、Ｑ、Ｔ、Ｉ、Ｈ、又はＮのうちの１つであり；
X_{13}は、Ｄ、Ｅ、Ａ、Ｎ、又はＨのうちの１つであり；及び
X_{14}は、Ｖ、Ｅ、Ｑ、Ｈ、又はＮのうちの１つである；
（ｇ）　Ｓ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－X_{12}－Ｃ－X_{13}－X_{14}－X_{15}－Ａ－Ｐ（配列番号５３２）、式中、X_1～X_{15}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；
（ｈ）　Ｄ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－X_{12}－X_{13}－Ｃ－X_{14}－X_{15}－X_{16}－Ｄ－Ｐ（配列番号５３３）、式中

、X_{1}～X_{16}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；並びに
（ｉ）　配列番号４４９～４９６のうちいずれか１つ。
【請求項２】
（ａ）において、
X_{1}は、Ｆ、Ｌ、Ｓ、Ｗ、Ｙ、又はＭであり；
X_{2}は、Ｉ、Ｙ、Ｈ、Ｔ、又はＮであり；
X_{3}は、Ｉであり；
X_{4}は、Ｗ又はＰであり；
X_{5}は、Ｗ、Ｙ、Ｅ、Ｐ、Ｌ、Ｔ、又はＧであり；
X_{6}は、Ｓ、Ｔ、Ｄ、Ｆ、Ｅ、Ｗ、Ｇ、又はＱであり；
X_{7}は、Ｆ、Ｗ、Ｎ、Ｑ、Ｅ、Ｒ、又はＡであり；
X_{8}は、Ｇ、Ｎ、Ｈ、Ｒ、Ｍ、Ｉ、Ｄ、Ｖ、又はＴであり；
X_{9}は、Ｓ、Ｋ、Ｆ、Ｍ、Ｔ、Ｄ、又はＬであり；及び
X_{10}は、Ｓ、Ｐ、Ｔ、Ｌ、Ｙ、Ｎ、Ｈ、Ｑ、又はＷである；
（ｂ）において、
X_{1}は、Ｇ、Ｖ、Ｗ、Ｔ、Ｋ、又はＱであり；
X_{2}は、Ｗ、Ｙ、Ｌ、Ｆ、又はＴであり；
X_{3}は、Ｗ、Ｅ、Ｆ、Ｉ、Ｌ、又はＳであり；
X_{4}は、Ｅ、Ｎ、又はＱであり；
X_{5}は、Ｗ、Ｌ、又はＥであり；
X_{6}は、Ｅ、Ｓ、又はＹであり；
X_{7}は、Ｅ、Ｍ、又はＰであり；
X_{8}は、Ｍ、Ｓ、又はＷであり；
X_{9}は、Ｆ、Ｌ、又はＶであり；
X_{10}は、Ｅ、Ｄ、又はＷであり；
X_{11}は、Ｗ、Ｆ、又はＭであり；及び
X_{12}は、Ｑ、Ｗ、又はＬである；
（ｃ）において、
X_{1}は、Ｅ、Ｓ、Ｙ、又はＷであり；
X_{2}は、Ｗ、Ｔ、又はＦであり；
X_{3}は、Ｗ、Ｈ、又はＦであり；
X_{4}は、Ａ、Ｋ、Ｓ、又はＴであり；
X_{5}は、Ｐ又はＷであり；
X_{6}は、Ｔ又はＳであり；
X_{7}は、Ｅ又はＳであり；
X_{8}は、Ｗ、Ｙ、又はＩであり；
X_{9}は、Ｗ、Ｙ、Ｍ、又はＥであり；及び
X_{10}は、Ｙである；
（ｄ）において、
X_{1}は、Ｓ、Ｒ、Ｉ、Ｄ、又はＮであり；
X_{2}は、Ｗ、Ｌ、Ｆ、Ｖ、又はＩであり；
X_{3}は、Ｈ、Ｙ、Ｌ、Ｑ、Ｎ、又はＶであり；
X_{4}は、Ｓ、Ｋ、又はＬであり；
X_{5}は、Ｔ、Ｓ、Ａ、又はＷであり；
X_{6}は、Ｅ又はＳであり；
X_{7}は、Ｗであり；
X_{8}は、Ｗ、Ｓ、又はＬであり；
X_{9}は、Ｙ又はＦであり；
X_{10}は、Ｄ、Ｇ、Ｖ、又はＥであり；
X_{11}は、Ｔ、Ｐ、Ｍ、又はＳであり；及び

X_{12}は、Ｅ又はＧである；
（ｅ）において、
X_1は、Ｅ、Ｄ、又はＶであり；
X_2は、Ａ、Ｄ、Ｇ、Ｓ、又はＶであり；
X_3は、Ｇ、Ｖ、Ｄ、又はＳであり；
X_4は、Ｓ、Ｎ、Ｒ、Ｔ、又はＧであり；
X_5は、Ｗであり；
X_6は、Ｈ又はＱであり；
X_7は、Ｓ、Ｎ、又はＫであり；
X_8は、Ｔであり；
X_9は、Ｅであり；
X_{10}は、Ｗであり；
X_{11}は、Ｗ又はＳであり；及び
X_{12}は、Ｙ又はＦである；
（ｇ）において、
X_1は、Ｓ、Ｆ、Ｇ、Ｍ、又はＱであり；
X_2は、Ｍ、Ｌ、Ｎ、又はＱであり；
X_3は、Ｎ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、又はＲであり；
X_4は、Ｄ、Ｌ、Ｎ、Ｔ、又はＷであり；
X_5は、Ｑ、Ｔ、Ｒ、Ｖ、又はＹであり；
X_6は、Ｇ、Ｅ、Ｌ、Ｍ、又はＴであり；
X_7は、Ａ、Ｄ、Ｈ、Ｉ、Ｌ、Ｎ、又はＳであり；
X_8は、Ｑ、Ｒ、Ｓ、Ｔ、又はＹであり；
X_9は、Ｄ、Ｇ、Ｉ、又はＰであり；
X_{10}は、Ｔ、Ｆ、又はＱであり；
X_{11}は、Ｑ、Ｆ、Ｈ、Ｐ、Ｓ、又はＹであり；
X_{12}は、Ｄ、Ｆ、Ｎ、Ｐ、又はＳであり；
X_{13}は、Ｌ、Ａ、Ｇ、Ｎ、又はＳであり；
X_{14}は、Ｖ、Ｐ、Ｒ、又はＹであり；及び
X_{15}は、Ｍ、Ｄ、Ｅ、又はＬである；並びに
（ｈ）において、
X_1は、Ｙ、Ａ、Ｈ、Ｌ、又はＰであり；
X_2は、Ｌ、Ｒ、Ｓ、Ｄ、又はＹであり；
X_3は、Ｅ、Ｍ、又はＷであり；
X_4は、Ｅ、Ｑ、Ｄ、Ｆ、又はＳであり；
X_5は、Ｆ、Ｉ、Ｗ、又はＥであり；
X_6は、Ｄ、Ｓ、又はＮであり；
X_7は、Ｄ、Ｓ、又はＬであり；
X_8は、Ｄ、Ｋ、又はＥであり；
X_9は、Ｔ、Ｆ、又はＧであり；
X_{10}は、Ｆ、Ｗ、Ｙ、又はＧであり；
X_{11}は、Ｅ、Ｓ、又はＷであり；
X_{12}は、Ｅ、Ｖ、Ｆ、又はＹであり；
X_{13}は、Ｔ、Ｅ、Ｋ、又はＶであり；
X_{14}は、Ｗ又はＥであり；
X_{15}は、Ｄ、Ｗ、Ｆ、Ｐ、又はＳであり；及び
X_{16}は、Ｎ、Ｉ、又はＡである、
請求項１に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項３】
配列番号１～３８７、配列番号３９０～４０４、及び配列番号４４９～４９６から成る

群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項２に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項４】
多量体である、請求項１に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項５】
標識又は治療剤に結合している、請求項１に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項６】
標識又は治療剤が、リンカーを介してポリペプチドに結合している、請求項５に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項７】
超音波バブル、微粒子、ミクロスフェア、乳濁液、又はリポソーム内に取り込まれる、請求項１に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項８】
診断検出に適した標識に結合して画像診断造影剤を形成する、請求項５に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項９】
標識が、酵素、蛍光性化合物、超音波造影剤、リポソーム、及び光学色素から成る群より選択される、請求項８に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項１０】
標識が：
（ｉ）　^{18}Ｆ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{77}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{99m}Ｔｃ、^{51}Ｃｒ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{47}Ｓｃ、^{167}Ｔｍ、^{141}Ｃｅ、^{111}Ｉｎ、^{168}Ｙｂ、^{175}Ｙｂ、^{140}Ｌａ、^{90}Ｙ、^{88}Ｙ、^{153}Ｓｍ、^{166}Ｈｏ、^{165}Ｄｙ、^{62}Ｃｕ、^{64}Ｃｕ、^{67}Ｃｕ、^{97}Ｒｕ、^{103}Ｒｕ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{203}Ｐｂ、^{211}Ｂｉ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{214}Ｂｉ、^{105}Ｒｈ、^{109}Ｐｄ、^{117m}Ｓｎ、^{149}Ｐｍ、^{161}Ｔｂ、^{177}Ｌｕ、^{198}Ａｕ、及び^{199}Ａｕから成る群より任意に選択される放射性標識；又は
（ｉｉ）　Gd^{3+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}、Fe^{2+}、Co^{2+}、Ni^{2+}、Eu^{3+}、Dy^{3+}、Pr^{3+}、Cr^{3+}、Co^{3+}、Fe^{3+}、Ti^{3+}、Tb^{3+}、Nd^{3+}、Sm^{3+}、Ho^{3+}、Er^{3+}、Pa^{4+}、及びEu^{2+}から成る群より選択される常磁性金属イオン、
である、請求項５に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項１１】
ｃＭｅｔ又はｃＭｅｔとＨＧＦとの複合体を、それを必要とする対象内で画像化する方法であって：
（ｉ）　請求項１に記載のポリペプチドを提供し；
（ｉｉ）　対象に該ポリペプチドを投与し；そして
（ｉｉｉ）　対象内の該ポリペプチドを検出することにより対象を画像化する、
ことを含む、前記方法。
【請求項１２】
対象が、過剰増殖性障害、又は血管新生若しくは新血管形成に関連した障害を有することが疑われるヒト患者である、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
工程（ｉｉｉ）を、核磁気共鳴画像化、超音波画像化、光学画像化、音ルミネセンス画像化、光音響画像化、Ｘ線画像化、又は放射性核種画像化により行う、請求項１１に記載の方法。
【請求項１４】
ｃＭｅｔ又はｃＭｅｔとＨＧＦとの複合体を、それを含有する溶液から精製する方法であって：
（ａ）　該溶液を、固体支持体上に固定されている請求項１に記載の少なくとも１つのポリペプチドと接触させ；そして

（ｂ）　該溶液からポリペプチドを分離する、
ことを含む、前記方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
本出願は、３５ＵＳＣ　§１１９（ｅ）に基づいて、２００３年３月３日に提出された米国仮特許出願第６０／４５１，５８８号の優先権を主張し、その全体が本明細書において援用される。
【背景技術】
【０００２】
背景技術
肝細胞増殖因子（スキャター（ｓｃａｔｔｅｒ）因子としても知られている）は、胚形成、創傷治癒および血管新生のごとき多様な生理学的過程に関与する、多機能性増殖因子である。ＨＧＦは、その高親和性レセプター（ｃＭｅｔ）との相互作用を通して、腫瘍増殖、浸潤および転移に関与することが明らかになっている。実際、調節不全のｃＭｅｔ発現（例えば、正常粘膜と比較されるような、直腸結腸腺腫の新生物性上皮および他の癌腫におけるｃＭｅｔの過剰発現）および／または活性、ならびにＨＧＦによる自己分泌ループを通したｃＭｅｔレセプターの機能亢進が、多様な腫瘍組織で示されており、そして特別の細胞株の発癌性形質転換を誘導する。
【０００３】
一般に、ＨＧＦは、多くの上皮腫瘍の一部を形成する間質細胞により産生される；しかしながら、腫瘍細胞それ自身によるＨＧＦの産生は、特別の腫瘍の過剰増殖を導く主経路を含んでいると信じられている。ＨＧＦ／ｃＭｅｔ自己分泌刺激経路が、グリア細胞腫、骨肉腫、および乳腺癌、前立腺癌、乳癌、肺癌および他の癌腫で検出されている。
【０００４】
ＨＧＦのｃＭｅｔレセプターとの相互作用を妨害すると、動物モデルにおける腫瘍進行を遅くする。ｃＭｅｔの活性化を通した特定の癌細胞の増殖を刺激することに加え、ＨＧＦはまた、過剰増殖表現型に感受性を有する多様な細胞株（例えば乳癌）における、ＤＮＡ－損傷剤－誘導細胞毒性を保護する。それ故、ＨＧＦがｃＭｅｔへ結合するのを妨げることで、特定の癌細胞が特定の薬剤の細胞毒性を受け易くすることが可能であろう。
【０００５】
過剰増殖障害に加え、ｃＭｅｔは血管新生とも関連づけられている。例えば、ｃＭｅｔは血管内皮増殖因子（ＶＥＧＦ）の産生を導き、それは順に、血管新生を刺激する。加えて、ｃＭｅｔの刺激は創傷治癒の促進にも関係している。
【０００６】
過剰増殖障害、血管新生および創傷治癒のための治療標的としてｃＭｅｔレセプターを同定することに加え、新生物と対応する正常組織の発現レベル間の大きな矛盾は、ｃＭｅｔが過剰増殖障害に関する画像化応用のための魅力的な標的であることを示唆している。
【発明の概要】
【０００７】
発明の概要
本発明は、ｃＭｅｔへ結合し、そしてＨＧＦがｃＭｅｔへ結合するのを妨げることにより、肝細胞増殖因子（ＨＧＦ）活性に拮抗する能力を有する、ペプチド、ペプチド複合体および組成物に関する。加えて、本発明は、このレセプターを検出しおよび標的化し、ＨＧＦ拮抗特性とは無関係にｃＭｅｔ活性を阻害するために、および画像診断のために、ｃＭｅｔへ結合する能力を有するこうしたペプチド、ペプチド複合体および組成物に関する。細胞増殖、創傷治癒および血管新生を含めた多様な細胞機能におけるＨＧＦ／ｃＭｅｔ軸の関与は、癌のごとき過剰増殖性疾患を導くが、本発明は、ＨＧＦ仲介性生理学的事象を中断すること、物質を標的化すること、例えば、放射線治療を含めたこうした部位への

治療、そして細胞過剰増殖の重要部位を画像化することに特に有用である。

【０００８】

例えば過剰増殖および／または血管新生を検出し、局在化し、画像化し、測定し、そして可能ならば阻害しまたは影響を及ぼすための改良された物質および方法に対する要求に応えて、驚くべきことに、１２クラスの非天然ポリペプチドがｃＭｅｔへ特異的に結合することが発見された。こうしたポリペプチドの適切な標識化は、ｃＭｅｔ発現細胞またはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体を提示する細胞へ、例えば高濃度で結合することが可能な検出可能な造影剤を提供し、細胞増殖部位および／または血管新生部位に特異的な造影剤を提供する。したがって、本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチドは、こうした過剰増殖関連障害および／または血管新生関連障害の検出および診断に使用することが可能である。こうしたポリペプチドとｃＭｅｔ阻害剤または殺腫瘍性剤との結合または融合も、例えば結合物または融合物の活性増殖部位および／または血管新生部位への「回帰」をひき起こすことにより病原性腫瘍を処置するために使用可能であり、それにより、過剰増殖および／または血管新生に関係する病態を処置するために有効な手段を提供する。

【０００９】

本発明はｃＭｅｔ結合ポリペプチドに関するものであり、単量体としてまたは多量体若しくは重合体構築物における単一結合ポリペプチドの使用、ならびに多量体または重合体構築物における１より多くの本発明の結合ポリペプチドの使用を含むものである。本発明の結合ポリペプチドは、ｃＭｅｔ、またはポリペプチド結合部位を保持するその断片を結合し、阻害し、検出しまたは単離することが好都合な任意の応用において有用である。こうした結合ポリペプチドの特に重要な側面は、ｃＭｅｔ結合に関するＨＧＦとの競合を通した、またはＨＧＦが結合しているかどうかに関係なくｃＭｅｔ活性を直接阻害することによる、ｃＭｅｔ活性の阻害である。例えば、いくつかの場合において、ｃＭｅｔシグナル伝達は、ＨＧＦ結合が存在しなくとも生じることが可能であり、こうした状況においては、ＨＧＦが結合しているかどうかに関係なくｃＭｅｔシグナル伝達活性を阻害する結合ポリペプチドが、ｃＭｅｔシグナル伝達を阻害することにおいて有用であろう。

【００１０】

本明細書に開示された結合ポリペプチドの、他の特に有利な使用は、インビボで細胞増殖および／または血管新生を画像化する方法におけるものである。本方法は細胞増殖部位および／または血管新生部位を検出するために本発明の特異的結合ポリペプチドの使用を必要とし、ここにおいて結合ポリペプチドは、核磁気共鳴映像法（ＭＲＩ）造影剤、Ｘ線造影剤、放射性医薬品造影剤、超音波造影剤および光学造影剤を含めた造影剤として使用するために検出可能なように標識されている。

【００１１】

本明細書に開示された結合ポリペプチドの、さらに他の特に有利な使用は、過剰増殖および／または血管新生、またはｃＭｅｔを発現している他の組織へ、（治療効果、放射線治療効果または細胞毒性効果を提供することが可能な化合物を含んだ）治療剤を標的化し、または治療のための（薬剤、遺伝子物質などを含んだ）媒体を送達することである。

【００１２】

ｃＭｅｔレセプターは、シグナル伝達分子であるレセプターチロシンキナーゼファミリーの一部である。本発明の目的のために、レセプターチロシンキナーゼ機能は：レセプターのオリゴマー化、レセプターリン酸化、レセプターのキナーゼ活性、下流シグナル伝達分子の動員、遺伝子の誘導、細胞増殖の誘導、細胞遊走の誘導、またはこれらの組み合わせの任意の１つを含むことが可能である。本明細書において「ヘテロマー」とは、ヘテロマー分子の各々の結合ペプチドがｃＭｅｔの異なった部位、例えば「エピトープ」に結合するように、１より多くの本明細書に記載のようなｃＭｅｔ結合ペプチドを含有する分子を指しており、これらも本発明に包含されている。例えば、本明細書で提供される結合ポリペプチドのヘテロマー構築物は、例えば、１つの結合ペプチドを介して例えばｃＭｅｔのＨＧＦ結合部位へ結合することができ、一方、ヘテロマー分子の他の結合ペプチドは、ｃＭｅｔの異なった高親和性結合部位へ結合する。単一結合構築物によってｃＭｅｔ上に

ある２以上の別個のエピトープを標的化することにより、ＨＧＦ結合および／またはレセプター機能を阻害する構築物の能力を大きく改良することが可能である（こうした阻害はＨＧＦ結合に関係なくｃＭｅｔの直接阻害により起こすことが可能である）。レセプター活性を阻止する能力が弱い結合ペプチドであっても、ＨＧＦ依存性およびＨＧＦ非依存性レセプター機能を阻止する能力が改良されたヘテロマー構築物を作成するために使用することが可能である。

【００１３】

従って、本発明は、少なくともその１つはｃＭｅｔと結合する２以上の結合ポリペプチドを含む多量体分子を産生するための手段を含む構築物を指向している。１つの態様において、多量体構築物は、２以上の単一結合ポリペプチドのコピー、または２以上の単一結合ポリペプチドのコピーをコードするヌクレオチド配列を含む。別の態様において、本発明の多量体構築物は、構築物中の結合ポリペプチドの少なくとも２つがｃＭｅｔの異なったエピトープに特異的であるように、２以上の結合ポリペプチド、または２以上の結合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。これらの構築物は、本明細書において「ヘテロマー構築物」、「ヘテロ多量体」などとも称される。本発明の構築物はまた、関連のないペプチドまたは対照ペプチドを含むことも可能である。構築物は、２以上の、３以上の、または４以上の結合ポリペプチド、またはこうしたポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むことも可能である。本明細書で提供される技術に基づいて、当業者は、本明細書で提供される結合ポリペプチドを多量体構築物へ組み立てること、および標的分子へ結合する改良された能力、またはレセプターチロシンキナーゼ機能を阻害する改良された能力のごとき、改良された特性を有する多量体構築物を選択することが可能である。こうした改良された特性を有する多量体構築物は本発明に含まれている。

【００１４】

環状／直鎖状ペプチドライブラリーのスクリーニングに由来する共通配列は、表６に示した１２クラスの特異的ｃＭｅｔ結合ポリペプチドに基づいて決定された。具体的態様において、本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチドは、１以上のこれらの配列を含む。こうした好ましいｃＭｅｔ結合ポリペプチドは、含まれている不変のシステイン残基間で環状構造またはループ構造を形成する可能性があるポリペプチドを含んでいる。

【００１５】

本明細書に記載のポリペプチドは、Ｎ末端およびＣ末端のいずれかまたは両方に付着した追加のアミノ酸を有することが可能である。好ましい態様において、本発明の結合ポリペプチドは、結合ポリペプチドを単離したファージ選択物のディスプレー構築物の隣接ペプチドに対応する１以上の、好ましくは２つのアミノ酸のＮ末端および／またはＣ末端隣接ペプチドを有するように調製することが可能である。好ましいＮ末端隣接ペプチドには、Ｇｌｙ－Ｓｅｒ－（ＴＮ６配列に対して最も好ましい）、Ａｌａ－Ｇｌｙ－（ＴＮ８およびＴＮ９配列に対して最も好ましい）、Ｇｌｙ－Ｓｅｒ－（ＴＮ１０およびＴＮ１１配列に対して最も好ましい）、Ｇｌｙ－Ａｓｐ－（ＴＮ１２配列に対して最も好ましい）、Ａｌａ－Ｇｌｎ－（直鎖状配列に対して最も好ましい）が含まれる。好ましいＣ末端隣接ペプチドには、－Ａｌａ－Ｐｒｏ（ＴＮ６配列に対して最も好ましい）、－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＴＮ８およびＴＮ９配列に対して最も好ましい）、－Ａｌａ－Ｐｒｏ（ＴＮ１０およびＴＮ１１配列に対して最も好ましい）、－Ａｓｐ－Ｐｒｏ（ＴＮ１２配列に対して最も好ましい）、－Ａｓｐ－Ｐｈｅ（直鎖状配列に対して最も好ましい）が含まれる。単一末端アミノ酸も本発明の結合ポリペプチドへ付加することが可能であり、好ましい末端アミノ酸は親ファージディスプレー構築物と一致するであろう。例えば、最も好ましくは、Ｎ末端アミノ酸は、Ｇｌｙ－（ＴＮ６、ＴＮ８およびＴＮ９配列に対して最も好ましい）、Ｓｅｒ－（ＴＮ１０およびＴＮ１１配列に対して最も好ましい）、Ａｓｐ－（ＴＮ１２配列に対して最も好ましい）およびＧｌｎ－（直鎖状配列に対して最も好ましい）から選択されるであろうし、そして最も好ましくは、Ｃ末端アミノ酸は、－Ｇｌｙ（ＴＮ６、ＴＮ８およびＴＮ９、および直鎖状配列に対して最も好ましい）、－Ａｌａ（ＴＮ１０およびＴＮ１１配列に対して最も好ましい）および－Ａｓｐ（ＴＮ１２配列に対して最も好まし

い）から選択されるであろう。こうした隣接アミノ酸に対する保存的置換（即ち、以下のグループ内で選択される置換アミノ酸）も企図される：｛Ａｒｇ、Ｈｉｓ、Ｌｙｓ｝、｛Ｇｌｕ、Ａｓｐ｝、｛Ａｓｎ、Ｃｙｓ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｔｙｒ｝、｛Ａｌａ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｍｅｔ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、Ｔｒｐ、Ｖａｌ｝。

【００１６】

ループ構造を形成する可能性のあるポリペプチドを含んでいるライブラリー単離物（例えばＴＮ６、ＴＮ８、ＴＮ９、ＴＮ１０、ＴＮ１１およびＴＮ１２と命名されたライブラリー；数字はシステインからシステインまでの配列中のアミノ酸数を示している；加えて、直鎖状ディスプレーライブラリーＬＮ２０もスクリーニングした）からの配列情報および結合データの試験から、ｃＭｅｔ結合ポリペプチドの更なるシリーズが同定された。共通モチーフはＴＮ９ライブラリー（ＣｘＧｐＰｘＦｘＣ；配列番号５１２）の最初のスクリーニングから得られた。共通配列は表６に収載した配列から誘導した。この共通配列に加えて、直鎖状ペプチドライブラリーから同定されたｃＭｅｔ結合ペプチド中の配列傾向を、２次スクリーニングで使用した第２世代ライブラリーを設計するために使用した。両方のスクリーニングからの配列を、表６に収載した１２クラスのｃＭｅｔ結合モチーフを同定するために使用した。

【００１７】

本発明の別の側面は、本発明のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を検出可能なように標識することにより、特異的な細胞増殖および／または血管新生の造影剤を提供するための、本発明のポリペプチドの修飾に関する。こうした検出可能な標識は、放射性標識、酵素標識またはＭＲ常磁性キレートまたは微粒子での標識；超音波バブル、微粒子、ミクロスフェア、乳濁液またはリポソーム内への取り込み；または光学色素との結合を含むことができる。

【００１８】

本発明の別の側面においては、本結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を使用したｃＭｅｔ発現細胞の単離方法を提供する。

加えて、本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物は、医薬として受容可能な組成物において、単独で、または他の治療剤と結合させて（または組み合わせて）、治療剤として使用することが可能である。組成物は、細胞増殖、血管新生および／または創傷治癒に関する疾患または状態を処置するために使用することが可能である。

【００１９】

治療剤として使用する場合、ペプチドの血清滞留時間を増強することが有利であろう。このことは：ａ）血清アルブミンのごとき血清タンパク質上の遊離スルフヒドリル基と反応するマレイミドのごとき部分とペプチドを結合させること、ｂ）血清タンパク質、特に血清アルブミンへ非共有結合的に結合する脂肪酸のごとき部分とペプチドを結合させること、ｃ）血清滞留時間を増強することが知られているポリエチレングリコール（ＰＥＧ）のごとき重合体とペプチドを結合させること、およびｄ）ｃＭｅｔ結合ペプチドをコードするＤＮＡを、ヒト血清アルブミンまたは抗体のごとき血清タンパク質をコードするＤＮＡへ融合させ、コードされている融合タンパク質を発現させること、により達成することが可能である。

【００２０】

本発明の別の側面において、標的を発現する細胞へ結合する能力についてファージディスプレーで同定されたポリペプチドをスクリーニングする方法を提供する。これらの方法は、標準的細胞結合アッセイで評価するにはあまりにも単量体親和性が低いポリペプチドを含めたポリペプチドの結合能力の迅速なスクリーニングを可能にする。加えて、これらの方法は、血清存在下でのペプチドの安定性を迅速に査定するために使用することが可能である。

【００２１】

１つの態様において、本発明は$Cys-X_1-Gly-X_2-Pro-X_3-Phe-$

X_4－Ｃｙｓを含むアミノ酸配列を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有するポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物に関するものであり、式中X_1、X_2、X_3およびX_4は任意のアミノ酸であり得る。特定の態様において、X_2はＰｒｏである。

【００２２】

別の態様において、本発明のポリペプチドは、１以上のアミノ酸のＮ末端および／またはＣ末端隣接ペプチドをさらに含む。例えば、ポリペプチドは：アミノ酸置換、およびアミド結合置換、Ｄ－アミノ酸置換、グリコシル化アミノ酸、ジスルフィド模倣置換、アミノ酸転位、レトロ－インベルソ（ｒｅｔｒｏ－ｉｎｖｅｒｓｏ）ペプチド、ペプトイド、レトロ－インヴェルソペプトイドおよび合成ペプチドから成る群より選択される修飾を含むことが可能である。別の態様において、本明細書に記載したポリペプチドのいずれも、検出可能標識または治療剤へ結合することが可能であり、場合により、ポリペプチドと検出可能標識または治療剤との間にリンカーまたはスペーサーをさらに含む。特定の態様において、検出可能標識または治療剤は：酵素、蛍光性化合物、リポソーム、光学色素、常磁性金属イオン、超音波造影剤および放射性核種から成る群より選択される。特定の態様において、治療剤または検出可能標識は放射性核種を含む。例えば、放射性核種は：^{18}Ｆ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{123}Ｉ、^{77}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{99m}Ｔｃ、^{51}Ｃｒ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{47}Ｓｃ、^{51}Ｃｒ、^{167}Ｔｍ、^{141}Ｃｅ、^{111}Ｉｎ、^{168}Ｙｂ、^{175}Ｙｂ、^{140}Ｌａ、^{90}Ｙ、^{88}Ｙ、^{153}Ｓｍ、^{166}Ｈｏ、^{165}Ｄｙ、^{166}Ｄｙ、^{62}Ｃｕ、^{64}Ｃｕ、^{67}Ｃｕ、^{97}Ｒｕ、^{103}Ｒｕ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{203}Ｐｂ、^{211}Ｂｉ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{214}Ｂｉ、^{105}Ｒｈ、^{109}Ｐｄ、^{117m}Ｓｎ、^{149}Ｐｍ、^{161}Ｔｂ、^{177}Ｌｕ、^{198}Ａｕおよび^{199}Ａｕから成る群より選択される１以上の核種であることが可能である。別の態様において、治療剤または検出可能標識はさらにキレート剤を含む。例えば、キレート剤は：式２０、２１、２２、２３ａ、２３ｂ、２４ａ、２４ｂおよび２５から成る群より選択される化合物を含むことが可能である。特定の態様において、放射性核種は^{99m}Ｔｃまたは^{111}Ｉｎである。別の態様において、放射性核種は^{177}Ｌｕ、^{90}Ｙ、^{153}Ｓｍおよび^{166}Ｈｏから成る群より選択される。別の態様において、検出可能な標識は超音波造影剤を含む。例えば、超音波造影剤は、気体、例えばフッ素化気体を含む、リン脂質安定化マイクロバブルまたはマイクロバルーンを含むことが可能である。別の態様において、検出可能な標識は、常磁性金属イオンおよびキレート剤を含む。本発明の別の側面は、本発明のいずれかのポリペプチドに関しするものであり、ここにおいて、治療剤は：生物活性剤、細胞毒性剤、薬剤、化学療法剤または放射線治療剤から成る群より選択される。他の態様において、ポリペプチドは約１０μＭ未満、約１．０μＭ未満、約０．１μＭ未満、または約１ｎＭ未満のｃＭｅｔ／ＨＧＦ複合体のｃＭｅｔに対するみかけのK_Dを有している。

【００２３】

１つの態様において、本発明は、下記のクラスのうちの１つのアミノ酸配列を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有するポリペプチドまたは多量体ポリペプチドに関するものである：クラス１：X_1－X_2－X_3－Ｃｙｓ－X_4－X_5－X_6－X_7－Ｃｙｓ－X_8－X_9－X_{10}（ＴＮ６）、式中、X_1はＰｈｅ、Ｌｅｕ、Ｓｅｒ、Ｔｒｐ、ＴｙｒまたはＭｅｔであり；X_2はＩｌｅ、Ｔｙｒ、Ｈｉｓ、ＴｈｒまたはＡｓｎであり；X_3はＩｌｅ、Ｌｅｕ、Ａｓｐ、Ｍｅｔ、ＰｈｅまたはＳｅｒであり；X_4はＡｒｇ、Ａｓｎ、Ｇｌｕ、ＰｒｏまたはＴｒｐであり；X_5はＧｌｕ、Ｇｌｙ、Ｌｅｕ、Ｐｒｏ、Ｔｈｒ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；X_6はＡｓｐ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、Ｐｈｅ、Ｓｅｒ、ＴｈｒまたはＴｒｐであり；X_7はＡｌａ、Ａｒｇ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、ＰｈｅまたはＴｒｐであり；X_8はＧｌｙ、Ａｓｎ、Ｈｉｓ、Ａｒｇ、Ｍｅｔ、Ｉｌｅ、Ａｓｐ、ＶａｌまたはＴｈｒであり；X_9はＳｅｒ、Ｌｙｓ、Ｐｈｅ、Ｍｅｔ、Ｔｈｒ、ＡｓｐまたはＬｅｕであり；そしてX_{10}はＳｅｒ、Ｐｒｏ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｔｙｒ、Ａｓｎ、Ｈｉｓ、ＧｌｕまたはＴｒｐである；またはク

ラスＩＩ：$X_1-X_2-X_3-Cys-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-Cys-X_{10}-X_{11}-X_{12}$（ＴＮ８）、式中、$X_1$はＧｌｙ、Ｖａｌ、Ｔｒｐ、Ｔｈｒ、Ｌｙｓまたは Ｇｌｎであり；X_2はＴｒｐ、Ｔｙｒ、Ｌｅｕ、ＰｈｅまたはＴｈｒであり；X_3はＴｒｐ、Ｇｌｕ、Ｐｈｅ、Ｉｌｅ、ＬｅｕまたはＳｅｒであり；X_4はＡｓｎ、Ｇｌｎまたは Ｇｌｕであり；X_5はＬｅｕ、ＧｌｕまたはＴｒｐであり；X_6はＧｌｕ、ＳｅｒまたはＴｙｒであり；X_7はＧｌｕ、ＭｅｔまたはＰｒｏであり；X_8はＭｅｔ、ＳｅｒまたはＴｒｐであり；X_9はＬｅｕ、ＰｈｅまたはＶａｌであり；X_{10}はＡｓｐ、ＧｌｕまたはＴｒｐであり；X_{11}はＭｅｔ、ＰｈｅまたはＴｒｐであり；そしてX_{12}はＧｌｎ、ＬｅｕまたはＴｒｐである；またはクラスＩＩＩ：$X_1-X_2-X_3-Cys-X_4-Gly-X_5-Pro-X_6-Phe-X_7-Cys-X_8-X_9$（ＴＮ９）、式中、$X_1$はＧｌｕ、Ｓｅｒ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；$X_2$はＰｈｅ、ＴｈｒまたはＴｒｐであり；$X_3$はＨｉｓ、ＰｈｅまたはＴｒｐであり；$X_4$はＡｌａ、Ｌｙｓ、ＳｅｒまたはＴｈｒであり；$X_5$はＰｒｏまたはＴｒｐであり；$X_6$はＳｅｒまたはＴｈｒであり；$X_7$はＧｌｕまたはＳｅｒであり；$X_8$はＩｌｅ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；そして$X_9$はＧｌｕ、Ｍｅｔ、ＴｒｐまたはＴｙｒである；またはクラスＩＶ－１：$X_1-X_2-X_3-Cys-X_4-Gly-Pro-Pro-X_5-Phe-X_6-Cys-Trp-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}$（ＴＮ９）、式中、$X_1$はＡｒｇ、Ａｓｐ、Ａｓｎ、ＩｌｅまたはＳｅｒであり；X_2はＬｅｕ、Ｉｌｅ、Ｐｈｅ、ＴｒｐまたはＶａｌであり；X_3はＡｓｎ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｌｅｕ、ＴｙｒまたはＶａｌであり；X_4はＬｅｕ、ＬｙｓまたはＳｅｒであり；X_5はＡｌａ、Ｓｅｒ、ＴｈｒまたはＴｒｐであり；X_6はＬｅｕ、ＳｅｒまたはＴｒｐであり；X_7はＬｅｕ、ＳｅｒまたはＴｒｐであり；X_8はＰｈｅまたはＴｙｒであり；X_9はＡｓｐ、Ｇｌｕ、ＧｌｙまたはＶａｌであり；X_{10}はＭｅｔ、Ｐｒｏ、ＴｈｒまたはＳｅｒであり；そしてX_{11}はＧｌｕまたはＧｌｙである；またはクラスＩＶ－２：$X_1-X_2-X_3-X_4-Trp-X_5-CYs-X_6-Gly-Pro-Pro-Thr-Phe-Glu-Cys-Trp-X_7-X_8$（ＴＮ９）、式中、$X_1$はＡｓｐ、ＧｌｕまたはＶａｌであり；$X_2$はＡｌａ、Ａｓｐ、Ｇｌｙ、ＳｅｒまたはＶａｌであり；X_3はＡｓｐ、Ｇｌｙ、ＳｅｒまたはＶａｌであり；X_4はＡｒｇ、Ａｓｎ、Ｇｌｙ、ＳｅｒまたはＴｈｒであり；X_5はＧｌｎまたはＨｉｓであり；X_6はＡｓｎ、ＬｙｓまたはＳｅｒであり；X_7はＳｅｒまたはＴｒｐであり；そしてX_8はＰｈｅまたはＴｙｒである；またはクラスＶ：$X_1-X_2-X_3-Cys-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-Cys-X_{12}-X_{13}-X_{14}$（ＴＮ１０）、式中、$X_1$はＨｉｓ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、ＴｈｒまたはＴｒｐであり；X_2はＡｌａ、Ａｒｇ、Ｇｌｕ、Ｈｉｓ、ＬｙｓまたはＰｈｅであり；X_3はＭｅｔ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、ＴｈｒまたはＶａｌであり；X_4はＨｉｓ、Ｌｅｕ、Ｍｅｔ、ＰｈｅまたはＴｒｐであり；X_5はＡｒｇ、Ａｓｐ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、ＭｅｔまたはＴｒｐであり；X_6はＧｌｕ、Ｇｌｙ、Ｉｌｅ、Ｌｙｓ、ＰｈｅまたはＰｒｏであり；X_7はＡｓｐ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、Ｓｅｒ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；X_8はＡｌａ、Ａｒｇ、Ａｓｎ、ＰｈｅまたはＳｅｒであり；X_9はＡｌａ、Ｇｌｎ、Ｇｌｙ、ＬｅｕまたはＰｈｅであり；X_{10}はＧｌｎ、Ｇｌｙ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；X_{11}はＡｒｇ、Ａｓｐ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、ＴｙｒまたはＶａｌであり；X_{12}はＡｓｎ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、ＩｌｅまたはＴｈｒであり；X_{13}はＡｌａ、Ａｓｎ、Ａｓｐ、ＧｌｕまたはＨｉｓであり；そしてX_{14}はＡｓｎ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、ＨｉｓまたはＶａｌである；またはクラスＶＩ：$X_1-X_2-X_3-Cys-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-Cys-X_{13}-X_{14}-X_{15}$、式中、$X_1$はＧｌｎ、Ｇｌｙ、Ｍｅｔ、ＰｈｅまたはＳｅｒであり；X_2はＡｓｎ、Ｇｌｎ、ＬｅｕまたはＭｅｔであり；X_3はＡｒｇ、Ａｓｎ、Ｇｌｙ、ＨｉｓまたはＩｌｅであり；X_4はＡｓｎ、Ａｓｐ、Ｌｅｕ、ＴｈｒまたはＴｒｐであり；X_5はＡｒｇ、Ｇｌｎ、Ｔｈｒ、ＴｙｒまたはＶａｌであり；X_6はＧｌｕ、Ｇｌｙ、Ｌｅｕ、ＭｅｔまたはＴｈｒであり；X_7はＡｌａ、Ａｓｎ、Ａｓｐ、Ｈｉｓ、Ｉｌｅ、ＬｅｕまたはＳｅｒであり；X_8はＡｒｇ、Ｇｌｎ、Ｓｅｒ、ＴｈｒまたはＴｙｒであり；X_9はＡｓｐ、Ｇｌｙ、ＩｌｅまたはＰｈｅであり；X_1

$_{0}$はＧｌｎ、ＰｈｅまたはＴｈｒであり；X_{11}はＧｌｎ、Ｈｉｓ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、ＳｅｒまたはＴｙｒであり；X_{12}はＡｓｎ、Ａｓｐ、Ｐｈｅ、ＰｒｏまたはＳｅｒであり；X_{13}はＡｌａ、Ａｓｎ、Ｇｌｙ、ＬｅｕまたはＳｅｒであり；X_{14}はＡｒｇ、Ｐｒｏ、ＳｅｒまたはＶａｌであり；そしてX_{15}はＡｓｐ、Ｇｌｕ、ＬｅｕまたはＭｅｔである；またはクラスＶＩＩＩ：X_{1}－X_{2}－X_{3}－Ｃｙｓ－X_{4}－X_{5}－X_{6}－X_{7}－X_{8}－X_{9}－X_{10}－X_{11}－X_{12}－X_{13}－Ｃｙｓ－X_{14}－X_{15}－X_{16}、式中、X_{1}はＡｌａ、Ｈｉｓ、Ｌｅｕ、ＰｈｅまたはＴｙｒであり；X_{2}はＡｒｇ、Ａｓｐ、Ｌｅｕ、ＳｅｒまたはＴｙｒであり；X_{3}はＧｌｕ、ＭｅｔまたはＴｒｐであり；X_{4}はＡｓｐ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、ＰｈｅまたはＳｅｒであり；X_{5}はＧｌｕ、Ｉｌｅ、ＰｈｅまたはＴｒｐであり；X_{6}はＡｓｎ、ＡｓｐまたはＳｅｒであり；X_{7}はＡｓｎ、ＡｓｐまたはＬｅｕであり；X_{8}はＡｓｐ、ＧｌｕまたはＬｙｓであり；X_{9}はＧｌｙ、ＰｈｅまたはＴｈｒであり；X_{10}はＧｌｙ、Ｐｈｅ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；X_{11}はＧｌｕ、ＳｅｒまたはＴｒｐであり；X_{12}はＧｌｕ、Ｐｈｅ、ＴｙｒまたはＶａｌであり；X_{13}はＧｌｕ、Ｌｙｓ、ＴｈｒまたはＶａｌであり；X_{14}はＧｌｕまたはＴｒｐであり；X_{15}はＡｓｐ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、ＳｅｒまたはＴｒｐであり；そしてX_{16}はＡｌａ、ＡｓｎまたはＩｌｅである；またはクラスＩＸ－１：Ｓｅｒ－Ｃｙｓ－X_{1}－Ｃｙｓ－X_{2}－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｔｈｒ－Ｐｈｅ－Ｇｌｕ－Ｃｙｓ－Ｔｒｐ－Ｃｙｓ－Ｔｙｒ－X_{3}－X_{4}－X_{5}、式中、X_{1}はＡｓｎ、ＨｉｓまたはＴｙｒであり；X_{2}はＧｌｙまたはＳｅｒであり；X_{3}はＡｌａ、Ａｓｐ、Ｇｌｕ、ＧｌｙまたはＳｅｒであり；X_{4}はＳｅｒまたはＴｈｒであり；そしてX_{5}はＡｓｐまたはＧｌｕである；またはクラスＩＸ－２：Ｇｌｕ－X_{1}－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ－Ｃｙｓ－Ｈｉｓ－Ｃｙｓ－Ｓｅｒ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｔｈｒ－Ｐｈｅ－Ｇｌｕ－Ｃｙｓ－X_{2}－Ｃｙｓ－X_{3}、式中、X_{1}はＡｌａ、Ｇｌｕ、ＧｌｙまたはＳｅｒであり；X_{2}はＰｈｅ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；そしてX_{3}はＰｈｅまたはＴｙｒである。

【００２４】

別の態様において、本発明はアミノ酸配列を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有するポリペプチドまたは多量体ポリペプチドに関するものであり、ここにおいてアミノ酸配列は配列番号１～５１１から成る群より選択される配列由来の連続９アミノ酸ストレッチのうち少なくとも６アミノ酸を含む。特定の態様において、単量体として、または多量体構築物中に使用されるポリペプチドは、配列番号１～５１１、配列番号１～１０、配列番号１１～４７、配列番号４８～１０１、配列番号１０２～３６４、配列番号３６５～３７０、配列番号３７１～３８７、配列番号３８８または配列番号３９９、配列番号３９０～４０４、配列番号４０５～４４７、配列番号４４８、配列番号４４９～４９６および配列番号４９７～５１１から成る群より選択することが可能である。

【００２５】

別の態様において、本発明は、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体を結合するファージを単離するための方法に関するものであり、前記方法は、固体支持体上にｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体を固定し；潜在的ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔ／ＨＧＦ複合体結合ファージのライブラリーを固体支持体と接触させて、ライブラリー中のｃＭｅｔまたはｃＭｅｔ／ＨＧＦ複合体結合ファージを結合させ；そして、固体支持体からファージライブラリーの非結合部分を除去し、それによりｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体を結合するファージを単離する、工程を含む。

【００２６】

別の態様において、本発明は、動物またはヒト対象におけるｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体を検出し、場合により、動物またはヒト対象の少なくとも一部を画像化する方法に関しており、前記方法は、Ｃｙｓ－X_{1}－Ｇｌｙ－X_{2}－Ｐｒｏ－X_{3}－Ｐｈｅ－X_{4}－Ｃｙｓを含むアミノ酸配列であって、式中X_{1}、X_{2}、X_{3}およびX_{4}は任意のアミノ酸であり得る配列を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有するポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を検出可能なよう

に標識し；標識したポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を対象に投与し；そして、対象中の標識したポリペプチドまたは構築物を検出する、そして場合により、画像を構築し、それによりｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体を検出する、工程を含む。

【００２７】

特定の態様において、本発明の方法は、標識が：酵素、蛍光性化合物、超音波造影剤、リポソームおよび光学色素から成る群より選択され、標識は場合によりさらにリンカーおよび／またはスペーサーを含む方法を包含している。特定の態様において、超音波造影剤は気体、例えばフッ素化気体を含むリン脂質安定化マイクロバブルまたはマイクロバルーンである。他の態様において、標識は放射性標識または常磁性金属原子であり、場合によりさらにリンカーまたはスペーサーを含む。別の態様において、放射性標識は：^{18}Ｆ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{123}Ｉ、^{77}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{99m}Ｔｃ、^{51}Ｃｒ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{47}Ｓｃ、^{51}Ｃｒ、^{167}Ｔｍ、^{141}Ｃｅ、^{111}Ｉｎ、^{168}Ｙｂ、^{175}Ｙｂ、^{140}Ｌａ、^{90}Ｙ、^{88}Ｙ、^{153}Ｓｍ、^{166}Ｈｏ、^{165}Ｄｙ、^{166}Ｄｙ、^{62}Ｃｕ、^{64}Ｃｕ、^{67}Ｃｕ、^{97}Ｒｕ、^{103}Ｒｕ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{203}Ｐｂ、^{211}Ｂｉ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{214}Ｂｉ、^{105}Ｒｈ、^{109}Ｐｄ、^{117m}Ｓｎ、^{149}Ｐｍ、^{161}Ｔｂ、^{177}Ｌｕ、^{198}Ａｕおよび^{199}Ａｕから成る群より選択される放射性核種を含む。別の態様において、放射性標識はさらにキレート剤を含み、例えばキレート剤は：式２０、２１、２２、２３ａ、２３ｂ、２４ａ、２４ｂおよび２５から成る群より選択される。別の態様において、放射性核種は^{99m}Ｔｃまたは^{111}Ｉｎである。特定の態様において、常磁性標識は：Mn^{2+}、Cu^{2+}、Fe^{2+}、Co^{2+}、Ni^{2+}、Gd^{3+}、Eu^{3+}、Dy^{3+}、Pr^{3+}、Cr^{3+}、Co^{3+}、Fe^{3+}、Ti^{3+}、Tb^{3+}、Nd^{3+}、Sm^{3+}、Ho^{3+}、Er^{3+}、Pa^{4+}およびEu^{2+}から成る群より選択される常磁性金属原子を含む。別の態様において、常磁性標識はさらにキレート剤を含み、例えばキレート剤は：ＤＴＰＡ、ＤＯ３Ａ、ＤＯＴＡ、ＥＤＴＡ、ＴＥＴＡ、ＥＨＰＧ、ＨＢＥＤ、ＮＯＴＡ、ＤＯＴＭＡ、ＴＥＴＭＡ、ＰＤＴＡ、ＴＴＨＡ、ＬＩＣＡＭおよびＭＥＣＡＭから成る群より選択される。特定の態様において、標識されたポリペプチドまたは多量体構築物の検出は過増殖性障害の指標である。他の態様において、標識されたポリペプチドまたは多量体構築物の検出は血管新生または新血管新生の指標である。特定の態様において、標識は、SF_6フレオン、CF_4、C_2F_6、C_3F_8、C_4F_{10}、$CBrF_3$、CCl_2F_2、C_2ClF_5、$CBrClF_2$および過フルオロ炭素から成る群より選択されるフッ素化気体を含む超音波造影剤である。特定の態様において、超音波造影剤は、式C_nF_{n+2}を有し、式中、ｎは１～１２である過フルオロ炭素気体を含む。

【００２８】

別の態様において、本発明は、動物またはヒト対象におけるｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体を検出し、そして場合により、動物またはヒト対象の少なくとも一部を画像化する方法に関しており、前記方法は、配列番号１～５１１から成る群より選択される配列由来の連続９アミノ酸ストレッチのうち少なくとも６アミノ酸を含むアミノ酸配列を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有する、ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を検出可能なように標識し；標識されたポリペプチドまたは構築物を対象に投与し；そして、対象中の標識されたポリペプチドまたは構築物を検出し、そして場合により、画像を構築し、それによりｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体を検出する、工程を含む。

【００２９】

別の態様において、本発明はｃＭｅｔの活性化が関与する状態を処置する方法に関しており、前記方法は、こうした状態の処置を必要とする動物またはヒト対象に、Ｃｙｓ－X_1－Ｇｌｙ－X_2－Ｐｒｏ－X_3－Ｐｈｅ－X_4－Ｃｙｓを含み、X_1、X_2、X_3およびX_4は任意のアミノ酸であり得るアミノ酸配列を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有する、ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築

物を含む組成物を投与することを含む。別の態様において、本発明はｃＭｅｔの活性化が関与する状態を処置する方法に関しており、前記方法は、こうした状態の処置を必要とする動物またはヒト対象に、配列番号１～５１１から成る群より選択される配列由来の連続９アミノ酸ストレッチのうち少なくとも６アミノ酸を含むアミノ酸配列を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有する、ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を含む組成物を投与することを含む。特定の態様において、状態とは固形腫瘍増殖であり、例えば、ここにおいて腫瘍は乳癌、グリア芽細胞腫、前立腺癌、悪性中皮腫、直腸結腸癌、肝細胞癌、肝胆道癌、腎臓癌、骨肉腫および子宮頚部癌から成る群より選択される。特定の態様において、ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物は殺腫瘍性剤と結合することが可能である。

【００３０】

別の態様において、本発明は、本明細書に記載した１以上のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を提示し、またはファージがｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有するように本明細書に記載した１以上の共通配列を有する組換えバクテリオファージに関しており、ここにおいて、ポリペプチドは組換えバクテリオファージの表面上に示されている。別の態様において、本発明は、核磁気共鳴映像法造影剤に関しており、前記造影剤は、Ｃｙｓ－X_1－Ｇｌｙ－X_2－Ｐｒｏ－X_3－Ｐｈｅ－X_4－Ｃｙｓを含むアミノ酸配列を含み、式中X_1、X_2、X_3およびX_4は任意のアミノ酸であり得、または式中、アミノ酸配列は、配列番号１～５１１から成る群より選択される配列由来の連続９アミノ酸ストレッチのうち少なくとも６アミノ酸を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有するポリペプチドを含む組成物を含む。特定の態様において、核磁気共鳴映像法造影剤はさらに、少なくとも１つの常磁性金属原子、例えば、ＤＴＰＡ、ＤＯＴＡ、ＥＤＴＡ、ＴＥＴＡ、ＥＨＰＧ、ＨＢＥＤ、ＮＯＴＡ、ＤＯＴＭＡ、ＴＥＴＭＡ、ＰＤＴＡ、ＴＴＨＡ、ＬＩＣＡＭおよびＭＥＣＡＭから成る群より選択される少なくとも１つのキレート剤を含む。特定の態様において、キレート剤は、ジエチレントリアミン、テトラアザシクロドデカンおよびそのカルボキシメチル置換誘導体から成る群より選択される。他の態様において、常磁性金属原子は、Mn^{2+}、Cu^{2+}、Fe^{2+}、Co^{2+}、Ni^{2+}、Gd^{3+}、Eu^{3+}、Dy^{3+}、Pr^{3+}、Cr^{3+}、Co^{3+}、Fe^{3+}、Ti^{3+}、Tb^{3+}、Nd^{3+}、Sm^{3+}、Ho^{3+}、Er^{3+}、Pa^{4+}およびEu^{2+}から成る群より選択される。特定の態様において、多価カチオンはGd^{3+}である。

【００３１】

別の態様において、本発明は、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔ／ＨＧＦ複合体を同定するための方法に関しており、前記方法は、Ｃｙｓ－X_1－Ｇｌｙ－X_2－Ｐｒｏ－X_3－Ｐｈｅ－X_4－Ｃｙｓを含むアミノ酸配列を含み、式中X_1、X_2、X_3およびX_4は任意のアミノ酸であり得る、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有する、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔ／ＨＧＦ複合体結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を利用して、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔ／ＨＧＦ複合体標的との複合体を形成させ；複合体と１以上の潜在的ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔ／ＨＧＦ複合体結合化合物を接触させ；そして潜在的ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔ／ＨＧＦ複合体結合化合物がｃＭｅｔまたはｃＭｅｔ／ＨＧＦ複合体結合ポリペプチドと競合して、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔ／ＨＧＦ複合体標的との複合体を形成するかどうかを決定する、工程を含む。

【００３２】

１つの態様において、本発明は画像診断造影剤に関しており、前記造影剤は、Ｃｙｓ－X_1－Ｇｌｙ－X_2－Ｐｒｏ－X_3－Ｐｈｅ－X_4－Ｃｙｓを含むアミノ酸配列を含み、式中X_1、X_2、X_3およびX_4は任意のアミノ酸であり得、または式中、アミノ酸配列は、配列番号１～５１１から成る群より選択される配列由来の連続９アミノ酸ストレッチのうち少なくとも６アミノ酸を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有する、ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を含む。

【００３３】

別の態様において、本発明は医学画像の方法に関しており、前記方法は、動物またはヒト対象に、Ｃｙｓ－Ｘ$_1$－Ｇｌｙ－Ｘ$_2$－Ｐｒｏ－Ｘ$_3$－Ｐｈｅ－Ｘ$_4$－Ｃｙｓを含むアミノ酸配列を含み、式中Ｘ$_1$、Ｘ$_2$、Ｘ$_3$およびＸ$_4$は任意のアミノ酸であり得るｃＭｅｔまたは複合体へ結合する能力を有する少なくとも１つのポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を含む造影剤の医薬製剤を投与し、そして、磁気共鳴映像法、超音波画像、光学画像、音ルミネセンス画像、光音響画像および核画像から成る群より選択される方法により造影剤を画像化する、工程を含む。別の態様において、アミノ酸配列は、配列番号１～５１１から成る群より選択される配列由来の連続９アミノ酸ストレッチのうち少なくとも６アミノ酸を含み、そして、磁気共鳴イ映像法、超音波画像、光学画像、音ルミネセンス画像、光音響画像および核画像から成る群より選択される方法により造影剤を画像化する。

【００３４】

別の態様において、本発明は放射線治療の方法に関しており、前記方法は、こうした治療を必要とする動物またはヒト対象に、放射線治療に有用な放射線核種と結合させた、Ｃｙｓ－Ｘ$_1$－Ｇｌｙ－Ｘ$_2$－Ｐｒｏ－Ｘ$_3$－Ｐｈｅ－Ｘ$_4$－Ｃｙｓを含むアミノ酸配列を含み、式中Ｘ$_1$、Ｘ$_2$、Ｘ$_3$およびＸ$_4$は任意のアミノ酸であり得、または式中、アミノ酸配列は、配列番号１～５１１から成る群より選択される配列由来の連続９アミノ酸ストレッチのうち少なくとも６アミノ酸を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有する、少なくとも１つのポリペプチドまたは多量体構築物を含む、化合物を投与することを含む。特定の態様において、化合物はさらにキレート剤を含み、例えば化合物は、式２０、２１、２２、２３ａ、２３ｂ、２４ａ、２４ｂおよび２５から成る群より選択される。別の態様において、化合物はさらにスペーサーまたはリンカーを含む。特定の態様において、放射線核種は^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{177}Ｌｕ、^{90}Ｙ、^{153}Ｓｍまたは^{166}Ｈｏであることが可能である。

【００３５】

別の態様において、本発明は放射線医薬の調製のためのキットに関しており、前記キットは、Ｃｙｓ－Ｘ$_1$－Ｇｌｙ－Ｘ$_2$－Ｐｒｏ－Ｘ$_3$－Ｐｈｅ－Ｘ$_4$－Ｃｙｓを含むアミノ酸配列を含み、式中Ｘ$_1$、Ｘ$_2$、Ｘ$_3$およびＸ$_4$は任意のアミノ酸であり得、または式中、アミノ酸配列は、配列番号１～５１１から成る群より選択される配列由来の連続９アミノ酸ストレッチのうち少なくとも６アミノ酸を含む、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体へ結合する能力を有する、ポリペプチドまたは多量体構築物、放射線核種のためのキレート剤および還元剤を含む。

【００３６】

別の態様において、本発明は、遺伝子物質をｃＭｅｔ発現細胞へ標的化する方法に関しており、前記方法は、こうした遺伝子物質を必要とする動物またはヒトへ、遺伝子物質またはこうした遺伝子物質を含む送達媒体と結合または会合した、Ｃｙｓ－Ｘ$_1$－Ｇｌｙ－Ｘ$_2$－Ｐｒｏ－Ｘ$_3$－Ｐｈｅ－Ｘ$_4$－Ｃｙｓを含むアミノ酸配列を含み、式中Ｘ$_1$、Ｘ$_2$、Ｘ$_3$およびＸ$_4$は任意のアミノ酸であり得、または式中、アミノ酸配列は、配列番号１～５１１から成る群より選択される配列由来の連続９アミノ酸ストレッチのうち少なくとも６アミノ酸を含む、ｃＭｅｔまたは複合体へ結合する能力を有する、ポリペプチドまたは多量体構築物を投与することを含む。

【００３７】

別の態様において、本発明は、ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔ／ＨＧＦ標的を発現する細胞へ結合する能力についてファージディスプレイにより同定された結合ポリペプチドをスクリーニングする方法に関しており、前記方法は、１以上の結合ポリペプチドを含む多量体構築物を調製し；多量体構築物と標的を発現している細胞を接触させ、そして標的へ結合する多量体構築物の能力を評価する工程を含む。特定の態様において、標的を発現するように、組換えＤＮＡ技術により細胞を工学処理することが可能である。別の態様において、多量体構築物は検出可能なように標識することが可能である。別の態様において、標的へ結合する多量体構築物の能力は血清存在下で評価する。別の態様において、多量体構築物

は、アビジン、ストレプトアビジンまたはニュートラビジンと複合体形成されたビオチニル化結合ポリペプチドを含むことが可能である。

【図面の簡単な説明】

【００３８】

【図１Ａ】図１Ａは模倣物の表示であり、それらは構造的モチーフおよび回転特性を模倣するために用いることが可能であり、そして同時に、タンパク質分解に対する安定性を提供しそして他の特性を促進する（構造１Ａ：Ｈａｒｔ，Ｓ．およびＥｔｚｋｏｒｎ，Ｆ．、１９９９．Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．、６４：２９９８－２９９９）。

【図１Ｂ】図１Ｂは模倣物の表示であり、それらは構造的モチーフおよび回転特性を模倣するために用いることが可能であり、そして同時に、タンパク質分解に対する安定性を提供しそして他の特性を促進する（構造１Ｂ：Ｈａｎｅｓｓｉａｎ，Ｓ．およびＭｃＮａｕｇｈｔｏｎ－Ｓｍｉｔｈ，Ｇ．、分子医学法、第２３巻：ペプチドミメティクス　プロトコール中、「多目的ペプチド模倣体骨格の合成」、Ｗ．Ｋａｚｍｉｅｒｓｋｉ、監修（Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ　Ｉｎｃ．、トトワ、Ｎ．Ｊ．、１９９９）、１０章、ｐｐ．１６１－１７４）。

【図１Ｃ】図１Ｃは模倣物の表示であり、それらは構造的モチーフおよび回転特性を模倣するために用いることが可能であり、そして同時に、タンパク質分解に対する安定性を提供しそして他の特性を促進する（構造１Ｃ：ＷＯ０１／１６１３５）。

【図２】図２はアミノアルコール官能性を含んでいるアミノ酸（４）、およびアルコキシアミノ官能性を含んでいるアミノ酸（５）の表示である。

【図３】図３は、ペンダントブロモアセトアミド官能性を有するシステインの環化を描いている表示である（このプロセスは本明細書において「スキーム１」と称される）。

【図４】図４は、２環性ペプチドの形成を生じるチアゾリジンを提供するための、適切に位置された近接アミノメルカプタン官能性およびアルデヒド官能性の分子内環化を示している表示であり、その１つの環は主鎖中の残基により形成され、そして第２の環はチアゾリジン環で存在している（このプロセスは本明細書において「スキーム２」と称される）。

【図５】図５は、標準ペプチドカップリング試薬（ＨＡＴＵ、ＰｙＢＯＰその他のごとき）を経る分子内カップリングにより利用可能なラクタム官能基がどのように、ジスルフィドのための代用物として作用することができるかを示している表示である。Ｄｄｅ／Ｄｍａｂアプローチが示されている（そして本明細書において「スキーム３」と称される）。

【図６】Ｇｒｕｂｂｓ反応（本明細書において「スキーム４」と称される）を示している表示である。

【図７Ａ】図７Ａはリン脂質部分の化学構造である。

【図７Ｂ】図７Ｂはリン脂質部分の化学構造である。

【図８Ａ】図８Ａは好ましい金属キレート剤の構造を描いている。

【図８Ｂ】図８Ｂは好ましい金属キレート剤の構造を描いている。

【図８Ｃ】図８Ｃは好ましい金属キレート剤の構造を描いている。

【図８Ｄ】図８Ｄは好ましい金属キレート剤の構造を描いている。

【図８Ｅ】図８Ｅは好ましい金属キレート剤の構造を描いている。

【図８Ｆ】図８Ｆは好ましい金属キレート剤の構造を描いている。

【図９】図９は、ｃＭｅｔ結合ポリペプチドを同定するために用いられた選択戦略のスキーム的表示である。ＴＥＡ＝トリエチルアミン、ビーズ感染＝ｃＭｅｔ－Ｆｃ／プロテイン－Ａビーズに結合されて残っている非溶出ファージの捕捉。

【図１０】図１０は、ｃＭｅｔ結合ペプチド配列番号３６５の増殖阻害特性を示している。

【図１１】図１１は、６－ＰｎＡＯ－Ｇｌｕｔ部分へ結合した配列番号５１４の製造のためのスキーム的図を示している（本明細書において「スキーム５」と称される）。

【図１２】図１２は、Ｋ（ＰｎＡＯ６－Ｇｌｕｔ）リンカーにより連結された配列番号５１４および５１５を含んでいるヘテロ２量体の製造のためのスキーム的図を示している（

本明細書において「スキーム５」と称される）。
【図１３Ａ】図１３Ａは、以下のようなヘテロ２量体の化学構造を示している：図１３Ａは配列番号５１５へ連結された配列番号５１４を示している（Ａｃ－ＧＳＰＥＭＣＭＭＦＰＦＬＹＰＣＮＨＨＡＰＧＧＧＫ｛ＰｎＡＯ６－Ｇｌｕｔ－Ｋ［Ａｃ－ＧＳＦＦＰＣＷＲＩＤＲＦＧＹＣＨＡＮＡＰＧＧＧＫＪＪ－Ｇｌｕｔ］－NH_2｝－NH_2）。
【図１３Ｂ】図１３Ｂは、以下のようなヘテロ２量体の化学構造を示している：図１３Ｂは配列番号５１６へ連結された配列番号５１５を示している（Ａｃ－ＧＳＦＦＰＣＷＲＩＤＲＦＧＹＣＨＡＮＡＰＧＧＧＫ｛ＰｎＡＯ６－Ｇｌｕｔ－Ｋ［Ａｃ－ＡＱＥＷＥＲＥＹＦＶＤＧＦＷＧＳＷＦＧＩＰＨＧＧＧＫ（ＪＪ－Ｇｌｕｔ）－NH_2］｝－NH_2）。
【図１３Ｃ】図１３Ｃは、以下のようなヘテロ２量体の化学構造を示している：図１３Ｃは配列番号５１７へ連結された配列番号５１４を示している（Ａｃ－ＧＳＰＥＭＣＭＭＦＰＦＬＹＰＣＮＨＨＡＰＧＧＧＫ｛ＰｎＡＯ６－Ｇｌｕｔ－Ｋ［Ａｃ－ＧＤＹＳＥＣＦＦＥＰＤＳＦＥＶＫＣＹＤＲＤＰＧＧＧＫ（ＪＪ－Ｇｌｕｔ）－NH_2］｝－NH_2）。
【図１４】図１４は、異なったスペーサー長およびビオチンを有する配列番号５１４の誘導体の結合を示しているグラフ表示である。誘導体は、標的化配列およびビオチン間に、各々、なし、１つのＪおよび２つのＪスペーサーを有している。
【発明を実施するための形態】
【００３９】
発明の詳細な説明
本発明の好ましい態様の説明を以下に記載する。
本発明は、肝細胞増殖因子レセプター（「ＨＧＦｒ」または「ｃＭｅｔ」）へ結合する新規結合部分を提供する。こうした結合部分は、上方制御されたｃＭｅｔ発現を示す活性化細胞、そしてｃＭｅｔへのＨＧＦの結合の効率よい検出、画像化および限局化を可能にする。こうした活性化細胞は、細胞増殖のイニシエーターであり、従って、本明細書に記載したポリペプチドは、増殖部位を検出し、モニタリングしおよび限局化する手段を提供する。特に、ポリペプチドおよび多量体ポリペプチド構築物を含む、本発明の結合部分は、適切に標識された場合、腫瘍または調節不全細胞増殖から生じる他の増殖性障害（例えば癌）を検出し、モニタリングしおよび限局化するために有用である。それ故、本発明の結合ポリペプチドおよび多量体ポリペプチド構築物は、新生物腫瘍増殖または他の増殖性障害を診断し処置するための、多様な診断剤および治療剤を形成するために使用することが可能である。加えて、結合ポリペプチドおよび多量体ポリペプチド構築物は、それら自身、治療剤として使用することが可能である。
【００４０】
本発明に従った具体的ｃＭｅｔ結合ポリペプチドは、ファージディスプレイライブラリー、即ち、その表面に外因性ペプチドを発現するように形質転換された組換えバクテリオファージの集団のスクリーニングにより最初に単離された。ｃＭｅｔのごとき特定標的のための新規ポリペプチド結合部分を単離するためには、例えば、ファージディスプレイ技術を使用する、大きなペプチドライブラリーのスクリーニングが特に有利であり、そこにおいては、非常に大きな数（例えば5×10^9）の潜在的結合体を試験することが可能であり、そして短い時間で好結果の結合体が単離された。
【００４１】
ｃＭｅｔ結合ポリペプチドおよび／またはｃＭｅｔへ結合したＨＧＦを含む複合体へ結合するポリペプチドのごとき結合ポリペプチドをスクリーニングするための、提示ポリペプチドのファージライブラリーを調製するため、候補結合ドメインを、ライブラリーで提示されるべきペプチドのための構造鋳型として働くように選択する。ファージライブラリーは、非常に多数の親ドメインまたは鋳型の類似体で作られている。結合ドメイン鋳型は、天然に存在するかまたは合成のタンパク質、またはタンパク質の領域またはドメインであることができる。結合ドメイン鋳型は、結合ドメイン鋳型および結合標的間の既知の相互作用の知識に基づいて選択することが可能であるが、それは決定的ではない。実際、それはライブラリーのために鋳型として働くように選択されたドメインには必須ではなく、

または標的に対する親和性を少しも有していない；その目的は、多数（ライブラリー）の類似の構造を有するポリペプチド（類似体）を発生することが可能である構造を提供することであり、その多数の類似体は、所望の結合特性（そして、スクリーニングする任意の他の特性）を示す１以上の類似体を含んでいるであろう。

【００４２】

ライブラリーの斑入り（variegated）アミノ酸配列の基礎となる親結合ドメインまたは鋳型の選択において、重要な考慮は、どのように斑入りペプチドドメインが標的に提示されるか、即ち、ペプチド類似体のいかなるコンホメーションが標的と接触するようになるのかである。ファージディスプレイ方法論においては、例えば、ファージ内への類似体をコードする合成ＤＮＡの挿入により類似体を発生させ、ファージ表面上での類似体のディスプレーを生じる。多様な異なったポリペプチドを示する、Ｍ１３ファージのごときファージのこうしたライブラリーは、例えば、本明細書に援用されている、Ｋａｙら、ペプチド及びタンパク質のファージディスプレイ：実験室マニュアル（アカデミックプレス社、サンディエゴ、１９９６）および米国特許第５，２２３，４０９号（Ｌａｄｎｅｒら）に記載されている技術を使用して調製することが可能である。

【００４３】

本発明に従った具体的ポリペプチドの単離において、ＴＮ６、ＴＮ７、ＴＮ８、ＴＮ９、ＴＮ１０、ＴＮ１１、ＴＮ１２と命名された７つの環状ペプチド（または「ループ」）、およびＬＮ２０と命名された線状ライブラリーを最初にスクリーニングした。各々のライブラリーは、Ｍ１３ファージ上の多様化されたポリペプチドの発現のために構築した。「ＴＮ」命名を有する７つのライブラリーは、Ｍ１３ファージの表面上、タンパク質ＩＩＩのアミノ末端に、各々、６、７、８、９、１０、１１または１２アミノ酸の、短い、斑入り外因性ペプチドループを示すように命名された。ライブラリーはＴＮ６（3.3×10^{12}アミノ酸配列多様性の可能性を有する）、ＴＮ７（1.2×10^{14}アミノ酸配列多様性の可能性を有する）、ＴＮ８（2.2×10^{15}アミノ酸配列多様性の可能性を有する）、ＴＮ９（4.2×10^{16}アミノ酸配列多様性の可能性を有する）、ＴＮ１０（3.0×10^{16}アミノ酸配列多様性の可能性を有する）、ＴＮ１１（1.5×10^{19}アミノ酸配列多様性の可能性を有する）、ＴＮ１２（4.6×10^{19}の配列多様性を有する）およびＬＮ２０（3.8×10^{25}アミノ酸配列多様性の可能性を有する）と命名された。

【００４４】

ＴＮ６ライブラリーは、１２アミノ酸鋳型に含まれている単一微小タンパク質結合ループを示すように構築した。ＴＮ６ライブラリーは、Ｘａａ１－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｃｙｓ－Ｘａａ５－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｃｙｓ－Ｘａａ１０－Ｘａａ１１－Ｘａａ１２の鋳型配列を利用した。鋳型の２、３、５、６、７、８、１０および１１位のアミノ酸はシステイン（Ｃｙｓ）を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。鋳型の１および１２位のアミノ酸は、システイン（Ｃｙｓ）、グルタミン酸（Ｇｌｕ）、イソロイシン（Ｉｌｅ）、リジン（Ｌｙｓ）、メチオニン（Ｍｅｔ）およびスレオニン（Ｔｈｒ）を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。

【００４５】

ＴＮ７ライブラリーは、１３アミノ酸鋳型に含まれている単一微小タンパク質結合ループを示すように構築した。ＴＮ７ライブラリーは、Ｘａａ１－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｃｙｓ－Ｘａａ５－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｘａａ９－Ｃｙｓ－Ｘａａ１１－Ｘａａ１２－Ｘａａ１３の鋳型配列を利用した。鋳型の１、２、３、５、６、７、８、９、１１、１２および１３位のアミノ酸はシステイン（Ｃｙｓ）を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。

【００４６】

ＴＮ８ライブラリーは、１４アミノ酸鋳型に含まれている単一微小タンパク質結合ループを示すように構築した。ＴＮ８ライブラリーは、Ｘａａ１－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｃｙｓ－Ｘａａ５－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｘａａ９－Ｘａａ１０－Ｃｙｓ－Ｘａａ

１２－　Ｘａａ１３－Ｘａａ１４の鋳型配列を利用した。鋳型の１、２、３、５、６、７、８、９、１０、１２、１３および１４位のアミノ酸はシステイン（Ｃｙｓ）を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。

【００４７】

ＴＮ９ライブラリーは、１５アミノ酸鋳型に含まれている単一微小タンパク質結合ループを示すように構築した。ＴＮ９ライブラリーは、Ｘａａ１－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｃｙｓ－Ｘａａ５－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｘａａ９－Ｘａａ１０－Ｘａａ１１－Ｃｙｓ－Ｘａａ１３－Ｘａａ１４－Ｘａａ１５の鋳型配列を利用した。鋳型の１、２、３、５、６、７、８、９、１０、１１、１３、１４および１５位のアミノ酸はシステイン（Ｃｙｓ）を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。

【００４８】

ＴＮ１０ライブラリーは、１６アミノ酸鋳型に含まれている単一微小タンパク質結合ループを示すように構築した。ＴＮ１０ライブラリーは、Ｘａａ１－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｃｙｓ－Ｘａａ５－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｘａａ９－Ｘａａ１０－Ｘａａ１１－Ｘａａ１２－Ｃｙｓ－Ｘａａ１４－Ｘａａ１５－Ｘａａ１６の鋳型配列を利用した。鋳型の１、２、１５および１６位のアミノ酸は１０アミノ酸：Ｄ、Ｆ、Ｈ、Ｌ、Ｎ、Ｐ、Ｒ、Ｓ、ＷまたはＹ、の群から選択される任意のアミノ酸を許容するように変化させた。鋳型の３および１４位のアミノ酸は１４アミノ酸：Ａ、Ｄ、Ｆ、Ｇ、Ｈ、Ｌ、Ｎ、Ｐ、Ｑ、Ｒ、Ｓ、Ｖ、ＷまたはＹ、の群から選択される任意のアミノ酸を許容するように変化させた。鋳型の５、６、７、８、９、１０、１１および１２位のアミノ酸はシステイン（Ｃｙｓ）を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。

【００４９】

ＴＮ１１ライブラリーは、１７アミノ酸鋳型に含まれている単一微小タンパク質結合ループを示すように構築した。ＴＮ１１ライブラリーは、Ｘａａ１－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｃｙｓ－Ｘａａ５－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｘａａ９－Ｘａａ１０－Ｘａａ１１－Ｘａａ１２－Ｘａａ１３－Ｃｙｓ－Ｘａａ１５－Ｘａａ１６－Ｘａａ１７の鋳型配列を利用した。鋳型の１から３、５から１３および１５から１７位のアミノ酸はシステイン（Ｃｙｓ）を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。

【００５０】

ＴＮ１２ライブラリーは、１８アミノ酸鋳型に含まれている単一微小タンパク質結合ループを示すように構築した。ＴＮ１２ライブラリーは、Ｘａａ１－Ｘａａ２－Ｘａａ３－Ｃｙｓ－Ｘａａ５－Ｘａａ６－Ｘａａ７－Ｘａａ８－Ｘａａ９－Ｘａａ１０－Ｘａａ１１－Ｘａａ１２－Ｘａａ１３－Ｘａａ１４－Ｃｙｓ－Ｘａａ１６－Ｘａａ１７－Ｘａａ１８の鋳型配列を利用した。鋳型の１、２、１７および１８位のアミノ酸は１２アミノ酸：Ａ、Ｄ、Ｆ、Ｇ、Ｈ、Ｌ、Ｎ、Ｐ、Ｒ、Ｓ、ＷまたはＹ、の群から選択される任意のアミノ酸を許容するように変化させた。３、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４および１６位のアミノ酸はシステイン（Ｃｙｓ）を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。

【００５１】

ＬＮ２０ライブラリーはファージの表面上に、多線状ペプチドを示すために構築した。しかしながら、各々のファージは同一配列の多コピーを示している。それ故、単一のファージは、例えば、異なった配列の５コピーその他を示すであろう。線状ペプチドは２０アミノ酸鋳型で提供した。鋳型中の各々の位置でのアミノ酸は、システイン（Ｃｙｓ）を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。

【００５２】

本明細書に提供された結合ポリペプチドは、Ｎおよび／またはＣ末端に付加または切断を含むことが可能である。こうした修飾結合ポリペプチドは、ｃＭｅｔへ結合すると期待される。例えば、－ＧＧＧＫリンカー（配列番号５１３）が本明細書に提供された結合ポリペプチドのＮ末端に存在することが可能である。－ＧＳＧＫ（配列番号５５１）または－ＧＳＧＳＫ（配列番号６５２）のごとき他のリンカーを使用することができる。鋳型の

ループ部分および本明細書に提供された配列を含む結合ポリペプチドは、ｃＭｅｔへ結合することが期待され、そして本発明にまた包含されている。鋳型のループ部分および配列は、ジスルフィド結合を形成すると期待される２つのシステイン残基を含むその間の配列を含んでおり、それにより、ペプチドループ構造を発生させている。さらに、本発明の結合ポリペプチドは、Ｎおよび／またはＣ末端に追加のアミノ酸残基を含むことが可能である。

【００５３】

ファージディスプレイライブラリーは、ポリペプチド鋳型のためのコード配列内に設計された一連の変異（mutation）または変動（variation）を作ることにより作り出し、ペプチド類似体をコードしている各々の変異体は全体の構造において、鋳型の配列中に１以上のアミノ酸変動を有していることを除いて、鋳型に対応している。新規斑入り（変異）ＤＮＡは配列多様性を提供し、そして各々の形質転換体ファージは、ＤＮＡによりコードされた当初の鋳型アミノ酸配列の１つの変異体を示し、莫大な数の異なったしかし構造的に関連したアミノ酸配列を示すファージ集団（ライブラリー）を導いている。アミノ酸変動は、少なくともほとんどの置換で、その構造を有意に改変することなく、結合ペプチドまたはドメインの結合特性を改変することが期待される。変動のために選択されたアミノ酸位置（可変アミノ酸位）は、表面アミノ酸位、即ち、ドメインがその最も安定なコンホメーションにある場合、ドメインの外部表面（即ち、溶液に暴露されている表面）に現れる、ドメインのアミノ酸配列中の位置であろう。最も好ましくは、変動されるべきアミノ酸位置は、置換の効果を最大にするように、お互いに隣接しているかまたは近接しているであろう。

【００５４】

前に示したように、Ｋａｙら、ペプチド及びタンパク質のファージディスプレイ：実験室マニュアル（アカデミックプレス社、サンディエゴ、１９９６）および米国特許第５，２２３，４０９号に議論されている技術は、選択された親鋳型に対応する潜在的結合体のライブラリーの調製において特に有用である。上で議論したようなライブラリーを、こうした技術に従って調製し、そしてそれらを以下の実施例で説明するように、固定化した標的に対してｃＭｅｔ結合ポリペプチドをスクリーニングした。

【００５５】

典型的スクリーニングにおいて、ファージライブラリーは標的またはその特定の副成分と接触させ、そして結合させる。結合体および非結合体の分離を容易にするため、標的を固形支持体上に固定化することが都合がよい。標的結合部分を有しているファージは固形支持体上の標的と複合体を形成し、一方、非結合ファージは溶液中に残り、そしてそれは過剰の緩衝液で洗い流すことが可能である。結合されたファージは次に、極端なｐＨ（ｐＨ２またはｐＨ１０）へ緩衝液を変化させることにより、緩衝液のイオン強度を変化させることにより、変性剤を加えることにより、または他の既知の手段により、標的から遊離させる。本発明のポリペプチドを示している結合ファージを単離するため、タンパク質溶離を行う。即ち、いくらかのファージは、ＨＧＦ溶液を使用して標的から溶離する（競合溶離）。加えて、例えば、ＨＧＦでの１晩インキュベーションの間に競合溶離できない、非常に高い親和性結合ファージは、大腸菌細胞感染のための基質へまだ結合されているファージを使用することにより捕捉した。

【００５６】

次に回収されたファージは、細菌細胞感染を通して増幅可能であり、そして非結合体が枯渇されて結合体が濃縮されている新しいプールを用いてスクリーニングプロセスを繰り返すことが可能である。ほんの少数の結合ファージの回収でさえも、プロセスを完了させるまで行うのに十分である。数ラウンドの選択後、結合プール中の選択されたファージクローンから誘導された結合部分をコードしている遺伝子配列を、以下に記載した慣用的方法により決定し、標的へのファージの結合親和性を与えるペプチド配列を明らかにする。選択プロセスが働いている場合、集団の配列多様性は、所望の結合体が残るまで、選択の各々のラウンドで減少する。配列は少数の関連結合体、典型的には各々のライブラリーか

らの、約10^9～10^{10}の最初の候補の中から１０～５０へ収斂する。選択の各々のラウンドで回収されたファージ数の増加、そしてもちろん、密接に関連した配列の回収は、ライブラリーの収斂がスクリーニングで起こったことの良好な指標である。結合ポリペプチドのセットを同定した後、配列情報は、追加の所望の特性を有しているメンバーのための偏った、他の２次ファージライブラリーを設計するために使用することが可能である。

【００５７】

ジスルフィド結合ループの形成は、こうしたペプチドへの親和性および特異性を増加させることを導くので都合がよい。しかしながら、血清において、ジスルフィド結合は遊離システインまたは他のチオール含有分子により解離し得る。従って、ジスルフィド架橋を別のより低い反応性の結合で置き換えるようにシステイン残基を修飾するのが有用であろう。－CH_2－Ｓ－Ｓ－CH_2－架橋は、硫黄間の２面角が９０度に近い、好ましい幾何学的配置を有しているが、正確な幾何学的配置は、他の側基および分子の結合状態の状況により決定される。結合ループの架橋を閉じる好ましい修飾は、全体の結合の長さおよび角度をできるだけ保存しようとするであろう。適した、こうした代替架橋には－CH_2－Ｓ－CH_2－CH_2－、－CH_2－CH_2－Ｓ－CH_2－、－CH_2－CH_2－Ｓ－CH_2－CH_2－のごときチオエーテル結合；－CH_2－ＮＨ－ＣＯ－CH_2－および－CH_2－ＣＯ－ＮＨ－CH_2－のごときラクタムまたはアミド結合；－CH_2－CH_2－Ｏ－CH_2－CH_2－のごときエーテル結合；－（CH_2）$_n$－（式中、ｎ＝４、５または６）のごときアルキレン架橋；結合－CH_2－ＮＨ－ＣＯ－ＮＨ－CH_2－、および当該技術分野で知られている同様の基が含まれる。

【００５８】

安定なジスルフィド連結結合ループを含むポリペプチドが最も好ましいが、例えば１方または両方のシステイン残基の置換により、前記の配列から誘導される線状ポリペプチドを容易に調製することが可能であり、それはジスルフィド結合を含有している本来のポリペプチドの少なくともいくらかのｃＭｅｔ結合活性を保持することができる。Ｃｙｓに関するこうした置換の作製においては、アミノ酸Ｇｌｙ、ＳｅｒおよびＡｌａが好ましく、そして、ポリペプチドが２量体化することができる、または溶液中の他の遊離チオール基と反応することができる１つのＣｙｓを残さないように、両方のＣｙｓ残基を置換するのも好ましい。ｃＭｅｔ結合特性を保持するこうした線状化誘導体のすべてが、本発明の範囲内である。

【００５９】

本発明のポリペプチドの直接合成は、固相ペプチド合成、液相合成その他を含む慣用的技術を使用して達成することが可能である。固相ペプチド合成が好ましい（例えば本明細書において援用される、Ｓｔｅｗａｒｔら、固相ペプチド合成（Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ Ｃｏ．、サンフランシスコ、１９８９）；Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ，Ｊ．、１９６３、Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．、８５：２１４９－２１５４；ＢｏｄａｎｓｚｋｙおよびＢｏｄａｎｓｚｋｙ、ペプチド合成の実践（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ、ニューヨーク、１９８４）を参照されたい）。

【００６０】

本発明に従ったポリペプチドはまた、サービスとしてペプチド合成を提供している会社によって商業的に調製することも可能である（例えば、ＢＡＣＨＥＭ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，Ｉｎｃ．、キングオブプロシア、ＰＡ；Ｑｕａｌｉｔｙ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．、ホプキントン、ＭＡ）。

【００６１】

パーキン－エルマー アップライド バイオシステムズにより製造されているごとき自動化ペプチド合成機もまた利用可能である。

ポリペプチド化合物は好ましくは、化学的または組換え技術により単離または合成された後に精製する。精製目的には、使用可能な多くの標準法が存在しており、C_4－、C_8－またはC_{18}－シリカのごときアルキル化シリカカラムを使用する、逆相高速液体クロマトグラフィー（ＲＰ－ＨＰＬＣ）が含まれる。例えば、通常少量のトリフルオロ酢酸を

含む、水性緩衝液中のアセトニトリルのような、有機含有量を増加させる濃度勾配移動相を、一般的に精製を達成するために使用する。イオン交換クロマトグラフィーもまた、ペプチドの電荷に基づいて、ペプチドを分離するために使用することが可能である。ポリペプチドの純度の程度は、ＨＰＬＣでの主たる大きなピークの同定を含む、多様な方法により決定することが可能である。ＨＰＬＣカラム上、投入物質の少なくとも９５％である、単一ピークを生じるポリペプチドが好ましい。さらにより好ましいのは、ＨＰＬＣカラム上、投入物質の少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、またはさらに９９．５％以上である、単一ピークを生じるポリペプチドである。

【００６２】

上記のいずれかの技術を使用して得られたペプチドが、本発明の組成物における使用のための所望のペプチドであることを確かめるため、ペプチド成分の分析を実施することができる。こうした成分分析は、ペプチドの分子量を決定するための高分解能質量分析法を使用して行うことが可能である。あるいは、水性酸中でペプチドを加水分解し、そしてＨＰＬＣまたはアミノ酸分析機を使用して、混合物の成分を分離し、同定しそして定量することにより、ペプチドのアミノ酸含量を確認することが可能である。ペプチドを逐次的に分解し、そして順にアミノ酸を同定する、タンパク質配列決定装置もまたペプチドの配列を決定するために使用することが可能である。

【００６３】

本発明に従ったｃＭｅｔ結合ポリペプチドはまた、本発明に従ったポリペプチドをコードしている核酸（ポリヌクレオチド）を利用し、そして次に、組換え的にそれらを発現させる、即ち、宿主細胞が所望のｃＭｅｔ結合ポリペプチドを産生するように、既知の方法で外因性核酸分子を導入することで宿主細胞を操作することによる、組換えＤＮＡ技術を使用して産生することも可能である。こうした方法は、当業者の能力内である（例えば本明細書において援用される、Ｄａｖｉｓら、分子生物学の基本法（１９８６）を参照されたい）。本明細書に記載したような短いペプチドの組換え産生は、直接合成と比較して実際的ではないであろう。しかしながら、本発明のｃＭｅｔ結合部分がハイブリッドポリペプチドまたは融合タンパク質に取り込まれている場合は、産生の組換え手段は非常に有利でありうる。

【００６４】

本発明の実施において、別のタンパク質または標的と相対的なｃＭｅｔに対するｃＭｅｔ結合部分の親和性の決定は有用な尺度であり、そしてｃＭｅｔに対する特異性と称される。結合を定量しそして親和性を決定するための標準アッセイには、平衡透析法、平衡結合法、ゲル濾過法または、結合部分およびその標的の相互作用で生じる多数の分光学的変化（蛍光偏光における変化のごとき）のモニタリングが含まれる。これらの技術は、リガンド（またはタンパク質）濃度の関数として、結合および遊離リガンドの濃度を測定する。結合ポリペプチドの濃度（［結合］）は、以下の式に記されているように、遊離ポリペプチドの濃度（［遊離］）およびポリペプチド、即ち、ｃＭｅｔ上の結合部位の濃度（Ｎ）に関連している：

［結合］＝Ｎ×［遊離］／（（１／K_a）＋［遊離］）

この方程式の解は、結合親和性の定量的尺度である会合定数K_aを与える。会合定数K_aは、解離定数K_Dの逆数である。K_Dが親和性の尺度としてより頻繁に報告されている。好ましいｃＭｅｔ結合ポリペプチドは、例えば、１ナノモル（ｎＭ）未満、１ｎＭ～１００マイクロモル（μＭ）（これには１０ｎＭ未満、２０ｎＭ未満、４０ｎＭ未満、６０ｎＭ未満、８０ｎＭ未満、１μＭ未満、５μＭ未満、１０μＭ未満、２０μＭ未満、４０μＭ未満、６０μＭ未満、および８０μＭ未満のK_D値を含んでいる）の範囲のｃＭｅｔに対するK_Dを有している。

【００６５】

ｃＭｅｔ結合部分が造影剤として用いられる場合、結合特異性の他の側面が重要になる；造影剤は、標的（例えば活性化細胞上のｃＭｅｔ）に対する造影剤の結合が、画像化過程を通して安定な平衡状態ではないであろう動的なシステムで作用する。例えば、造影剤

が最初に注射された時、造影剤および造影剤－標的複合体の濃度は急速に増加する。しかしながら、注射のすぐ後、循環している（遊離）造影剤は腎臓または肝臓を通して排除され始め、そして造影剤の血漿濃度は低下し始める。血漿中の遊離造影剤濃度のこの低下は、ついには造影剤－標的複合体の解離をひき起こす。造影剤の有用性は、造影剤の排除速度と相対的な造影剤－標的解離の速度の相違に依存している。理想的には、解離速度が排除速度と比較して遅いであろうし、それにより長い造影時間を生じ、その間、血漿中では高い濃度の造影剤－標的複合体および低い濃度の遊離造影剤（バックグラウンド信号）が存在している。

【００６６】

解離速度の定量的測定は、光ファイバー蛍光定量（例えば、ＡｎｄｅｒｓｏｎおよびＭｉｌｌｅｒ、１９８８、Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．、３４：１４１７－２１、を参照されたい）、表面プラスモン共鳴（例えば、Ｍａｌｍｂｏｒｇら、１９９６、Ｊ．Ｉｍｍｎｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、１９８：５１－７；およびＳｃｈｕｃｋ、１９９７、Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、８：４９８－５０２、を参照されたい）、共鳴鏡、およびゲート開閉共役平面導波（例えば、Ｈｕｔｃｈｉｎｓｏｎ、１９９５、Ｍｏｌｅｃ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、３：４７－５４、を参照されたい）のごとき、当該技術分野では既知のいくつかの方法を使用して実行することが可能である。自動化バイオセンサーが結合速度論を測定するために商業的に利用可能である：ＢＩＡｃｏｒｅ表面プラスモン共鳴センサー（Ｂｉａｃｏｒｅ　ＡＢ、ウプサラ　ＳＥ）、ＩＡｓｙｓ共鳴鏡センサー（Ｆｉｓｏｎｓ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｓｅｎｓｏｒ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、ケンブリッジ　ＧＢ）、ＢＩＯＳ－１ゲート共役平面導波センサー（Ａｒｔｉｆｉｃｉａｌ　Ｓｅｎｓｏｒ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ、チューリッヒ　ＣＨ）。

【００６７】

標的発現細胞へ結合する能力で、ファージディスプレイにより同定されたポリペプチドをスクリーニングする方法

本発明の別の側面において、標的を発現している細胞へ結合する能力で（標的を発現していない細胞へは結合しない）、ファージディスプレイにより同定された結合ポリペプチドをスクリーニングする方法を提供する。これらの方法は、ファージディスプレイにより同定されたペプチドのスクリーニングに付随する重大な問題に取り組んでいる：しばしば、そのようにして同定されたペプチドは、慣用的アッセイにおいて、標的発現細胞に対し、スクリーニングされるべき標的への十分な親和性を有していない。しかしながら、標的を発現する細胞へファージディスプレイ同定ペプチドが結合することを（そして発現しない細胞へは結合しないことを）確かめることは、それらが単量体としてまたは多量体構築物の一部として使用されているにせよ、潜在的インビボ標的化部分である結合ペプチドの同定において、決定的な情報の一部である。本方法は、多価結合に付随する親和性および結合活性（avidity）の増加を利用し、そして標的発現細胞に対する低い親和性を有するポリペプチドのスクリーニングを可能にする。

【００６８】

本方法は一般的に、１以上の結合ポリペプチドを含んでいる多量体構築物の製造およびスクリーニングから成っている。例えば、標的への結合でファージディスプレイにより同定されたポリペプチドをビオチニル化し、そしてアビジン、ストレプトアビジンまたはニュートラビジンと複合体形成させて、４量体構築物を形成させる。これらの４量体構築物は次ぎに、所望の標的を発現する細胞および発現しない細胞とインキュベートし、そして４量体構築物の結合を検出する。結合は、当該技術分野では既知の任意の検出法を使用して検出することが可能である。例えば、結合を検出するため、アビジン、ストレプトアビジンまたはニュートラビジンを検出可能なマーカー（例えば、放射性標識、蛍光標識、またはＨＲＰ（西洋ワサビペルオキシダーゼ）、ＴＭＢ（テトラメチルベンジジン）またはアルカリ性ホスファターゼのごとき色変化を起こす酵素標識）と結合することができる。

【００６９】

ビオチニル化ペプチドは、好ましくはニュートラビジン－ＨＲＰと複合体形成させる。

ニュートラビジンは、ニュートラビジン中にレクチン結合炭化水素部分および細胞接着レセプター－結合ＲＹＤドメインが存在しないため、他の代替物よりも、分子に対するより低い非特異的結合を示す（Ｈｉｌｌｅｒ，Ｙ．ら、１９８７．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．、２４８：１６７－１７１；Ａｌｏｎ，Ｒ．ら、１９９０．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．、１７０：１２３６－４１）。

【００７０】

４量体構築物は、標的を天然に発現する細胞、または標的を発現するように組換えＤＮＡ技術により工学処理されている細胞（例えば、トランスフェクト体、形質転換体その他）に対してスクリーニングすることが可能である。標的を発現するようにトランスフェクトされた細胞が使用され、偽トランスフェクト細胞（即ち、標的をコードする遺伝子物質なしでトランスフェクトされた細胞）を対照として使用することが可能である。

【００７１】

４量体複合体は、所望により血清存在下でスクリーニングすることが可能である。それ故、アッセイは、標的へのペプチドの結合に対する血清の影響を迅速に評価するためにも使用することが可能である。

【００７２】

本明細書に記載した方法は、２以上の結合ポリペプチドを含む、２量体または多量体標的化構築物で使用のための、別個の結合ポリペプチドの組み合わせを調製する、そして評価することにおいて特に有用である。ビオチン／アビジン複合体の使用は、１～４の異なった結合ポリペプチドを含んでいる４量体構築物の比較的容易な調製を可能にする。さらに、標的化構築物の親和性および結合活性は、同一の標的上の異なったエピトープへ結合する２以上の標的化部分の包含により増加可能であることが現在見出されている。本明細書に記載したスクリーニング法は、こうした多量体構築物中に含まれている場合、親和性を増加させることができる結合ポリペプチドの組み合わせを同定することにおいて有用である。

【００７３】

好ましい態様において、本明細書に記載したスクリーニング法は、本明細書で記載したようなｃＭｅｔ結合ポリペプチドのごとき、ファージディスプレイにより同定されたｃＭｅｔ結合ポリペプチドをスクリーニングするために使用することが可能である。これらの方法は、ｃＭｅｔを発現する、またはｃＭｅｔを発現するように工学処理された細胞に対するｃＭｅｔ結合ポリペプチドの特異的結合を評価するために使用することが可能である。本発明のビオチニル化ｃＭｅｔ結合ポリペプチドの４量体複合体、および、例えば、ニュートラビジン－ＨＲＰは調製可能であり、ｃＭｅｔを発現するようにトランスフェクトされた細胞、ならびに、ｃＭｅｔを発現しない偽トランスフェクト細胞をスクリーニングすることが可能である。

【００７４】

本アッセイは、ポリペプチドの単座K_Dが２００ｎＭ～３００ｎＭである場合でさえも、ｃＭｅｔ発現細胞へ結合する（そしてｃＭｅｔを発現しない細胞へは結合しない）ｃＭｅｔ結合ポリペプチドを同定するために使用することが可能である。本アッセイは、本発明の単一ｃＭｅｔ結合ポリペプチドの４つのコピーを含んでいるホモ４量体、ならびにヘテロ４量体（２以上の異なったｃＭｅｔ結合ポリペプチドを含んでいる構築物）をスクリーニングするために使用することが可能である。本明細書に記載した方法は、多量体構築物で使用するためのｃＭｅｔ結合ポリペプチドの組み合わせ、特に、ｃＭｅｔの異なったエピトープへ結合する２以上のｃＭｅｔ結合ポリペプチドを含んでいる構築物を評価するために特に有用である。

【００７５】

ｃＭｅｔ結合ポリペプチドの修飾または最適化

議論したように、ｃＭｅｔ結合ポリペプチドの修飾または最適化は本発明の範囲内であり、そして修飾または最適化されたポリペプチドは「ｃＭｅｔ結合ポリペプチド」の定義に含まれる。特に、ファージディスプレイにより同定されたポリペプチド配列は、その効

力、薬物動態学的挙動、安定性および／または他の生物学的、物理的および化学的特性を修飾して最適化することが可能である。

【００７６】

アミノ酸残基の置換

例えば、生じたポリペプチドが上記の特質と同様なまたは改良されたプロフィールを有するであろうことを期待して、親ポリペプチド配列中の、以下の同じ立体的配置のおよび／または保存的アミノ酸変化を行うことが可能である。

【００７７】

アルキル置換疎水性アミノ酸の置換：分枝、環状および直鎖アルキル、アルケニルまたはアルキニル置換を含んだ、C_1～$_{10}$炭素脂肪族側鎖により置換された、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、ノルロイシン、Ｓ－２－アミノ酪酸、Ｓ－シクロヘキシルアラニンまたは他の単純α－アミノ酸を含む。

【００７８】

芳香族置換疎水性アミノ酸の置換：フェニルアラニン、トリプトファン、チロシン、ビフェニルアラニン、１－ナルチルアラニン、２－ナルチルアラニン、２－ベンゾチエニルアラニン、３－ベンゾチエニルアラニン、ヒスチジン、前に掲げた芳香族アミノ酸の、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アザ、ハロゲン化（フルオロ、クロロ、ブロモ、ヨード）またはアルコキシ（C_1～C_4）－置換形、を含み、その実例となる例は以下のものである：２－、３－または４－アミノフェニルアラニン、２－、３－または４－クロロフェニルアラニン、２－、３－または４－メチルフェニルアラニン、２－、３－または４－メトキシフェニルアラニン、５－アミノ－、５－クロロ－、５－メチル－または５－メトキシトリプトファン、２’－、３’－または４’－アミノ－、２’－、３’－または４’－クロロ－、２、３または４－ビフェニルアラニン、２’－、３’－または４’－メチル－２、３または４－ビフェニルアラニンおよび２－または３－ビリジルアラニン。

【００７９】

塩基性機能を含んでいる置換アミノ酸：アルギニン、リジン、ヒスチジン、オルニチン、２，３－ジアミノプロピオン酸、ホモアルギニン、前記のアミノ酸のアルキル、アルケニルまたはアリール置換（C_1～C_{10}、分枝、線状または環状）誘導体、置換基はヘテロ原子（α窒素または遠位窒素または複数の窒素のごとき）上であるかまたは、α炭素上（例えば、プロ－Ｒ位の）、を含む。実例となる例には、Ｎ－イプシロン－イソプロピル－リジン、３－（４－テトラヒドロピリジル）－グリシン、３－（４－テトラヒドロピリジル）－アラニン、Ｎ，Ｎ－γ，γ’－ジエチル－ホモアルギニンが含まれる。アルキル基がα炭素のプロ－Ｒ位を占有する、αメチルアルギニン、αメチル２，３－ジアミノプロピオン酸、αメチルヒスチジン、αメチルオルニチンのごとき化合物もまた含まれる。アルキル、芳香族、ヘテロ芳香族（ここにおいて、ヘテロ芳香族基は、１以上の窒素、酸素または硫黄原子を、単独でまたは組み合わせて有する）カルボン酸、または任意の多くの既知の活性化誘導体（塩化物、活性エステル、活性アゾライドおよび関連誘導体のごとき）およびリジン、オルニチンまたは２，３－ジアミノプロピオン酸、から形成されたアミドもまた含まれる。

【００８０】

酸性アミノ酸の置換：グルタミン酸、ホモグルタミン酸、チロシン、２，４－ジアミノプロピオン酸、オルニチンまたはリジンのアルキル、アリール、アリールアルキルおよびヘテロアリール　スルホンアミド、およびテトラゾール置換アルキルアミノ酸を含む。

【００８１】

側鎖アミド残基の置換：アスパラギン、グルタミン、およびアスパラギンまたはグルタミンのアルキルまたは芳香族置換誘導体を含む。

ヒドロキシ含有アミノ酸の置換：セリン、スレオニン、ホモセリン、２，３－ジアミノプロピオン酸、およびセリンまたはスレオニンのアルキルまたは芳香族置換誘導体を含む。上に掲げた各々の分類内のアミノ酸は、同一の基のもう１つで置換することが可能なこ

とも理解されている。

【００８２】

アミド結合の置換

本発明の範囲内である別の型の修飾は、ポリペプチドの主鎖内のアミド結合を置換するものである。例えば、血清安定性を弱め、生物活性の減少させるまたは破壊する、望まれないタンパク質分解または他の分解経路を減少させるまたは排除するため、または、コンホメーション融通性を制限するまたは増加させるため、存在しているコンホメーションを模倣するまたは望まれる様式にコンホメーションを改変する官能性で、ポリペプチドの主鎖中のアミド結合を置換することが可能である。こうした修飾は、増加した結合親和性または改良された薬物動態学的挙動を生み出すことが可能である。ペプチドの分野におけるこれらの知識から、生じたペプチドは、同一または改良された活性を有することができることを期待して、２つのアミノ酸を連結している任意のアミド結合に、以下のアミド結合変形を行うことが可能であることが理解されている：α－Ｎ－メチルアミドまたはペプチドアミド主鎖チオアミドの挿入、同族２級アミンを産生するためのカルボニルの除去、セミカルバゾン誘導体を産生するための１つのアミノ酸のアザアミノ酸による置き換え、アミド結合代用物としてのＥ－オレフィンおよび置換Ｅ－オレフィンの使用。

【００８３】

Ｄ－アミノ酸の導入

本発明の範囲内の別のアプローチは、不安定なペプチド結合に対して遠位のまたは近位の、Ｄ－アラニンまたは他のＤ－アミノ酸の導入である。この場合、こうしたＤ－アミノ酸置換は、置き換えられているＬ－アミノ酸の側鎖に対し、その側鎖が保存的置換ではないＤ－アミノ酸で行うことが可能であり、そして時には、そうしなければならないことも当業者には理解されている。このことは、キラリティーにおける、そしてその故に、側鎖配向の相違のためであり、それは、置き換えられたＬ－アミノ酸の側鎖により供されるものとは異なった電荷、疎水性、立体的要求の部分を有する、標的の結合部位のあらかじめ探索されていない領域へアクセスすることを生じることがありうる。

【００８４】

薬物動態学的または薬物動力学的特性を改良するための修飾

特定の応用における１以上のｃＭｅｔ結合ポリペプチドの使用は、薬物動態学的または薬物動力学的挙動を改良するためのペプチドの修飾またはペプチドの処方により利することができることも理解されている。ペプチドの特性を、所望の物理的または化学的特性をもたらすことが予期される部分の結合により変化できることが期待される。こうした部分は、ペプチドのＮまたはＣ末端へ、または適切に位置したリジンまたはリジン誘導体、２，３－ジアミノプロピオン酸、オルニチンまたはペンダント（pendant）アミノ基またはペンダントアルコキシアミンまたはヒドラジン基を有する、ペプチド中の他のアミノ酸のペンダントアミノ基へ、酸またはアミンを使用して、各々、アミド結合または尿素結合を経て、付け加えることが可能である。逆に、ＡｓｐまたはＧｌｕの側鎖のごとき酸性アミノ酸側鎖は、所望の修飾官能性を有しているアミンで選択的にアンマスクし、そしてアミド化することが可能であり、またはそれらはペプチド鎖内への取り込み前に、この様式で修飾可能である。導入された部分は、問題とするペプチド、およびその特性の修飾ための実存の要求に依存して、親水性、塩基性または非極性アルキルまたは芳香族の基である基でありうる。

【００８５】

アミノ酸残基のグリコシル化

本発明の範囲内のさらに別の修飾は、ｃＭｅｔ結合ポリペプチド中の１以上のアミノ酸残基（例えば、セリンまたはスレオニン残基）のグリコシル化である。標準条件を使用して実行することが可能なグリコシル化は、溶解性を促進するため、薬物動態学および薬物動力学を改変するため、またはグリコシド部分が関与する特異的または非特異的相互作用を経た結合を促進するために使用することが可能である。

【００８６】

塩の形成

水溶解性を増加させるまたは減少させる、またはこれらのペプチドの処方を容易にすることができる、異なった塩を形成するのも本発明の範囲内である。これらには、限定するわけではないが、Ｎ－メチルグルカミン（メグルミン）、酢酸塩、シュウ酸塩、アスコルビン酸塩その他を含むことができる。

【００８７】

構造的特性を保持した構造修飾

本発明の範囲内のさらに別の修飾は、環状ポリペプチドの切断である。本発明の多くのポリペプチドの環状性は、特に環内でペプチド配列が利用できるコンホメーションの空間を限定している。それ故、Ｎ末端かまたはＣ末端領域での、環に対して遠位またはさらには近位の１以上の残基によるペプチドの切り詰めは、類似のまたは改良された生物学的活性を有する切り詰めペプチドを提供することができる。結合活性の原因である、アミノ酸の独特の配列は、３アミノ酸ほど小さくても、ＲＧＤペプチドで記述されているように同定することが可能である（Ｐｌｏｗ，Ｅ．ら、１９８７．Ｂｌｏｏｄ、７０：１１０－５；Ｏｌｄｂｅｒｇ，Ａ．ら、１９８８．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、２６３：１９４３３－１９４３６；Ｔａｕｂ，Ｒ．ら、１９８９．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、２６４：２５９－６５；Ａｎｄｒｉｅｕｘ，Ａ．ら、１９８９．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、２６４：９２５８－６５；および米国特許第５，７７３，４１２号および第５，７５９，９９６号、これらの各々は本明細書において援用される）。

【００８８】

大きなペプチド環は、無関係のアミノ酸を除去しても実質的に決定的結合残基を含んでいるように、実質的に短くすることが可能であることが文献に示されている。本明細書において援用される、米国特許第５，５５６，９３９号を参照されたい。

【００８９】

短くされた環状ペプチドは、ジスルフィド結合、または適当に位置したカルボン酸基およびアミノ基のアミド結合を使用して形成することが可能である。

さらに、回転特性を安定化するために（特にグリシンの場合）、ペプチド配列へＤ－アミノ酸を加えることが可能である。別のアプローチにおいて、α、β、γまたはδジペプチドまたは回転模倣体（α、β、γまたはδ回転模倣体のごとき）を、そのいくつかは図１Ａ～１Ｃに示されている、ペプチドの構造モチーフおよび回転特性を模倣し、そして同時にタンパク質分解に対する安定性を提供し、そして、例えば、コンホメーション安定性および溶解性のごとき他の特質を促進するために用いることが可能である（構造１Ａ：Ｈａｒｔら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．、６４、２９９８－２９９９（１９９９）；構造１Ｂ：Ｈａｎｅｓｓｉａｎら、分子医学法、第２３巻：ペプチドミメティクス　プロトコール中、「多目的ペプチド模倣体骨格の合成」、Ｗ．Ｋａｚｍｉｅｒｓｋｉ、監修（Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ　Ｉｎｃ．、トトワ、ニュージャージー、１９９９）、第１０章、ｐｐ．１６１－１７４；構造１Ｃ：ＷＯ０１／１６１３５号）。

【００９０】

ジスルフィド模倣体の置換

本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチド内のジスルフィド結合に対するジスルフィド模倣体の置換もまた、本発明の範囲内である。

【００９１】

^{99m}Ｔｃに基づいた放射性医薬品、または他の同位元素に基づいた他の有用な放射性医薬品の発生にジスルフィド含有ペプチドが用いられた場合、重大な問題はジスルフィド結合の存在である。例えば、ジスルフィド結合の完全性は、ペルテクネテートイオンの還元、そして続いての、Ｔｃ特異的キレート基を有している物質内への還元型Ｔｃ種の取り込みに頼っている経路を経て^{99m}Ｔｃを取り込むように設計された過程の間、維持することは困難である。これは、放射性医薬品の１工程製造のために考案されたキットで普通に使用される還元剤により、ジスルフィド結合がかなり容易に還元されるためである。それ故、ジスルフィド結合がＴｃキレート化の間に還元されることがありうる容易さは、ジ

スルフィド結合の模倣体での置換を必要とするであろう。従って、本発明の範囲内の別の修飾は、本明細書に記載されている方法、または当業者には既知である方法を利用してジスルフィド部分を模倣体で置換し、一方、本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチドの活性および他の所望の特性を維持することである。

【００９２】

１）オキシムリンカー

多くの状況において、オキシム部分がリンカーとして研究者により用いられてきた（Ｗａｈｌ，Ｆ．およびＭｕｔｔｅｒ，Ｍ．、１９９６．Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．、３７：６８６１－６８６４）。図２に示したように、アミノアルコール官能性を含んでいるアミノ酸４、およびアルコキシアミノ官能性を含んでいる５を、ペプチド鎖内に取り込むことが可能である（ペプチド鎖の末端である必要性はない）。ペプチド形成後、側鎖保護基を取り除くことが可能である。アルデヒド基を次ぎに、アンマスクし、そしてオキシム結合を形成させる。

【００９３】

２）ランチオニンリンカー

ランチオニンは環状スルフィドであり、ジスルフィド結合（Ｓ－Ｓ）が炭素-硫黄（－Ｓ）結合で置き換えられている。それ故、還元に対する不安定性ははるかに低い。ランチオニンは、以下に議論する方法を含む、多数の方法により製造することが可能である。

【００９４】

１）ブロモアセチル化ペプチドを使用するランチオニンの製造

ランチオニンは既知の方法を使用して容易に製造することが可能である（Ｒｏｂｅｙ，Ｆ．およびＦｉｅｌｄｓ，Ｒ．、１９８９．Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．、１７７：３７３－３７７；Ｉｎｍａｎ，Ｊ．ら、１９９１．Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ Ｃｈｅｍ．、２：４５８－４６３；Ｐｌｏｉｎｓｋｙ，Ａ．ら、１９９２．Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．、３５：４１８５－４１９４；Ｍａｙｅｒら、第１５回米国ペプチドシンポジウム会報中、「ペプチド、ペプチド科学のフロンティア」、ＴａｍおよびＫａｕｍａｙａ（監修）、１９９５年６月１４－１９日、ナッシュビル、テネシー（Ｋｌｕｍｅｒ Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｕｂ．、ボストン）、ｐｐ．２９１－２９２；Ｗａｋａｏら、日本公開特許公報ＪＰ０７３００４５２ Ａ２（１９９５））。Ｂｏｃ自動化ペプチド合成を使用してのペプチドの製造、続いての、ペプチド末端とブロモ酢酸とのカップリングは、ブロモアセチル化ペプチドを好収率で与えた。ペプチドの切断および脱保護は、ＨＦ／アニソールを使用して達成することが可能である。もしペプチド鎖がシステイン基を含んでいれば、その反応性は低ｐＨで制御することが可能である。もし媒質のｐＨが６～７へ上昇すると、その時はペプチドの重合化かまたは環化のいずれかが起こる。重合化は高濃度（１００ｍｇ／ｍＬ）で有利であり、一方、環化、例えば、６は７へ環化する（図３に示したように、本明細書において「スキーム１」と称される）、は低濃度（１ｍｇ／ｍＬ）で有利である。Ｉｎｍａｎらは、Ｂｏｃペプチド合成で用いることができるブロモアセチル基の坦体としてのＮａ－（Ｂｏｃ）－Ｎｅ－［Ｎ－（ブロモアセチル）－β－アラニル］－Ｌ－リジンの使用を示しており、従って、配列中の任意の場所での、ブロモアセチル運搬部分の配置を可能にしている。予備的実験において、システインから４～６のアミノ酸離れているブロモアセチル－リジンを有するペプチドが環化する傾向があることが見出されており、この戦略の潜在的有用性を示している。

【００９５】

２）アクリルアミドへのシステインチオール付加を経たランチオニンの製造

この戦略のいくつかの変法を実行することが可能である。樹脂結合セリンを、ブロム化－デヒドロブロム化－チオール付加シークエンス、かまたはジスクシンイミジルカーボネートによる脱水、続いてのチオール付加、を使用して樹脂上にランチオニン環を製造するために使用することが可能である。アクリルアミドへのチオールの共役付加は詳細に示されており、そしてアクリルアミドへの２－メルカプトエタノールの付加についての参考文献が提供されている（Ｗａｋａｏら、日本公開特許公報ＪＰ０７３００４５２ Ａ２、１

９９５）。

【００９６】

３）アリールボロン酸およびチロシンの分子内環化からのジアリールエーテルまたはジアリールアミン結合

酢酸第２銅存在下、空気雰囲気下、室温、ジクロロメタン中で、塩基としてピリジンかまたはトリエチルアミンを使用し、非対称ジアリールエーテルおよび関連するアミンを好収率（９８％ほどの高さ）で提供する、アリールボロン酸とフェノール、アミンおよびヘテロ環式アミンとの反応が報告されている（Ｅｖａｎｓ，Ｄ．ら、１９９８．Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔ．、３９：２９３７－２９４０；Ｃｈａｎ，Ｄ．ら、１９９８．Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔ．、３９：２９３３－２９３６；Ｌａｍ，Ｐ．ら、１９９８．Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔ．、３９：２９４１－２９４４）。フェノール成分としてＮ－保護チロシン誘導体の場合も、収率は９８％もの高さであった。このことは、アミノ酸アミド（ペプチド）は転換に対して安定であること、および収率が高いことが期待される。ラクタムへのペプチドの容易な分子内環化を考慮した、分子内反応の前例が存在しており、分子内ビアリールエーテル形成はＳＮＲｒ反応、そして高希釈条件下または樹脂上、ここにおいて偽希釈効果が高希釈条件を模倣している、での分子内環化反応の普遍性に基づいていた。

【００９７】

４）ペプチドアルデヒドとシステイン部分の分子内反応を経た、チアゾリジン結合での環状ペプチドの形成

用いることができる別のアプローチには、適切に位置された隣接アミノメルカプタン官能性（通常、線状配列の末端の、または例えば、リジンの側鎖窒素を経て配列に繋ぎ止められたシステインの配置から誘導される）およびアルデヒド官能性の分子内環化が含まれて、２環式ペプチドの形成を生じるチアゾリジンを提供し、その１つの環は主鎖中の残基により形成された環であり、そして第２の環はチアゾリジン環で存在している。スキーム２（図４）は例を提供している。必要とされるアルデヒド官能性は、適切に位置された隣接アミノアルコール官能基のメタ過ヨウ素酸ナトリウム切断により発生することが可能であり、それは、リジン部分の側鎖アミノ基への付加物により、鎖へ繋ぎ止められている非保護セリンとして存在することが可能である。いくつかの場合において、必要とされるアルデヒド官能基は、鎖のＣ末端またはＮ末端での、保護アルデヒド誘導体のアンマスキングにより発生する（Ｂｏｔｔｉ，Ｐ．ら、１９９６．Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．、１１８：１００１８－１００３４）。

【００９８】

５）ペンダントアミノ基と樹脂上のカルボキシル基の分子内環化に基づいたラクタム

大環状ペプチドは、頭－尾によるかまたはペンダント基環化によるラクタム形成により製造することが可能である。基本的戦略は、選択的に除去することが可能なアミン保護基およびカルボキシ保護基が存在する、完全に保護されたペプチドを製造することである。直交保護スキームが開発されている。開発された方法の内、アリル、トリチルおよびＤｄｅ法がほとんど用いられてきた（Ｍｅｌｌｏｒら、Ｆｍｏｃ固相合成：実践アプローチ中、「修飾されたペプチドの合成」、ＷｈｉｔｅおよびＣｈａｎ（監修）（オックスフォード大学出版、ニューヨーク、２０００）、第６章、ｐｐ．１６９－１７８）。Ｄｄｅアプローチは、カルボン酸官能基（Ｄｍａｂエステル）およびアミノ基（Ｄｄｅ基）の両方に類似の保護基を利用するので、興味を引かれる。両方ともＤＭＦ中、室温にて、２～１０％ヒドラジンで除去される。もしくは、Ｄｄｅをアミノ基に対して使用でき、そしてアル基をカルボキシルに対して使用できる。

【００９９】

標準ペプチドカップリング試薬（ＨＡＴＵ、ＰｙＢＯＰその他のごとき）を経る分子内カップリングにより利用できるラクタム官能基は、ジスルフィド結合の代用物として作用することが可能である。Ｄｄｅ／Ｄｍａｂアプローチはスキーム３（図５）に示されている。

【０１００】
従って、例えば、Ｄｄｅ保護リジンおよびＤｍａｂエステルを含んでいる線状配列は、低い充填での（～０．１－０．２ミリモル／ｇ）Ｔｅｎｔａｇｅｌに基づいたＲｉｎｋアミド樹脂上で製造することが可能である。ヒドラジンによる両方の官能基の脱保護、続いての樹脂上での環化により、所望の生成物を得る。続いて、樹脂からの切断および精製も実施することができる。ペプチドのＮ末端の官能化のためには、トランス－４－（ｉｖ－Ｄｄｅ）メチルアミノシクロヘキサンカルボン酸または４－（ｉｖ－Ｄｄｅ）メチルアミノ安息香酸のごときジアミノ酸が必要とされることが理解されている。代替のシナリオは、樹脂からの切断の間、分子内ラクタム形成に安全な捕捉法を用いることである。
【０１０１】
６）オレフィンメタセシス（ｍｅｔａｔｈｅｓｉｓ）に基づいた環状ペプチド
Ｇｒｕｂｂｓ反応（スキーム４、図６）は、オレフィン結合のメタセシス／環化を含んでいる（Ｓｃｈｕｓｔｅｒら、１９９７．Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄｎ Ｅｎｇｌ．、３６：２０３６－２０５６；Ｍｉｌｌｅｒら、１９９６．Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．、１１８：９６０６－９６１４）。もし出発物質がジオレフィン１６であれば、得られる生成物は環状化合物１７であろうことが容易にわかる。本反応は、オレフィン官能化ペプチドからの環の創造に応用されてきた（Ｐｅｒｎｅｒｓｔｏｒｆｅｒら、１９９７．Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．、２０：１９４９－５０；Ｃｌａｒｋら、１９９９．Ｃｈｅｍ．Ｅｕｒ．Ｊ．、５：７８２－７９２；Ｂｌａｃｋｗｅｌｌら、１９９８．Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．、３７：３２８１－３２８４；Ｒｉｐｋａ，Ａ．ら、１９９８．Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、８：３５７－３６０；Ｍｉｌｌｅｒら、１９９６．Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．、１１８：９６０６－９６１４；Ｃｌａｒｋら、１９９５．Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．、１１７：１２３６４－１２３６５；Ｍｉｌｌｅｒら、１９９５．Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．、１１７：５８５５－５８５６）。ジスルフィド結合含有ペプチドの代用物としての炭素－架橋環状ペプチドを製造するため、Ｃ－アリル化アミノ酸かまたは可能であればＮ－アリル化アミノ酸を製造し、そしてそれらをこの反応に用いることが可能である。
【０１０２】
また、オレフィン基を有する新規化合物も製造することが可能である。オレフィン含有テザー（ｔｅｔｈｅｒ）によるチロシンヒドロキシルの官能化は１つの選択肢である。リジンε－アミノ基は別の選択肢であり、例えば、アシル化部分の一部としてのオレフィン含有単位という利点を有している。もし代わりにリジン側鎖アミノ基がオレフィン含有テザーでアルキル化されていたら、それは同様にレポーターのための付着点として機能することが可能である。リジン、オルニチンまたはジアミノプロピオン酸側鎖アミノ基のためのアシル化剤としての５－ペンタン酸の使用は、別の可能性である。オレフィン含有テザーの長さはまた、構造活性相関を探求するために変化させることも可能である。
【０１０３】
ペプチド配列の操作
本発明の範囲内の他の修飾には、同様のまたは改良された生物学的特質を有するペプチドを得ることが期待できる、ペプチド配列の操作が含まれる。これらには、アミノ酸転位（配列中のアミノ酸の交換）、本来の配列または修飾された本来の配列に代えたレトロ－インヴェルソペプチド、ペプトイドおよびレトロ－インヴェルソペプトイド配列が含まれる。特異的残基がペプチド性の代わりにペプトイドである構造（それは完全にペプチド性でも完全にペプトイドでもないハイブリッド分子を生じる）も同様に予測される。
【０１０４】
リンカー
追加として、本発明内の修飾には、結合部分または結合ポリペプチドの標的化配列と、検出可能標識または治療剤の間に、リンカーまたはスペーサーの導入が含まれる。例えば、こうしたリンカー／スペーサーの使用は、結合ペプチドの関連した特性を改良することが可能である（例えば血清安定性を増加させる、その他）。これらのリンカーには、限定

されるわけではないが、置換または非置換アルキル鎖、ポリエチレングリコール誘導体、アミノ酸スペーサー、糖、または当該技術分野においては普通の脂肪族または芳香族スペーサーが含まれる。

【０１０５】

例えば、適したリンカーには、ホモ２官能性およびヘテロ２官能性架橋分子が含まれる。ホモ２官能性分子は、同一である、少なくとも２つの反応性官能基を有している。ホモ２官能性分子上の反応性官能基には、例えば、アルデヒド基および活性エステル基が含まれる。アルデヒド基を有しているホモ２官能性分子には、例えば、グルタルアルデヒドおよびスベルアルデヒドが含まれる。

【０１０６】

少なくとも２つの活性エステルを有しているホモ２官能性リンカー分子は、ジカルボン酸およびＮ－ヒドロキシスクシンイミドのエステルを含んでいる。こうしたＮ－スクシンイミジルエステルのいくつかの例には、ジスクシンイミジル　スベラートおよびジチオ－ビス－（スクシンイミジル　プロピオナート）およびナトリウムおよびカリウム塩のごとき、その可溶性ビス－スルフィン酸およびビス－スルホン酸塩が含まれる。

【０１０７】

ヘテロ２官能性リンカー分子は、少なくとも２つの異なった反応性基を有する。反応性ジスルフィド結合を含んでいるヘテロ２官能性試薬のいくつかの例には、Ｎ－スクシンイミジル　３－（２－ピリジル－ジチオ）プロピオナート（Ｃａｒｌｓｓｏｎら、１９７８．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．、１７３：７２３－７３７）、ナトリウム　Ｓ－４－スクシンイミジルオキシカルボニル－α－メチルベンジルチオスルファートおよび４－スクシンイミジルオキシカルボニル－α－メチル－（２－ピリジルジチオ）トルエンが含まれる。Ｎ－スクシンイミジル　３－（２－ピリジル－ジチオ）プロピオナートが好ましい。チオール基と反応する２重結合を有している反応性基を含むヘテロ２官能性試薬のいくつかの例には、スクシンイミジル　４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシラートおよびスクシンイミジル　ｍ－マレイミドベンゾアートが含まれる。他のヘテロ２官能性分子には、スクシンイミジル　３－（マレイミド）プロピオナート、スルホスクシンイミジル　４－（ｐ－マレイミド－フェニル）ブチラート、スルホスクシンイミジル　４－（Ｎ－マレイミドメチル－シクロヘキサン）－１－カルボキシラート、マレイミドベンゾイル－５Ｎ－ヒドロキシ－スクシンイミドエステルが含まれる。

【０１０８】

さらに、上記の分子および／または部分の組み合わせであるリンカーもまた、ペプチドの特性に特別な利点を与えるために用いることが可能である。リンカーを有する脂質分子は、超音波バブル、リポソームまたは凝集に基づいた構築物の処方を可能にするために結合させることができる。こうした構築物は、診断レポーター、治療剤（例えば、治療のための化学的「弾頭」）またはこれらの組み合わせの標的化および搬送のための剤として用いることが可能である。

【０１０９】

ｃＭｅｔ結合ポリペプチドの多量体構築物

本発明の１以上のｃＭｅｔ結合ポリペプチドの２量体、多量体または重合体を用いている構築物もまた企図される。実際、低効力ペプチドまたは小分子の結合を、２量体および多量体の形成により実質的に増加させることが可能であるという、十分な文献的証拠がある。それ故、２量体および多量体構築物（均質および異質の両方）は本発明の範囲内である。２量体構築物中のポリペプチド配列は、そのＮまたはＣ末端で、または適切に配置されたリジン部分のＮ－イプシロン窒素（またはペンダントオキシアミノまたは他の求核基のごとき選択的に誘導体化可能基を有している別の官能基）で付着することが可能であり、または、適切な付着化学を用い、１以上のリンカー（例えば、本明細書において議論されたリンカー）を経て連結することが可能である。このカップリング化学は、アミド、尿素、チオ尿素、オキシムまたはアミノアセチルアミド（クロロまたはブロモアセトアミド誘導体から、しかしそのように限定されるわけではない）を含むことが可能である。例え

ば、本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチドも２量体または多量体構築物を製造するための方法は、少なくとも以下に議論される方法を含んでいる。

【０１１０】

方法Ａ

完全保護ｃＭｅｔ結合ペプチドは、Ｅｌｌｍａｎ型安全捕捉樹脂上、自動化または手動Ｆｍｏｃペプチド合成プロトコールを使用して組み上げることが可能である（Ｂａｃｋｅｓら、１９９６．Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．、１１８：３０５５－５６）。別に、ペプチド合成の分野では既知の標準法を使用して、ジ－リジン誘導体を２－クロロトリチル樹脂上で構築することが可能である（Ｆｉｅｌｄｓら、合成ペプチド、ユーザーガイド中、「固相合成の原理および実際」、Ｇｒａｎｔ、監修（Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ Ｃｏ．、ニューヨーク、１９９２）、第３章、ｐｐ．７７－１８３；Ｂａｒｌｏｓら、Ｆｍｏｃ固相ペプチド合成中、「コンバージェント（ｃｏｎｖｅｒｇｅｎｔ）ペプチド合成」、Ｃｈａｎ，Ｗ．Ｃ．およびＷｈｉｔｅ，Ｐ．Ｄ．、監修（オックスフォード大学出版、ニューヨーク、２０００）、第９章、ｐｐ．２１５－２２８）。側鎖保護基の除去なしの２－クロロトリチル樹脂からの遊離、カルボキシル基の活性化、そして任意のアミン官能化標識基へのカップリングは、ジ－リジン誘導体を提供し、その保護ペンダント窒素原子はアンマスクできて、２つの遊離アミノ基を与える。前述の安全捕捉樹脂を活性化し、そして所望のＮ－脱保護標識基－官能化ジ－リジン誘導体を活性化安全捕捉樹脂へ加える。ペンダントアミノ基は安全捕捉樹脂－結合ペプチドのカルボキシ末端によりアシル化され、それはここで樹脂から脱離され、そしてジ－リジン構造の肝要な部分に相当している。ジ－リジン構築物のアミノ基の完全な反応を保証するため、大過剰の安全捕捉樹脂－結合ペプチドを用いることが可能である。このスキームにおける反応パートナーの比の最適化は、収率を最適化する。ｃＭｅｔ結合ペプチド上の保護基は、トリフルオロ酢酸に基づいた切断プロトコールを用いて除去する。

【０１１１】

１つの構築物に２以上のｃＭｅｔ結合ペプチドが存在する、２量体および多量体構築物の合成は容易に達成される。直交保護スキーム（１つの窒素上のアリルオキシカルボニル基および他のものの上にあるＦｍｏｃ基、または、例えば、他のものの上にあるｉＶ－Ｄｄｅ保護基と共にＦｍｏｃ基を用いて）を、前に記載したジ－リジン誘導体のペンダント窒素原子を識別するために用いることが可能である。アミノ基の１つのアンマスキング、続いての、生じた生成物と前記のような活性化安全捕捉樹脂－結合ｃＭｅｔ結合ペプチドのカップリングは、結合された単一のｃＭｅｔ結合ペプチドを有しているジ－リジン構築物を提供する。第２の保護基の除去は、残っている窒素をアンマスクする（Ｍｅｌｌｏｒら、Ｆｍｏｃ固相ペプチド合成中、「修飾されたペプチドの合成」、Ｃｈａｎ，Ｗ．Ｃ．およびＷｈｉｔｅ，Ｐ．Ｄ．監修（オックスフォード大学出版、ニューヨーク、２０００）、第６章、ｐｐ．１６９－１７６）。生じた生成物は、完全に保護されたホモ２量体構築物を提供するため、別のｃＭｅｔ結合ペプチドを有している第２の安全捕捉樹脂と反応させることが可能であり、それはトリフルオロ酢酸で保護基の除去後、所望の物質を提供する。

【０１１２】

方法Ｂ

ｃＭｅｔ結合ペプチドを、通常Ｆｍｏｃペプチド合成プロトコールを用いる、自動化または手動ペプチドカップリング法により、Ｒｉｎｋ－アミド樹脂上で組み立てる。ペプチドは、リンカーで官能化したＣ末端またはＮ末端、または、例えば、リジン部分のε－アミノ基のごとき追加の求核基を有することができる、リンカー－標識基構築物を有することが可能である。保護基の切断は、ペプチドの性質に依存した適切な調節剤と共にトリフルオロ酢酸を用いて達成される。完全脱保護ペプチドは次ぎに、大過剰の、商業的に入手可能なグルタール酸　ビス－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル（Ｔｙｇｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｉｎｃ．、プリンストン，ＮＪ）のごとき、２官能性親電子剤と反応させる。生じたモノアミド化物、グルタール酸のモノ－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミジル

エステルは次ぎに、追加の当量の同一ペプチド、または当量の異なったｃＭｅｔ結合ペプチドで処理する。生じた物質のＨＰＬＣによる精製で、適した標識基を有する所望のホモ２量体構築物が得られる。

【０１１３】

方法Ｃ

モジュラー（ｍｏｄｕｌａｒ）スキームを、前に定義したような適した標識基を有する２量体またはより高度な多量体を製造するために用いることが可能である。簡単な例示においては、ｆｍｏｃ部分を除去するため、ｆｍｏｃ－リジン（ｉＶ－Ｄｄｅ）Ｒｉｎｋアミド樹脂をピペリジンで処理する。次ぎに、ビオチン、５－カルボキシフルオレセインまたはＮ，Ｎ－ジメチル－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（Ｏ－ｔ－Ｂｕ）－Ｃｙｓ（Ａｃｍ）－Ｇｌｙ－ＯＨのごとき、標識官能基を窒素原子へカップリングする。樹脂は次ぎに、ｉＶ－Ｄｄｅ基を除去するために、ヒドラジンで処理する。十分に洗浄後、樹脂に結合された１官能化ジクロロトリアジンを提供するため、ＤＭＦ、ＮＭＰまたはジクロロメタンのごとき適した溶媒中、樹脂を塩化シアヌルおよびジイソプロピルエチルアミンのごときヒンダード（ｈｉｎｄｅｒｅｄ）塩基で処理する。続いての２当量のｃＭｅｔ結合ペプチドによる、残存する塩素原子の連続的置換は、樹脂－結合ホモ－２量体標識基－官能化構築物を提供する（Ｆａｌｏｒｎｉ，Ｍ．ら、１９９８．Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔ．、３９：７６０７－７６１０；Ｊｏｈｎｓｏｎ，Ｃ．ら、１９９８．Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ、５４：４０９７－４１０６；Ｓｔａｎｋｏｖａ，Ｍ．およびＬｅｂｌ，Ｍ．、１９９６．Ｍｏｌ．Ｄｉｖｅｒｓ．、２：７５－８０）。入来ペプチドは、状況の正当な理由として保護されまたは保護されないことが可能である。保護基の切断は、前述のようなトリフルオロ酢酸に基づいた脱保護試薬を用いることにより達成され、そして所望の物質を高速液体クロマトグラフィーにより精製する。

【０１１４】

これらの方法の各々において、多量体の多重性を増加させるため、リジン誘導体を連続的に用いることができることが理解されている。ｃＭｅｔ結合ペプチド間の距離を変化させるための足場として働くために、構築物の剛性を増加させるために（お互いのおよびレポーターに関するｃＭｅｔ結合ペプチドの動きおよび相対的位置を束縛することにより）、必要とされる数のマスクされた、または直交的に保護された窒素原子を有する、関連した、より硬い分子の使用は、完全に方法Ａ－Ｃ、および本明細書に記載された全ての他の方法の範囲内である。上で引用された参考文献は、その全体が本明細書において援用される。

【０１１５】

ｃＭｅｔ結合ポリペプチドおよび多量体ペプチド構築物の使用

本発明のｃＭｅｔ結合部分はまた、細胞増殖に付随する疾患状態（例えば、過剰増殖、例えば、癌）を含む、多様な疾患状態の処置においても有用性を有している。本発明のｃＭｅｔ結合部分（例えば、ポリペプチドおよび多量体ポリペプチド構築物）はそれ自身を治療剤として使用することが可能であり、または、細胞増殖の部位を含む、ｃＭｅｔ発現細胞へ、１以上の治療剤（例えば、化学治療剤、放射線治療剤、遺伝子物質その他）を局在化するために使用できる。ｃＭｅｔをアッセイするまたは画像化する任意の方法も用いることが可能である。本発明に従ったｃＭｅｔ結合部分は、インビトロまたはインビボでのｃＭｅｔの検出および／または画像化に、そして特に、本明細書において説明したように、ＨＧＦおよびｃＭｅｔが本質的に関与する血管新生部位の検出および／または画像化に有用である。

【０１１６】

インビトロ

溶液中でのＨＧＦまたはｃＭｅｔの検出のため、本発明に従った結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を検出可能に標識（例えば、蛍光的に標識、酵素的に標識または放射性または常磁性金属での標識）することが可能であり、次ぎに、溶液と接触させ、そしてその後、結合ポリペプチドおよびｃＭｅｔ標的間の複合体の形成を検出すること

が可能である。例として、蛍光的に標識されたｃＭｅｔ結合ペプチドを、インビトロｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体検出アッセイに使用することが可能であり、ここにおいて、結合が起こることを可能にする条件下、ｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体が試験されるべき溶液へ、ペプチドを加える。蛍光的に標識されたｃＭｅｔ結合ペプチドおよびｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体標的間の複合体は、例えば、遊離ペプチドと比較して、ｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体－結合ペプチドから生じる増強された蛍光偏光を測定することにより、検出するおよび定量することが可能である。

【０１１７】

もしくは、サンドイッチ型「ＥＬＩＳＡ」アッセイを使用することが可能であり、ここにおいては、ｃＭｅｔ結合ポリペプチドを、プラスチックチューブまたはウェルのごとき固形支持体上に固定し、次ぎにｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体標的を含んでいると疑われる溶液を固定化された結合部分と接触させ、結合していない物質を洗い流し、そして複合体形成したポリペプチドを、ｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体を認識するモノクローナル抗体のごとき適した検出試薬を使用して検出する。モノクローナル抗体は、当該技術分野で既知の慣用的手段により検出可能であり、例えば、放射性標識され、西洋ワサビペルオキシダーゼなどのごとき酵素と結合され、または蛍光的に標識されるなど、検出可能なように標識されている。

【０１１８】

溶液中または溶液からの、可溶性ｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体の検出または精製のため、本発明の結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物は、クロマトグラフ支持体または他のマトリックス物質のごとき固形物質上に固定化することが可能であり、次ぎに、結合ポリペプチド／ｃＭｅｔ複合体の形成に適した条件下、固定化された結合体に溶液を添加または接触させることが可能である。溶液の非結合部分は除去可能であり、そして複合体は、例えば、抗ＨＧＦまたは抗ＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体抗体、または抗結合ポリペプチド抗体を使用して検出することが可能であり、またはｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体標的を、適切な溶離条件で結合部分から放出させることも可能である。

【０１１９】

細胞増殖の生物学およびそれを開始するおよび維持することにおけるＨＧＦおよびｃＭｅｔの役割は、多くの研究者により探求されてきており、そして研究および開発の活性な分野であり続けている。こうした研究および開発の推進において、大量のｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体を純粋な形で精製する方法が望ましく、そして本発明に従った結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物は、前述の一般精製方法論を使用するその目的には特に有用である。

【０１２０】

インビボ
画像診断

本発明に従ったポリペプチドおよび多量体ポリペプチド構築物の特に好ましい利用法は、例えば、過剰増殖を示す新生物腫瘍のごとき、ｃＭｅｔ発現組織の視覚的に読み取り可能な画像を作成することである。本明細書において開示されたｃＭｅｔ結合ポリペプチドおよび多量体ポリペプチド構築物は、ポリペプチドを診断検出に適切な標識、所望によりリンカー、と結合することにより、画像化試薬へ変換することが可能である。好ましくは、他の血清タンパク質よりもｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔに対してより高い特異性を示しているペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を、用いられるべき検出方法論に適切な標識へ結合または連結する。例えば、ｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体結合ポリペプチドは、リンカーとまたはリンカーなしで磁気共鳴映像法（ＭＲＩ）に適した常磁性キレートと、Ｘ線、ポジトロン放出断層撮影（ＰＥＴ）またはシンチグラフィー画像に適した放射性標識と、超音波検出に適した超音波造影剤（例えば、安定化マイクロバブル、マイクロバルーン、ミクロスフェアーまたは気体充填「リポソーム」として称されてきたもの）と、または光学画像化色素と結合することが可能である。

【０１２１】
適したリンカーは本明細書に議論したものを含むことができ、置換または非置換アルキル鎖、アミノ酸鎖（例えば、ポリグリシン）、ポリエチレングリコール、ポリアミド、および当該技術分野で既知の他のリンカーが含まれる。
【０１２２】
一般に、検出可能なように標識されたｃＭｅｔ結合部分を使用する技術は、標識が患者の体の外側で検出可能である信号を発生するという前提に基づいている。例えば、検出可能なように標識されたｃＭｅｔ結合部分が、例えば、過剰増殖を検出することが望ましい患者に投与された場合、ｃＭｅｔに対するｃＭｅｔ結合部分の高親和性が、結合部分が過剰増殖の部位へ結合し、そしてその部位に標識が蓄積することを起こす。標識された結合部分が過剰増殖の部位に局在化するために十分な時間が与えられる。標識されたペプチドを、使用された標識の型に従って異なるであろう走査装置により検出し、そして次ぎに、信号を増殖部位の画像へ変換する。
【０１２３】
別の態様において、検出可能標識または放射線治療構築物により、ｃＭｅｔ結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物を直接的に標識することよりもむしろ、本発明の１以上のペプチドまたは構築物を、例えば、アビジン、ビオチンまたは検出可能標識または放射治療剤を結合するであろう抗体または抗体断片と結合することが可能である。例えば、１以上のｃＭｅｔ結合ペプチドを、ｃＭｅｔ発現細胞へのインビボ結合のために、ストレプトアビジン（多価結合を発生させる可能性を有する）と結合することが可能である。非結合標的化構築物を体内から排出した後、ビオチニル化検出可能標識または放射線治療構築物（例えば、放射性金属と複合体形成したキレート分子）を注入でき、そして標的化構築物が結合されている部位で濃縮されるであろう。いくつかの状況において、このアプローチは、検出可能標識の投与後、画像化が行えるまでに必要とされる時間を短縮することが可能である。それはまた、標的部位における信号雑音比を増加させることができ、そして必要とされる検出可能標識または放射治療構築物の用量を減少させることができる。このことは、骨髄、腎臓および肝臓のごとき、体内の正常ではあるが放射線感受性である部位へ送達される放射線の量を減少させるので、放射性標識または放射治療剤が使用される場合に特に有用である。しばしばプレ標的化または２工程と称されるこのアプローチ、または３工程アプローチは、本明細書において援用される、Ｑ．Ｊ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．、４０：２３４－２５１（１９９６）において、Ｓ．Ｆ．Ｒｏｓｅｂｒｏｕｇｈにより概説されている。
【０１２４】
Ａ．磁気共鳴映像法
本発明のｃＭｅｔ結合部分は、ＭＲＩで使用のための造影剤を形成するため、常磁性金属キレートと都合よく結合可能である。好ましい常磁性金属イオンは、２１～２９、４２、４４または５７～８３の原子番号を有している。これは、１つ、そしてより好ましくは５以上、の不対電子、そして少なくとも１．７ボーア磁子の磁気モーメントを有する、遷移金属またはランタニド系列のイオンを含んでいる。好ましい常磁性金属には、限定するわけではないが、クロム（ＩＩＩ）、マンガン（ＩＩ）、マンガン（ＩＩＩ）、鉄（ＩＩ）、鉄（ＩＩＩ）、コバルト（ＩＩ）、ニッケル（ＩＩ）、銅（ＩＩ）、プラセオジム（ＩＩＩ）、ネオジム（ＩＩＩ）、サマリウム（ＩＩＩ）、ガドリニウム（ＩＩＩ）、テルビウム（ＩＩＩ）、ジスプロシウム（ＩＩＩ）、ホルミウム（ＩＩＩ）、エルビウム（ＩＩＩ）、ユーロピウム（ＩＩＩ）およびイッテルビウム（ＩＩＩ）、クロム（ＩＩＩ）、鉄（ＩＩＩ）およびガドリニウム（ＩＩＩ）が含まれる。３価カチオン、Gd^{3+}は、その高い緩和度および低い毒性のためにＭＲＩ造影剤に特に好ましく、患者による金属の望ましくない代謝分解を最小にする、１つのみの生物学的に利用できる酸化状態でしか存在しないというさらなる利点も有している。別の有用な金属は、比較的安価であるCr^{3+}である。Ｇｄ（ＩＩＩ）キレートは１９８８年から臨床および放射線学的ＭＲ応用に使用されてきており、そして約３０％のＭＲ試験で、ガドリニウムに基づいた造影剤が現在用

いられている。

【０１２５】

従業者は、細胞増殖を検出するために必要とされる用量に従って、そして対象への金属の毒性のごとき他の因子を考慮して金属を選択するであろう。Ｔｗｅｅｄｌｅら、核磁気共鳴映像法（第２版）、第１巻、Ｐａｒｔａｉｎら、監修（Ｗ．Ｂ．Ｓａｕｎｄｅｒｓ Ｃｏ．１９８８）、ｐｐ．７９６－７９７、を参照されたい。一般に、個々の金属に対して望まれる用量は、体内分布により改変されたその緩和度、金属の薬物動態学および代謝に比例するであろう。

【０１２６】

常磁性金属キレート剤は、常磁性金属のリガンドとして働く１以上の極性基を有している分子であり、常磁性金属と複合体形成する。適したキレート剤が当該技術分野で知られており、そしてメチレンホスホン酸基、メチレンカルボヒドロキサミン酸基、カルボキシエチリデン基またはカルボキシメチレン基を有する酸が含まれる。キレート剤の例には、限定されるわけではないが、ジエチレントリアミン５酢酸（ＤＴＰＡ）、１，４，４，７，１０－テトラアザシクロ－テトラデカン－１，４，７，１０－４酢酸（ＤＯＴＡ）、１－置換１，４，７，－トリカルボキシメチル－１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン（ＤＯ３Ａ）、エチレンジアミン４酢酸（ＥＤＴＡ）および１，４，８，１１－テトラ－アザシクロテトラデカン－１，４，８，１１－４酢酸（ＴＥＴＡ）、が含まれる。追加のキレート形成リガンドは、エチレン　ビス－（２－ヒドロキシ－フェニルグリシン）（ＥＨＰＧ）および５－Ｃｌ－ＥＨＰＧ、５－Ｂｒ－ＥＨＰＧ、５－Ｍｅ－ＥＨＰＧ、５－ｔ－Ｂｕ－ＥＨＰＧおよび５－ｓｅｃ－Ｂｕ－ＥＨＰＧを含むその誘導体；ベンゾジエチレントリアミン５酢酸（ベンゾ－ＤＴＰＡ）およびジベンゾ－ＤＴＰＡ、フェニル－ＤＴＰＡ、ジフェニル－ＤＴＰＡ、ベンジル－ＤＴＰＡおよびジベンジル－ＤＴＰＡを含むその誘導体；ビス－２（ヒドロキシベンジル）－エチレン－ジアミン２酢酸（ＨＢＥＤ）およびその誘導体；少なくとも３つの炭素原子、より好ましくは少なくとも６つ，そして少なくとも２つのヘテロ原子（Ｏおよび／またはＮ）を含む大環状化合物の部類、その大環状化合物は、１つの環、またはヘテロ環要素で一緒に連結された２つまたは３つの環から成ることができ、例えば、ベンゾ－ＤＯＴＡ、ジベンゾ－ＤＯＴＡおよびベンゾ－ＮＯＴＡ（ここで、ＮＯＴＡは１，４，７－トリアザシクロノナン　Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’－３酢酸である）、ベンゾ－ＴＥＴＡ、ベンゾ－ＤＯＴＭＡ（ここで、ＤＯＴＭＡは１，４，７，１０－テトラアザシクロテトラデカン－１，４，７，１０－テトラ（メチル４酢酸）である）およびベンゾ－ＴＥＴＭＡ（ここで、ＴＥＴＭＡは１，４，８，１１－テトラアザシクロテトラデカン－１，４，８，１１－（メチル４酢酸）である）；１，３－プロピレン－ジアミン４酢酸（ＰＤＴＡ）およびトリエチレンテトラアミン六酢酸（ＴＴＨＡ）の誘導体；１，５，１０－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’－トリス（２，３－ジヒドロキシベンゾイル）－トリカテコラート（ＬＩＣＡＭ）；および１，３，５－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’－トリス（２，３－ジヒドロキシベンゾイル）アミノメチルベンゼン（ＭＥＣＡＭ）。本発明での使用に好ましいキレート剤はＤＴＰＡであり、そしてＤＯ３Ａの使用が特に好ましい。本発明により企図された代表的キレート剤およびキレート形成基は、ＷＯ９８／１８４９６号、ＷＯ８６／０６６０５号、ＷＯ９１／０３２００号、ＷＯ９５／２８１７９号、ＷＯ９６／２３５２６号、ＷＯ９７／３６６１９号、ＰＣＴ／ＵＳ９８／０１４７３号、ＰＣＴ／ＵＳ９８／２０１８２号およびＵＳ４，８９９，７５５号、ＵＳ５，４７４，７５６号、ＵＳ５，８４６，５１９号およびＵＳ６，１４３，２７４号、これらの全ては本明細書において援用される、に記載されている。

【０１２７】

本発明に従うと、ＭＲＩ造影剤のキレート剤は、ｃＭｅｔ結合ポリペプチドへ結合されている。キレートの位置取りは、ｃＭｅｔ結合ポリペプチドの結合親和性または特異性を妨害しないように選択すべきである。好ましくは、キレートはＮ末端かまたはＣ末端のいずれかに付け加えられるであろう、しかしながら、キレートはまた配列内のどこにでも結合することも可能である。好適な態様において、遊離中央カルボン酸基を有しているキレ

ート剤（例えば、ＤＴＰＡ－Ａｓｐ（β－ＣＯＯＨ）－）ＯｔＢｕ）を、アミド結合の形成により、ペプチドのＮ末端へ結合させるのは容易である。キレートはまた、リンカーの助けにより、Ｃ末端へ結合させることも可能である。もしくは、適切なイソチオシアナート基を有するＤＴＰＡを、ペプチド配列内の任意の場所の遊離アミノ基へ連結する方法として、イソチオシアナート結合化学を用いることが可能である。

【０１２８】

一般に、ｃＭｅｔ結合部分は金属キレート剤（または他の検出可能標識）へ、直接または共有結合で結合することができ、または、限定ではないが、アミド、尿素、アセタール、ケタール、２重エステル、カルボニル、カルバメート、チオ尿素、スルホン、チオエステル、エステル、エーテル、ジスルフィド、ラクトン、イミン、ホスホリルまたはホスホジエステル結合；置換または非置換飽和または不飽和アルキル鎖；単一アミノ酸または異なったアミノ酸の線状、分枝または環状アミノ酸鎖（例えば、ｃＭｅｔ結合部分のＮまたはＣ末端の伸長）；誘導体化または非誘導体化ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリオキシエチレンまたはポリビニルピリジン鎖；置換または非置換ポリアミド鎖；誘導体化または非誘導体化ポリアミン、ポリエステル、ポリエチレンイミン、ポリアクリラート、ポリ（ビニルアルコール）、ポリグリセロールまたはオリゴサッカリド（例えば、デキストラン）鎖；交互ブロック共重合体；マロン酸、コハク酸、グルタール酸、アジピン酸およびピメリン酸；カプロン酸；単純ジアミンおよびジアルコール；本明細書において開示されている、任意の他のリンカー；または当該技術分野で知られている、任意の他の単純重合体性リンカー（例えば、ＷＯ９８／１８４９７号およびＷＯ９８／１８４９６号を参照されたい）でありうるリンカーを使用して、金属キレート剤へカップリングまたは結合することが可能である。好ましくは、リンカーの分子量はしっかりと制御することが可能である。分子量は、１００未満～１０００を超えるサイズの範囲であることが可能である。好ましくは、リンカーの分子量は１００未満である。加えて、本発明の画像化試薬のための有効な排泄経路を提供するため、インビボで生分解可能であるリンカーを利用することが望ましい。リンカー内のその位置に依存して、こうした生分解可能な官能性は、エステル、２重エステル、アミド、リン酸エステル、エーテル、アセタールおよびケタール官能性を含むことが可能である。

【０１２９】

一般に、こうしたリンカーを使用して、金属キレートおよびｃＭｅｔ結合部分を結合するためには、既知の方法を使用することが可能である（ＷＯ９５／２８９６７号、ＷＯ９８／１８４９６号、ＷＯ９８／１８４９７号および本明細書における議論）。ｃＭｅｔ結合部分は、アミド結合を経たＮまたはＣ末端を通して、例えば、金属キレートの金属配位主鎖窒素、または金属キレートそれ自身のアセテート腕へ連結することが可能である。本発明は、毒性を最小にするため、金属キレートが金属を強固に結合する能力を保持するという条件で、任意の位置でキレートを連結することを企図している。同様に、ｃＭｅｔ結合部分は、修飾または伸長がｃＭｅｔを結合するその能力を消去しないという条件で、金属キレートの付着のための座位を発生させるため、修飾または伸長することが可能である。

【０１３０】

本明細書の開示に従って調製されたＭＲＩ造影試薬は、同一の様式で慣用的ＭＲＩ造影試薬として使用することが可能である。過剰増殖の部位を画像化する場合、特定のＭＲ技術およびパルス系列が、バックグラウンド血液および組織に対する前記部位のコントラストを促進するために好ましいであろう。これらの技術には（限定されるわけではないが）、例えば、ファストスピンエコー系列（Ａｌｅｘａｎｄｅｒ，Ａ．ら、１９９８．Ｍａｇｎ．Ｒｅｓｏｎ．Ｍｅｄ．、４０：２９８－３１０）のごとき、血液を黒くするように探索するブラックブラッド（ｂｌａｃｋ　ｂｌｏｏｄ）血管造影法系列、およびフロー－スポイルドグラジエントエコー（ｆｌｏｗ－ｓｐｏｉｌｅｄ　ｇｒｒａｄｉｅｎｔ　ｅｃｈｏ）系列（Ｅｄｅｌｍａｎ，Ｒ．ら、１９９０．Ｒａｄｉｏｌｏｇｙ、１７７：４５－５０）が含まれる。これらの方法にはまた、血管新生腫瘍とバックグラウンド組織間のコン

トラストを増加させるであろう、インバージョン－リカバリープレペアード（ｉｎｖｅｒｓｉｏｎ－ｒｅｃｏｖｅｒｙ ｐｒｅｐａｒｅｄ）またはサチュレーション－リカバリープレペアード（ｓａｔｕｒａｔｉｏｎ－ｒｅｃｏｖｅｒｙ ｐｒｅｐａｒｅｄ）のごとき、コントラストの相違を増強するフロー非依存性技術も含まれる。最後に、マグネタイゼーション トランスファー プリパレーション（ｍａｇｎｅｔｉｚａｔｉｏｎ ｔｒａｎｓｆｅｒ ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ）もまたこれらの剤でコントラストを改良できる（Ｇｏｏｄｒｉｃｈ，Ｋ．ら、１９９６．Ｉｎｖｅｓｔ．Ｒａｄｉｏｌ．、３１：３２３－３２）。

【０１３１】

標識された試薬は、患者に注射可能組成物の形で投与する。ＭＲＩ造影剤の投与法は、好ましくは、非経口、静脈内、動脈内、くも膜下腔内、組織間腔または腔内である。活性血管新生を画像化するためには、静脈内または動脈内投与が好ましい。ＭＲＩには、対象は血管新生部位でのＭＲ信号を少なくとも１０％増強するために十分な造影剤の投与量を受けるであろうことが企図される。ｃＭｅｔ結合部分－含有ＭＲＩ試薬を注射した後、過剰増殖の部位の位置を決定するため、患者をＭＲＩ装置で走査する。治療的設定においては、過剰増殖（例えば、腫瘍）の部位を同定したうえで、殺腫瘍性剤または抗過剰増殖剤（例えば、ＨＧＦの阻害剤）が直ちに投与でき、必要に応じ、そして腫瘍退行または血管新生の停止を可視化するため、患者を続けて走査することが可能である。

【０１３２】

Ｂ．超音波画像

超音波が物質を通って伝達する場合、物質の音響特性は伝達の速度および物質の密度に依存するであろう。音響特性の変化は、異なった物質（固体、液体、気体）の界面で最も顕著であろう。超音波造影剤は、剤および周りの組織間の音響差異のため、強い音波反射物である。気体含有または気体発生超音波造影剤は、液体（例えば、血液）および気体含有または気体発生超音波造影剤間の音響差異のため、特に有用である。そのサイズのため、マイクロバブル、マイクロバルーンなどを含む超音波造影剤は、注射後、他の検出可能部分よりも血流中により長く留まることが可能である；標的化ｃＭｅｔ特異性超音波造影剤はそれ故、過剰増殖（例えば、癌）および血管新生の部位の優れた画像を示すことができる。

【０１３３】

本発明のこの側面において、ｃＭｅｔ結合部分は、超音波画像に有用である物質へ連結することが可能である。例えば、１以上のｃＭｅｔ結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物は、小胞（例えば、マイクロバブル、マイクロバルーン、ミクロスフェアーなど）または検出可能標識として機能する液体または気体含んでいる乳濁液（例えば、エコー源性気体またはエコー源性気体を発生することが可能な物質）を形成するために用いられる物質へ連結することが可能である。こうした小胞の調製のための物質には、界面活性剤、脂質、スフィンゴ脂質、オリゴ脂質、リン脂質、タンパク質、ポリペプチド、炭水化物および合成または天然の重合性物質が含まれる（ＷＯ９８／５３８５７号、ＷＯ９８／１８４９８号、ＷＯ９８／１８４９５号、ＷＯ９８／１８４９７号、ＷＯ９８／１８４９６号およびＷＯ９８／１８５０１号、その全体が本明細書において援用される）。

【０１３４】

安定化されたマイクロバブルの懸濁疫を含む造影剤（好適な態様）のためには、リン脂質、そして特に飽和リン脂質が好ましい。適したリン脂質の例には、１つまたは２つの（同一でも異なっていても）脂肪酸分子およびリン酸を有するグリセロールのエステルが含まれ、ここにおいてリン酸残基は順に、コリン、セリン、イノシトール、グリセロール、エタノールアミンおよびその他の基のごとき、親水性基へ結合されている。リン脂質中に存在する脂肪酸は、一般に、飽和されているかまたは１以上の不飽和を含むことができる、典型的には１２～２４の、好ましくは１４～２２の炭素原子を含んでいる、長鎖脂肪族酸である。適した脂肪酸の例は、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキドン酸、ベヘン酸、オレイン酸、リノール酸およびリノレン酸である。リン脂

質のモノエステルもまた「リソ」として当該技術分野で知られており、リン脂質を形成する。リン脂質のさらなる例は、ホスファチジン酸（即ち、グリセロール－リン酸と脂肪酸のジエステル）、スフィンゴミエリン（即ち、脂肪酸とのグリセロールジエステルの残基がセラミド鎖により置き換えられている、ホスファチジルコリン類似体）、カルジオリピン（即ち、１，３－ジホスファチジルグリセロールと脂肪酸のエステル）、ガングリオシド、セレブラシドなどである。

【０１３５】

本明細書において、用語「リン脂質」は、個別かまたは混合物として用いることが可能である、天然に存在する、半合成的にまたは合成的に製造された生成物を含んでいる。

天然に存在するリン脂質の例は、典型的には大豆または卵黄レシチンのごとき、天然レシチン（ホスファチジルコリン（ＰＣ）誘導体）である。

【０１３６】

合成リン脂質の例は、例えば、ジラウリロイル－ホスファチジルコリン（「ＤＬＰＣ」）、ジミリストイルホスファチジルコリン（「ＤＭＰＣ」）、ジパルミトイルホスファチジルコリン（「ＤＰＰＣ」）、ジアラキドイルホスファチジルコリン（「ＤＡＰＣ」）、ジステアロイルホスファチジルコリン（「ＤＳＰＣ」）、１－ミリストイル－２－パルミトイルホスファチジルコリン（「ＭＰＰＣ」）、１－パルミトイル－２－ミリストイルホスファチジルコリン（「ＰＭＰＣ」）、１－パルミトイル－２－ステアロイルホスファチジルコリン（「ＰＳＰＣ」）、１－ステアロイル－２－パルミトイルホスファチジルコリン（「ＳＰＰＣ」）、ジオレイルホスファチジルコリン（「ＤＯＰＣ」）、１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－エチルホスホコリン（エチル－ＤＳＰＣ）、ジラウリロイル－ホスファチジルグリセロール（「ＤＬＰＧ」）およびそのアルカリ金属塩、ジアラキドイルホスファチジルグリセロール（「ＤＡＰＧ」）およびそのアルカリ金属塩、ジミリストイルホスファチジルグリセロール（「ＤＭＰＧ」）およびそのアルカリ金属塩、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール（「ＤＰＰＧ」）およびそのアルカリ金属塩、ジステアロイルホスファチジルグリセロール（「ＤＳＰＧ」）およびそのアルカリ金属塩、ジオレオイルホスファチジルグリセロール（「ＤＯＰＧ」）およびそのアルカリ金属塩、ジミリストイルホスファチジン酸（「ＤＭＰＡ」）およびそのアルカリ金属塩、ジパルミトイルホスファチジン酸（「ＤＰＰＡ」）およびそのアルカリ金属塩、ジステアロイルホスファチジン酸（「ＤＳＰＡ」）、ジアラキドイルホスファチジン酸（「ＤＡＰＡ」）およびそのアルカリ金属塩、ジミリストイル　ホスファチジル－エタノールアミン（「ＤＭＰＥ」）、ジパルミトイル　ホスファチジル－エタノールアミン（「ＤＰＰＥ」）、ジステアロイル　ホスファチジル－エタノールアミン（「ＤＳＰＥ」）、ジミリストイル　ホスファチジルセリン（「ＤＭＰＳ」）、ジアラキドイル　ホスファチジルセリン（「ＤＡＰＳ」）、ジパルミトイル　ホスファチジルセリン（「ＤＰＰＳ」）、ジステアロイルホスファチジルセリン（「ＤＳＰＳ」）、ジオレオイルホスファチジルセリン（「ＤＯＰＳ」）、ジパルミトイル　スフィンゴミエリン（「ＤＰＳＰ」）およびジステアロイル　スフィンゴミエリン（「ＤＳＳＰ」）。好適な態様において、リン脂質部分の少なくとも１つは、図７Ａまたは７Ｂに示されたような、そして本明細書において援用されるＵＳ５，６８６，０６０号に記載されているような構造を有している。

【０１３７】

他の好ましいリン脂質には、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジン酸およびジパルミトイルホスファチジルセリンが含まれる。組成物はまたＰＥＧ－４０００および／またはパルミチン酸も含むことが可能である。本明細書に開示された、または当業者には既知の任意の気体を用いることが可能である；しかしながら、SF_6またはCF_4、C_3F_8およびC_4F_{10}のごとき不活性気体が好ましい。

【０１３８】

本発明の好ましい気体充填マイクロバブルは、例えば、以下の特許の任意の１つに記載されている方法によるごとく、当該技術分野では既知の手段により調製することが可能である：ＥＰ５５４２１３号、ＵＳ５，４１３，７７４号、ＵＳ５，５７８，２９２号、Ｅ

Ｐ７４４９６２号、ＥＰ６８２５３０号、ＵＳ５，５５６，６１０号、ＵＳ５，８４６，５１８号、ＵＳ６，１８３，７２５号、ＥＰ４７４８３３号、ＵＳ５，２７１，９２８号、ＵＳ５，３８０，５１９号、ＵＳ５，５３１，９８０号、ＵＳ５，５６７，４１４号、ＵＳ５，６５８，５５１号、ＵＳ５，６４３，５５３号、ＵＳ５，９１１，９７２号、ＵＳ６，１１０，４４３号、ＵＳ６，１３６，２９３号、ＥＰ６１９７４３号、ＵＳ５，４４５，８１３号、ＵＳ５，５９７，５４９号、ＵＳ５，６８６，０６０号、ＵＳ６，１８７，２８８号およびＵＳ５，９０８，６１０号、これらはその全体が本明細書において援用される。

【０１３９】

本発明の好ましいマイクロバブル懸濁液は、適した溶媒中、粗リン脂質の溶液の凍結乾燥または噴霧乾燥のごとき既知のプロセスを使用して、またはＥＰ５５４２１３号；ＵＳ５，４１３，７７４号；ＵＳ５，５７８，２９２号；ＥＰ７４４９６２号；ＥＰ６８２５３０号；ＵＳ５，５５６，６１０号；ＵＳ５，８４６，５１８号；ＵＳ６，１８３，７２５号；ＥＰ４７４８３３号；ＵＳ５，２７１，９２８号；ＵＳ５，３８０，５１９号；ＵＳ５，５３１，９８０号；ＵＳ５，５６７，４１４号；ＵＳ５，６５８，５５１号；ＵＳ５，６４３，５５３号；ＵＳ５，９１１，９７２号；ＵＳ６，１１０，４４３号；ＵＳ６，１３６，２９３号；ＥＰ６１９７４３号；ＵＳ５，４４５，８１３号；ＵＳ５，５９７，５４９号；ＵＳ５，６８６，０６０号；ＵＳ６，１８７，２８８号；およびＵＳ５，９０８，６１０号（これらはその全体が本明細書において援用される）に示されているプロセスを使用してリン脂質から調製することが可能である。最も好ましくは、リン脂質を有機溶媒に溶解し、そして溶液はリポソーム形成段階を通り越さないように乾燥する。このことは、親水性安定化剤物質または有機溶媒および水の両方に溶解する化合物と一緒に、リン脂質を適した有機溶媒に溶解し、そして溶液を凍結乾燥または噴霧乾燥することにより行うことが可能である。この態様において、親水性安定化剤の選択に使用された基準は、選択された有機溶媒におけるその溶解度である。水および有機溶媒に可溶な親水性安定化剤化合物の例は、例えば、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）、ポリビニルアルコール（ＰＶＡ）、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などのような重合体、リンゴ酸、グリコール酸、マルトールなどのである。こうした親水性化合物はまた、マイクロバブルサイズ分布の均質化の助けとなり、そして保存中の安定性を促進する。続いての乾燥を容易にするため、沸点が十分低くそして融点が十分に高い限りは、任意の適した有機溶媒が使用できる。典型的な有機溶媒には、例えば、ジオキサン、シクロヘキサノール、３級ブタノール、テトラクロロジフルオロエチレン（$C_2Cl_4F_2$）または２－メチル－２－ブタノールが含まれる。２－メチル－２－ブタノールおよび$C_2Cl_4F_2$が好ましい。

【０１４０】

水性坦体中での分散によるマイクロバブルの懸濁液の形成に先だって、凍結乾燥または噴霧乾燥したリン脂質粉末を、空気または別の気体と接触させる。水性坦体と接触した場合、その構造が破壊されていた粉末化リン脂質は、分散された気体のマイクロバブルを安定化するであろう、ラメラ化または積層化されたセグメントを形成するであろう。この方法は、長期保存した場合でも安定である、マイクロバブルの懸濁液の産生を可能にし、それは、乾燥積層化リン脂質を単純に溶解させることにより得られ、振盪または激しく撹拌することなく、所望の気体下で保存した。

【０１４１】

特別の保存条件で必要とされることが知られている、過分極した気体を含むことなしに、凍結乾燥した（lyophilized）または凍結乾燥した（freeze-dried）残渣は、その環境の温度調節を必要とせずに保存および輸送が可能であり、そして特に、病院および医者へ（こうした使用者が特別の保存設備を有していなくとも）、すぐに使える投与可能懸濁液への現場処方製剤として供給することが可能である。

【０１４２】

好ましくは、こうした場合において、それは２成分キットの形で提供することが可能である。２成分キットは、２つの別々の容器、または２重チャンバー容器を含むことができ

る。前者の場合、好ましくは、容器は慣用的セプタムシール化バイアルであり、ここにおいて、工程ｂ）の凍結乾燥残渣を含んでいるバイアルはセプタムで封じられており、それを通して坦体液体を、所望により前もって充填されている注射器を使用して注入することが可能である。こうした場合において、第２の成分の容器として使用された注射器はまた、次ぎに造影剤を注射するためにも使用する。後者の場合、好ましくは、２重チャンバー容器は２重チャンバー注射器であり、ひとたび凍結乾燥物／凍結乾燥残渣が再構築され、そして適切に混合または穏やかに振盪されれば、容器は造影剤を注射するために直接使用することが可能である。両方の場合において、容器の内容物内へ、十分なバブル形成エネルギーの適用を指示するまたは許すための手段を提供する。しかしながら、前に記述したように、安定化された造影剤において、気体マイクロバブルのサイズは、再構築された乾燥生成物へ適用される撹拌エネルギーの量とは実質的に無関係である。従って、一貫したマイクロバブルサイズを有する再現可能な製品を得るためには、穏やかな手による振盪のみが一般的に必要とされる。

【０１４３】

乾燥粉末と水性溶液を無菌様式で混合することができる、他の２チャンバー再構築システムもまた本発明の範囲内であることが、当業者により認められるであろう。こうしたシステムにおいて、製品の有効期間を長くするため、もし水不溶性気体および環境間に水を差し挟むことが可能であれば、特に有利である。造影剤を形成するために必要な物質がまだ容器中に存在しないとすると（例えば、リン脂質へ連結されるべき本発明のｃＭｅｔ結合部分は再構築の間に）、それはキットの他の成分と共に、好ましくはキットの他の成分との準備された配合を容易にするように適合された形または容器で、包装することが可能である。

【０１４４】

特別の容器、バイアルまたは接合システムは必要とされない；本発明は慣用的容器、バイアルおよびアダプターを使用することが可能である。ただ１つに要求は、栓および容器間の良好なシールである。それ故、シールの品質は第１級の関心事になる；シール完全性のどんな低下も、望ましくない物質がバイアルへ入ることを可能にできる。無菌性を保証することに加え、安全で適切な再構築を確かにするために周囲のまたは減じた圧力で栓をされた製品に対して、真空保持は必須である。栓はどうかといえば、それはポリ（イソブチレン）またはブチルゴムのごときエラストマーに基づいた化合物または多成分調合物であることができる。

【０１４５】

もしくは、マイクロバブルは、例えば、ＷＯ９７／２９７８３号に開示されているように、高撹拌速度で水性溶液中へ気体を浮遊させることによって調製することが可能である。マイクロバブルを調製するためのさらなるプロセスは、本明細書において援用される、同時係属中の欧州特許出願第０３００２３７３号に記載されており、それは、リン脂質存在下、水性媒質中で有機溶媒の乳濁液を調製し、そしてその後、随意の洗浄および／または濾過工程後に前記乳濁液を凍結乾燥することを含む。

【０１４６】

当業者には既知の添加物を、安定化マイクロバブルの懸濁液中に含ませることが可能である。例えば、ポリオキシプロピレングリコールおよびポリオキシエチレングリコールおよび類似の化合物ならびに多様なその共重合体を含む非薄膜形成表面活性剤；ミリスチル酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキドン酸またはその誘導体のごとき脂肪酸、エルゴステロール、フィトステロール、シトステロール、ラノステロール、トコフェロール、没食子酸プロピル、アスコルビルパルミタートおよびブチル化ヒドロキシトルエンを加えることができる。これらの非薄膜形成表面活性剤の量は、表面活性剤の総量の重量で通常５０％まで、しかし好ましくは０～３０％の間である。

【０１４７】

超音波応用において、リン脂質安定化マイクロバブルにより形成された造影剤は、例えば、注入されるリン脂質の量は、０．１～２００μｇ／ｋｇ体重の範囲、好ましくは約０

．１～３０μｇ／ｋｇであるように、投与することが可能である。
【０１４８】
他の気体含有懸濁液には、例えば、その全体が本明細書において援用されるＵＳ５，７９８，０９１号、ＷＯ９７／２９７８３号またＥＰ８８１　９１５号に開示されているものが含まれる。これらの剤はＵＳ５，７９８，０９１号またはＷＯ９７／２９７８３号に記載されているように調製することが可能である。
【０１４９】
別の好ましい超音波造影剤はマイクロバルーンを含む。用語「マイクロバルーン」とは、境界または包膜を有する気体充填体を指している。マイクロバルーン処方および製造方法についてより詳しいことは、その内容が本明細書において援用される、ＥＰ３２４　９３８号（ＵＳ４，８４４，８８２号）；ＵＳ５，７１１，９３３号；ＵＳ５，８４０，２７５号；ＵＳ５，８６３，５２０号；ＵＳ６，１２３，９２２号；ＵＳ６，２００，５４８号；ＵＳ４，９００，５４０号；ＵＳ５，１２３，４１４号；ＵＳ５，２３０，８８２号；ＵＳ５，４６９，８５４号；ＵＳ５，５８５，１１２号；ＵＳ４，７１８，４３３号；ＵＳ４，７７４，９５８号；ＷＯ９５／０１１８７号；ＵＳ５，５２９，７６６号；ＵＳ５，５３６，４９０号；およびＵＳ５，９９０，２６３号に見ることができる。
【０１５０】
好ましいマイクロバルーンは、生分解性で生理学的に適合性の重合体または生分解性固体脂質を含んでいる包膜を有している。本発明のマイクロバルーン調製に有用な重合体は、以下のいずれかの特許に記載されているもののごとき、生分解性で生理学的に適合性の重合体から選択される：ＥＰ４５８７４５号；ＵＳ５，７１１，９３３号；ＵＳ５，８４０，２７５号；ＥＰ５５４２１３号；ＵＳ５，４１３，７７４号；およびＵＳ５，５７８，２９２号、その全内容は本明細書において援用される。特に、重合体は、低い水溶解性のポリサッカリド、ポリラクチド（polylactide）およびポリグリコリド（polyglycolide）そしてその共重合体、ｅ－カプロラクトン、γ－バレロラクトンおよびポリペプチドのごときラクチド（lactide）およびラクトンの共重合体、のごとき生分解性で生理学的に適合性の重合体から選択することができる。他の適した重合体には、ポリ（オルト）エステル（例えば、ＵＳ４，０９３，７０９号；ＵＳ４，１３１，６４８号；ＵＳ４，１３８，３４４号；ＵＳ４，１８０，６４６号を参照されたい）、ポリ乳酸およびポリグリコール酸そしてその共重合体、例えば、ＤＥＸＯＮ（Ｈｅｌｌｅｒ，Ｊ．、１９８０．Ｂｉｏｍａｔｅｒｉａｌｓ，１：５１－５７）；ポリ（ＤＬ－ラクチド－ｃｏ－ｅ－カプロラクトン）、ポリ（ＤＬ－ラクチド－ｃｏ－γ－バレロラクトン）、ポリ（ＤＬ－ラクチド－ｃｏ－γ－ブチロラクトン）、ポリアルキルシアノアクリラート；ポリアミド、ポリヒドロキシブチラート；ポリジオキサノン；ポリ－β－アミノケトン（Ｐｏｌｙｍｅｒ、２３：１６９３（１９８２））；ポリホスファゼン（Ａｌｌｃｏｃｋ，Ｈ．、１９７６．Ｓｃｉｅｎｃｅ、１９３：１２１４－１２１９）；およびポリ酸無水物、が含まれる。本発明のマイクロバルーンはまた、本明細書において援用される、ＷＯ９６／１５８１５の方法に従っても調製することが可能であり、そこでは、マイクロバルーンは、好ましくはモノ－、ジ－、トリ－グリセリド、脂肪酸、ステロール、ワックスおよびその混合物から選択される生分解性脂質、を含む生分解性膜から作成される。好ましい脂質はジ－またはトリ－グリセリド、例えば、トリ－ミリスチン、－パルミチンまたは－ステアリン、特にトリパルミチンまたはトリステアリンである。
【０１５１】
マイクロバルーンは、当業者には既知の、本明細書に開示されている任意の気体を用いることが可能である；しかしながら、フッ素化気体のごとき不活性気体が好ましい。マイクロバルーンは、当業者には既知の随意の添加物、そして安定剤と共に医薬として受容可能な液体坦体に懸濁することが可能である。
【０１５２】
マイクロバルーン含有造影剤は典型的には、壁形成重合体または脂質の量が約１０μｇ／ｋｇ～約２０μｇ／ｋｇ体重、であるように投与する。

他の気体含有造影剤には、中に含まれた、またはさもなければ会合されている（表面上に吸着されているおよび／または空隙、空洞または孔内に含まれている）気体を有する、微粒子が含まれる。これらの剤の調製法は、その全体が本明細書において援用される、ＥＰ０１２２６２４号；ＥＰ０１２３２３５号；ＥＰ０３６５４６７号；ＵＳ５，５５８，８５７号；ＵＳ５，６０７，６６１号；ＵＳ５，６３７，２８９号；ＵＳ５，５５８，８５６号；ＵＳ５，１３７，９２８号；ＷＯ９５／２１６３１号またはＷＯ９３／１３８０９号に記載されている。

【０１５３】

これらの超音波組成物はまた、可能な限り、血液と等張であるべきである。この故、注射前、少量の等張剤を、いずれの上記超音波造影剤懸濁液にも加えることが可能である。等張剤は、医学において普通に使用される生理学的溶液であり、それらは水性塩溶液（０．９％　ＮａＣｌ）、２．６％グリセロール溶液、５％デキストロース溶液その他を含む。加えて、超音波組成物は、例えば、乳化剤、粘性調節剤、凍結保護物質、溶解保護物質、充填剤を含む、標準の医薬として受容可能な添加物を含むことができる。

【０１５４】

任意の生物適合性気体を、本発明において有用な超音波造影剤に使用することが可能である。本明細書において、用語「気体」とは、正常ヒト体温で実質的に気体形である任意の物質（混合物を含む）を含んでいる。それ故気体は、例えば、空気、窒素、酸素、CO_2、アルゴン、キセノンまたはクリプトン、フッ素化気体（例えば、過フルオロ炭素、SF_6，SeF_6を含んで）、低分子量炭化水素（例えば、１～７の炭素原子を含んでいる）、例えば、メタン、エタン、プロパン、ブタンまたはペンタンのごときアルカン、シクロプロパン、シクロブタンまたはシクロペンタンのごときシクロアルカン、エチレン、プロペン、プロパジエンまたはブテンのごときアルケン、またはアセチレンまたはプロピンのごときアルキン、および／またはその混合物、を含むことができる。フッ素化気体には、SF_6、フレオン（１以上の炭素原子およびフッ素を含んでいる有機化合物、即ち、CF_4、C_2F_6、C_3F_8、C_4F_8、C_4F_{10}、$CBrF_3$、CCl_2F_2、C_2ClF_5および$CBrClF_2$）および過フルオロ炭素のごとき、少なくとも１つのフッ素原子を含む物質が含まれる。用語「過フルオロ炭素」とは、炭素およびフッ素のみを含んでいる化合物を指し、特に飽和、不飽和および環状過フルオロ炭素を含んでいる。通常好ましい飽和過フルオロ炭素は、式C_nF_{n+2}（式中、ｎは１～１２、好ましくは２～１０、最も好ましくは３～８、そしてさらにもっと好ましくは３～６である）を有している。適した過フルオロ炭素には、例えば、CF_4、C_2F_6、C_3F_8、C_4F_3、C_4F_{10}、C_5F_{12}、C_6F_{12}、C_7F_{I4}、C_8F_{18}およびC_9F_{20}が含まれる。最も好ましくは、気体または気体混合物は、SF_6、またはC_3F_8、C_4F_8、C_4F_{10}、C_5F_{12}、C_6F_{12}、C_7F_{14}、C_8F_{18}から成る群より選択される過フルオロ炭素（C_4F_{10}が特に好ましい）を含む。ＷＯ９７／２９７８３号、ＷＯ９８／５３８５７号、ＷＯ９８／１８４９８号、ＷＯ９８／１８４９５号、ＷＯ９８／１８４９６号、ＷＯ９８／１８４９７号、ＷＯ９８／１８５０１号、ＷＯ９８／０５３６４号、ＷＯ９８／１７３２４号、もまた参照されたい。

【０１５５】

特定の状況において、気体性物質の前駆体（例えば、インビボで気体へ変換されることが可能な物質、しばしば「気体前駆体」と称される）を含むのが望ましいことがありうる。好ましくは、気体前駆体およびそれが産生する気体は生理学的に受容可能である。気体前駆体は、ｐＨ活性化、光活性化、温度活性化などでありうる。例えば、特定の過フルオロ炭素を、温度活性化気体前駆体として使用することが可能である。過フルオロペンタンのごときこれらの過フルオロ炭素は、室温（または剤が製造および／または保存される温度）より上の、しかし体温より下の液体／気体相転移温度を有している；それ故、それらはヒト体内で相変化を行い、そして気体へ変換される。

【０１５６】

気体は、気体の混合物を含むことが可能である。以下の組み合わせが特に好ましい気体

混合物である：気体（Ａ）および（Ｂ）の混合物、ここにおいて、容量で０．５～４１％の量で存在する気体（Ｂ）の少なくとも１つは、８０ダルトンより大きな分子量を有しており、そしてフッ素化気体であり、そして（Ａ）は、空気、窒素、２酸化炭素およびこれらの混合物から成る群より選択され、混合物のバランスは気体Ａである。

【０１５７】

超音波小胞は、本明細書に記載した他の検出可能標識よりも大きいことが可能であるので、それらは剤の標的化効率を増加させるため、多数のｃＭｅｔ結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物へ連結または結合することが可能である。前記の（または当業者には既知の）超音波造影剤の結合は、ｃＭｅｔ結合ポリペプチドおよび小胞を作製するために使用された物質間の直接共有結合を経るか、または、前に記載したようなリンカーを経るものであろう。例えば、一般に、２官能性ＰＥＧリンカーへのペプチドの結合の記述にはＷＯ９８／５３８５７を参照されたく、それは次ぎにリポソーム組成物と反応させる（Ｌａｎｚａ，Ｇ．ら、１９９７．Ｕｌｔｒａｓｏｕｎｄ Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．、２３：８６３－８７０）。これらの化合物の構造は典型的には下記のものを含む：

ａ）疎水性部分、小胞の包膜中の化合物の有効な取り込みを可能にするため、マイクロバブルの、またはマイクロバルーンの包膜を形成している物質と適合性である；前記部分は典型的には脂質部分である（例えば、ジパルミチン、ジステアロイル）；

ｂ）スペーサー（典型的には、異なった分子量のＰＥＧ）、それはある場合は任意であることができ（例えば、もしスペーサーがあまりにも長ければ、マイクロバブルを凍結乾燥するのが困難であると証明することができる）、またはある場合は好ましい（例えば、ペプチドは、短いスペーサーでマイクロバルーンに結合した場合、活性が低いことがあり得る）；

ｃ）結合されるべきペプチド上の、対応する反応性部分と反応することが可能な反応性基（例えば、マレイミドとシステインの－ＳＨ基）。

【０１５８】

多くの方法を、ｃＭｅｔ結合ポリペプチドへ結合されたマイクロバブルの懸濁液を調製するために使用することが可能である。例えば、５％（ｗ／ｗ）のＮ－ＭＰＢ－ＰＥ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン－４－（ｐ－マレイミド－フェニルブチルアミド）（Ａｖａｎｔｉ Ｐｏｌａｒ－ Ｌｉｐｉｄｓ，Ｉｎｃ．、アラバスター，ＡＬ）をリン脂質処方に取り込むことにより、マレイミド誘導体化マイクロバブルを調製することが可能である。次ぎに、脱アセチル化溶液（５０ｍＭリン酸ナトリウム、２５ｍＭ ＥＤＴＡ、０．５Ｍヒドロキシルアミン．ＨＣｌ、ｐＨ７．５）中でインキュベートされたメルカプトアセチル化ｃＭｅｔ結合ペプチドの溶液（１０ｍｇ／ｍＬ、ＤＭＦ溶液）を、マレイミド活性化マイクロバブル懸濁液へ加える。穏やかに撹拌して暗所でインキュベーション後、ペプチド結合化マイクロバブルは、遠心分離により精製することが可能である。

【０１５９】

あるいは、ｃＭｅｔ結合ポリペプチド結合化マイクロバブルは、ビオチン／アビジンを使用して調製することが可能である。例えば、アビジン結合化マイクロバブルは、前記のように調製されたマレイミド活性化リン脂質マイクロバブル懸濁液を使用して調製することが可能であり、それをメルカプトアセチル化アビジン（脱アセチル化溶液中でインキュベートされた）へ加える。ビオチニル化ｃＭｅｔ結合ペプチド（本明細書に記載したように調製された）を、アビジン結合化マイクロバブルの懸濁液へ加えると、ｃＭｅｔ結合ペプチドへ結合したマイクロバブルの懸濁液を得る。

【０１６０】

本発明に従って使用することが可能な超音波画像技術には、カラードップラー、パワードップラー、ドップラー振幅、刺激音響画像、および２または３次元画像技術のごとき既知の技術が含まれる。画像化は高調波（共鳴周波数）または基礎的モードで行うことができるが、２倍の高調波が好ましい。

【０１６１】

Ｃ．光学画像、音ルミネセンスまたは光音響画像

本発明に従うと、対象に光学的に標識したｃＭｅｔ結合ポリペプチドを注射後、インビボ光画像で、ｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体の位置を決定するために、多数の光学パラメーターを用いることが可能である。画像の調製において、検出されるべき光学パラメーターには、透過放射、吸収、蛍光またはリン光発光、光反射、吸光度振幅または極大の変化、および弾性散乱放射を含むことができる。例えば、生物学的組織は、６５０～１０００ｎｍの範囲の近赤外（ＮＩＲ）波長の光に対して比較的半透明である。ＮＩＲ放射は数センチメートルまで組織を透過することが可能であり、ｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体のインビボ光学画像のための、本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物の使用を可能にしている。

【０１６２】

ｃＭｅｔ結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物は、例えば、広範な非局在化環システムを有し、そして４００～１５００ｎｍの範囲に吸収または発光を有する、有機発色団または蛍光団を含んでいる光学色素のごとき光標識と結合することが可能である。ｃＭｅｔ結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物はもしくは、生体発光分子で誘導体化することが可能である。光標識の吸収極大の好ましい範囲は、ヘモグロビンからの信号による妨害を最小にするため、６００～１０００ｎｍの間である。好ましくは、光吸収標識は、大きなモル吸光係数（例えば、10^5 ｃｍ$^{-1}$Ｍ$^{-1}$より大きな）を有しており、一方、蛍光光学色素は高い量子収量を有するであろう。光学色素の例には、限定されるわけではないが、ＷＯ９８／１８４９７号、ＷＯ９８／１８４９６号、ＷＯ９８／１８４９５号、ＷＯ９８／１８４９８号、ＷＯ９８／５３８５７号、ＷＯ９６／１７６２８号、ＷＯ９７／１８８４１号、ＷＯ９６／２３５２４号、ＷＯ９８／４７５３８号およびそれらに引用されている参考文献に記載されているものが含まれる。光標識は、前に記載したように、ｃＭｅｔ結合ペプチドへ直接共有結合で連結するか、またはリンカーを経てｃＭｅｔ結合ペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物へ連結することが可能である。

【０１６３】

光学的に標識されたｃＭｅｔ結合部分の注射後、剤中に用いられた光標識に適切な波長範囲の、１以上の光源（例えば、レーザー）で患者を走査する。使用される光は、単色または多色、そして連続的またはパルスでもよい。放射された、散乱されたまたは反射された光は、対象中のｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体の位置を決定するために、１つまたは多数の波長に同調された光検出器を経て検出する。光学パラメーターの変化は、時間を通してモニターすることが可能であり、過剰増殖の部位での光学的に標識された試薬の蓄積を検出する。標準画像処理および検出装置が、本発明の光学画像化試薬に関連して使用することが可能である。

【０１６４】

前記光学画像化試薬はまた、光学標識造影剤で実行された超音波光学または音ルミネセンス画像にも使用することが可能である（ＵＳ５，１７１，２９８号、ＷＯ９８／５７６６６号、およびそれらに引用されている参考文献を参照されたい）。超音波光学においては、超音波放射を対象に適用し、そして透過した、放射されたまたは反射された光に影響を及ぼす。音ルミネセンス画像においては、適用された超音波が実際に検出される光を発生する。こうした技術を使用する、適した画像化法はＷＯ９８／５７６６６号に記載されている。

【０１６５】

Ｄ．核画像（放射性核種画像）および放射線治療

ｃＭｅｔ結合部分は、シンチグラフィー、ＳＰＥＣＴ、またはＰＥＴ画像に適切な放射性核種と、および／または放射線治療に適切な放射性核種と結合することが可能である。ｃＭｅｔ結合部分が、画像診断に有用な放射性核種のためのキレート剤、および放射線治療に有用なキレート剤の両方と結合されている構築物は、本発明の範囲内である。

【０１６６】

ＰＥＴ剤として使用するためには、ペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物は、^{51}

Ｍｎ、^{52}Ｆｅ、^{60}Ｃｕ、^{68}Ｇａ、^{72}Ａｓ、^{94m}ＴｃまたはＩｎのごとき多様な陽電子放射金属イオンと複合体形成されている。本発明の結合部分はまた、^{18}Ｆ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{123}Ｉ、^{77}ＢｒおよびＢｒのごとき放射性核種を使用するハロゲン化により標識することも可能である。シンチグラフィーまたは放射線治療に好ましい金属放射線核種には、^{99m}Ｔｃ、^{51}Ｃｒ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{47}Ｓｃ、^{51}Ｃｒ、^{167}Ｔｍ、^{141}Ｃｅ、^{111}Ｉｎ、^{168}Ｙｂ、^{175}Ｙｂ、^{140}Ｌａ、^{90}Ｙ、^{88}Ｙ、^{153}Ｓｍ、^{166}Ｈｏ、^{165}Ｄｙ、^{166}Ｄｙ、^{62}Ｃｕ、^{64}Ｃｕ、^{67}Ｃｕ、^{97}Ｒｕ、^{103}Ｒｕ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{203}Ｐｂ、^{211}Ｂｉ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{214}Ｂｉ、^{105}Ｒｈ、^{109}Ｐｄ、^{117m}Ｓｎ、^{149}Ｐｍ、^{161}Ｔｂ、^{177}Ｌｕ、^{198}ＡｕおよびＡｕが含まれる。金属の選択は、所望の治療または診断応用に基づいて決定されるであろう。例えば、診断目的のためには、好ましい放射線核種として^{64}Ｃｕ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{99m}Ｔｃおよび^{111}Ｉｎが含まれる。治療目的のためには、好ましい放射線核種として^{64}Ｃｕ、^{90}Ｙ、^{105}Ｒｈ、^{111}Ｉｎ、^{117m}Ｓｎ、^{149}Ｐｍ、^{153}Ｓｍ、^{161}Ｔｂ、^{166}Ｄｙ、^{166}Ｈｏ、^{175}Ｙｂ、^{177}Ｌｕ、^{186}／^{188}ＲｅおよびＡｕが含まれる。^{99m}Ｔｃは、その低い価格、入手可能性、画像化特性および高い比活性のため、診断応用に特に好ましい。^{99m}Ｔｃの核および放射性特性は、この同位元素を理想的なシンチグラフィー造影剤となしている。この同位元素は１４０ｋｅＶの単一光子エネルギーを、そして約６時間の放射性半減期を有し、そして^{99}Ｍｏ－^{99m}Ｔｃ発生装置から容易に入手可能である。

【０１６７】

金属放射線核種は、例えば、線状、大環状、テルピリジンおよびＮ$_3$Ｓ、Ｎ$_2$Ｓ$_2$またはＮ$_4$キラント（ｃｈｅｌａｎｔ）によりキレートすることができ（また、ＵＳ５，３６７，０８０、ＵＳ５，３６４，６１３号、ＵＳ５，０２１，５５６号、ＵＳ５，０７５，０９９号、ＵＳ５，８８６，１４２号も参照されたい）、当該技術分野で既知の他のキレート剤には、限定されるわけではないが、ＨＹＮＩＣ、ＤＴＰＡ、ＥＤＴＡ、ＤＯＴＡ、ＤＯ３Ａ、ＴＥＴＡおよびビスアミノ　ビスチオール（ＢＡＴ）キレート剤が含まれる（また、ＵＳ５，７２０，９３４号も参照されたい）。例えば、Ｎ$_4$キレート剤はＵＳ６，１４３，２７４号；ＵＳ６，０９３，３８２号；ＵＳ５，６０８，１１０号；ＵＳ５，６６５，３２９号；ＵＳ５，６５６，２５４号；およびＵＳ５，６８８，４８７号に記載されている。特定のＮ$_3$Ｓキレート剤は、ＰＣＴ／ＣＡ９４／００３９５号、ＰＣＴ／ＣＡ９４／００４７９号、ＰＣＴ／ＣＡ９５／００２４９号およびＵＳ５，６６２，８８５号；ＵＳ５，９７６，４９５号；およびＵＳ５，７８０，００６号に記載されている。キレート剤はまた、Ｎ$_3$Ｓを含むメルカプト－アセチル－アセチル－グリシル－（ＭＡＧ３）およびＭＡＭＡ（モノアミドモノアミンジチオール）のごときＮ$_2$Ｓ$_2$システム、ＤＡＤＳ（Ｎ$_2$Ｓ　ジアミンジチオール）、ＣＯＤＡＤＳなどのキレート化リガンドの誘導体を含むことも可能である。これらのリガンドシステムおよび多様な他のものは、例えば、Ｌｉｕ，Ｓ．およびＥｄｗａｒｄｓ，Ｄ．、１９９９．Ｃｈｅｍ　Ｒｅｖ．、９９：２２３５－２２６８およびその中の参考文献に記載されている。

【０１６８】

キレート剤はまた、４座配列で金属に供与しないリガンド原子を含んでいる複合体も含むことが可能である。これらには、その開示が全体として本明細書に援用される、ＵＳ５，１８３，６５３号；ＵＳ５，３８７，４０９号；およびＵＳ５，１１８，７９７号に記載されているごとき、テクネチウムおよびレニウムジオキシムのボロン酸付加物が含まれる。

【０１６９】

別の態様においては、本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチドのジスルフィド結合を、^{99m}Ｔｃのごとき放射性核種のキレート形成のための２つのリガンドとして使用する。この方法において、ペプチドループはＴｃの導入により拡大される（ペプチド－Ｓ－Ｓ－ペプチドはペプチド－Ｓ－Ｔｃ－Ｓ－ペプチドへ変化する）。この方法はまた、文献（Ｃｈｅ

ｎ，Ｊ．ら、２００１．Ｊ．Ｎｕｃａｌ　Ｍｅｄ．、４２：１８４７－１８５５）で他のジスルフィド含有ペプチドで使用されており、一方、生物学的活性は維持している。Ｔｃのための他のキレート化基は、主鎖アミド窒素、別のシステインアミノ酸または他のアミノ酸の修飾により供給することが可能である。

【０１７０】

特に好ましい金属キレート剤には、図８Ａ～８Ｆに示した式２０、２１、２２、２３ａ、２３ｂ、２４ａ、２４ｂおよび２５のキレート剤が含まれる。式２０－２２は常磁性Gd^{3+}のごときランタニド、および^{177}Lu、^{90}Y、^{153}Sm、^{111}Inまたは^{166}Hoのごとき放射性ランタニドに対して特に有用である。式２３ａ～２４ｂは、放射性核種^{99m}Tc、^{186}Reまたは^{188}Reに対して特に有用である。式２５は、^{99m}Tc対して特に有用である。これらおよび他の金属キレート化基は、その全体が本明細書において援用される、ＵＳ６，０９３，３８２号およびＵＳ５，６０８，１１０号に記載されている。加えて、式２２のキレート化基は、例えば、ＵＳ６，１４３，２７４号に記載されている；式２４のキレート化基は、例えば、ＵＳ５，６２７，２８６号およびＵＳ６，０９３，３８２号に記載されている；および式２５のキレート化基は、例えば、ＵＳ５，６６２，８８５号；ＵＳ５，７８０，００６号；およびＵＳ５，９７６，４９５号に記載されている。

【０１７１】

図８Ｅの式２４ａおよび２４ｂ、式中、ＸはＣＨ$_2$かまたはＯであり；ＹはC_1～C_{10}分枝または非分枝アルキル、アリール、アリールオキシ、アリールアミノ、またはC_1～C_{10}分枝または非分枝アルキル基、ヒドロキシまたはC_1～C_{10}分枝または非分枝ポリヒドロキシアルキル基、C_1～C_{10}分枝または非分枝ヒドロキシまたはポリアルコシキアルキルまたはポリヒドロキシ－ポリアルコキシアルキル基、を含むアリールアルキルであり；ＪはＣ（＝Ｏ）－、ＯＣ（＝Ｏ）－、SO_2－、ＮＣ（＝Ｏ）－、ＮＣ（＝Ｓ）－、Ｎ（Ｙ）、ＮＣ（＝ＮＣＨ$_3$）－、ＮＣ（＝ＮＨ）－、Ｎ＝Ｎ－、合成または天然に存在するアミノ酸に由来するホモポリアミドまたはホモポリアミンであり；ｎは１～１００である。これらの構造の他の変異体は、例えば、ＵＳ６，０９３，３８２号に記載されている。各々の前述の特許、出願および参考文献の開示は、その全体が本明細書において援用される。

【０１７２】

キレート剤は、ｃＭｅｔ結合部分または多量体ポリペプチド構築物へ直接、共有結合で、前記のようにリンカーを経てｃＭｅｔ結合ポリペプチドへ連結することが可能であり、そしてその後、選択された放射性金属で直接標識する（ＷＯ９８／５２６１８、ＵＳ５，８７９，６５８号およびＵＳ５，８４９，２６１号を参照されたい）。

【０１７３】

放射性テクネチウムの複合体は画像診断に特に有用であり、そして放射性レニウムの複合体は放射線治療に特に有用である。放射性テクネチウムと本発明の試薬との複合体の形成において、テクネチウム複合体、好ましくは^{99m}Tc過テクネチウム酸の塩を、還元剤存在下で試薬と反応させる。好ましい還元剤はジチオナイト、スズおよび鉄イオンであり；最も好ましい還元剤は塩化第１スズである。こうした複合体を調製する手段は、標識されるべき本発明の前もって決定された量、および^{99m}Tcで試薬を標識するために十分な量の還元剤を含んでいる密封バイアルを含むキット形で都合よく提供される。あるいは、適切なキレート剤と結合した本発明のペプチドと、前もって形成されたテクネチウムの不安定複合体および転移（transfer）リガンドとして知られている別の化合物を反応させることにより、前記複合体を形成させることが可能である。このプロセスはリガンド交換として知られており、当業者にはよく知られている。不安定複合体は、こうした転移リガンドとして、例えば、酒石酸、クエン酸、グルコナートまたはマンニトールを使用することにより形成することが可能である。本発明で有用な^{99m}Tc過テクネチウム酸塩には、ナトリウム塩、またはアンモニウム塩または低級アルキルアンモニウム塩が含まれる。

【０１７４】
金属が放射性レニウムである本発明の複合体の調製は、＋５または＋７酸化状態のレニウム出発物質を使用して達成することが可能である。レニウムがＲｅ（ＶＩＩ）状態である化合物の例は、NH_4ReO_4または$KReO_4$である。Ｒｅ（Ｖ）は、例えば、［$ReOCl_4$］（NBu_4）、［$ReOCl_4$］（$AsPh_4$）、$ReOCl_3(PPh_3)_2$およびReO_2（ピリジン）$_2^+$（式中、Ｐｈはフェニルであり、そしてＢｕはｎ－ブチルである）として入手可能である。レニウム複合体を形成することができる他のレニウム試薬もまた使用可能である。
【０１７５】
本発明により提供される放射性的に標識されたシンチグラフィー造影剤には、適した量の放射能を有するものが包含される。一般には、投与されるべき単位服用量は、約０．０１ｍＣｉ～約１００ｍＣｉ、好ましくは１ｍＣｉ～２０ｍＣｉの放射能を有している。単位剤形として注射されるべき溶液は、約０．０１ｍＬ～約１０ｍＬである。^{99m}Ｔｃ放射性複合体の形成においては、ｍＬ当たり約０．０１ｍＣｉ～約１００ｍＣｉの濃度で放射能を含んでいる溶液中で放射性複合体を形成させるのが一般的に好ましい。
【０１７６】
本発明に従った放射性核種標識ｃＭｅｔ結合造影剤の典型的投与量は、１０～２０ｍＣｉで供給される。ｃＭｅｔ特異的放射性核種造影剤を患者内に投与後、造影剤中に取り込まれた核種のγ線エネルギーのために較正されたγカメラを、剤の取り込みの範囲を画像化する、そして部位中に存在する放射能量を定量するために使用する。インビボでの部位の画像化は、約数分で行うことが可能である。しかしながら、画像化は、場合により、患者内へ放射標識ペプチドを注射した後、数時間以内にまたはより後に行うことが可能である。ほとんどの例において、投与された量の内の十分な量が、画像化されるべき領域に約１０分の１時間以内に蓄積し、シンチ写真を撮ることを可能にするであろう。
【０１７７】
本発明の放射線治療化合物の適切な投与スケジュールは当業者には既知である。本化合物は、標的化ｃＭｅｔ発現組織の損傷または消失を起こすために十分であるが、しかし非標的（正常組織）に実質的な損傷を起こすほどは多くない放射能量を使用して、限定されるわけではないが、１回または多数回ＩＶまたはＩＰ注射を含む多くの方法を使用して投与することが可能である。必要とされる投与量は、異なった構築物、使用された同位元素のエネルギーおよび半減期に依存して、取り込みの程度および体からの剤のクリアランス、および腫瘍の大きさで異なっている。一般には、投与量は、約３０～５０ｍＣｉの１回用量から約３Ｃｉまでの蓄積用量の範囲でありうる。
【０１７８】
本発明の放射線治療組成物は、生理学的に受容可能な緩衝液を含むことが可能であり、そして注射に先立った化合物の放射線分解損傷を防止するための放射線安定剤が必要とされる。放射線安定剤は当業者には既知であり、そして例えば、パラ－アミノ安息香酸、アスコルビン酸、ゲンチジン酸などを含むことが可能である。
【０１７９】
放射性核種以外の、本発明の複合体を調製するために必要とされる全ての成分を含む単一または多バイアルキットはこの発明の不可欠な部分である。
単一バイアルキットは、好ましくはキレート化リガンド、第１スズ塩源または他の医薬として受容可能な還元剤を含んでおり、そしてｐＨ値を約３から約９へ調整するため、医薬として受容可能な酸または塩基で適切に緩衝化されている。使用される還元剤の量および型は、形成されるべき交換複合体の性質に依存するであろう。適切な条件は、当業者にはよく知られている。キット内容物は凍結乾燥された形であることが好ましい。こうした単一バイアルキットは、所望により、グルコヘプトナート、グルコナート、マンニトール、リンゴ酸塩、クエン酸または酒石酸のごとき不安定または交換リガンドを含むことが可能であり、そして最終生成物の放射化学的純度および安定性を改良するために働く、ジエチレントリアミン－５酢酸（ＤＰＴＡ）、エチレンジアミン４酢酸（ＥＤＴＡ）またはα

、βまたはγシクロデキストリンのごとき反応修飾剤も含むことが可能である。キットはまた、安定剤、凍結乾燥過程を助けるために設計されたマンニトールのごとき充填剤、および当業者には既知の他の添加物も含むことが可能である。

【０１８０】

多バイアルキットは、好ましくは、同一の一般成分を含んでいるが、放射性医薬の再構築における１以上のバイアルを用いている。例えば、１つのバイアルは、過テクネチウム酸塩の添加で不安定Ｔｃ（Ｖ）複合体を形成するために必要とされる全ての成分を含んでいる（例えば、第１スズ源または他の還元剤）。過テクネチウム酸塩をこのバイアルに添加し、そして適当な期間待った後、このバイアルの内容物を、リガンドならびにそのｐＨを最適な値に調整するために適切な緩衝液を含む、第１のバイアルに加える。約５～６０分の反応時間後、本発明の複合体が形成される。この多バイアルキットの両方のバイアルの内容物は凍結乾燥されていることが便利である。前記のように、反応修飾剤、交換リガンド、安定化剤、充填剤などが片方または両方のバイアルに存在することが可能である。

【０１８１】

治療応用

本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチドおよび多量体ポリペプチド構築物は、限定されるわけではないが、ｃＭｅｔ活性に関連した疾患を含むｃＭｅｔに付随した疾患を示す、処置する、または望まれない細胞増殖（新生物性腫瘍、例えば、癌のごとき；ｃＭｅｔに対する親和性そして例えば、上皮細胞のごとき増殖細胞上のＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体での滞留時間を提供するまたは改良することにより）に対する、抗増殖または殺腫瘍性剤のごとき治療剤の活性を改良するために使用することが可能である。本発明のこの側面において、ハイブリッド剤を、本発明に従ったｃＭｅｔ結合ポリペプチドおよび多量体ポリペプチド構築物と治療剤を結合することにより提供する。治療剤は上で議論した放射線治療剤、薬剤、化学療法剤または殺腫瘍剤、遺伝子物質または遺伝子搬送媒体などであり得る。結合体のｃＭｅｔ結合ポリペプチド部分は、治療剤がｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体の部位（即ち、活性化上皮細胞）の「回帰」ことを起こし、そして結合体の治療活性が細胞増殖の部位により局在化および濃縮されるように、内皮に対する結合の親和性を改良する。加えて、これらのｃＭｅｔ結合部分は、ＨＧＦのｃＭｅｔに対する結合を阻止することにより、ＨＧＦ媒介シグナル伝達事象を阻害することが可能である。こうした結合は、ヒトを含む哺乳動物において、過剰増殖性障害、特に新生物性腫瘍増殖の処置において有用である。本方法は、治療剤と結合された、本発明に従ったｃＭｅｔ結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物の有効量を哺乳動物に投与することを含む。本発明はまた、ヒトを含む哺乳動物における、血管新生関連疾患の処置のための医薬の製造における、こうした結合体の使用も提供する。

【０１８２】

本発明のこの側面における使用のために適した治療剤には、限定されるわけではないが、白金化合物（例えば、スピロプラチン、シスプラチンおよびカルボプラチン）、メトトレキセート、アドリアマイシン、ミトマイシン、アンサミトシン、ブレオマイシン、サイトシン、アラビノシド、アラビノシルアデニン、メルカプトポリリジン、ビンクリスチン、ブスルファン、クロラムブシル、メリファラン（例えば、ＰＡＭ、Ｌ－ＰＡＭまたはフェニルアラニンマスタード）、メルカプトプリン、ミトタン、プロカルバジン塩酸塩、ダクチノマイシン（アクチノマイシンＤ）、ダウノルブシン塩酸塩、ドキソルビシン塩酸塩、タキソール、ミトマイシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）、アミノグルテチミド、エストラムスチンリン酸ナトリウム、フルタミド、ロイプロリド酢酸塩、メゲストロール酢酸塩、タモキシフェンクエン酸塩、テストイアクトン、トリロスタン、アムサクリン（ｍ－ＡＭＳＡ）、アパラギナーゼ（Ｌ－アパラギナーゼ）、エルウィナ　アパラギナーゼ、エトポシド（ＶＰ－１６）、インターフェロンＣＸ－２ａ、インターフェロンＣＸ－２ｂ、テニポシド（ＶＭ－２６）、ビンブラスチン硫酸塩（ＶＬＢ）、ビンクリスチン硫酸塩、ブレオマイシン硫酸塩、アドリアマインおよびアラビノシルのごとき抗新生物剤；ＳＵ５４１６およびＳＵ６６６８（Ｓｕｇｅｎ／ＰｈａｒｍａｃｉａおよびＵｐｊｏｈｎ

）、エンドスタチン（ＥｎｔｒｅＭｅｄ）、アンギオスタチン（ＥｎｔｒｅＭｅｄ）、コムブレスタチン（Ｏｘｉｇｅｎｅ）、シクロスポリン、５－フルオロウラシル、ビンブラスチン、ドキソルビシン、パクリタキセル、ダウノルブシン、免疫毒素のごとき、血管新生および／または腫瘍増殖に重要なシグナル伝達分子に対して活性を有するチロシンキナーゼ阻害剤のごとき抗血管新生剤；凝固因子；アシクロビル、アマンタジン　アジドチミジン（ＡＺＴまたはジドブジン）、リバビリンおよびビダラビン１水和物（アデニン　アラヒノシド、ａｒａ－Ａ）のごとき抗ウイルス剤；クロロキン、ヒドロキシクロロキン、メトロイダゾール、キニンおよびメグルミンアンチモン酸塩のごとき抗生物質、抗マラリア剤、抗原虫剤；ジフルミサール、イブプロフェン、フェニルブタゾン、ピロキシカム、スリンダック、トルメチン、アスピリンおよびサリチル酸塩のごとき抗炎症剤、が含まれる。

【０１８３】

本発明の１つの態様において、治療剤は超音波造影剤組成物と会合させることが可能であり、そこにおいて、本発明のｃＭｅｔ結合部分は、本明細書に記載したように、小胞を形成するために用いられた物質へ連結されている。超音波造影剤の投与およびｃＭｅｔまたはＨＧＦ／ｃＭｅｔ複合体を発現している組織へ結合された造影剤の随意の画像化後、微小胞を破裂またはバーストするために、組織をエネルギービーム（好ましくは超音波、例えば、０．３～３ＭＨｚの周波数）で照射することが可能である。このように、治療剤の治療効果を、微小胞の破裂により放出されるエネルギーにより促進することが可能であり、特に、標的化組織への治療剤の有効な搬送を引き起こしている。例えば、治療剤は標的化超音波造影剤と会合させ、本明細書において援用されるＵＳ６，２５８，３７８号に記載されているように搬送することが可能である。

【０１８４】

本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチドおよび多量体ポリペプチド構築物はまた、遺伝子物質をｃＭｅｔ発現細胞へ標的化するためにも使用することが可能である。それ故、それらは遺伝子治療、特に過剰増殖性障害の処置に有用であることができる。この態様において、過剰増殖性障害を処置することにおいて有用な遺伝子物質または１以上の遺伝子物質を含んでいる媒体を、本発明の１以上のｃＭｅｔ結合部分へ結合し、そして患者に投与することができる。遺伝子物質は、天然の、または組換えＲＮＡおよびＤＮＡおよびアンチセンスＲＮＡおよびＤＮＡを含む合成起源の、ＲＮＡまたはＤＮＡのごとき核酸を含むことが可能である。遺伝子物質の型は、例えば、プラスミド、コスミド、酵母人工染色体（ＹＡＣ）および欠陥または「ヘルパー」ウイルスのごとき発現ベクターを運んでいる遺伝子、アンチジーン核酸、１本鎖および２本鎖両方のＲＮＡおよびＤＮＡ、およびホスホロチオエートおよびホスホロジチオエート　オリゴデオキシヌクレオチドのごときその類似物を含むことが可能である。加えて、遺伝物質を、例えば、脂質、タンパク質または他の重合体と組み合わせることが可能である。遺伝子物質の搬送媒体は、例えば、ウイルス粒子、レトロウイルスまたは他の遺伝子治療ベクター、リポソーム、脂質（特にカチオン性脂質）と遺伝子物質の複合体、デキストラン誘導体と遺伝子物質の複合体などを含むことが可能である。

【０１８５】

本発明の構築物の好ましい態様は、過剰増殖性障害の処置のための遺伝子治療に利用される。この態様において、遺伝子物質または遺伝子物質を含んでいる１以上の搬送媒体（例えば、過剰増殖性障害の処置において有用な）は、本発明の１以上のｃＭｅｔ結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物と結合でき、そして患者に投与することが可能である。

【０１８６】

遺伝子物質および本発明のｃＭｅｔ結合部分を含んでいる構築物は、特に、増殖している癌細胞（例えば、上皮細胞）内へ遺伝子を選択的に導入するために使用することが可能であり、癌を処置するために有用であり得る。

【０１８７】

治療剤および本発明のｃＭｅｔ結合部分は、所望により本出願の別の場所で議論されたリンカーと同一の型を使用して、既知の方法で連結または融合することが可能である。好ましいリンカーは、置換または非置換アルキル鎖、アミノ酸鎖、ポリエチレングリコール鎖および当該技術分野で既知の他の単純な重合体リンカーであろう。より好ましくは、もし治療剤が、コードＤＮＡ配列が知られているタンパク質それ自身であれば、治療タンパク質およびｃＭｅｔ結合ポリペプチドを、前に記載したように、組換えＤＮＡ技術を使用して作成された同一合成遺伝子から同時発現することが可能である。ｃＭｅｔ結合ポリペプチドのコード配列を、治療タンパク質のアミノまたはカルボキシ末端で、または末端の間に配置して（もしこうした配置が治療タンパク質かまたはｃＭｅｔ結合ポリペプチドの必要とされる生物学的機能を破壊しないことが決定されたら）発現するように、治療タンパク質の読み枠内へ融合することが可能である。この一般的アプローチの特別な利点は、多、縦列配置ｃＭｅｔ結合ポリペプチドのコンカタメリゼーション（concatamerization）が可能であることであり、それにより、各々の治療タンパク質に会合されたｃＭｅｔ結合部位の数および濃度を増加させる。この様式において、ｃＭｅｔ結合活性が増強され、それは組換え治療融合タンパク質の有効性を改良することが期待される。

【０１８８】

加えて、本発明のｃＭｅｔ結合ポリペプチドを含んでいる構築物は、それ自身、ｃＭｅｔ活性に関係する多くの疾患を処置するための治療剤として使用することが可能である。例えば、タンパク質または他の分子（例えば、増殖因子、ホルモンなど）の結合が疾患過程に必要であるかまたは寄与し、そして結合部分がこうした結合を阻害する場合、こうした結合部分を含んでいる構築物は、治療剤として有用であることができる。同様に、結合部分の結合それ自身が疾患過程を阻害する場合、こうした結合部分を含んでいる構築物はまた、治療剤として有用であることができる。

【０１８９】

ｃＭｅｔへのＨＧＦの結合は、多数の細胞内シグナル伝達経路の活性化を生じ、多様な細胞の過剰増殖を導いている。それ自身、１つの態様において、ｃＭｅｔへのＨＧＦの結合を阻害する（または、さもなければｃＭｅｔの活性化を阻害する）ｃＭｅｔ結合ポリペプチドを含んでいる構築物は、抗新生物剤として使用することが可能である。加えて、血管新生活性に、ＨＧＦの結合およびｃＭｅｔの活性化が示唆されているので、別の態様において、ｃＭｅｔへのＨＧＦの結合を阻害するｃＭｅｔ結合ポリペプチドを含んでいる構築物は、抗血管新生剤として使用することが可能である。ｃＭｅｔの活性化を阻害する単量体、多量体およびヘテロ多量体を含んでいる本発明の特定の構築物が、実施例に議論されており、そして、例えば、配列番号３６５（図１０）を含んでいる。本発明の結合ポリペプチドおよびその構築物は、ｃＭｅｔを発現している内皮および／または上皮細胞が関与する状態を処置するための治療剤として有用である。内皮の重要な機能は血管新生であるので、ポリペプチドおよびその構築物は、血管新生および／または過剰増殖を含む状態を処置するために特に有用である。血管新生が関与する状態の例には、例えば、固形腫瘍、腫瘍転移および良性腫瘍が含まれる。ｃＭｅｔ活性化によりそして血管新生を通して起こされる腫瘍は、当該技術分野でよく知られており、そして、例えば、乳房、甲状腺、グリア芽細胞腫、前立腺、悪性中皮腫、直腸結腸、肝細胞、肝胆道、腎臓、骨肉腫および頚部が含まれる。追加の腫瘍および関連する障害は、Ｍｏｓｅｓらにより２０００年２月１５日に発行された米国特許第６，０２５，３３１号、その教示は本明細書において援用される、の表Ｉに収載されている。良性腫瘍には、例えば、血管腫、聴神経腫、神経線維腫、トラコーマおよび発熱性肉芽腫が含まれる。血管新生および／または過剰増殖が関与する他の関連する疾患には、例えば、関節リウマチ、乾癬および糖尿病性網膜症、未熟児網膜症、黄斑変性、角膜移植拒絶、新生血管緑内障、水晶体後線維増殖症のごとき眼疾患、オスラー－ウェーバー症候群、心筋血管新生、プラーク新血管新生、末梢血管拡張、血友病関節症、血管線維腫および創傷肉芽が含まれる。血管成長が関与する他の関連する疾患または状態には、腸管癒着症、アテローム性動脈硬化症、強皮症および肥厚性瘢痕および潰瘍が含まれる。さらに、本発明の結合ポリペプチドおよびその構築物は、着床に必要と

される子宮新血管新生を減少させるまたは防止するために、例えば、受胎調節剤として使用することが可能である。

【０１９０】

結合ペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびその構築物結合体は、状態の性質および所望の結果に依存して、適した時間経過で個体へ投与することが可能である。結合ポリペプチドおよびその構築物は、予防的に、例えば、状態が診断される前に、または状態になりやすい個体に投与することが可能である。結合ポリペプチド多量体ポリペプチド構築物および結合体およびその構築物は、個体が状態の症状を示している間に、または症状が去った、またはさもなければ解放された後（腫瘍の除去後のごとき）に投与することが可能である。加えて、本発明の結合ポリペプチドおよびその構築物は、維持的療法の一部として、例えば、症状または状態の再発を防止するまたは減らすために投与することが可能である。以下に記載するように、本発明の結合ポリペプチド多量体ポリペプチド構築物および結合体およびその構築物は、全身的にまたは局所的に投与することが可能である。

【０１９１】

投与される物質の量は状態の重度に依存するであろう。例えば、過剰増殖の処置には、例えば、新生物性腫瘍増殖の場合、腫瘍の位置およびサイズが投与されるべき物質の量に影響するであろう。用いられるべき正確な投与量および投与様式は、苦情の質を考慮して、処置を監督している医者が情況に従って、必然的に決定しなければならない。一般に、剤を結合した本発明のポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物および結合体の投与量は、その標的に対する本発明の結合ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物の改良された親和性が標準投与量を減少させることができるであろうが、治療剤単独に対して日常的である投与量に従うであろう。

【０１９２】

こうした結合医薬組成物は、好ましくは非経口投与、そして最も好ましくは静脈内または動脈内投与のために処方する。一般に、そして投与が静脈内または動脈内である場合は特に、２回以上の服用量として離れた時間での大量瞬時投与、または一定または非線形流量注入として医薬組成物を与えることが可能である。

【０１９３】

本明細書において、用語「治療」とは、既定の状態の症状の少なくとも一部の軽減を含んでいる。本発明の結合ポリペプチド、多量体構築物およびその構築物結合体は、有用であるべき、症状の完全な軽減を生み出さなくてもよい。例えば、個体の処置は、腫瘍または疾患領域のサイズの減少、または腫瘍または疾患領域のサイズの増加防止を生じることができる。処置はまた、主腫瘍の転移性増殖の数またはサイズを防止するまたは減らすことができる。

【０１９４】

軽減することができる症状は、ｃＭｅｔ活性のごとき生理学的特徴を含んでいる。本発明の結合ポリペプチド多量体ポリペプチド構築物および結合体およびその構築物は、ｃＭｅｔへ結合し、そしてその活性を阻害することにより、もしくはｃＭｅｔへ結合し、そしてこのレセプターを活性化するＨＧＦを阻害することにより、ｃＭｅｔおよびその同族体の活性を阻害することができる。こうした阻害は、例えば、結合ポリペプチドまたはその構築物の存在下または処理後に、レセプターのリン酸化状態を測定することにより、検出することが可能である。本明細書に提供された教示に基づいて、当業者は本明細書に提供されたような結合ポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物および結合体またはその構築物の適した量を投与し、そして目的のパラメーターに対する処置の効果を測定する、やり方およびそれが可能であることを知るであろう。例えば、目的の領域（例えば、腫瘍または病変）のサイズを処置前後に測定することが可能である。細胞またはｃＭｅｔそれ自身、試料から単離でき、そして本明細書に記載したアッセイで使用できる。

【０１９５】

ポリペプチド多量体ポリペプチド構築物および結合体およびその構築物の投与量は、個体の年齢、性、健康状態および体重、ならびに状態の性質および全体の処置計画に依存し

なければならない。ポリペプチド多量体ポリペプチド構築物および結合体およびその構築物の生物学的効果は、本明細書に記載されている。それ故、本明細書において提供された結合ポリペプチド多量体ポリペプチド構築物および結合体およびその構築物の生物学的効果、および処置の所望の結果に基づいて、好ましい投与量が、日常的最適化手法を通して当業者により決定される。典型的には、１日の投与計画は、約０．１ｍｇ／ｋｇ～約１ｍｇ／ｋｇの範囲である。

【０１９６】

本明細書で提供された、結合ポリペプチド部分およびその構築物結合体は、単独の活性成分として、所望により医薬として受容可能な賦形剤と一緒に投与することが可能であり、もしくは、他の結合ポリペプチドおよびその構築物、他の治療剤またはその組み合わせと一緒に（例えば、同時にまたは連続的に）投与することが可能である。加えて、結合ポリペプチド部分およびその結合体構築物を、例えば、特異性、体における滞留時間または治療効果を改良するため、治療剤へ結合することが可能である。こうした他の治療剤には、例えば、他の抗増殖化合物および殺腫瘍性化合物が含まれる。治療剤はまた、抗体を含むことが可能である。さらに、本発明の結合ポリペプチド多量体ポリペプチド構築物およびその構築物を、癌細胞回帰装置として使用することも可能である。従って、結合ポリペプチドまたはその構築物を、核酸を間質細胞へ標的化するため、例えば、治療ポリペプチドをコードしている核酸へ結合することができる。核酸コンジュゲート結合ポリペプチド部分またはその結合体へ暴露されると、間質細胞は結合核酸を内部移行しそして発現することができ、それにより治療ペプチドを標的細胞へ搬送する。

【０１９７】

結合ポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびコンジュゲートおよびそのコンジュゲートは、任意の適した経路により、局所的にまたは全身的に投与することが可能である。投与の適した経路には、限定されるわけではないが、局所適用、経皮、非経口、消化管、膣内および経肺胞が含まれる。所望の投与経路のための組成物は、医薬分野でよく知られた方法、例えば、レミントン：薬学の科学と実践、第２０版、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ，ＷｉｌｌｉａｍｓおよびＷｉｌｋｉｎｓ、２０００、のいずれかにより調製することが可能である。

【０１９８】

局所適用には、結合ポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびそのコンジュゲートを、例えば、ポリペプチドまたは構築物が、全身搬送のために皮膚へ浸透するおよび血流中へ入る、もしくは、局所的搬送のために目的とする領域に接触することを許容するクリーム、ゲルまたはリンス液に懸濁することが可能である。局所適用に適した組成物には、ポリペプチドまたは構築物が少なくとも最小限には可溶である、任意の医薬として受容可能な基剤が含まれる。

【０１９９】

経皮投与のためには、ポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびそのコンジュゲートを、適した経皮装置または「パッチ」と一緒に、医薬として受容可能な懸濁液中で適用することが可能である。本発明のポリペプチドまたは構築物の投与のために適した経皮装置の例は、例えば、Ｆｏｌｄｖａｒｉらにより２０００年１２月２６日に発行された米国特許第６，１６５，４５８号、Ｓｉｎｔｏｖらにより２００１年８月４日に発行された米国特許第６，２７４，１６６Ｂ１号、それらの教示は本明細書において援用される、に記載されている。

【０２００】

非経口投与のためには、ポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびそのコンジュゲートを、静脈内、筋肉内、腹腔内または皮下に注射することが可能である。典型的には、静脈内投与のための組成物は、無菌、等張水性緩衝液の溶液である。他の医薬として受容可能な坦体には、限定されるわけではないが、無菌水、食塩液および緩衝化食塩水（リン酸塩または酢酸塩のような緩衝液を含んで）、アルコール、植物油、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ

酸、パラフィンなどが含まれる。必要な所では、組成物はまた、活性化合物を害するように反応しない限り、可溶化剤、そして注射の部位での痛みを楽にするため、リドカインのごとき局所麻酔剤、保存剤、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、塩、滑沢剤などを含むことも可能である。同様に、慣用的賦形剤、即ち、活性化合物を害するように反応しない、非経口、経腸または鼻腔内適用に適した、医薬として受容可能な有機または無機担体物質を含む。一般に、活性単位で活性剤の量を示しているアンプルまたはサシェット（sachette）のごとき、密封された容器中に、例えば、凍結乾燥粉末または水を含まない濃縮物として、別々にあるいは一緒に混合された単一剤形で、成分は供給されるであろう。組成物が注入により投与されるべきであるところでは、無菌医薬品グレードの「注射用水」または食塩水を含んでいる注入瓶で調剤することが可能である。組成物が注射により投与されるべきであるところでは、成分が投与に先立って混合できるような、無菌注射用水または食塩水のアンプルを提供することが可能である。

【０２０１】

消化管および膣内投与のためには、ポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびそのコンジュゲートを、医薬として受容可能な粉末、ピルまたは液体、そして直腸または膣投与のための座剤内へ取り込ませることが可能である。

【０２０２】

経肺胞、頬側または肺投与のためには、ポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびそのコンジュゲートを、エアロゾル化および吸入に、または洗口液として適した医薬として受容可能な賦形剤に懸濁することが可能である。噴霧器および気化器のごとき経肺胞に適した装置は、本発明の範囲内に含まれる。頬側または肺経路を使用する、ポリペプチドなどのエアロゾル搬送に適した処方は、例えば、その教示が本明細書において援用される、Ｐａｎｋａｊ　Ｍｏｄｉにより２００１年１１月６日に発行された、米国特許第６，３１２，６６５Ｂ１号にみることができる。

【０２０３】

加えて、本発明のポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびそのコンジュゲートは、鼻腔内または眼に投与することが可能であり、ここにおいて、ポリペプチドまたは構築物は滴下様式投与に適した、医薬として受容可能な液体剤に懸濁する。

【０２０４】

本発明のポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびそのコンジュゲートは、ポリペプチドなどが個体において長期間に渡って放出されるように（徐放性または制御放出）投与することが可能である。例えば、ポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびそのコンジュゲートは、１回投与が少なくとも１週間、あるいは１年またはそれ以上に渡るポリペプチドなどの搬送を提供するように、組成物内へ処方することが可能である。制御放出システムには、一体化したまたは貯蔵器型マイクロカプセル、デポーインプラント、浸透圧ポンプ、小胞、ミセル、リポソーム、経皮パッチおよびイオン泳動的装置が含まれる。１つの態様において、本発明のポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびそのコンジュゲートは、徐々に分解する、無毒性重合体中でカプセルに詰めるかまたは混合される。本明細書に提供されたポリペプチド、多量体ポリペプチド構築物およびそのコンジュゲートの制御放出に適した追加の処方は、その教示が本明細書において援用される、Ｆｏｌｋｍａｎらにより１９８３年７月５日に発行された米国特許第４，３９１，７９７号に記載されている。

【０２０５】

個体へ本発明のポリペプチドを搬送するための別の適した方法は、ポリペプチドのインビボ産生を経るものである。ポリペプチドをコードしている遺伝子を、コードされたポリペプチドが発現されるように個体へ投与することが可能である。特定の態様において、ポリペプチドをコードしている遺伝子を、患者から得られた細胞内へトランスフェクトする（生体外遺伝子治療と称されている方法）。ポリペプチドを発現している細胞を次ぎに、患者の体へ戻す。生体外遺伝子治療の方法は当該技術分野ではよく知られており、例えば、その教示が本明細書において援用される、Ａｎｄｅｒｓｏｎらにより１９９８年３月２

１日に発行された、米国特許第４，３９１，７９７号に記載されている。
【０２０６】
ｃＭｅｔ結合部分ポリペプチドの単離および本発明に従ったｃＭｅｔ結合部分およびそのコンジュゲートの調製および使用が、以下の実施例でさらに例示されるであろう。以下の実施例に含まれている具体的パラメーターは、本発明の実施を例示することを意図しており、そしてそれらは本発明の範囲をどのような様式においても限定するために示されているのではない。
【実施例】
【０２０７】
実施例１：ｃＭｅｔ結合ポリペプチドの同定法
多様なペプチド展示ファージライブラリーを使用する４叉選択戦略を、ｃＭｅｔ結合ポリペプチドをスクリーニングするために利用した。ｃＭｅｔレセプターの細胞外ドメイン（Ｆｃ融合タンパク質として発現される）および、その細胞表面に高レベルのｃＭｅｔを発現する結腸直腸癌細胞株、ＤＬＤ－１の両方を、選択のための道具として使用した。
【０２０８】
簡単には、選択は、標的として可溶性ｃＭｅｔ－Ｆｃ融合タンパク質かまたはＤＬＤ－１細胞を使用することを含んでいた。ＨＧＦによる特異的溶離（低および高親和性ｃＭｅｔ結合体の両方を同定するため、最初に１時間、そして次ぎに１晩）を実行した。加えて、可溶性ｃＭｅｔレセプターを使用すると同時に、リガンド結合部位へは結合しないが、それにもかかわらず、造影剤に発展する可能性があるペプチドを同定するため、レセプターに結合されて残ったすべてのペプチド展示ファージを採取した。図９は、用いられた選択戦略を示している。簡単には、２１の異なった選択作戦／溶離の組み合わせを、各々のライブラリープールで実施した。可溶性Ｍｅｔ－Ｆｃ融合タンパク質を使用し、ラウンド３および４で表される追加の１０の選択作戦もまた実施した。ＨＧＦ溶離は、１００ｎｇ／ｍＬの濃度であった。
【０２０９】
実施例２：可溶性ｃＭｅｔ－Ｆｃ融合タンパク質へ結合するペプチド展示ファージの決定「タンパク質ファージＥＬＩＳＡ」
多様な選択作戦から単離されたペプチド展示ファージを使用するタンパク質ファージＥＬＩＳＡを、非相関Ｆｃ－融合タンパク質（ＴＲＡＩＬ－Ｆｃ）に対する、ｃＭｅｔのためのペプチドの特異性を決定するために実施した。簡単には、３８４ウェルプレートを０．５μｇ／ｍＬのｃＭｅｔ－Ｆｃ融合タンパク質またはＴＲＡＩＬ－Ｆｃ融合タンパク質（バックグラウンド）を用い、４℃で１晩被覆した。プレートは、０．０５％（ｖ／ｖ）のＴｗｅｅｎ－２０を含んでいるＰＢＳ（ＰＢＳＴ）に溶解した３％（ｗ／ｖ）ＢＳＡを用いて、３７℃で２時間ブロックした。プレートをＰＢＳＴで洗浄し、そして各々のウェルに１００μＬのペプチド展示ファージを加えた。プレートを２時間室温でインキュベートし、そしてＰＢＳＴで洗浄した。ｃＭｅｔ結合ペプチド展示ファージはＨＲＰ結合抗Ｍ１３抗体を使用して検出した。
【０２１０】
ＴＲＡＩＬ－Ｆｃ融合タンパク質に対して、ｃＭｅｔ－Ｆｃ融合タンパク質へ＞３倍の結合を示すペプチド展示ファージを、本明細書においては「陽性ヒット」と称する。前記スクリーニングで同定された陽性ヒットのＤＮＡ配列決定を行った。続いての配列分析から、１８７の独特なペプチド配列を同定した。ｃＭｅｔ結合ファージ展示ペプチドの対応するアミノ酸配列は、表１に収載されている（配列番号００１～１０１、３６５～３８７、３９０～４０４、４４９～４９６）。
【０２１１】
実施例３：細胞モデルにおけるｃＭｅｔ結合の決定
陽性ヒットが細胞表面発現ヒトｃＭｅｔへの特異的結合を示すかどうかを評価するため、全細胞ＥＬＩＳＡを実施した。
【０２１２】

全細胞ＥＬＩＳＡは、ヒトｃＭｅｔを過剰発現する３Ｔ３細胞を使用して実施した。ｃＭｅｔを発現しない３Ｔ３細胞（「非発現細胞」）を対照細胞株として使用した。簡単には、９６ウェルプレートにウェル当たり10^5の細胞を播種した。プレートを１６００ｒｐｍで５分間遠心分離して細胞をペレット化した。生じた細胞層を、０．１％（ｖ／ｖ）グルタルアルデヒドを用い、３７℃で１２分間固定した。細胞をＰＢＳで洗浄し、そして続いて３％ＢＳＡのＰＢＳＴ溶液を用い、３７℃で１時間ブロックした。ペプチド展示ファージもまた前記溶液中、３７℃で１時間ブロックした。１００μＬのブロックされたファージを各々のウェルに加え、そしてプレートを室温で１時間インキュベートした。プレートはＰＢＳＴで洗浄した。ｃＭｅｔ結合ペプチド展示ファージは、ＨＲＰ結合抗Ｍ１３抗体を使用して検出した。

【０２１３】

実施例４：ＨＧＦ競合タンパク質ＥＬＩＳＡ

ＨＧＦ競合タンパク質ＥＬＩＳＡは、ｃＭｅｔ結合ペプチドのいずれが、ｃＭｅｔ上の同様の結合部位に対してＨＧＦと競合するかどうかを決定する試みにおいて実施した。この競合ＥＬＩＳＡは、ＨＧＦ仲介シグナル伝達事象（例えば、増殖）をブロックするペプチド、「ＨＧＦ拮抗ペプチド「として働くペプチドを同定する。これらのアッセイは、最初の選択そして第１世代ペプチドライブラリーを使用するスクリーニング作戦で発見されたペプチド展示ファージを使用して行った。簡単には、９６ウェルプレートを０．５μｇ／ｍＬのｃＭｅｔ－Ｆｃ融合タンパク質またはＴＲＡＩＬ－Ｆｃ融合タンパク質（バックグラウンド）を用い、４℃で１晩被覆した。プレートは、３％（ｗ／ｖ）ＢＳＡのＰＢＳＴ溶液を用いて、３７℃で２時間ブロックした。プレートをＰＢＳＴで洗浄し、そして各々のウェルに１００μＬのＨＧＦ（１００ｎｇ／ｍＬかまたは５００ｎｇ／ｍＬのＰＢＳＴ溶液）を加えた。プレートを２時間室温でインキュベートし、その後プレートをＰＢＳＴで洗浄し、そして７０μＬのＨＧＦ（１４３ｎｇ／ｍＬまたは７１４ｎｇ／ｍＬ）または７０μＬのＰＢＳＴを各々のウェルに加えた。これに続き、各々のウェルに３０μＬのペプチド展示ファージ１晩培養物を加えた。プレートを２時間室温でインキュベートし、ＰＢＳＴで洗浄し、そしてｃＭｅｔ結合ペプチド展示ファージはＨＲＰ結合抗Ｍ１３抗体を使用して検出した。

【０２１４】

タンパク質ＥＬＩＳＡ、全細胞ＥＬＩＳＡおよびＨＧＦ競合実験のデータは、表７に示されている。

【０２１５】

実施例５：ペプチド合成および蛍光標識

陽性ファージ単離物に相当する、選択された番号のｃＭｅｔ結合ペプチドを、９－フルオレニルメトキシカルボニル　プロトコールを使用して固相マトリックス上で合成した。これらのペプチドは逆相クロマトグラフィーで精製した。ペプチド質量は、エレクトロスプレー質量分析により確認し、そして２８０ｎｍでの吸光度を測定することによりペプチドを定量した。合成のため、ペプチドが切り出されたファージベクター配列からの２つのＮ末端および２つのＣ末端アミノ酸を保持し、そしてリンカー、例えば、－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｌｙｓ－NH_2（配列番号５１３）を各々のペプチドのＣ末端に付加した。各々のペプチドのＮ末端をアセチル化した。選択されたリジン残基は、適切な場所で、１－（４，４－ジメチル－２，６－ジオキシシクロヘキサ－１－イリデン）－３－メチルブチル（ｉｖＤｄｅ）で保護した。保護基はＣ末端リジンへの選択的カップリングを可能にし、ペプチド切断の間は除去されないが、カップリング後、２％ヒドラジンＤＭＦ溶液または０．５Ｍヒドロキシルアミン、ｐＨ８、水溶液で除去することが可能である。

【０２１６】

各々のペプチドは、フルオレセイン（Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル誘導体）またはフルオレセイン　イソチオシアナート（ＦＩＴＣ）の２％ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）含有ＤＭＦ溶液を使用し、Ｃ末端リジンをフルオレセインで標識した。ペプチドがｉｖＤｄｅ保護リジンを含んでいた場合、遊離ＮＨＳ－フルオレセインと反

応し、内部保護基を除去する２％ヒドラジンの添加で反応を停止させた。全ての他のペプチドに対しては、等量の０．５Ｍヒドロキシルアミン、ｐＨ８の添加により、反応を停止した。停止させた反応液は次ぎに１０％ＤＭＦ未満になるように水で希釈し、次ぎにＣ１８逆相クロマトグラフィーを使用して精製した。ペプチドは、ＬＣ－ＭＳシステム（インラインＳＣＩＥＸ　ＡＰ１５０単一４重極質量分析計を備えたＨＰ１１００　ＨＰＬＣ）を使用し、それらの期待される質量を分析することにより確認し、そしてペプチドの純度を決定した。

【０２１７】

実施例６：蛍光異方性測定

蛍光異方性測定は、３８４ウェルマイクロプレート中、１０μＬの結合緩衝液（ＰＢＳ、０．０１％Ｔｗｅｅｎ－２０、ｐＨ７．５）を用い、Ｔｅｃａｎ　Ｐｏｌａｒｉｏｎ蛍光偏光プレートリーダー（カラカス、ベネズエラ）を使用して実施した。フルオレセイン標識ペプチドの濃度を一定（２０ｎＭ）に保ち、そしてｃＭｅｔ－Ｆｃ融合タンパク質（または同様の標的）の濃度を変化させた。結合混合物は、測定前、マイクロプレート中、３０℃で１０分間平衡化した。観察された異方性の変化は、非線形回帰を経て以下の式へ当てはめ、見掛けのK_Dを得た。この式（１）は、合成ペプチドおよびｃＭｅｔが溶液中、１：１の化学量論で可逆複合体を形成することを仮定している。

【０２１８】

【数１】

$$r_{obs} = r_{free} + (r_{bound} - r_{free}) \frac{(K_D + cMet + P) - \sqrt{(K_D + cMet + P)2 - 4 \cdot cMet \cdot P}}{2 \cdot P}$$

【０２１９】

式中、r_{obs}は観察された異方性であり、r_{free}は遊離ペプチドの異方性であり、r_{bound}は結合されたペプチドの異方性であり、K_Dは見掛けの解離定数であり、ｃＭｅｔは総ｃＭｅｔ濃度であり、そしてＰは総フルオレセイン標識ペプチド濃度である。K_Dは直接結合アッセイで計算され（$K_{D,B}$）、そしてそれ故、これらの値はフルオレセイン標識ペプチドへのｃＭｅｔ結合を表している。

【０２２０】

実施例７：ペプチド競合蛍光偏光アッセイ

ペプチド競合蛍光偏光アッセイは、ｃＭｅｔへの結合に対し、どのペプチドがお互いに競合するかを決定するために実施した。これは、個々のペプチド単独よりも、ｃＭｅｔレセプターに対してより高い親和性を示す、潜在的ヘテロマーペプチド複合体を同定するであろう。

【０２２１】

簡単には、ｃＭｅｔ結合ペプチドの交叉競合を、３μＬの総反応液中、Ｃａｒｔｅｓｉａｎ液体ハンドラー（アーヴィン、ＣＡ）で実施した。フルオレセイン標識ペプチドを２０ｎＭの最終濃度に希釈し、そして非標識競合ペプチドを１０ｎＭの最終濃度に希釈した。ｃＭｅｔ－Ｆｃ融合タンパク質は、反応液中の各々のフルオレセイン標識ペプチドに対するK_Dまで希釈した。結合混合物は、異方性の変化を測定する前に、マイクロプレート中、３０℃で１０分間平衡化した。これらの研究から、３つの対のｃＭｅｔ結合ペプチドが、非競合物であり、そしてヘテロマーｃＭｅｔ結合ペプチド複合体の理想的な候補を代表すると同定された（表９を参照されたい）。

【０２２２】

実施例８：ヘテロマーｃＭｅｔ結合ペプチド複合体製造のための一般法

各々の２量体は配列を有しているＴｃ－キレート化６－ＰｎＡＯ（一般にＡと称される）および官能化されたスペーサー（スペーサー＝ＪＪ；Ｊ＝８－アミノ－３，６－ジオキサオクタン酸）部分（一般にＢと称される）から成っている。化合物Ｂを、ＤＭＦ中、室温で３０分、１０倍過剰のグルタール酸ビスＮＨＳエステル（Ｔｙｇｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、プリンストン、ＮＪ）および約２０倍過剰のジイソプロピルエチルアミンで処

理した。反応混合物をエーテル（容量で１５倍）で希釈すると、グルタリル化ペプチドのモノＮＨＳエステルが沈殿した。エーテルをデカントし、固形物をエーテルでさらに3回洗浄すると、未反応のグルタール酸ビスＮＨＳエステルの痕跡が除去される。得られた固形物を乾燥ＤＭＦに再懸濁し、そして化合物Ａ（１当量）、続いてジイソプロピルエチルアミン（２０当量）を加え、混合物を室温で２４時間撹拌した。混合物を水（５０倍）で希釈し、そして混合物を直接逆相ＨＰＬＣカラムにかけ、それは水（０．１％ＴＦＡ）からアセトニトリル（０．１％ＴＦＡ）への濃度勾配で溶出した。所望の生成物を含んでいる分画を合わせ、凍結乾燥すると所望の物質を得た。

【０２２３】

特別の実施例：ヘテロ２量体ｃＭｅｔ結合ペプチド複合体の製造

１）ＰｎＡＯＧ－Ｇｌｕｔ修飾配列番号５１４ペプチド（Ａ型化合物）の製造

６－グルタリル－ＰｎＡＯ（４０ｍｇ、０．１ミリモル）の乾燥ＤＭＦ（０．２ｍＬ）溶液へ、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ、１４ｍｇ、０．１２ミリモル）およびジイソプロピルカルボジイミド（ＤＩＣ、１５ｍｇ、０．１２ミリモル）を加え、４時間室温で撹拌した。エーテル：ヘキサン（５ｍＬ、１：１）を反応混合物へ加えた。混合物を撹拌し、そして上清をデカンテーションにより除去し、フラスコにペーストを残した。ペーストはエーテル：ヘキサン（１：１）で洗浄し（３×５ｍＬ）、そして乾燥ＤＭＦ（０．２ｍＬ）に溶解した。この溶液に、Ｋ－（ｉｖＤｄｅ）－修飾配列番号５１８（５０ｍｇ、０．０１７ミリモル）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＥＡ、１０ｍｇ、０．０８ミリモル）を加え、生じた混合物を、１８時間撹拌した。ヒドラジン（１０μＬ）を加え、そして溶液を３０分撹拌した。反応混合物を水（２０ｍＬ）で希釈し、逆相（Ｃ１８）ＨＰＬＣカラムに加え、水（０．１％ＴＦＡ）－アセトニトリル（０．１％ＴＦＡ）系で溶出した。必要とされる生成物を含んでいる分画（＞９５％純度）を集め、そして凍結乾燥すると、配列番号５１８－（６－ＰｎＡＯ－Ｇｌｕｔ）（図１１に示されたようなスキーム５を参照されたい）を無色のふわふわした固形物として得た。収量は２５．１ｍｇ（４７．４％）であった。

【０２２４】

２）配列番号５１５に連結された配列番号５１４を含んでいる２量体の製造

配列番号５１５（Ｂ型化合物）（１０ｍｇ、０．００３４ミリモル）およびジイソプロピルエチルアミン（１０ｍｇ、０．０８ミリモル）を含んでいるペプチドの乾燥ＤＭＦ（０．２ｍＬ）溶液へ、ジスクシンイミジルグルタラート（１０ｍｇ、０．０３１ミリモル）を加え、室温で３０分撹拌した。反応混合物をエーテル（３ｍＬ）で希釈して撹拌した。上清をデカントし、フラスコに半固形物を残した。反応生成物を洗浄するこの過程をエーテルで繰り返した（３×５ｍＬ）。こうして得られた半固形物を乾燥ＤＭＦ（０．２ｍＬ）に溶解し、そしてペプチド配列番号５１４－（６－ＰｎＡＯ－Ｇｌｕｔ）（１０ｍｇ、０．００３２ミリモル）およびジイソプロピルエチルアミン（１０ｍｇ、０．０８ミリモル）を加え、反応混合物を２４時間室温で撹拌した。反応混合物を水（２０ｍＬ）で希釈し、逆相（Ｃ１８）ＨＰＬＣカラムに加え、水（０．１％ＴＦＡ）－アセトニトリル（０．１％ＴＦＡ）系で溶出した。必要とされる生成物を含んでいる分画（＞９５％純度）を集め、そして凍結乾燥すると、６－ＰｎＡＯ－Ｇｌｕｔ結合を経て配列番号５１５に連結された配列番号５１４を有しているヘテロ２量体（図１２に示されたようなスキーム６を参照されたい）を無色のふわふわした固形物として得た。収量６．７ｍｇ（３３％）。このおよび他のヘテロ２量体の構造は、図１３Ａ～１３Ｃに示されている。

【０２２５】

実施例９：細胞増殖アッセイ

細胞増殖アッセイは、ＨＧＦ刺激増殖に拮抗するｃＭｅｔ結合ペプチドを同定するために実施した。これらのインビトロ研究は、細胞がＨＧＦに応答して増殖する、レオミオ肉腫細胞株、ＳＫ－ＬＭＳ－１を利用した。ＳＫ－ＬＭＳ－１細胞を、９６ウェルプレート上、２０００細胞／ウェルの密度で播種した。３７℃で２４時間のインキュベーション後、１０％ウシ胎児血清の代わりに０．１％ＢＳＡを含んでいる培養培地中、３７℃で３６

時間飢餓状態にした。ｃＭｅｔ結合ペプチド（１０μＭ）を含むまたは含んでいない、新鮮な飢餓培地を各々のウェルに加え、そして細胞を３７℃で２時間インキュベートした。ＤＭＦを対照媒質として使用し、そしてそれはｃＭｅｔ結合ペプチドを含んでいない。５０ｎｇ／ｍＬかまたは１００ｎｇ／ｍＬの濃度でＨＧＦを次ぎに加え、そして細胞をさらに３７℃で１２時間インキュベートした。製造元により説明されているように、ＢｒｄＵ（Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ、サンディエゴ、ＣＡ）の取り込みを測定することにより、増殖を評価した。結果は配列番号３６５に対して示されている（図１０）。

【０２２６】

実施例１０：第２世代ｃＭｅｔ結合ペプチドライブラリーの設計

線状および環状ペプチドライブラリーからの最初の選択は、ｃＭｅｔに対する多数の陽性ヒットを同定した。ＴＮ９ヒットは高度に保存されたモチーフを含んでいた（ＣｘＧｐＰｘＦｘＣ、配列番号５１２、‘ｐ’は、大文字のアミノ酸ほど強くは選択されない）ライブラリーは環状および線状メンバー両方を有しており、そして、遺伝子ＩＩＩスタンプ（ｓｔｕｍｐ）ディスプレイを有しているファージ中で築かれた。

【０２２７】

【表１－１】

表１：第二世代ライブラリーにおけるＴＮ９および直線状成分

cMet のための TN9 のﾗｲﾌﾞﾗﾘｰ(cMet TN9 2nd lib #1)

$E = 0.64A + 0.12C + 0.12G + 0.12T$

$Q = 0.12A + 0.64C + 0.12G + 0.12T$

$J = 0.12A + 0.12C + 0.64G + 0.12T$

$Z = 0.12A + 0.12C + 0.12G + 0.64T$

注：$(0.64)^{36} = 1.E-7$

$(0.64)^{39} = 2.5E-8$

成分 1:3AA 左伸長を有する TN9 共通配列

```
                        S   M   G       S   E   T   R   P   T
   ctcagcagtcactgtct tCC ATG Ggt     tct gaa act cgc cct aca
                        NcoI.....

 e   a   g   s   w   h   C   s   G   P   P   t   F   e   C   w   w   y
jej jqz jjz ejz zjj qez tgt ejz ggt cct cct eqj ttc jej tgc zjj zjj zez

    G   T   E   P   T   E   A   S
   gga acg gag ccg act gaa GCT AGC Gtga ctctgacagtctctgt
                           NheI...
```

（配列番号５１８）

【０２２８】

【表１－２】

cMet TN9 2nd lib#2: 3AA右伸長を有するTN9共通配列

```
                    S   M   G       S   E   T   R   P   T
 ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt     tct gAa act cgc cct AcA
                    NcoI.....

E   A   G   s   w   h   C   s   G   P   P   t   F   e   C   w . w   y
!AG GCT GGT ejz zjj qez tgt ejz ggt cct cct eqj ttc jej tgc zjj zjj zez

    g   t   e   P   T   E   R   P   S   S   S
   jjz eqj jej ccg AcT gAA cgt cct agt GCT AGC Gtga ctctgacagtctctgt
                                      NheI...
```

(配列番号５１９)

cMet TN9 2nd lib#3:左に3AA伸長を有するSIQCKGPPWFSCAMY(配列番号537)

```
                    S   M   G       S   E   T   R   P   T
 ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt     tct gaa act cgc cct AcA
                    NcoI.....

e   a   g   s   i   q   C   k   G   P   P   w   F   s   C   a   m   y
ej jqz jjz ejz ezz qej tgc eej ggt cct cct zjj ttc ejz tgt jqj ezj zez

    G   T   E   P   T   E   A   S A
   ggA Acg gAg ccg AcT gAA GCT AGC Gtga ctctgacagtctctgt
```

【０２２９】

【表１－３】

cMet TN9 2nd lib#4:右に3AA伸長を有するSIQCKGPPWFSCAMY(配列番号537)

```
                    S   M   G       S   E   T   R   P   T
  ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt     tct gaa act cgc cct AcA
                    NcoI.....

 E   A   G   s   i   q   C   k   G   P   P   w   F   s   C   a   m   y
gag gcc ggt ejz ezz qej tgc eej ggt cct cct zjj ttc ejz tgt jqj ezj zez

    g   t   e   P   T   E   R   P   S   S   A
   jjz eqj jej ccg AcT gAA cgt cct agt GCT AGC Gtga ctctgacagtctctgt
                                   NheI...
```

(配列番号５２１)

cMet TN9 5th lib 330-F05 右に3AA伸長を有するYYGCKGPPTFECQWM(配列番号531)
3つのペプチドがコア配列CKGPPTFEC(配列番号653)を有している

```
                    S   M   G       S   E   T   R   P   T
  ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt     tct gAa act cgc cct AcA
                    NcoI.....

 E   A   G   y   y   g   C   k   G   P   P   t   F   e   C   q   w   m
GAG GCT GGT zez zez jjz tgc eej ggt cct cct eqz ttc jej tgt qee zjj ezj

    g   t   e   P   T   E   R   P   S   S   S
   jjz eqj jej ccg AcT gAA cgt cct agt GCT AGC Gtga ctctgacagtctctgt
                                   NheI...
```

(配列番号５２２)

【０２３０】

【表１－４】

cMet TN9 6th lib:550-G12 右に3AA伸長を有するAFFCSGPPTFMCSLY(配列番号536)

2つのﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞがｺｱ配列CSGPPTFMC(配列番号654)を有している

```
                    S   M   G       S   E   T   R   P   T
  ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt     tct gAa act cgc cct AcA
                    NcoI.....

 E   A   G   a   f   f   C   s   G   p   P   t   F   m   C   s   l   y
GAG GCT GGT jqz zzq zzq tgt zqz ggt qqj cct eqz ttc ezj tgc ejq qzz zez

    g   t   e   P   T   E   R   P   S   S   S
   jjz eqj jej ccg AcT gAA cgt cct agt GCT AGC Gtga ctctgacagtctctgt
                                      NheI...
```

(配列番号５２３)

cMet TN9 7th lib､左に3つのAAおよびgPPの初めのPを変動

```
                      S   M   G       S   E   T   R   P   T
  ctcagcagtcactgtct tCC ATG Ggt     tct gaa act cgc cct aca
                    NcoI.....

 e   a   g   q   f   k   C   a   G   p   P   s   F   a   C   w   m   t
jej jqz jjz qej zzq eej tgt jqz ggt qqj ccg ejz ttc jqq tgt zjj ezj eqq

    G   T   E   P   T   E   A   S
   gga acg gag ccg act gaa GCT AGC Gtga ctctgacagtctctgt
                          NheI...
```

(配列番号５２４)

【０２３１】

実施例１１：９４－Ｅ０８およびｃＭｅｔを結合するために選択された他の線状ペプチドの分析

線状単離物９４－Ｅ０８（配列番号４５４）はｃＭｅｔに対して高い親和性を有しているが、さらに、９４－Ｅ０８にいくらかの相同性を有する、そして非常に短い領域に渡って非常に限られた同一性を有する、いくつかの他のペプチド単離物が存在した。従って、９４－Ｅ０８に基づいて３つの可変オリゴヌクレオチドを作製した：（１）最後の７を一定に保ちながら、最初の１３コドンを変化させる；（２）他の単離物といくらかの類似性を示した５を固定して保ちながら、最初の１８の内の１３を変化させる；（３）最初の５を固定して保ちながら、最後の１３コドンを変化させる、下記表４を参照されたい。

【０２３２】

【表２－１】

表４

成分＃８　初めの１３位に変動を有する（配列番号５９４）

```
                  S   M   G     S   E
5'-tcactgtct tCC ATG Ggt   tct gaa-
  Scab.......| NcoI |

  y  d  t  w  v  f  q  f  i  h
 zez jez eqz zjj jzj zzz qej zzz ezz qez -

  e  v  p  G  E  L  V  A  M  Q
 jej jzj qqj ggt gag ctg gtt gct atg cag -

  G  G  S  G  T  E  A  S
 ggt ggt agt ggt act gaa GCT AGC Gtga ctctgac-3'
                     | NheI  |Scab........
```

成分＃９　５ＡＡの固定そして１８位まで広げられた斑入り（配列番号５９５）

```
                  S   M   G     S   E
5'-tcactgtct tCC ATG Ggt   tct gaa-
  Scab.......| NcoI |

  y  D  T  w  v  F  q  f  i  h
 zez gat act zjj jzj ttt qej zzz ezz qez -

  E  V  p  g  e  l  v  a  M  Q
 gag gtt qqj jjz jej qzj jzj jqj atg caa!

  G  G  S  G  T  E  A  S
 ggt ggt agt ggt act gaa GCT AGC Gtga ctctgac-3'
                     | NheI  |Scab........
```

【０２３３】

【表２－２】

成分＃１０　初めの７ＡＡの固定そして最後の１３の変動（配列番号５９６）

```
                    S   M   G     S   E
5'-tcactgtct tCC ATG Ggt   tct gaa-
   Scab.......| NcoI |

   Y   D   T   W   V   F   Q   F   i   h
  tat gat act tgg gtt ttt caa ttt ezz qez -

   e   v   p   g   e   l   v   a   m   q
  jej jzz qqj jjz jej qzj jzj jqj ezj qzz!

   G   G   S   G   T   E   A   S
  ggt ggt agt ggt act gaa GCT AGC Gtga ctctgac-3'
                          | NheI  |Scab........
```

第２世代ペプチドライブラリー構築のためのオリゴヌクレオチド設計（配列番号５９７－６４６；　注　“［ＲＣ］”でマークされたオリゴヌクレオチドは示された配列の逆相補体から成っている）：

```
  vg#1                                    NcoI....
(CM2_ZTPSAlt)    5'-        tcactgtct tcc atg ggt tct gAa-
3'
(CM2_TPLalt)     5'-        tcactgtct tcc atg ggt tct gAa
act cgc cct AcA-3'
(CM2_ZTPS)       5'-ctcagcagtcactgtct tcc at-3'
```

【０２３４】

【表２－３】

(CM2_V1) 5'-tct gAa
act cgc cct AcA -
jej jqz jjz ejz zjj qez tgt ejz ggt cct cct eqj ttc jej
tgc zjj zjj zez -
gga acg gag ccg act gaa gct-3'
(CM2_BPL1) [RC] 5'- gga acg gag ccg act gaa GCT AGC Gtga
ctctgacagtctctgt-3'
(CM2_XBPS) [RC] 5'-CA Gtga
ctctgacagtctctgt-3'
(BPL1_CM2) [RC] 5'- gga acg gag ccg act gaa GCT AGC Gtga
ctctgac -3'
(XBPS_CM2) [RC] 5'-act gaa GCT AGC Gtga
ctctgac -3'
NheI...
vg#2
(CM2_ZTPS) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc at-3'
(CM2_TPLong) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt tct gAa
act cgc cct AcA-3'
(CM2_V2) 5'-tct gAa
act cgc cct AcA -
GAG GCT GGT ejz zjj qez tgt ejz ggt cct cct eqj ttc jej
tgc zjj zjj zez -
jjz eqj jej ccg AcT gAA cgt cct agt g-3'
(CM2_2BPL) [RC] 5'- ccg AcT gAA cgt cct agt GCT AGC Gtga
ctctgacagtctctgt-3'
(CM2_XBPS) [RC] 5'-CA Gtga
ctctgacagtctctgt-3'
(BPL2_CM2) [RC] 5'- ccg AcT gAA cgt cct agt GCT AGC Gtga
ctctgac -3'
(XPL2_CM2) [RC] 5'- ct agt GCT AGC Gtga
ctctgac -3'

【０２３５】

【表２－４】

(CM2_ZTPS) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc at-3'
(CM2_TPLong) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt tct gAa
act cgc cct AcA-3'
(CM2_V3) 5'-tct gaa
act cgc cct AcA -
jej jqz jjz ejz ezz qej tgc eej ggt cct cct zjj ttc ejz
tgt jqj ezj zez -
ggA Acg gAg ccg AcT gAA GC-3'
(CM2_BPL1) [RC] 5'- gga acg gag ccg act gaa GCT AGC Gtga
ctctgacagtctctgt-3'
(CM2_XBPS) [RC] 5'-CA Gtga
ctctgacagtctctgt-3'

vg#4
(CM2_ZTPS) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc at-3'
(CM2_TPLong) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt tct gAa
act cgc cct AcA-3'
(CM2_V4) 5'-tct gaa
act cgc cct AcA -
gag gcc ggt ejz ezz qej tgc eej ggt cct cct zjj ttc ejz
tgt jqj ezj zez -
jjz eqj jej ccg AcT gAA cgt cct agt GC -3'
(CM2_2BPL) [RC] 5'- ccg AcT gAA cgt cct agt GCT AGC Gtga
ctctgacagtctctgt-3'
(CM2_XBPS) [RC] 5'-CA Gtga
ctctgacagtctctgt-3'

vg#5
(CM2_ZTPS) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc at-3'
(CM2_TPLong) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt tct gAa
act cgc cct AcA-3'

【０２３６】

【表２－５】

(CM2_V5) 5'-tct gAa
act cgc cct AcA -
GAG GCT GGT zez zez jjz tgc eej ggt cct cct eqz ttc jej
tgt qee zjj ezj -
jjz eqj jej ccg AcT gAA cgt cct agt GC-3'
(CM2_2BPL) [RC] 5'- ccg AcT gAA cgt cct agt GCT AGC Gtga
ctctgacagtctctgt-3'
(CM2_XBPS) [RC] 5'-CA Gtga
ctctgacagtctctgt-3'
vg#6
(CM2_ZTPS) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc at-3'
(CM2_TPLong) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt tct gAa
act cgc cct AcA-3'
(CM2_V6) 5'-tct gAa
act cgc cct AcA -
GAG GCT GGT jqz zzq zzq tgt zqz ggt qqj cct eqz ttc ezj
tgc ejq qzz zez
jjz eqj jej ccg AcT gAA cgt cct agt GC-3'
(CM2_2BPL) [RC] 5'- ccg AcT gAA cgt cct agt GCT AGC Gtga
ctctgacagtctctgt-3'
(CM2_XBPS) [RC] 5'-CA Gtga
ctctgacagtctctgt-3'
vg#7
(CM2_ZTPS) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc at-3'
(CM2_TPLong) 5'-ctcagcagtcactgtct tcc atg ggt tct gAa
act cgc cct AcA-3'
(CM2_V7) 5'-tct gaa
act cgc cct aca -
jej jqz jjz qej zzq eej tgt jqz ggt qqj ccg ejz zzq jqq
tgt zjj ezj eqq -
gga acg gag ccg act gaa GC-3'

【０２３７】

【表２－６】

(CM2_BPLI) [RC] 5'-gga acg gag ccg act gaa GCT AGC Gtga ctctgacagtctctgt-3'

(CM2_XBPS) [RC] 5'-CA Gtga ctctgacagtctctgt-3'

成分＃８　初めの１３位中の変動

(CM2_ZTPSAlt) 5'-tcactgtct tcc atg ggt tct gAa-3'

(CM2C8vg) 5'-tcactgtct tCC ATG Ggt tct gaa-

zez jez eqz zjj jzj zzz qej zzz ezz qez -

jej jzj qqj ggt gag ctg gtt gct atg cag -

ggt ggt agt ggt act gaa GCT

(L20botamp) [RC] 5'-ggt ggt agt ggt act gaa GCT AGC Gtga ctct-3'

成分＃９　初めの５ＡＡの固定そして１８位まで広げられた斑入り

(CM2_ZTPSAlt) 5'-tcactgtct tcc atg ggt tct gAa-3'

(CM2C9vg) 5'-tcactgtct tCC ATG Ggt tct gaa-

zez gat act zjj jzj ttt qej zzz ezz qez -

gag gtt qqj jjz jej qzj jzj jqj atg caa-

ggt ggt agt ggt act gaa GCT-3'

(L20botamp) [RC] 5'-ggt ggt agt ggt act gaa GCT AGC Gtga ctct-3'

成分＃１０　初めの７ＡＡの固定そして最後の１３の変動

(CM2_ZTPSAlt) 5'-tcactgtct tcc atg ggt tct gAa-3'

(CM2C10vg) 5'-tcactgtct tCC ATG Ggt tct gaa-

tat gat act tgg gtt ttt caa ttt ezz qez -

jej jzz qqj jjz jej qzj jzj jqj ezj qzz-

ggt ggt agt ggt act gaa GCT-3'

(L20botamp) [RC] 5'-ggt ggt agt ggt act gaa GCT AGC Gtga ctct-3'

【０２３８】

実施例１２：第２世代ｃＭｅｔ結合ペプチドライブラリーの構築

ファージベクターＤＶ３Ｐ８２をＮｈｅＩおよびＮｃｏＩで消化し、精製しそしてアルカリ性ホスファターゼで処理した。１０の鋳型、ＣＭ２－Ｖ１からＣＭ２－Ｖ７、加えてＣＭ２－Ｖ８ｖｇ、ＣＭ２－Ｖ９ｖｇおよびＣＭ２－Ｖ１０ｖｇ、を下記表５に収載したプライマー対を使用し、別々に増幅した。

【０２３９】

【表３】

表５

鋳型	センス	アンチセンス
CM2_V1	CM2_TPLONG	CM2_BPL1
CM2_V2	CM2_TPLONG	CM2_BPL1
CM2_V3	CM2_TPLONG	CM2_BPL1
CM2_V4	CM2_TPLONG	CM2_BPL1
CM2_V5	CM2_TPLONG	CM2_BPL1
CM2_V6	CM2_TPLONG	CM2_BPL1
CM2_V7	CM2_TPLONG	CM2_BPL1
CM2_V8vg	CM2_ZTPSALT	L20BOTAMP
CM2_V9vg	CM2_ZTPSALT	L20BOTAMP
CM2_V10vg	CM2_ZTPSALT	L20BOTAMP

【０２４０】

各々の試料は別々にＮｈｅＩおよびＮｃｏＩで消化し、フェノール／クロロホルムで抽出し、そしてライゲーションを実施する前に等モル比で混合した。１：５のベクター：挿入物比を使用した。ライゲートされたＤＮＡ構築物は、ＤＨ５α細胞内へ電気穿孔した。生じたライブラリーサイズは１．１２×１０^{8}の異なった形質転換体であった。

【０２４１】

実施例１３：ｃＭｅｔへのペプチド２量体の結合の測定

ＢＩＡｃｏｒｅの器械を使用し、固定化ｃＭｅｔ－Ｆｃへのペプチド２量体（図１３Ａ～１３Ｃに示されている）結合についての結合定数を決定した。

【０２４２】

３つの密度のｃＭｅｔ－Ｆｃ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を、標準アミンカップリング法によりＣＭ５センサーチップの表面のデキストランへ架橋した（３μＭ溶液を、５０ｍＭアセテート、ｐＨ５．５、で１：１００、１：５０または１：２０に希釈）。フローセル１を活性化し、そして次ぎに、対照減算として働くようにブロックした。

達成された最終固定化レベル：

R_L　Ｆｃ　２　ｃＭｅｔ－Ｆｃ　＝　２５８２

R_L　Ｆｃ　３　ｃＭｅｔ－Ｆｃ　＝　５０４８

R_L　Ｆｃ　４　ｃＭｅｔ－Ｆｃ　＝　９７２１。

【０２４３】

実験はＰＢＳＴ緩衝液（５．５ｍＭリン酸塩、ｐＨ７．６５、０．１５Ｍ　ＮａＣｌ＋０．０５％（ｖ／ｖ）Ｔｗｅｅｎ－２０）中で実施した。ペプチド２量体を脱イオンH_2Oに、１ｍｇ／ｍＬ溶液になるように溶解した。２量体は５０ｎＭまでＰＢＳで希釈した。２５、１２．５、６．２５および３．１２５ｎＭ溶液が得られるように連続的希釈を実施した。すべての試料は２重に注入した。会合のためには、ｋｉｎｊｅｃｔプログラムを使用し、２量体を３０μＬ／分で３分間注入した。１０分の会合後、４Ｍ　$MgCl_2$を５０μＬ／分で２分間、の２回の急速注入で、残存するペプチドをｃＭｅｔ表面から剥が

した。センソグラムは、ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウェアー３．１を使用して分析した。ヘテロ２量体、Ａｃ－ＧＳＰＥＭＣＭＭＦＰＦＬＹＰＣＮＨＨＡＰＧＧＧＫ｛ＰｎＡＯ６－Ｇｌｕｔ－Ｋ［Ａｃ－ＧＳＦＦＰＣＷＲＩＤＲＦＧＹＣＨＡＮＡＰＧＧＧＫＪＪ－Ｇｌｕｔ］－NH_2｝－NH_2（配列番号５１５へ連結された配列番号５１４）、が０．７９ｎＭのK_Dを示した。

【０２４４】

実施例１４：ｃＭｅｔ結合ペプチドの血清滞留の促進：マレイミドへの結合

マレイミドおよびチオールと反応可能な他の基を含む化合物は、化合物が注射された場合、血清タンパク質、特に血清アルブミン上のチオールと反応することが当該技術分野で知られている。付加物は血清アルブミンと同等の血清寿命、例えば、ヒトにおいては１４日を超える、を有している。

【０２４５】

本発明に包含されるマレイミド標識線状ペプチドの直接合成を可能にする方法が利用可能である（Ｈｏｌｍｅｓ，Ｄ．ら、２０００．Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ Ｃｈｅｍ．、１１：４３９－４４４）。

【０２４６】

ジスルフィドを含むペプチドは、いくつかの方法の１つを用い、マレイミドで誘導体化することが可能である。例えば、第３のシステインをカルボキシ末端に付加することが可能である。付加されたシステインを、ジスルフィドを形成するシステインのために使用された基の型に対して直交性である保護基で保護する。ジスルフィドは、意図されたシステインを選択的に脱保護し、そしてペプチドを酸化することにより形成させる。最後のシステインを次ぎに脱保護し、そしてペプチドを大過剰モルのビスマレイミドと反応させる。生じた化合物は、血清アルブミンまたは他のチオール含有血清タンパク質と自由に反応するための１つのマレイミドを有している。

【０２４７】

あるいは、本発明の環状ペプチドは、－ＧＧＧＫ（配列番号５１３）のごとき、リジン含有Ｃ末端伸長を有するように合成する。ｃＭｅｔ結合モチーフのリジンをｉｖＤｄｅで保護し、そしてＣ末端リジンを脱保護する。このリジンをＮ－［ｅ－マレイミドカプロイルオキシ］スクシンイミドエステル（Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、ロックフォード、ＩＬ）またはＮ－［ａ－マレイミドアセトキシ］スクシンイミドエステル（Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）のごとき、マレイミド含有化合物と反応させる。

【０２４８】

実施例１５：ｃＭｅｔ結合ペプチドの血清滞留の促進：非共有結合的に血清を結合する部分への結合

５０～６０ｋＤａ未満の分子量を有しているポリペプチドは、迅速に排泄される。脂肪酸のごとき多くの小分子は、血清アルブミンへ結合する。ペプチドへの脂肪酸または他の血清アルブミン結合部分の付着は、ペプチドが血清アルブミンへ非共有結合的に結合することを起こし、そして血清滞留を非常に延長することができる。本発明のペプチドへ付着された脂肪酸は、少なくとも１２の炭素、好ましくは少なくとも１４の炭素、より好ましくは少なくとも１６の炭素を含んでいなければならない。脂肪酸は直鎖でもまたは分枝鎖でもよい。脂肪酸は飽和でもまたは不飽和でもよい。パルマート（CH_3－（CH_2）$_{14}$－ＣＯ－は好ましい脂肪酸である。血清におけるこの結合は、排出の速度を減少させることが可能である（Ｋｎｕｄｓｅｎ，Ｌ．ら、２０００．Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．、４３：１６６４－１６６９）。当該技術分野で既知の方法を使用し、血清アルブミン結合部分を、本明細書に開示されているペプチドまたは多量体ポリペプチド結合構築物の任意の１つに結合することが可能である。血清アルブミン結合部分は、リンカーを通してｃＭｅｔ結合ペプチドへ連結することが可能である。リンカーはペプチド性またはＰＥＧのごとき他のものであることが可能である。０～約３０のリンカーが好ましい。リンカーは親水性であることが好ましい。血清アルブミン結合部分は、末端でかまたは付加されたアミノ酸

の側基を通してｃＭｅｔ結合ペプチドまたは構築物へ結合することが可能である。適した側基にはリジンおよびシステインが含まれる。こうした化合物はまた、本明細書において議論したような、例えば、放射性核種のためのキレート剤、または他の検出可能な標識または治療構築物を含むことが可能である。血清アルブミン結合部分へ連結されたｃＭｅｔペプチドまたは構築物はｃＭｅｔを結合するであろう。

【０２４９】

実施例１６：ｃＭｅｔ結合ペプチドの血清滞留の促進：ＰＥＧへの結合

タンパク質およびペプチドへのＰＥＧの付着は、これらの分子の血清滞留を促進する。ｃＭｅｔ結合ペプチドまたは多量体ポリペプチド構築物へのＰＥＧ（直鎖状または分枝）の付着は、血清滞留時間の実質的な促進を与えることが期待される。ＰＥＧの分子量は、少なくとも１０ｋＤａ、より好ましくは少なくとも２０ｋＤａ、そして最も好ましくは少なくとも３０ｋＤａまたはそれ以上であるべきである。ＰＥＧはＮまたはＣ末端に付着することが可能である。ペプチドへＰＥＧを付着させる方法は当該技術分野ではよく知られている。ＰＥＧは、リジンまたはシステインのごとき、反応性側基へ付着することが可能である。

【０２５０】

実施例１７：ｃＭｅｔ結合ペプチドの血清滞留の促進：血清タンパク質との融合

血清アルブミン（ＳＡ）を含むタンパク質およびその他のタンパク質は、増強された血清滞留時間を有している。ヒトＳＡ（ｈＳＡ）のアミノ酸配列が表１０に示されている。表１１は、配列番号６５７、成熟ｈＳＡおよび配列番号６５８を含む融合タンパク質を示している。ｃＭｅｔ結合ペプチドは成熟ｈＳＡから、融通性のあるスペーシング（ｓｐａｃｉｎｇ）を可能にするためのグリシンに富んだリンカーにより分離されている。増強された血清滞留時間を有するであろう注射可能タンパク質を得るために、ｈＳＡの全てを使用する必要はない。マレイミドおよびαブロモカルボキシラートのごとき化学基は不対のシステイン（残基３４）と反応して、安定な付加体を形成する。従って、付加体が放射性核種を結合するように、ｈＳＡ融合タンパク質へ１つのキレート剤を結合することが可能である。マレイミド基を有するキレート剤を製造し、そしてｈＳＡまたはｈＳＡ誘導体とカップリングすることが可能である。もしくは、ｈＳＡまたはｈＳＡ誘導体をビスマレイミドと反応させることができ、そして反応性チオールを運んでいるキレート剤をビスマレイミド誘導体化ｈＳＡと反応させることができる。

【０２５１】

既定のアミノ酸配列をコードする遺伝子の構築は、当該技術分野で知られている。サッカロミセス　セレビジエにおけるｈＳＡ融合物の発現も当該技術分野で知られている。

【０２５２】

実施例１８：ｃＭｅｔ発現腫瘍への放射能または毒素のプレ標的化

慣用的放射免疫癌療法は２つの問題に悩まされている。一般に達成可能な標的化比（血液中に循環している投与量に対する腫瘍に局在化している投与量の比、あるいは、骨髄に移動している投与量に対する腫瘍に局在化している投与量の比）が低い。また、腫瘍へ搬送された放射線または治療剤の絶対量が、多くの場合、有意な腫瘍応答を惹起するには不十分である。腫瘍に対する標的化比および絶対量の改良は、癌治療のためには非常に重要であろう。

【０２５３】

本発明は、哺乳動物レシピエントの標的細胞部位での活性剤局在化を増加させる方法を提供する。本方法は、例えば、ａ）標的化部分およびリガンド－抗－リガンド結合対のメンバーを含む融合タンパク質をレシピエントへ投与し；ｂ）その後、レシピエントの肝細胞レセプターを経て、循環している融合タンパク質のクリアランスを方向付けることが可能なクリアリング剤を、レシピエントへ投与し；そしてｃ）続いて、リガンド／抗リガンド結合対メンバーを含む活性剤を、レシピエントへ投与する。

【０２５４】

ヘキソース、特にヘキソースガラクトース、グルコース、マンノース、マンノース－６

－リン酸、Ｎ－アセチルグルコサミン、ペンタマンノシルリン酸、Ｎ－アセチルガラクトサミン、ガラクトースのチオグリコシド、およびその混合物は、肝クリアランスを起こすことに有効であることが知られている。しかしながら、肝臓レセプターへの糖の結合は、分子を肝臓へ方向付ける唯一の手段ではない。

【０２５５】

循環系からの癌胎児性抗原（ＣＥＡ）のクリアランスは、肝臓中のクッパー細胞への結合による。我々は、クッパー細胞へのＣＥＡの結合は、ＣＥＡ配列のアミノ酸１０７－１１２に示されているペプチド配列ＹＰＥＬＰＫを経て起こることを示した。このペプチドはＮ末端および第１の免疫グロブリン様ループドメイン間の領域に位置している。天然のＣＥＡおよびヘテロ２官能性架橋剤と複合体形成されたこの配列を含んでいるペプチド、およびビオチニル化ＣＥＡおよびＮＣＡでのリガンドブロッティングを使用し、我々はクッパー細胞上の８０ｋＤａタンパク質への結合を示した。この結合タンパク質は肝臓転移の開発に重要であろう。（Ｔｈｏｍａｓ，Ｐ．ら、１９９２．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．、１８８：６７１－６７７）。

【０２５６】

クリアランス剤としてＹＰＥＬＰＫ（配列番号６５５）を使用するため、この配列を、リンカーを経て、融合タンパク質（Ａｂ）を結合する部分へ融合する。例えば、もしＡｂがＤＯＴＡ／Ｒｅに対する親和性を有していれば、ＤＯＴＡ／Ｒｅへ結合されたＹＰＥＬＰＫを有している誘導体を作製するであろう；例えば、ｒｖＹＰＥＬＰＫｐｓＧＧＧ－ＤＯＴＡ。‘ｒｖＹＰＥＬＰＫｐｓ’はＣＥＡの断片であり、それはＴｈｏｍａｓら（前記文献）により同定されたＹＰＥＬＰＫ配列を含んでいる。ＤＯＴＡ上の任意の都合のよい点を結合に使用することが可能である。ＲＶＹＰＥＬＰＫＰＳＧＧＧ－ＤＯＴＡ／コールドＲｅ（配列番号６５６）がクリアリング剤として使用されるであろう。融合Ａｂに相当するＦａｂは、Ｋｄ＜１００ｎＭ、好ましくはＫｄ＜１０ｎＭ、そしてより好ましくはＫｄ＜１ｎＭのクリアリング剤に対する親和性を有するであろう。

【０２５７】

治療剤はＤＯＴＡ／^{185}Ｒｅを含んでいるであろう。好ましい態様において、治療剤は、腫瘍上に固定化されたＡｂが高い結合活性でビス－ＤＯＴＡ化合物を結合するように、２以上のＤＯＴＡ部分を含むであろう。２つのＤＯＴＡ部分は好ましくは、１０～３０ユニットのＰＥＧの親水性リンカーで連結されるであろう。ＰＥＧは分解せず、溶解性を促進するので、好ましいリンカーである。１０～３０ユニットのＰＥＧは、ビスＤＯＴＡ化合物に非常に長い血清滞留時間を与えるには十分ではない。３０分～１０時間の半減期が受容可能である。ほとんどの放射線が腫瘍または外部環境へ搬送されるように、血清半減期は使用された放射性核種の放射性半減期よりも長くあるべきである。

【０２５８】

１つの態様において、本発明の「融合タンパク質」は、ヒト抗体の軽鎖（ＬＣ）かまたは重鎖（ＨＣ）のいずれかのアミノ末端またはカルボキシ末端へ融合された少なくとも１つのｃＭｅｔ結合ペプチドを含む。所望によりおよび好ましくは、２以上のｃＭｅｔ結合ペプチドを抗体へ融合する。抗体は、放射性にできるまたは結合された毒素を有することができる小分子に対する高い親和性を有するように選択する。好ましくは、Ａｂに対応するＦａｂの親和性は、小分子に対して１００ｎＭ未満、より好ましくは１０ｎＭ未満、そして最も好ましくは１ｎＭ未満のK_dの親和性を有している。小分子は、有用な放射性原子を結合可能なキレート剤であることができ、その多くは本明細書に収載されている。小分子は、ペプチドの結合特性に強く影響することなく放射性ヨウ素が結合できる１以上のチロシンを有しているペプチドであることができる。

【０２５９】

本発明の任意のｃＭｅｔ結合ペプチドは、小さな放射性化合物の結合が可能である、抗体のいずれかの鎖のいずれかの末端へ融合することが可能である。有用な態様には以下のものが含まれる：

１）ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ：：ＬＣ／ＨＣ、

２）ＬＣ：：ｌｉｎｋ：：ＣＭＢＰ＃ｌ／ＨＣ、
３）ＬＣ／ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ：：ＨＣ、
４）ＬＣ／ＨＣ：：ｌｉｎｋ：：ＣＭ＃１、
５）ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ１：：ＬＣ：：ｌｉｎｋ２：：ＣＭＢＰ＃２／ＨＣ、
６）ＬＣ／ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ１：：ＨＣ：：ｌｉｎｋ２：：ＣＭＢＰ＃２、
７）ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ１：：ＬＣ／ＣＭＢＰ＃２：：ｌｉｎｋ２：：ＨＣ、
８）ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ１：：ＬＣ／ＨＣ：：ｌｉｎｋ２：：ＣＭＢＰ＃２、
９）ＬＣ：：ｌｉｎｋ１：：ＣＭＢＰ＃１／ＣＭＢＰ＃２：：ｌｉｎｋ２：：ＨＣ、
１０）ＬＣ：：ｌｉｎｋ１：：ＣＭＢＰ＃１／ＨＣ：：ｌｉｎｋ２：：ＣＭＢＰ＃２、
１１）ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ１：：ＬＣ：：ｌｉｎｋ２：：ＣＭＢＰ＃２／ＣＭＢＰ＃３：：ｌｉｎｋ３：：ＨＣ、
１２）ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ１：：ＬＣ：：ｌｉｎｋ２：：ＣＭＢＰ＃２／ＨＣ：：ｌｉｎｋ３：：ＣＭＢＰ＃３、
１３）ＣＭＢＰ＃３：：ｌｉｎｋ３：：ＬＣ／ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ１：：ＨＣ：：ｌｉｎｋ２：：ＣＭ＃２、
１４）ＬＣ：：ｌｉｎｋ３：：ＣＭＢＰ＃３／ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ１：：ＨＣ：：ｌｉｎｋ２：：ＣＭ＃２、および
１５）ＣＭＢＰ＃１：：ｌｉｎｋ１：：ＬＣ：：ｌｉｎｋ２：：ＣＭＢＰ＃２／ＣＭＢＰ＃３：：ｌｉｎｋ３：：ＨＣ：：ｌｉｎｋ４：：ＣＭＢＰ＃４。

（５）－（１５）の場合、リンカー（「ｌｉｎｋ１」、「ｌｉｎｋ２」、「ｌｉｎｋ３」および「ｌｉｎｋ４」として示されている）は、同一でもまたは異なっていてもよく、または非存在でもよい。これらのリンカーは、もし存在すれば、好ましくは親水性、プロテアーゼ耐性、無毒、非免疫原性および可動性である。好ましくは、リンカーは、グリコシル化部位または肝クリアランスを起こすことが知られている配列を含んでいない。０から１５のアミノ酸の長さが好ましい。ｃＭｅｔ結合ペプチド（ＣＭＢＰ＃１、＃２、＃３および＃４）は同一でもまたは異なっていてもよい。もしコードされたアミノ酸配列が同一であれば、これらの配列をコードしているＤＮＡは異なっている。

【０２６０】

抗体は２量体であるので、各々の癒合タンパク質は、融合ペプチドの各々の２つのコピーで存在するであろう。（１５）の場合、８つのＣＭＢＰが存在するであろう、そしてｃＭｅｔ展示細胞への結合は高度に強くあるべきである。腫瘍浸透は、最大のｃＭｅｔ親和性よりむしろ、ＣＭＢＰの各々における中程度のｃＭｅｔ親和性により促進されるであろう。

【０２６１】

融合タンパク質を、ＨＣの定常部分がグリコシル化されるであろうように、真核細胞中で産生する。好ましくは、細胞はＣＨＯ細胞のごとき哺乳動物細胞である。

融合タンパク質を患者に注射し、融合タンパク質が腫瘍に蓄積されるように時間を与える。腫瘍に固定化されなかった融合タンパク質がクリアランスされるであろうように、クリアリング剤を注射する。前のプレ標的化法においては、抗体合併部位が腫瘍を標的化するために使用され、そしてビオチン／アビジンまたはビオチン／ストレプトアビジンが、固定化された抗体へ放射性または毒性剤を結合するために使用された。ビオチン／アビジンまたはストレプトアビジン結合は本質的に不可逆である。それ故、我々は、放射性または毒性剤を結合するように選択された抗体へ、標的結合ペプチドを融合した。融合タンパク質は２、４、６または８のＣＭＢＰを含んでいるので、腫瘍への融合タンパク質の結合は非常に強い。腫瘍で固定化されていない融合タンパク質のクリアランスを起こすであろうクリアリング剤は、融合タンパク質注射の２～４８時間後に投与することが可能である。クリアランス剤は、抗体へ結合する部分では単量体性であるので、クリアランス剤と固定化融合タンパク質の複合体は、非常に長い寿命を持ってはいないであろう。クリアランス剤を注射して４～４８時間以内に、固定化された抗体は、そこに結合されたいかなるクリアランス剤も失うであろう。活性剤は、好ましくは、融合剤を結合する部分で２量体性

である。活性剤は、クリアランス剤の注射後、２～約４８時間の間に注射する。

【０２６２】

実施例１９：ＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞へのｃＭｅｔ結合ペプチド／アビジンＨＲＰ複合体の結合

ｃＭｅｔ発現ＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞へのｃＭｅｔ結合ペプチドのビオチニル化誘導体の結合に必要とされるスペーサー長を決定した。ペプチドおよびビオチン間に配置されるべきスペーサー長を決定するため、スペーサーを有しない、１つのスペーサー（Ｊ）および２つのスペーサー（ＪＪ）を有する誘導体を合成した。ｃＭｅｔ結合ペプチド配列番号５１４のこれら３つの異なった誘導体は、ｃＭｅｔ発現ＭＢ－２３１細胞へ結合する能力について、ニュートラビジンＨＲＰとの４量複合体として試験した。ｃＭｅｔ結合ペプチドの４量複合体の３つ全てが、対照ペプチドと比較してＭＢ－２３１細胞へ結合した；しかしながら、ＪＪスペーサーを有するペプチドが最良のK_D（１２．６２ｎＭ）を示した。このことは、ｃＭｅｔ結合ペプチドおよびビオチン間での２つのスペーサー（ＪＪ）の包含は、１つのスペーサーまたはスペーサー無しよりも良好であることを示唆している。

【０２６３】

細胞培養：ＭＤＡ－ＭＢ２３１細胞はＡＴＣＣから得、そして推薦培地に１ｍＬ／Ｌのｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ（インビトロジェン、カールスバッド、ＣＡ）を加えて、単層培養物として増殖させた。細胞は、アッセイ前日に分割し、９６ウェルの各々のウェルへ３５０００細胞を加えた。

【０２６４】

ＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞へのペプチド／ニュートラビジンＨＲＰの結合

対照ペプチドおよび前記配列番号５１４誘導体とニュートラビジン－ＨＲＰの複合体を、前記のように製造し、そしてＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞に結合する能力を試験した。ペプチド／ニュートラビジン－ＨＲＰ複合体の製造の間、ニュートラビジン上の４つのビオチン結合部位全てが占有されることを確かにするため、ニュートラビジン－ＨＲＰより７．５倍過剰のビオチニル化ペプチドを使用した。複合体形成後、遊離ビオチニル化ペプチドおよびニュートラビジン－ＨＲＰ複合体形成ビオチニル化ペプチド間のいかなる競合も避けるため、過剰の遊離ビオチニル化ペプチドを、軟放出アビジン－セファロースを使用して除去した。実験は、Ｊスペーサーなしのおよび単一Ｊスペーサーを有する誘導体の飽和結合曲線を発生させるために０．２８ｎＭ～３３．３３ｎＭの（図１４）、ＪＪスペーサーを有する誘導体の飽和結合曲線を発生させるために０．２８ｎＭ～１６．６５ｎＭの（図１４）、ペプチド／ニュートラビジン－ＨＲＰのいくつかの異なった濃度で実施した。飽和結合曲線を描くため、試験された各々の濃度について、ニュートラビジン－ＨＲＰとの複合体中の配列番号５１４誘導体の結合から、対照ペプチド／ニュートラビジン－ＨＲＰ複合体のバックグラウンド結合を差し引いた。それ故、図１４のＹ軸の吸光度は異なった吸光度であり（ｃＭｅｔ結合ペプチドマイナス対照ペプチド）、そして絶対吸光度ではない。Ｇｒａｐｈ Ｐａｄ Ｐｒｉｓｍソフトウェアー（バージョン３．０）を使用した図中の飽和結合データの分析は、ＪＪスペーサーを有する４量体誘導体に対して１２．６２ｎＭ（±３．１６）、Ｊスペーサーを有する４量体誘導体に対して１５５．４ｎＭ（±８６．５６）、そしてスペーサーを有しないペプチド複合体に対して１２３．８ｎＭ（±３７．７１）のK_Dを与えた。これらの結合定数は、予測されたように、関連単座ペプチド配列番号５１４についてＦＰにより測定された値（８８０ｎＭ）よりも低かった。

【０２６５】

結果：ＪＪスペーサーを有する誘導体は、バックグラウンド結合（ｎ＝１）として対照ペプチドの結合を差し引いた後に１２．６２ｎＭのK_Dを有し、他の２つの誘導体のいずれよりもＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞上のｃＭｅｔへ、より良好な結合を示したことが、図１４から明らかである。このことは、細胞上の複数の異なった結合部位へ到達できるためには、特定の最小スペーサー長が必要とされ、そしてその故に多量体結合が達成されることを示唆している。この最小スペーサー長は、細胞上の異なった標的分子間のスペーシン

グに依存するであろう。結合標的がＫＤＲであった場合がそのケースであったように、ファージディスプレイで同定されたビオチニル化ペプチドによるニュートラビジン－ＨＲＰアッセイは、単量体結合配列の親和性がＥＬＩＳＡ型アッセイ（結合後の洗浄工程を有する）でうまく働くにはあまりにも低い場合でさえも、固定化標的への結合が可能なペプチドを同定するために有用であった。

【０２６６】

【表４－１】

表６．ｃＭｅｔ結合ペプチド配列

クラスＩ

ＴＮ６：

配列番号：	単離物	配列
配列番号００１	571-C05,	GSWIICWWDNCGSSAP
配列番号００２	465-A06,	GSYYDCREFQCNKPAP
配列番号００３	465-D09,	GSSHLCNPEFCHFTAP
配列番号００４	569-H10,	GSMLMCELWWCRFLAP
配列番号００５	470-E11,	GSLIFCPYGECMMYAP
配列番号００６	452-F01,	GSEYSCRTSRCIFSAP
配列番号００７	569-C03,	GSFILCWWTFCDTNAP
配列番号００８	574-H03,	GSSTICPGTACVDHAP
配列番号００９	567-C08,	GSLIICWWSWCDKQAP
配列番号０１０	561-C08,	GSFNICPYQWCTLWAP

共通モチーフ：Ｇ－Ｓ－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｃ－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｃ－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ａ－Ｐ－Ｇ－Ｇ－Ｋ；式中、Ｘ１はＦ、Ｌ、Ｓ、Ｗ、ＹまたはＭであり；Ｘ２はＩ、Ｙ、Ｈ、ＴまたはＮであり；Ｘ３はＩ、Ｌ、Ｄ、Ｍ、ＦまたはＳであり、好ましくはＩ；Ｘ４はＰ、Ｒ、Ｗ、ＮまたはＥであり、好ましくはＷまたはＰ；Ｘ５はＷ、Ｙ、Ｅ、Ｐ、Ｌ、ＴまたはＧであり；Ｘ６はＳ、Ｔ、Ｄ、Ｆ、Ｅ、Ｗ、ＧまたはＱであり；Ｘ７はＦ、Ｗ、Ｎ、Ｑ、Ｅ、ＲまたはＡであり；Ｘ８はＧ、Ｎ、Ｈ、Ｒ、Ｍ、Ｉ、Ｄ、ＶまたはＴであり；Ｘ９はＳ、Ｋ、Ｆ、Ｍ、Ｔ、ＤまたはＬであり；そしてＸ１０はＳ、Ｐ、Ｔ、Ｌ、Ｙ、Ｎ、Ｈ、ＱまたはＷである。

【０２６７】

【表４－２】

クラスＩＩ

ＴＮ８：

配列番号：	単離物	配列
配列番号０１１	573-F04,	AGGFACGPPWDICWMFGT
配列番号０１２	570-E07,	AGAWNCEYPTFICEWQGA
配列番号０１３	456-E04,	AGNWICNLSEMRCYPKGT
配列番号０１４	434-E12,	AGDGWCMAWPEICEWLGT
配列番号０１５	489-A04,	AGLYLCDLSIMYCFFQGT
配列番号０１６	484-D08,	AGWWSCQWELNVCIWQGT
配列番号０１７	482-D02,	AGYYHCIDDFPQCKWMGT
配列番号０１８	437-A09,	AGWFECEFGFWGCNWLGT
配列番号０１９	352-E04,	AGTVYCSWESSECWWVGT
配列番号０２０	376-E05,	AGVWICRVWDDECFFQGT
配列番号０２１	482-A12,	AGDHYCWEEWWFCWDSGT
配列番号０２２	423-C11,	AGVLQCIGFEWFCDIWGT
配列番号０２３	499-C09,	AGVIVCNLSMMYCLYPGT
配列番号０２４	457-A09,	AGYPECKDNYHWCEWKGT
配列番号０２５	573-E07,	AGWTWCDLSMMSCIFHGT
配列番号０２６	465-F08,	AGVTNCNLSTMFCFLHGT
配列番号０２７	465-E09,	AGTLSCSEEYKSCQLQGT
配列番号０２８	444-B08,	AGTIRCNLAMMVCMFEGT
配列番号０２９	465-E11,	AGQYLCTQAALGCPEWGT
配列番号０３０	465-D12,	AGQMWCAEKNSKCYQWGT
配列番号０３１	470-A02,	AGQAVCEWGPFWCQMQGT
配列番号０３２	465-C01,	AGPYSCHSESHDCKLMGT
配列番号０３３	448-H02,	AGPLFCFEWPSLCHWGGT
配列番号０３４	465-D01,	AGNLPCHWNMSVCDHQGT

【０２６８】

【表４－３】

配列番号０３５	571-C11,	AGMDFCEGFWFLCIGNAT
配列番号０３６	465-B11,	AGLLGCWDMPMECTGEGT
配列番号０３７	442-E08,	AGKYMCEGFEWFCEMWGT
配列番号０３８	465-C11,	AGKTVCQKWESVCSGMGT
配列番号０３９	465-F10,	AGKQWCVVWEETCDQLGT
配列番号０４０	471-A11,	AGIWFCNNEEKSCWAYGT
配列番号０４１	465-C07,	AGHTICQHKALGCPANGT
配列番号０４２	465-D04,	AGHFECPKHQYMCDMPGT
配列番号０４３	445-E04,	AGGNWCSFYEELCEWLGT
配列番号０４４	465-B06,	AGGHWCLELKHLCPPYGT
配列番号０４５	470-C02,	AGFWDCGWMMQDCHMHGT
配列番号０４６	458-B05,	ADAWMCEYFQWNCGDKGT
配列番号０４７	545-E08,	GDGFLCRWENGWCEFWDP

共通モチーフ：Ａ－Ｇ－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｃ－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｃ－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｋ；式中、

Ｘ１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＧ、Ｖ、Ｗ、Ｔ、Ｋ、Ｑ；

Ｘ２はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ、Ｙ、Ｌ、Ｆ、Ｔ；

Ｘ３はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ、Ｅ、Ｆ、Ｉ、Ｌ、Ｓ；

Ｘ４はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ、Ｎ、Ｑ；

Ｘ５はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ、Ｌ、Ｅ；

Ｘ６はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ、Ｓ、Ｙ；

Ｘ７はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ、Ｍ、Ｐ；

Ｘ８はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＭ、Ｓ、Ｗ；

Ｘ９はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＦ、Ｌ、Ｖ；

Ｘ１０はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ、Ｄ、Ｗ；

Ｘ１１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ、Ｆ、Ｍ；そして

Ｘ１２はＣ以外の任意のアミノ酸である、好ましくはＱ、Ｗ、Ｌ。

【０２６９】

【表４－４】

クラスＩＩＩ

ＴＮ９　＃１：

配列番号：	単離物	配列
配列番号０４８	325-H05,	AGSIQCKGPPWFSCAMYGT
配列番号０４９	330-F05,	AGYYGCKGPPTFECQWMGT
配列番号０５０	333-F09,	AGQFKCAGPPSFACWMTGT
配列番号０５１	336-G04,	AGWFQCKGPPSFECERHGT
配列番号０５２	334-G06,	AGWTHCIGPPTFECIPMGT
配列番号０５３	330-B07,	AGSFACKGPPTFACVEFGT
配列番号０５４	330-C10,	AGNYFCAGSPSFSCYFMGT
配列番号０５５	331-G04,	AGSWHCAGPPSFECWEFGT
配列番号０５６	548-F06,	AGWISCAGPPTFACWPGGT
配列番号０５７	538-F08,	AGFVNCKGPPTFECILTGT
配列番号０５８	547-H07,	AGDWICHGPPMFECEWVGT
配列番号０５９	323-A11,	AGYTSCVGPPSFECTPYGT
配列番号０６０	333-H03,	AGYFECKGPPTFECWLSGT
配列番号０６１	329-D02,	AGHAWCSGPPRFECWPPGT
配列番号０６２	550-C09,	AGHYWCAGPPTFICMGPGT
配列番号０６３	548-E08,	AGETTCLGWPTFVCVDYGT
配列番号０６４	332-A05,	AGHGTCRGWPTFECIYFGT
配列番号０６５	330-C01,	AGDWHCQGPPAFMCWMIGT
配列番号０６６	545-A09,	AGLPKCSGPPWFSCYYGGT
配列番号０６７	334-C08,	AGGWECTGPPWFQCGYYGT
配列番号０６８	333-C05,	AGDIVCTGHPYFECWSWGT
配列番号０６９	551-B02,	AGTWHCAGPPWFTCYMDGT
配列番号０７０	551-G12,	AGSWECTGPPSFHCQWYGT
配列番号０７１	330-G09,	AGHWICVGPPTFSCQWHGT
配列番号０７２	331-F01,	AGEWWCHGPPEFLCYWTGT
配列番号０７３	274-B07,	AGETVCYWLNGWFCVDDGT
配列番号０７４	335-D11,	AGSIQCVGPPSFECTPYGT
配列番号０７５	336-D07,	AGYSVCKGYPSFECAFFGT
配列番号０７６	332-C03,	AGVNSCLGPPTFECYQMGT

【０２７０】

【表４－５】

配列番号０７７	331-D03,	AGYWHCKGPPHFACEFHGT
配列番号０７８	331-G06,	AGNWICTGPPSFGCWYHGT
配列番号０７９	552-G03,	AGYWSCAGPPMFMCTWQGT
配列番号０８０	552-G11,	AGYWDCKGPPHFFCEWHGT
配列番号０８１	550-G08,	AGYFHCSGSPWFQCDYYGT
配列番号０８２	550-G12,	AGWYNCSGENFWNCKWIGT
配列番号０８３	552-A01,	AGWSDCLGPPQFTCVHWGT
配列番号０８４	548-C06,	AGTMYCLGPPTFICQQYGT
配列番号０８５	545-B12,	AGSYWCSGPPTFMCRYEGT
配列番号０８６	549-F06,	AGSTDCRGHPTFECWGWGT
配列番号０８７	552-F01,	AGSSPCKGWPTFECYFYGT
配列番号０８８	547-H12,	AGSIACTGWPYFSCIDLGT
配列番号０８９	550-F11,	AGQFYCSGPPTFQCIMIGT
配列番号０９０	548-D08,	AGPWKCTGPPTFSCIQFGT
配列番号０９１	549-D02,	AGNYWCSGPPSFICHAVGT
配列番号０９２	552-F02,	AGMTLCAGPPTFECYEVGT
配列番号０９３	545-E04,	AGETKCSGPPYFYCWMEGT
配列番号０９４	545-E05,	AGETFCVGNPSFECWSWGT
配列番号０９５	547-H03,	AGETFCSGWPTFECMQWGT
配列番号０９６	552-G09,	AGEIFCVGPPTFTCMWTGT
配列番号０９７	550-A08,	AGDFICQGPPSFVCTNIGT
配列番号０９８	550-G07,	AGAFFCSGPPTFMCSLYGT
配列番号０９９	551-A05,	AGWGWCSGPPMFMCTEYGT
配列番号１００	548-C10,	GSEFECTGWPEFRCYEYAP
配列番号１０１	465-C10,	GSILYCINRNDPQCPYTAP

共通モチーフ：Ｇ－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｃ－Ｘ４－Ｇ－Ｘ５－Ｐ－Ｘ６－Ｆ－Ｘ７－Ｃ－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｇ－Ｔ；式中、

Ｘ１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ、Ｓ、ＹまたはＷ；

Ｘ２はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ、ＴまたはＦ；

Ｘ３はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ、ＨまたはＦ；

【０２７１】

【表４－６】

Ｘ４はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＡ、Ｋ、ＳまたはＴ；

Ｘ５はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＰまたはＷ；

Ｘ６はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＴまたはＳ；

Ｘ７はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥまたはＳ；

Ｘ８はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ、ＹまたはＩ；

Ｘ９はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ、Ｙ、ＭまたはＥ；そして

Ｘ１０はＣ以外の任意のアミノ酸である、好ましくはＹ。

クラスＩＶ

ＴＮ９　＃２：

配列番号：	単離物	配列
配列番号１０２	605-G10,	SETRPTEAGDLICSGPPTFICTLYHTEPTE
配列番号１０３	593-C01,	SETRPTQAVRSQCSGPPTFECWYFGTEPTE
配列番号１０４	592-C01,	SETRPTEGGSWYCSGPPAFECWWYGTEPTE
配列番号１０５	591-E01,	SETRPTVASRWHCNGPPTFECWRYGTEPTE
配列番号１０６	590-E01,	SETRPTEAGTFHCSGPPTFECWSYGPKPTE
配列番号１０７	589-B01,	SETRPTEAGSLWCMGPPWFCCVIYGTQPTE
配列番号１０８	607-A02,	SETRPTEAGILHCSGPPTFECWWNYTEPTE
配列番号１０９	590-F01,	SETRPTESGRVHCPGPPWFRCARNGTEPTE
配列番号１１０	589-C01,	SETRPTAAGRILCTGPPWFSCAMYGTEPTE
配列番号１１１	606-B11,	SETRPTEAADWLCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号１１２	593-E01,	SETRPTQVGRWQCDGPPTFACRSYGTEPTE
配列番号１１３	592-F12,	SETRPTEAGSTKCSGPPTFECWWFDTEPTE
配列番号１１４	590-F07,	SETRPTVAGSWHCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１１５	588-D02,	SETRPTEAGRNHCKGPPGFRCAMTDTEPTE
配列番号１１６	607-H09,	SETRPTETDFVYCRGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１１７	590-H01,	SETRPTSSGSRHCKGPPTFECWGYGTEPTE
配列番号１１８	589-F01,	SETRPTEAGSWRCSGPPTFECWWYETSPTE
配列番号１１９	608-F11,	SETRPTDAIRSYCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号１２０	606-D11,	SETRPTEAGSWNCSGPPAFECWWYGSEPTE

【０２７２】

【表４－７】

配列番号１２１	604-D04,	SETRPTEAGSWQCSGPPTFECWSFGTEPTE
配列番号１２２	602-A11,	SETRPTEAGSWHCNGPPTFECWWYDMEPTE
配列番号１２３	593-F02,	SETRPTEAGRVSCLGPPTFECWWFVPEPTE
配列番号１２４	591-H05,	SETRPTDAGSWRCAGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号１２５	590-H06,	SETRPTEPVTWQCTGPPTFECWWLGTEPTE
配列番号１２６	588-F10,	SETRPTDAVSTHCNGPPTFECYIYGTEPTE
配列番号１２７	608-G03,	SETRPTVAESWYCVGPPSFECWWYGTEPTE
配列番号１２８	604-D09,	SETRPTEAGSWNCSGPPTFECWSYQTEPTE
配列番号１２９	602-A12,	SETRPTEAGSGHCNGPPTFKCWWYDMEPTE
配列番号１３０	592-G11,	SETRPTDQDSWQCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１３１	588-G01,	SETRPTESTQVQCAGPPSFACWMTGTEPTE
配列番号１３２	606-E05,	SETRPTEVESWHCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１３３	594-C07,	SETRPTEAGSFHCSGPPTFECWLYWTDPTE
配列番号１３４	592-H01,	SETRPTEAGQFGCKGPPPFECKLMGRVPTE
配列番号１３５	605-C05,	SETRPTDTVTWHCNGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１３６	594-E08,	SETRPTEADRWHCDGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１３７	593-B11,	SETRPTEAGSIQCVGPPWFSCRMYVTEPTE
配列番号１３８	590-C01,	SETRPTVSGSWQCVGPPTFECWSYGTEPTE
配列番号１３９	612-G11,	SETRPTENGSWHCNGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１４０	612-E08,	SETRPTEAGSWHCSGPPIFECWWYDMEPTE
配列番号１４１	612-A02,	SETRPTVDGGWHCNGPPTFECWMYGTEPTE
配列番号１４２	611-G01,	SETRPTDAGTWNCTGPPSFECWWFGTEPTE
配列番号１４３	610-G04,	SETRPTWDGKWHCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１４４	610-E06,	SETRPTEAGSWRCSGPPTFECWWYYTEPTE
配列番号１４５	610-C06,	SETRPTEAGNWLCSGPPTFECWWYVTGPTE
配列番号１４６	610-A04,	SETRPTEGGNWHCSGPPTFECWLYGTEPTE
配列番号１４７	612-D02,	SETRPTEAGGWHCSGPPTFECWWFNMEPTE
配列番号１４８	612-A12,	SETRPTEVISWHCSGPPTFECYRYGTEPTE
配列番号１４９	611-D03,	SETRPTEVGSWHCNGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１５０	610-G10,	SETRPTLASTWYCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１５１	610-A11,	SETRPTEAGGWYCKGPPTFECWWDGTEPTE
配列番号１５２	612-H02,	SETRPTEAGGWFCSGPPTFECWWYDTVPTE

【０２７３】

【表４－８】

配列番号１５３	612-B01,	SETRPTEAATWQCSGPPTFECWGYGTEPTE
配列番号１５４	610-C12,	SETRPTEAGDYVCVGPPTFECYLMDAEPTE
配列番号１５５	610-B01,	SETRPTEAGGWYCSGPPSFECWSYGTEPTE
配列番号１５６	612-H04,	SETRPTESSSWHCSGPPTFECWRFGTEPTE
配列番号１５７	612-B09,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFECWWYYAEPTE
配列番号１５８	611-G07,	SETRPTLAGNWQCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１５９	611-E10,	SETRPTEAGSWHCNGPPTFECWQYGTEPTE
配列番号１６０	610-H02,	SETRPTEAGSWECHGPPSFECWWYGTEPTE
配列番号１６１	610-D03,	SETRPTEAGSWRCSGPPTFECWWYDAEPTE
配列番号１６２	610-B03,	SETRPTEAGSWNCAGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１６３	612-H05,	SETRPTEAGSFYCSGPPTFECWQYVPEPTE
配列番号１６４	612-F05,	SETRPTEAGSWMCSGPPTFECWQYFTEPTE
配列番号１６５	612-B10,	SETRPTEAGSLHCSGPPTFECWWWETEPTE
配列番号１６６	611-E11,	SETRPTEEGVWHCNGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１６７	610-F08,	SETRPTEAGRWNCSGPPTFECWWYSTEPTE
配列番号１６８	610-D05,	SETRPTEAGSWRCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号１６９	610-B04,	SETRPTQAVSSYCSGPPTFECWSFGTEPTE
配列番号１７０	612-B12,	SETRPTEAGRSYCSGPPTFECWWYATEPTE
配列番号１７１	611-H01,	SETRPTVVAKVHCAGPPTFECWTYGTEPTE
配列番号１７２	610-H05,	SETRPTEPGSWHCSGPPTFVCWWWGTEPTE
配列番号１７３	610-F10,	SETRPTEAGRWHCSGPPTFECWWHDTEPTE
配列番号１７４	612-H07,	SETRPTEAGSWQCTGPPTFECWGYVEEPTE
配列番号１７５	612-G09,	SETRPTEAGSWQCGGPPTFECWWYYTGPTE
配列番号１７６	612-F08,	SETRPTEAGSWYCTGPPTFECWLYETYPTE
配列番号１７７	611-H08,	SETRPTAAWSGSCSGPPSFECWNYGTEPTE
配列番号１７８	610-E01,	SETRPTEAGSWQCSGPPTFACWWYGTEPTE
配列番号１７９	610-B09,	SETRPTEAGILHCSGPPTFECWWEVMEPTE
配列番号１８０	612-E07,	SETRPTEAGRVACSGPPTFECWSYDEEPTE
配列番号１８１	612-C11,	SETRPTEAGNWECQGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号１８２	610-E04,	SETRPTLASNGYCNGPPTFECWHYGTEPTE
配列番号１８３	610-B12,	SETRPTEAGSFHCSGPPTFECIWYGSEPTE
配列番号１８４	616-B11,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFACWWDGTEPTE

【０２７４】

【表４－９】

配列番号１８５	615-H08,	SETRPTQGDNWNCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１８６	615-B11,	SETRPTEAGRWHCNGPPTFECWRYDYDPTE
配列番号１８７	614-C07,	SETRPTEAYSWECTGPPMFECWWYGTEPTE
配列番号１８８	613-H12,	SETRPTEVVDWHCSGPPQFECWWYGTEPTE
配列番号１８９	613-F02,	SETRPTEAGSWNCSGPPTFECWWYGSEPTE
配列番号１９０	613-D05,	SETRPTASGSWHCSGPPTFECWIFGTEPTE
配列番号１９１	612-H12,	SETRPTEAGAWYCMGPPTFECWWYDRGPTE
配列番号１９２	616-D05,	SETRPTEAGGLHCSGPPTFECWWYDTEPTE
配列番号１９３	615-C01,	SETRPTVGGSWDCKGPPTFECWSYGTEPTE
配列番号１９４	614-E09,	SETRPTEAGAWSCLGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１９５	614-A03,	SETRPTEAGSLHCSGPPTFECWWFDTEPTE
配列番号１９６	616-C02,	SETRPTAGRSWECSGPPTFECWVFGTEPTE
配列番号１９７	615-C04,	SETRPTDNGSWHCNGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１９８	614-C12,	SETRPTEAGSWQCKGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号１９９	615-C11,	SETRPTEVGNYKCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２００	614-H08,	SETRPTEAGSWHCVGPPTFECWGYVTEPTE
配列番号２０１	614-E11,	SETRPTEAGSFVCKGPPTFECYWFGQDPTE
配列番号２０２	616-E10,	SETRPTEAGSWHCSGPPTFECWWYGPDPTE
配列番号２０３	615-D02,	SETRPTEAERWHCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２０４	614-F04,	SETRPTEAGSWHCSGPPTFECWFYVKEPTE
配列番号２０５	614-D06,	SETRPTEAGSWDCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号２０６	614-B08,	SETRPTEPAGWECRGPPSFECLWYGTEPTE
配列番号２０７	613-H01,	SETRPTDAGPWNCTGPPSFECWWYGTEPTE
配列番号２０８	613-E04,	SETRPTEARGWHCSGPPTFECWLWGTEPTE
配列番号２０９	613-B08,	SETRPTEAGRWNCSGPPTFECWQYEMDPTE
配列番号２１０	615-D04,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFECFWYDTEPTE
配列番号２１１	615-A05,	SETRPTESGSWHCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号２１２	614-E04,	SETRPTEAGSWLCTGPPTFECWWFDTDPTE
配列番号２１３	613-E06,	SETRPTEPSHWHCVGPPTFACWWYVTDPTE
配列番号２１４	613-C05,	SETRPTEAGSWYCSGPPMFECYLFVTEPTE
配列番号２１５	616-C07,	SETRPTEAVNWHCLGPPSFECWQFGTEPTE
配列番号２１６	615-G02,	SETRPTEAGSWHCSGPPTFECWWYGTDPTE

【０２７５】

【表４－１０】

配列番号２１７	615-E06,	SETRPTEAGSWHCSGPPTFECWSFVSLPTE
配列番号２１８	615-A08,	SETRPTEGSEWSCIGPPSFECWWYGTEPTE
配列番号２１９	614-G01,	SETRPTEDGYWNCSGPPTFECWWHGTEPTE
配列番号２２０	613-D01,	SETRPTEAGSWSCSGPPTFECWPYYTEPTE
配列番号２２１	614-G02,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFECWWYWPEPTE
配列番号２２２	614-E06,	SETRPTDDGRWSCAGPPTFECWRYGTEPTE
配列番号２２３	620-E11,	SETRPTEGGSWSCGGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号２２４	620-A11,	SETRPTVTGSWYCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２２５	618-F04,	SETRPTEASSWYCTGPPAFECWWYGTEPTE
配列番号２２６	617-G06,	SETRPTEAGSWLCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２２７	616-G06,	SETRPTESVRWYCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２２８	620-F10,	SETRPTEAGRLVCSGPPTFMCRTYATDPTE
配列番号２２９	619-G04,	SETRPTEAGSWECTGPPWFVCRQYAIEPTE
配列番号２３０	618-F12,	SETRPTEAGYLYCSGPPTFECWWYDTMPTE
配列番号２３１	618-B06,	SETRPTEAGSWHCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号２３２	617-E09,	SETRPTEAGNWHCLGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２３３	616-F10,	SETRPTEAGSWHCSGPPTFECWWYDTEPTE
配列番号２３４	620-B11,	SETRPTESGGWYCSGPPAFECWWYGTEPTE
配列番号２３５	619-G07,	SETRPTVAGAVSCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２３６	619-E11,	SETRPTEAGRWYCSGPPTFECWWFLPDPTE
配列番号２３７	619-B12,	SETRPTEAGGWHCSGPPSFECWWFDTVPTE
配列番号２３８	618-G11,	SETRPTGVGGWYCSGPPSFECWLYGTEPTE
配列番号２３９	618-B11,	SETRPTQADYLHCSGPPTFECFWYGTEPTE
配列番号２４０	617-F01,	SETRPTGDGNWHCNGPPTFECWRFGTEPTE
配列番号２４１	617-B01,	SETRPTEASNYHCIGPPTFECFWYGTEPTE
配列番号２４２	616-G12,	SETRPTEAGDWLCKGPPTFECWWQVTDPTE
配列番号２４３	620-G01,	SETRPTEAGSWHCNGPPTFECWWYSSDPTE
配列番号２４４	620-C10,	SETRPTEDGGWRCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２４５	619-G09,	SETRPTEAGRIECKGPPWFSCVIYGTEPTE
配列番号２４６	619-F06,	SETRPTGGGSWNCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２４７	618-C03,	SETRPTEAGSLYCSGPPTFECWWYITHPTE
配列番号２４８	617-F02,	SETRPTEAGRWHCSGPPRFECWWYDTEPTE

【０２７６】

【表４－１１】

配列番号２４９	616-H01,	SETRPTEYGSWHCSGPPTFECWYHGTEPTE
配列番号２５０	618-D01,	SETRPTEAGNWHCSGPPSFECWWYATEPTE
配列番号２５１	617-F03,	SETRPTEQGSWHCKGPPTFECWSYGTEPTE
配列番号２５２	616-H03,	SETRPTDAANYHCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２５３	616-G02,	SETRPTEAGSWYCSGPPMFECWWLAEEPTE
配列番号２５４	620-G09,	SETRPTEAGGWYCSGPPAFECWWYATEPTE
配列番号２５５	620-D12,	SETRPTEAGIWSCSGPPTFECWWYESSPTE
配列番号２５６	619-A09,	SETRPTEEGLRVCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２５７	618-D06,	SETRPTEAGSWLCFGPPTFECWSFGTEPTE
配列番号２５８	617-H12,	SETRPTVAGSWDCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２５９	616-H05,	SETRPTKADNWHCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２６０	619-H10,	SETRPTEAGIVYCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号２６１	619-D03,	SETRPTEAGYWHCLGPPTFECWWYVKEPTE
配列番号２６２	618-D12,	SETRPTEPGLLHCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２６３	620-E04,	SETRPTEASSWYCSGPPSFECWWYGTEPTE
配列番号２６４	620-A05,	SETRPTEAGSWHCLGPPTFECWWYVKEPTE
配列番号２６５	619-D04,	SETRPTEAGIILCKGPPWFSCDIYDTGPTE
配列番号２６６	618-A11,	SETRPTAAGNWHCSGPPTFECWAYGTEPTE
配列番号２６７	617-D07,	SETRPTVGGSWYCSGPPTFECWSYGTEPTE
配列番号２６８	627-A10,	SETRPTEDGWLDCKGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２６９	626-H02,	SETRPTEDGNWHCSGPPTFECWSYGTEPTE
配列番号２７０	626-F06,	SETRPTEAGSWHCSGPPTFECWYYWPEPTE
配列番号２７１	624-D02,	SETRPTEAGSLYCSGPPMFECWWYDWYPTE
配列番号２７２	622-D09,	SETRPTEAGGWYCMGPPAFECWWYASEPTE
配列番号２７３	621-F11,	SETRPTNAGSWYCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２７４	621-B11,	SETRPTEASRWHCNGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２７５	627-B03,	SETRPTEAGSFVCSGPPTFECWWYNTGPTE
配列番号２７６	626-H03,	SETRPTEAGSWHCSGPPTFECWSYGTEPTE
配列番号２７７	626-F07,	SETRPTESDIWLCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２７８	626-D02,	SETRPTDADPWHCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号２７９	625-B03,	SETRPTEAGVVLCSGPPTFECWWYDTEPTE
配列番号２８０	622-D10,	SETRPTEVGSVHCSGPPTFECWWFGTEPTE

【０２７７】

【表４－１２】

配列番号２８１	621-G02,	SETRPTEAGRWLCSGPPTFECWEYDTEPTE
配列番号２８２	621-E04,	SETRPTDAGWLQCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２８３	621-B12,	SETRPTEASRRHCNGPPTFECWRYGTEPTE
配列番号２８４	626-H04,	SETRPTEAGRWYCSGPPTFECWLFVEEPTE
配列番号２８５	626-F11,	SETRPTAADSWQCSGPPTFECWSFGTEPTE
配列番号２８６	626-D03,	SETRPTEAGSWHCGGPPTFECWMYVTEPTE
配列番号２８７	626-A02,	SETRPTDDGSWYCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２８８	623-E07,	SETRPTEAGYWHCLGPPTFECWWYDMEPTE
配列番号２８９	622-G09,	SETRPTEAGILRCSGPPTFECWYYETEPTE
配列番号２９０	622-E05,	SETRPTEDVSVHCAGPPTFECWLYGTEPTE
配列番号２９１	622-B12,	SETRPTEEGVFQCVGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２９２	621-G07,	SETRPTEDGGFFCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２９３	621-E07,	SETRPTEPGSWHCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号２９４	621-C01,	SETRPTEAGSWHCSGPPTFECWWYDRAPTE
配列番号２９５	626-A05,	SETRPTEAGTWYCSGPPTFECWYYATEPTE
配列番号２９６	623-G02,	SETRPTEAGSLYCSGPPAFECYWYGTVPTE
配列番号２９７	622-H11,	SETRPTDPGVLHCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号２９８	622-C04,	SETRPTEAGTWYCLGPPTFECWSFWQDPTE
配列番号２９９	621-G11,	SETRPTEAGRWGCSGPPTFECWWYVAEPTE
配列番号３００	621-C07,	SETRPTEAGIWHCAGPPTFICWLYETEPTE
配列番号３０１	627-C03,	SETRPTEAGSWHCSGPPSFECWQYSTEPTE
配列番号３０２	626-D12,	SETRPTEAGSWQCSGPPTFECWVYETEPTE
配列番号３０３	626-A06,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFECWWYDVGPTE
配列番号３０４	623-H02,	SETRPTDEVSWECRGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３０５	623-B05,	SETRPTEGGSWVCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３０６	622-E10,	SETRPTEYGSWYCSGPPTFECWWLGTEPTE
配列番号３０７	622-C06,	SETRPTEAGVWLCSGPPTFECWWYDTDPTE
配列番号３０８	621-H03,	SETRPTMAGSYYCSGPPTFECWVYGTEPTE
配列番号３０９	621-E11,	SETRPTEAGYVQCYGPPSFVCHPMVPDPTE
配列番号３１０	621-C08,	SETRPTEDGFVLCKGPPWFSCEMYGTEPTE
配列番号３１１	627-C04,	SETRPTEAGGWNCSGPPTFECWWYVTEPTE
配列番号３１２	626-A07,	SETRPTEDGSWECFGPPTFECWSYGTEPTE

【０２７８】

【表４－１３】

配列番号３１３	623-H08,	SETRPTDAVSYVCKGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３１４	622-F05,	SETRPTEARSWHCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３１５	627-A04,	SETRPTASVSWHCSGPPTFECWSYGTEPTE
配列番号３１６	626-G05,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFECWYYDMDPTE
配列番号３１７	623-H11,	SETRPTEAGSWLCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号３１８	622-F11,	SETRPTGDGSWYCSGPPTFECWWLGTEPTE
配列番号３１９	621-F03,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFECWWYFLDPTE
配列番号３２０	626-F01,	SETRPTEAGGWYCSGPPTFECWWFATEPTE
配列番号３２１	621-F04,	SETRPTEAGDLDCLGPPTFICRIYGTEPTE
配列番号３２２	630-F06,	SETRPTEAGSWQCVGPPTFECWSFGTEPTE
配列番号３２３	630-A03,	SETRPTEADSWYCSGPPTFECWLFGTEPTE
配列番号３２４	629-F10,	SETRPTQADSWYCSGPPTFECWWWGTEPTE
配列番号３２５	629-D11,	SETRPTEAFSWDCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号３２６	629-B06,	SETRPTEAGSWQCSGPPVFECWWYDTEPTE
配列番号３２７	628-H01,	SETRPTEAGNVQCSGPPTFECWWFDTEPTE
配列番号３２８	628-F03,	SETRPTEAGSVVCSGPPRFECWAFVTEPTE
配列番号３２９	627-G02,	SETRPTEDGTLHCSGPPTFACWWYGTEPTE
配列番号３３０	629-E01,	SETRPTDAEVWVCNGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３３１	628-H09,	SETRPTEDVTFHCSGPPTFECWLYGTEPTE
配列番号３３２	628-A05,	SETRPTSDFDWHCKGPPTFECWSYGTEPTE
配列番号３３３	627-G04,	SETRPTEADSWYCSGPPTFECWWYVPEPTE
配列番号３３４	630-A05,	SETRPTDDGNWYCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３３５	629-E03,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFECWRYDTDPTE
配列番号３３６	629-C02,	SETRPTEAGPWSCSGPPTFECWWFDTEPTE
配列番号３３７	628-H10,	SETRPTEAGMFLCSGPPAFECWWYDTEPTE
配列番号３３８	628-F12,	SETRPTEAGSLYCSGPPTFECWLYDVEPTE
配列番号３３９	627-D12,	SETRPTEAGQWNCSGPPTFECWWYDIEPTE
配列番号３４０	630-G02,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFECWWFETEPTE
配列番号３４１	629-E06,	SETRPTEAGSFVCSGPPTFECWGYVTEPTE
配列番号３４２	628-D07,	SETRPTQDGTWFCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３４３	627-E06,	SETRPTEGDSWHCAGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３４４	629-E07,	SETRPTEAGSWSCSGPPTFECWSYGTEPTE

【０２７９】

【表４－１４】

配列番号３４５	629-C11,	SETRPTEAGRIQCSGPPTFECWWYDEEPTE
配列番号３４６	629-A03,	SETRPTEAGTIVCKGPPWFSCEIYETEPTE
配列番号３４７	628-A12,	SETRPTEAGDWYCSGPPAFECWEYLGEPTE
配列番号３４８	627-E08,	SETRPTEAGSWFCSGPPSFECWSYVTEPTE
配列番号３４９	629-E08,	SETRPTEAGSWHCSGPPAFECWWYDNEPTE
配列番号３５０	629-B02,	SETRPTEAGRWTCSGPPTFECWWYVSDPTE
配列番号３５１	628-E06,	SETRPTEAGEWYCGGPPTFECWWFDTAPTE
配列番号３５２	627-G09,	SETRPTEAGSWHCSGPPSFECWWFDTGPTE
配列番号３５３	631-A11,	SETRPTEAGSFICSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３５４	630-C10,	SETRPTEDVRWYCSGPPTFECWWFGTEPTE
配列番号３５５	628-B08,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFECWWYVPEPTE
配列番号３５６	629-F03,	SETRPTEAGNWLCSGPPAFECWWFVAEPTE
配列番号３５７	632-A09,	SETRPTEAGSWYCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３５８	632-G07,	SETRPTEAGDWLCAGPPTFECWWWGTDPTE
配列番号３５９	631-F12,	SETRPTEAGSWHCVGPPTFECWWFDTEPTE
配列番号３６０	633-A02,	SETRPTEAGEWSCSGPPTFECWWWDMEPTE
配列番号３６１	633-B06,	SETRPTYYVSWYCSGPPTFECWSYGTEPTE
配列番号３６２	632-D11,	SETRPTEDGSWYCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３６３	631-D10,	SETRPTEDGTWYCSGPPTFECWWYGTEPTE
配列番号３６４	633-F09,	SETRPTETDSWVCSGPPTFECWWYGTEPTE

共通モチーフ＃１：Ｇ－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｃ－Ｘ４－Ｇ－Ｐ－Ｐ－Ｘ５－Ｆ－Ｘ６－Ｃ－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｐ－Ｔ－Ｅ、式中：

Ｘ１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＳ、Ｒ、Ｉ、ＤまたはＮ；

Ｘ２はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ、Ｌ、Ｆ、ＶまたはＩ；

Ｘ３はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＨ、Ｙ、Ｌ、Ｑ、ＮまたはＶ；

Ｘ４はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＳ、ＫまたはＬ；

Ｘ５はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＴ、Ｓ、ＡまたはＷ；

Ｘ６はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥまたはＳ；

Ｘ７はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ；

Ｘ８はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ、ＳまたはＬ；

Ｘ９はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＹまたはＦ；

Ｘ１０はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＤ、Ｇ、ＶまたはＥ；

Ｘ１１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＴ、Ｐ、ＭまたはＳ；そして

Ｘ１２はＣ以外の任意のアミノ酸である、好ましくはＥまたはＧ。

【０２８０】

【表４－１５】

モチーフ＃２：Ｔ－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｃ－Ｘ７－Ｇ－Ｐ－Ｐ－Ｘ８－Ｆ－Ｘ９－Ｃ－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｇ、式中：

Ｘ１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ、ＤまたはＶ；

Ｘ２はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＡ、Ｄ、Ｇ、ＳまたはＶ；

Ｘ３はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＧ、Ｖ、ＤまたはＳ；

Ｘ４はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＳ、Ｎ、Ｒ、ＴまたはＧ；

Ｘ５はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ；

Ｘ６はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＨまたはＱ；

Ｘ７はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＳ、ＮまたはＫ；

Ｘ８はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＴ；

Ｘ９はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ；

Ｘ１０はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ；

Ｘ１１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷまたはＳ；そして

Ｘ１２はＣ以外の任意のアミノ酸である、好ましくはＹまたはＦ。

クラスＶ

ＴＮ１０；

配列番号：	単離物	配列
配列番号３６５	545-C02,	GSWRFCGGEYSFQVCQDVAP
配列番号３６６	546-E02,	GSHHTCLDGFAGWRCTEVAP
配列番号３６７	545-C11,	GSFAPCGWPSFAIDCIAEAP
配列番号３６８	549-G01,	GSTKVCHEKWNQLFCHNQAP
配列番号３６９	548-F07,	GSPEMCMMFPFLYPCNHHAP
配列番号３７０	551-H10,	GSFFPCWRIDRFGYCHANAP

共通モチーフ：Ｓ－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｃ－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｃ－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４－Ａ－Ｐ、式中：

Ｘ１はＷ、Ｈ、Ｆ、ＴまたはＰの一つであり；

Ｘ２はＲ、Ｈ、Ａ、Ｋ、ＥまたはＦの一つであり；

Ｘ３はＦ、Ｔ、Ｐ、ＶまたはＭの一つであり；

Ｘ４はＦ、Ｌ、Ｈ、ＭまたはＷの一つであり；

Ｘ５はＧ、Ｄ、Ｗ、Ｅ、ＭまたはＲの一つであり；

Ｘ６はＥ、Ｇ、Ｐ、Ｋ、ＦまたはＩの一つであり；

Ｘ７はＹ、Ｆ、Ｓ、Ｗ、ＰまたはＤの一つであり；

Ｘ８はＳ、Ａ、Ｆ、ＮまたはＲの一つであり；

【０２８１】

【表４－１６】

Ｘ９はＦ、Ｇ、Ａ、ＱまたはＬの一つであり；

Ｘ１０はＱ、Ｗ、Ｉ、Ｌ、ＹまたはＧの一つであり；

Ｘ１１はＶ、Ｒ、Ｄ、Ｆ、ＰまたはＹの一つであり；

Ｘ１２はＱ、Ｔ、Ｉ、ＨまたはＮの一つであり；

Ｘ１３はＤ、Ｅ、Ａ、ＮまたはＨの一つであり；そして

Ｘ１４はＶ、Ｅ、Ｑ、ＨまたはＮの一つである。

クラスＶＩ

ＴＮ１１　＃１：

配列番号：	単離物	配列
配列番号３７１	443-H10,	GSQQICDRKEYRFQACLSDAP
配列番号３７２	557-A12,	GSTMSCWRWGRDAYSCNQMAP
配列番号３７３	465-A03,	GSSQICAVYLDDTHNCERHAP
配列番号３７４	446-E12,	GSSHCNQMITPWQNCGMRAP
配列番号３７５	445-E06,	GSSARCDELINDFHSCLVMAP
配列番号３７６	452-A03,	GSRFHCWQGDLMQTYCMPMAP
配列番号３７７	465-C06,	GSQNNCEYGSRGSSFCLAMAP
配列番号３７８	441-H01,	GSMNMCDTTDEISPTCHPSAP
配列番号３７９	443-D04,	GSMLGCLFEHQNKYDCYVLAP
配列番号３８０	445-G12,	GSLYRCLGEASPTPPCAYEAP
配列番号３８１	442-E03,	GSGMGCHQVNISTGDCAEDAP
配列番号３８２	453-A05,	GSGDPCSPGPSINGHCSVMAP
配列番号３８３	445-E07,	GSFWNCTTDLGAMSDCGFFAP
配列番号３８４	451-B12,	GSFTACNKTSTTRQPCNPYAP
配列番号３８５	465-B07,	GSELFCFYHHQGYEGCDVLAP
配列番号３８６	451-C06,	GSDMNCTVLAQDQIFCFREAP
配列番号３８７	445-E11,	GSAGWCYTMNYVDQLCTYMAP

共通モチーフ：Ｓ－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｃ－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｃ－Ｘ１３－Ｘ１４－Ｘ１５－Ａ－Ｐ、式中：

Ｘ１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＳ、Ｆ、Ｇ、ＭまたはＱ；

Ｘ２はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＭ、Ｌ、ＮまたはＱ；

Ｘ３はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＮ、Ｇ、Ｈ、ＩまたはＲ；

Ｘ４はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＤ、Ｌ、Ｎ、ＴまたはＷ；

Ｘ５はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＱ、Ｔ、Ｒ、ＶまたはＹ；

【０２８２】

【表４－１７】

Ｘ６はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＧ、Ｅ、Ｌ、ＭまたはＴ；
Ｘ７はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＡ、Ｄ、Ｈ、Ｉ、Ｌ、ＮまたはＳ；
Ｘ８はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＱ、Ｒ、Ｓ、ＴまたはＹ；
Ｘ９はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＤ、Ｇ、ＩまたはＰ；
Ｘ１０はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＴ、ＦまたはまたはＱ；
Ｘ１１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＱ、Ｆ、Ｈ、Ｐ、ＳまたはＹ；
Ｘ１２はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＤ、Ｆ、Ｎ、ＰまたはＳ；
Ｘ１３はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＬ、Ａ、Ｇ、ＮまたはＳ；
Ｘ１４はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＶ、Ｐ、ＲまたはＹ；
Ｘ１５はＣ以外の任意のアミノ酸である、好ましくはＭ、Ｄ、ＥまたはＬ。

クラスＶＩＩ

ＴＮ１１　＃２：

配列番号：	単離物	配列
配列番号３８８	593-G11,	SETRPTEAGMCACRGPPAFVCQWYGSEPTE
配列番号３８９	631-E12,	SETRPTEAGSCHCSGPPTFECWSYVTEPTE

クラスＶＩＩＩ

ＴＮ１２：

配列番号：	単離物	配列
配列番号３９０	546-G02,	GDYDYCDFDLETYIPECHSYDP
配列番号３９１	333-C03,	GDDFHCEFIDDYQSEICYFNDP
配列番号３９２	549-G05,	GDLLVCKFDDKFWTETCEWADP
配列番号３９３	546-B01,	GDSYNCSWDSKTFEVTCLYADP
配列番号３９４	551-D02,	GDASWCDENSPAAWFYCELWDP
配列番号３９５	334-F05,	GDLLGCGYQEKGGEYKCRFNDP
配列番号３９６	330-G02,	GDPWWCFEKDSFIPFACWHHDP
配列番号３９７	316-F08,	GDYYQCQFSKDMYSERCWPYDP
配列番号３９８	332-H09,	GDNRFCSWVYNVDDWWCVDNDP
配列番号３９９	545-H12,	GDYSECFFEPDSFEVKCYDRDP
配列番号４００	548-G05,	GDYRMCQISDMWGNYECSSDDP
配列番号４０１	547-C09,	GDPDECQLNRETFEVWCPWHDP
配列番号４０２	545-F04,	GDHRKCEISAKTHEVTCYDNDP
配列番号４０３	552-F06,	GDHLTCEFRDDGWKEHCWWSDP
配列番号４０４	531-E11,	GDASMCYDGLALRWDQCWPHDP

【０２８３】

【表４－１８】

共通モチーフ：Ｄ－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｃ－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｃ－Ｘ１４－Ｘ１５－Ｘ１６－Ｄ－Ｐ、式中：

Ｘ１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＹ，Ａ、Ｈ、ＬまたはＰ；

Ｘ２はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＬ、Ｒ、Ｓ、ＤまたはＹ；

Ｘ３はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ、ＭまたはＷ；

Ｘ４はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ、Ｑ、Ｄ、ＦまたはＳ；

Ｘ５はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＦ、Ｉ、ＷまたはＥ；

Ｘ６はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＤ、ＳまたはＮ；

Ｘ７はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＤ、ＳまたはＬ；

Ｘ８はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＤ、ＫまたはＥ；

Ｘ９はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＴ、ＦまたはＧ；

Ｘ１０はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＦ、Ｗ、ＹまたはＧ；

Ｘ１１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ、ＳまたはＷ；

Ｘ１２はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ、Ｖ、ＦまたはＹ；

Ｘ１３はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＴ、Ｅ、ＫまたはＶ；

Ｘ１４はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷまたはＥ；

Ｘ１５はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＤ、Ｗ、Ｆ、ＰまたはＳ；そして

Ｘ１６はＣ以外の任意のアミノ酸である、好ましくはＮ、ＩまたはＡ。

【０２８４】

【表４－１９】
クラスＩＸ

ＴＮ９　＃３：

配列番号：	単離物	配列
配列番号４０５	606-B08,	SETRPTEAGSCHCSGPPTFQCWCYEVEPTE
配列番号４０６	602-G12,	SETRPTEAGSCHCSGPPTFECWCYGTEPTE
配列番号４０７	603-E09,	SETRPTGESDCHCSGPPTFECYCYGTEPTE
配列番号４０８	606-C12,	SETRPTESGNCYCSGPPWFECWCYGTEPTE
配列番号４０９	603-H03,	SETRPTEAGACRCSGPPTFECYCYDMAPTE
配列番号４１０	604-G01,	SETRPTEAGSCYCSGPPRFECWCYETEPTE
配列番号４１１	602-G04,	SETRPTEAGSCHCSGPPSFECWCFGTEPTE
配列番号４１２	611-G11,	SETRPTVSVSCSCGGPPTFECWCFGTEPTE
配列番号４１３	611-F02,	SETRPTEAGSCHCNGPPTFECFCFGTEPTE
配列番号４１４	610-G02,	SETRPTEAGSCYCGGPPSFECWCYGTEPTE
配列番号４１５	614-E08,	SETRPTEAGSCHCSGPPTFECWCYGSNPTE
配列番号４１６	615-A01,	SETRPTEAGSCHCSGPPAFECWCYRAEPTE
配列番号４１７	617-H02,	SETRPTEAGSCDCSGPPTFECWCFGTEPTE
配列番号４１８	616-F12,	SETRPTEAGKCHCGGPPSFECWCYATEPTE
配列番号４１９	620-G06,	SETRPTEAGKCHCSGPPTFECTCYHTDPTE
配列番号４２０	627-B04,	SETRPTEAGFCQCSGPPAFECWCYDTEPTE
配列番号４２１	627-B06,	SETRPTEAVSCECKGPPTFECWCFGTEPTE
配列番号４２２	626-H05,	SETRPTEAGDCHCSGPPTFECWCYGTEPTE
配列番号４２３	626-D11,	SETRPTEAGACDCIGPPTFECWCYDTYPTE
配列番号４２４	626-E05,	SETRPTEAGNCLCSGPPTFECACYHSEPTE
配列番号４２５	621-D01,	SETRPTEAGSCHCSGPPTFQCWCYSTEPTE
配列番号４２６	622-A10,	SETRPTEAGICHCSGPPTFECWCYATEPTE
配列番号４２７	630-D09,	SETRPTEEGSCHCSGPPTFECWCFGTEPTE
配列番号４２８	628-D01,	SETRPTEAGICNCSGPPTFECWCYSMGPTE
配列番号４２９	628-F11,	SETRPTQGGNCHCSGPPTFECWCYGTEPTE
配列番号４３０	628-D04,	SETRPTEAGSCNCSGPPTFECYCYTLDPTE
配列番号４３１	630-G01,	SETRPTDNGSCQCSGPPTFECWCFGTEPTE
配列番号４３２	627-G06,	SETRPTESGSCHCSGPPTFECWCYGTEPTE
配列番号４３３	630-G05,	SETRPTEAGSCNCSGPPSFECWCYVTEPTE

【０２８５】

【表４－２０】

配列番号４３４	630-C03,	SETRPTEGGSCYCGGPPTFECWCYGTEPTE
配列番号４３５	627-G07,	SETRPTEAGRCHCSGPPTFECWCYVQEPTE
配列番号４３６	630-H10,	SETRPTESGSCLCSGPPQFECWCYGTEPTE
配列番号４３７	628-B01,	SETRPTETDSCHCIGPPTFECWCYGTEPTE
配列番号４３８	630-F01,	SETRPTEAGFCRCSGPPTFECWCYDTEPTE
配列番号４３９	629-D01,	SETRPTEHGSCNCYGPPTFECWCYGTEPTE
配列番号４４０	633-G02,	SETRPTALGGCLCSGPPTFECWCYGTEPTE
配列番号４４１	631-F07,	SETRPTEGGSCECSGPPTFECWCYGTEPTE
配列番号４４２	633-G08,	SETRPTEEGSCHCSGPPAFECWCYGTEPTE
配列番号４４３	632-H07,	SETRPTEAGTCYCSGPPTFECWCYGTEPTE
配列番号４４４	631-D03,	SETRPTEDGSCHCSGPPRFECWCYGTEPTE
配列番号４４５	633-G12,	SETRPTEAGSCHCSGPPTFECWCYSTEPTE
配列番号４４６	633-H03,	SETRPTEAGSCYCSGPPTFECWCYAEEPTE
配列番号４４７	632-F05,	SETRPTEAGSCHCSGPPTFECWCFEPEPTE

モチーフ１３－１　Ｇ－Ｘ１－Ｃ－Ｘ２－Ｃ－Ｘ３－Ｇ－Ｐ－Ｐ－Ｘ４－Ｆ－Ｘ５－Ｃ－Ｘ６－Ｃ－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｐ、式中：

Ｘ１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＳ；

Ｘ２はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはH、ＹまたはＮ；

Ｘ３はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＳまたはＧ；

Ｘ４はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＴ；

Ｘ５はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ；

Ｘ６はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＷ；

Ｘ７はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＹ；

Ｘ８はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＧ、Ｄ、Ａ、ＥまたはＳ；

Ｘ９はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＴまたはＳ；そして

Ｘ１０はＣ以外の任意のアミノ酸である、好ましくはＥまたはＤ；

モチーフ１３－２　Ｔ－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｃ－Ｘ５－Ｃ－Ｘ６－Ｇ－Ｐ－Ｐ－Ｘ７－Ｆ－Ｅ－Ｃ－Ｘ８－Ｃ－Ｘ９－Ｇ、式中、

Ｘ１はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＥ；

Ｘ２はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＡ、Ｓ、ＥまたはＧ；

Ｘ３はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＧ；

Ｘ４はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＳ；

Ｘ５はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはH；

【０２８６】

【表４－２１】

Ｘ６はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＳ；

Ｘ７はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはＴ；

Ｘ８はＣ以外の任意のアミノ酸であり、好ましくはW、ＹまたはＦ；そして

Ｘ９はＣ以外の任意のアミノ酸である、好ましくはＹまたはＦ。

クラスＸ

配列番号：	単離物	配列
配列番号４４８	606-E11,	SEYPTWVSKEFHECAGELVAMQGGSGTE

クラスＸＩ

直線状＃１：

配列番号：	単離物	配列
配列番号４４９	525-A07,	AQQASRFTFTDGDSYWWFEDF
配列番号４５０	528-F05,	AQIQGIQKTEQGEFYWFNWFPA
配列番号４５１	524-E09,	AQREVEEPYWYLDFLSSWRMHE
配列番号４５２	96-H12 ,	AQRPEAHYKLAMSYPIIPRTKT
配列番号４５３	118-A08,	AQRWSSPGMSQSFVLEWKWNDN
配列番号４５４	94-E08 ,	AQYDTWVFQFIHEVPGELVAMQ
配列番号４５５	119-F06,	AQMYQTPDGVIGKFVDWMFN
配列番号４５６	95-A11 ,	AQVGSPMLPSWFSFEANWSS
配列番号４５７	94-H04 ,	AQNAVVPPPMLWSIYWDYGREG
配列番号４５８	94-F07 ,	AQPYYELQDADMLLVVALLSTG
配列番号４５９	103-G08,	AQVGTAEAIMFSDVEDTGVHKF
配列番号４６０	118-C07,	AQFPLEFDVPNFSYHWLVSFNP
配列番号４６１	104-C09,	AQDLKPWTAGWEPPWLWTDRGP

【０２８７】

【表４－２２】

配列番号４６２	117-F08,	AQHQYGQMMVLHIQYDMGEFIP
配列番号４６３	76-D09 ,	AQSPYIFPIDDSGRQIFVIQWG
配列番号４６４	93-C08 ,	AQVPDWLSAVVIEKLIEYGMMV
配列番号４６５	92-B05 ,	AQFDRYWHFAWMDVSFSSGQSG
配列番号４６６	116-H02,	AQKETWEFFDIVYGSGWKFNSP
配列番号４６７	02-B08 ,	AQHSVQRQMDVWMPVQFMAGFT
配列番号４６８	117-F03,	AQEWQTWTWNMIEVISENKTP
配列番号４６９	127-A07,	AQGFELWVDHTRNFFIAISP
配列番号４７０	94-B08 ,	AQAYEWWADESIFNHGYYWGHQ
配列番号４７１	115-G02,	AQDPGFSKHSMGHGYPSKMNWG
配列番号４７２	130-E10,	AQEWEREYFVDGFWGSWFGIPH
配列番号４７３	136-D01,	AQMGHHWDVQWDYKLFHVARGD
配列番号４７４	15-D02 ,	AQELFQILEKQMWSDFMEWATP
配列番号４７５	79-B02 ,	AQHWDYDSGSDFWFPVFFLEHH
配列番号４７６	94-A06 ,	AQHGYLSPLKQYQMSHVEFWTY
配列番号４７７	94-G02 ,	AQFSGLVMYGRTHEVQWTFGSM
配列番号４７８	75-B12 ,	AQAEWVITSEEFYWKMADFGPP
配列番号４７９	117-F04,	AQWPHDGLVHWGEVIMLRF
配列番号４８０	151-B08,	AQWNQWDEFMWFLNPPPIGLMW
配列番号４８１	117-E09,	AQDNTADQMFNGFHVLAMYMV
配列番号４８２	93-B10 ,	AQSDHDHAHWGVKHWPFRRYQ
配列番号４８３	98-F05 ,	AQLFQYLWHDDPQGAFFQLSMW
配列番号４８４	118-B12,	AQHVVTLTLIQMPFAFNFEPRM
配列番号４８５	27-D10 ,	AQVGESLDDGWTFFSDKWFDFF
配列番号４８６	122-D07,	AQFMYEKEHYVMSISLPGLWFY
配列番号４８７	149-E06,	AQHMDPAEWDWFIRIYSPVVNP
配列番号４８８	166-H04,	AQMWHRVHDPGYTFEVTWLWDN
配列番号４８９	96-D06 ,	AQWNWDMGFMWTTDSAQVQPSM
配列番号４９０	103-C04,	AQKTWFLEADLFQMFQEVTWQF
配列番号４９１	527-E08,	AQWGAVDNDWYDWEMEQIWMFE
配列番号４９２	524-H02,	AQVEDMATVHFKFNPATHEVIW
配列番号４９３	523-A04,	AQRDYLFYWNDGSYQPWQVFVG

【０２８８】

【表４－２３】

配列番号４９４	524-D07,	AQQWMFQIHQSMAWPYEWIDSY
配列番号４９５	522-H03,	AQGIAWQLEWSYMPQSPPSFDR
配列番号４９６	527-A10,	AQGGRYPFYDTDWFKWEMYVL

クラスＸＩＩ

直線状＃２：

配列番号：	単離物	配列
配列番号４９７	594-F01,	SEEDTWLFWQIIEVPVGQVLMQGGSGTE
配列番号４９８	592-E11,	SEYDTLLFQRTGEVVGKLGSMQGGSGTE
配列番号４９９	591-G09,	SEYDTWVFQFMLEVPGSWMARLGGSGTE
配列番号５００	601-G11,	SEYDTWIFQFYREVPGVPGAMQGGSGTE
配列番号５０１	592-G01,	SEVDTGVQLLTHEGPGELVAMQGGSGTE
配列番号５０２	591-H01,	SESDTWVFQLIHEVPASVVAMQGGSGTE
配列番号５０３	592-G05,	SEYDTWVFQFRHGVKAQLVAMRGGSGTE
配列番号５０４	606-D12,	SEYDSRVFQYAPEVAGQVEAMQGGSGTE
配列番号５０５	592-B01,	SEDESRVVQFQHEVSGELVAMQGGSGTE
配列番号５０６	591-A06,	SEQDTFVFMYNGEVSGDMVAMQGGSGTE
配列番号５０７	588-H01,	SEYDTWVFQFRRQVPGVLETMLGGSGTE
配列番号５０８	589-A01,	SEQETLVFAVIDGDPGELVAMQGGSGTE
配列番号５０９	619-F10,	SEYDTWVFQFIHVARGEMEGTLGGSGTE
配列番号５１０	592-B01,	SEDESRVVQFQHEVSGELVAMQGGSGTE
配列番号５１１	591-A06,	SEQDTFVFMYNGEVSGDMVAMQGGSGTE

【０２８９】

【表５－１】

クラス　I 配列番号：	単離物	タンパク質 ELISA	WC ELISA	HGF 100ng/mL	HGF 500ng/mL
配列番号 ００１	571-C05	4.9	1.30	102%	74%
配列番号 ００２	465-A06	4.4	1.33	56%	32%
配列番号 ００３	465-D09	3.2	1.30	90%	70%
配列番号 ００４	569-H10	3.4	1.27	98%	83%
配列番号 ００５	470-E11	3.5	1.33	55%	127%
配列番号 ００６	452-F01	3.2	1.33	117%	110%
配列番号 ００７	569-C03	3.4	1.30	95%	89%
配列番号 ００８	574-H03	3.2	1.27	88%	18%
配列番号 ００９	567-C08	3.8	1.27	85%	94%
配列番号 ０１０	561-C08	3.0	1.37	92%	96%
クラス　II 配列番号：	単離物	タンパク質 ELISA	WC ELISA	HGF 100ng/mL	HGF 500ng/mL
配列番号 ０１１	573-F04	5.6	1.30	76%	71%
配列番号 ０１２	570-E07	4.5	1.27	81%	71%
配列番号 ０１３	456-E04	3.9	1.40	82%	81%
配列番号 ０１４	434-E12	4.8	1.33	117%	41%
配列番号 ０１５	489-A04	4.3	1.33	30%	13%
配列番号 ０１６	484-D08	4.1	1.33	105%	90%
配列番号	482-D02	3.9	1.37	66%	44%

【０２９０】

【表５－２】

０１７					
配列番号	437-A09	3.9	1.13	89%	78%
０１８					
配列番号	352-E04	3.9	1.37	88%	74%
０１９					
配列番号	376-E05	3.7	1.37	122%	121%
０２０					
配列番号	482-A12	3.5	1.37	98%	79%
０２１					
配列番号	423-C11	3.4	1.40	132%	75%
０２２					
配列番号	499-C09	3.2	1.33	91%	70%
０２３					
配列番号	457-A09	14.5	1.30	27%	67%
０２４					
配列番号	573-E07	3.2	1.37	77%	82%
０２５					
配列番号	465-F08	3.8	1.30	68%	116%
０２６					
配列番号	465-E09	3.6	1.30	60%	77%
０２７					
配列番号	444-B08	3.6	1.43	111%	93%
０２８					
配列番号	465-E11	4.3	1.23	33%	124%
０２９					
配列番号	465-D12	3.2	1.27	34%	0%
０３０					
配列番号	470-A02	3.2	1.30	78%	62%
０３１					
配列番号	465-C01	3.2	1.27	267%	23%
０３２					
配列番号	448-H02	3.8	1.43	113%	92%
０３３					
配列番号	465-D01	3.3	1.30	235%	134%
０３４					
配列番号	571-C11	3.5	1.23	107%	72%
０３５					
配列番号	465-B11	3.6	1.27	97%	89%
０３６					
配列番号	442-E08	4.1	1.43	81%	75%
０３７					
配列番号	465-C11	3.1	1.30	41%	4%
０３８					
配列番号	465-F10	3.7	1.33	61%	42%

【０２９１】

【表５－３】

０３９ 配列番号	471-A11	3.0	1.37	85%	80%
０４０ 配列番号	465-C07	3.1	1.27	102%	138%
０４１ 配列番号	465-D04	3.1	1.23	77%	31%
０４２ 配列番号	445-E04	4.2	1.37	127%	102%
０４３ 配列番号	465-B06	4.1	1.23	89%	57%
０４４ 配列番号	470-C02	3.9	1.33	340%	227%
０４５ 配列番号	458-B05	4.5	1.33	201%	247%
０４６ 配列番号	545-E08	4.7	1.30	81%	57%
０４７ クラス　ＩＩＩ 配列番号：	単離物 -	タンパク質 ELISA	WC ELISA	HGF 100ng/mL	HGF 500ng/mL
配列番号	325-H05	15.9	1.47	41%	32%
０４８ 配列番号	330-F05	13.8	1.33	51%	27%
０４９ 配列番号	333-F09	14.8	1.43	52%	32%
０５０ 配列番号	336-G04	5.4	1.33	46%	23%
０５１ 配列番号	334-G06	8.0	1.30	56%	43%
０５２ 配列番号	330-B07	18.1	1.27	58%	40%
０５３ 配列番号	330-C10	13.4	1.33	48%	25%
０５４ 配列番号	331-G04	18.3	1.47	56%	36%
０５５ 配列番号	548-F06	14.3	1.23	76%	18%
０５６ 配列番号	538-F08	12.3	1.23	55%	43%
０５７ 配列番号	547-H07	15.9	1.17	60%	45%
０５８ 配列番号	323-A11	21.2	1.43	41%	18%

【０２９２】

【表５－４】

０５９					
配列番号	333-H03	8.1	1.43	55%	37%
０６０					
配列番号	329-D02	3.2	1.27	53%	31%
０６１					
配列番号	550-C09	10.2	1.40	25%	25%
０６２					
配列番号	548-E08	5.3	1.27	102%	50%
０６３					
配列番号	332-A05	6.0	1.40	40%	21%
０６４					
配列番号	330-C01	4.7	1.30	58%	43%
０６５					
配列番号	545-A09	13.5	1.30	44%	22%
０６６					
配列番号	334-C08	8.0	1.47	70%	57%
０６７					
配列番号	333-C05	6.3	1.33	83%	66%
０６８					
配列番号	551-B02	9.0	1.30	69%	43%
０６９					
配列番号	551-G12	3.9	1.37	88%	46%
０７０					
配列番号	330-G09	13.5	1.40	42%	26%
０７１					
配列番号	331-F01	12.6	1.47	77%	73%
０７２					
配列番号	274-B07	7.8	1.10	342%	296%
０７３					
配列番号	335-D11	6.7	1.37	56%	37%
０７４					
配列番号	336-D07	5.8	1.33	44%	37%
０７５					
配列番号	332-C03	5.7	1.20	37%	95%
０７６					
配列番号	331-D03	5.5	1.40	64%	55%
０７７					
配列番号	331-G06	4.7	1.40	59%	51%
０７８					
配列番号	552-G03	10.7	1.27	101%	83%
０７９					
配列番号	552-G11	7.4	1.23	55%	41%
０８０					
配列番号	550-G08	9.1	1.40	79%	58%

【０２９３】

【表５－５】

０８１					
配列番号	550-G12	14.3	1.43	61%	79%
０８２					
配列番号	552-A01	3.9	1.33	76%	81%
０８３					
配列番号	548-C06	13.0	1.23	94%	77%
０８４					
配列番号	545-B12	17.1	1.27	51%	42%
０８５					
配列番号	549-F06	5.2	1.30	96%	40%
０８６					
配列番号	552-F01	4.8	1.30	56%	37%
０８７					
配列番号	547-H12	5.6	1.10	92%	81%
０８８					
配列番号	550-F11	12.4	1.23	58%	23%
０８９					
配列番号	548-D08	19.5	1.23	97%	62%
０９０					
配列番号	549-D02	8.9	1.27	47%	36%
０９１					
配列番号	552-F02	12.3	1.23	60%	40%
０９２					
配列番号	545-E04	16.3	1.23	48%	17%
０９３					
配列番号	545-E05	10.3	1.27	70%	32%
０９４					
配列番号	547-H03	16.2	1.23	109%	53%
０９５					
配列番号	552-G09	9.7	1.27	98%	68%
０９６					
配列番号	550-A08	8.4	1.27	52%	51%
０９７					
配列番号	550-G07	6.2	1.27	63%	36%
０９８					
配列番号	551-A05	4.0	1.30	68%	42%
０９９					
配列番号	548-C10	8.4	1.20	69%	57%
１００					
配列番号	465-C10	3.0	1.27	95%	71%
１０１					
クラス　V					
配列番号：	単離物	タンパク質 ELISA	WC ELISA	HGF 100ng/m	HGF 500ng/mL

【０２９４】

【表５－６】

				L	
配列番号３６５	545-C02	26.3	1.33	54%	31%
配列番号３６６	546-E02	10.4	1.33	74%	54%
配列番号３６７	545-C11	7.7	1.30	77%	50%
配列番号３６８	549-G01	7.0	1.27	62%	18%
配列番号３６９	548-F07	27.5	2.43	54%	37%
配列番号３７０	551-H10	13.3	1.87	88%	49%
クラスＶＩ 配列番号：	単離物	タンパク質 ELISA	WC ELISA	HGF 100ng/mL	HGF 500ng/mL
配列番号３７１	443-H10	3.4	1.40	124%	143%
配列番号３７２	557-A12	4.6	1.37	87%	62%
配列番号３７３	465-A03	4.0	1.30	33%	17%
配列番号３７４	446-E12	3.3	1.37	73%	83%
配列番号３７５	445-E06	4.3	1.33	83%	73%
配列番号３７６	452-A03	3.0	1.30	140%	112%
配列番号３７７	465-C06	6.4	1.23	184%	104%
配列番号３７８	441-H01	3.6	1.40	91%	69%
配列番号３７９	443-D04	3.2	1.43	69%	73%
配列番号３８０	445-G12	4.0	1.37	85%	52%
配列番号３８１	442-E03	3.9	1.43	130%	81%
配列番号３８２	453-A05	4.5	1.33	51%	28%
配列番号３８３	445-E07	3.1	1.37	82%	64%
配列番号	451-B12	3.1	1.37	61%	27%

【０２９５】

【表５－７】

３８４					
配列番号	465-B07	4.8	1.27	111%	79%
３８５					
配列番号	451-C06	3.0	1.37	108%	86%
３８６					
配列番号	445-E11	3.7	1.43	69%	79%
３８７					
クラスVIII					
配列番号：	単離物	タンパク質ELISA	WC ELISA	HGF 100ng/mL	HGF 500ng/mL
配列番号	546-G02	16.1	1.27	32%	19%
３９０					
配列番号	333-C03	12.4	1.37	52%	43%
３９１					
配列番号	549-G05	23.7	1.47	28%	21%
３９２					
配列番号	546-B01	8.4	1.20	95%	77%
３９３					
配列番号	551-D02	13.4	1.37	91%	70%
３９４					
配列番号	334-F05	13.5	1.40	58%	29%
３９５					
配列番号	330-G02	7.4	1.30	37%	31%
３９６					
配列番号	316-F08	7.0	1.30	72%	38%
３９７					
配列番号	332-H09	6.2	1.30	50%	43%
３９８					
配列番号	545-H12	11.3	1.30	74%	60%
３９９					
配列番号	548-G05	6.1	1.30	110%	47%
４００					
配列番号	547-C09	4.3	1.23	50%	32%
４０１					
配列番号	545-F04	5.2	1.17	143%	114%
４０２					
配列番号	552-F06	11.1	1.23	82%	32%
４０３					
配列番号	531-E11	3.4	1.30	61%	33%
４０４					
クラスＸＩ					
配列番号：	単離物	タンパク質ELISA	WC ELISA	HGF 100ng/m	HGF 500ng/mL

【０２９６】

【表５－８】

				L	
配列番号449	525-A07	7.0	1.17	93%	88%
配列番号450	528-F05	4.3	1.10	84%	81%
配列番号451	524-E09	8.2	1.33	100%	93%
配列番号452	96-H12	35.3	1.37	88%	64%
配列番号453	118-A08	11.3	1.30	85%	74%
配列番号454	94-E08	8.9	1.23	102%	74%
配列番号455	119-F06	8.0	1.33	4%	27%
配列番号456	95-A11	7.0	1.30	109%	108%
配列番号457	94-H04	7.0	1.37	150%	101%
配列番号458	94-F07	6.1	1.20	106%	104%
配列番号459	103-G08	5.7	1.33	140%	95%
配列番号460	118-C07	5.6	1.27	100%	84%
配列番号461	104-C09	5.0	1.30	64%	50%
配列番号462	117-F08	4.5	1.27	102%	270%
配列番号463	76-D09	4.4	1.23	79%	87%
配列番号464	93-C08	4.4	1.37	101%	96%
配列番号465	92-B05	4.3	1.20	94%	94%
配列番号466	116-H02	4.0	1.23	84%	72%
配列番号467	02-B08	3.9	1.30	84%	96%
配列番号468	117-F03	3.8	1.40	104%	93%
配列番号469	127-A07	3.8	1.20	101%	107%
配列番号	94-B08	3.8	1.20	111%	121%

【０２９７】

【表５－９】

４７０					
配列番号	115-G02	3.7	1.27	59%	0%
４７１					
配列番号	130-E10	3.7	1.80	100%	92%
４７２					
配列番号	136-D01	3.7	1.23	85%	149%
４７３					
配列番号	15-D02	3.6	1.23	97%	118%
４７４					
配列番号	79-B02	3.5	1.30	102%	86%
４７５					
配列番号	94-A06	3.5	1.17	84%	96%
４７６					
配列番号	94-G02	3.5	1.30	108%	76%
４７７					
配列番号	75-B12	3.4	1.23	95%	108%
４７８					
配列番号	117-F04	3.3	1.37	93%	91%
４７９					
配列番号	151-B08	3.3	1.23	102%	368%
４８０					
配列番号	117-E09	3.3	1.37	109%	102%
４８１					
配列番号	93-B10	3.1	1.20	0%	0%
４８２					
配列番号	98-F05	3.1	1.23	88%	57%
４８３					
配列番号	118-B12	3.1	1.30	98%	112%
４８４					
配列番号	27-D10	3.0	1.17	111%	131%
４８５					
配列番号	122-D07	3.0	1.63	102%	92%
４８６					
配列番号	149-E06	3.0	1.80	80%	86%
４８７					
配列番号	166-H04	3.0	1.27	77%	85%
４８８					
配列番号	96-D06	3.0	1.37	154%	151%
４８９					
配列番号	103-C04	3.0	1.40	73%	86%
４９０					
配列番号	527-E08	3.2	1.23	98%	95%
４９１					
配列番号	524-H02	3.2	1.53	26%	25%

【０２９８】

【表５－１０】

４９２					
配列番号	523-A04	5.5	1.30	133%	143%
４９３					
配列番号	524-D07	3:9	1.23	105%	104%
４９４					
配列番号	522-H03	4.5	1.17	107%	94%
４９５					
配列番号	527-A10	3.8	1.30	84%	78%
４９６					

注：タンパク質 ELISA はバックグラウンドの倍数で測定した(cMet-Fc vs. TRAIL-Fc)。
全細胞 ELISA はバックグラウンドの倍数で測定した（ヒト cMet を発現している 3T3 細胞 vs. 非発現 3T3 細胞）。
HGF 競合 ELISA は、HGF 非存在下における%結合として測定した。

【０２９９】
【表６－１】

表８：第一世代ペプチドライブラリー陽性ヒットから選択されたペプチドの蛍光偏光分析

クラスＩ			
配列番号：	単離物	Ｋｄ（ヒト）	Ｋｄ（マウス）
配列番号００１	571-C05	0.20	3.50
クラスＩＩＩ			
配列番号：	単離物	Ｋｄ（ヒト）	Ｋｄ（マウス）
配列番号０４８	325-H05	3.50	NT
配列番号０５１	336-G04	3.20	NT
配列番号０５２	334-G06	2.70	NT
配列番号０５３	330-B07	2.90	NT
配列番号０５５	331-G04	0.90	1.10
配列番号０５６	548-F06	2.70	NT
配列番号０５９	323-A11	4.30	NT
配列番号０６１	329-D02	5.20	NT
配列番号０６７	334-C08	1.65	NT
配列番号０６８	333-C05	2.80	NT
配列番号０７１	330-G09	1.85	NT
配列番号０７２	331-F01	0.98	NT
配列番号０７４	335-D11	3.30	NT
配列番号０７８	331-G06	2.90	NT
クラスＶ			
配列番号：	単離物	Ｋｄ（ヒト）	Ｋｄ（マウス）
配列番号３６９	548-F07	0.88	NB
配列番号３７０	551-H10	0.22	NB

【０３００】

【表６－２】

クラスＶＩＩＩ			
配列番号：	単離物	Ｋｄ（ヒト）	Ｋｄ（マウス）
配列番号３９０	546-G02	1.50	NT
配列番号３９１	333-C03	1.80	NT
配列番号３９９	545-H12	1.15	NB
クラスＩＸ			
配列番号：	単離物	Ｋｄ（ヒト）	Ｋｄ（マウス）
配列番号４４９	525-A07	6.90	NT
配列番号４５０	528-F05	2.70	NT
配列番号４５１	524-E09	2.00	NT
配列番号４５３	96-H12	>2.00	NT
配列番号４５３	118-A08	>2.00	NT
配列番号４５４	94-E08	0.93	NT
配列番号４５６	95-A11	2.30	NT
配列番号４５８	94-F07	3.75	NT
配列番号４５９	103-G08	>2.00	NT
配列番号４６１	104-C09	>2.00	NT
配列番号４６２	117-F08	>2.00	NT
配列番号４６３	76-D09	>2.00	NT
配列番号４６４	93-C08	>2.00	NT
配列番号４６６	116-H02	>2.00	NT
配列番号４６７	02-B08	>2.00	NT
配列番号４６９	127-A07	2.40	NT
配列番号４７２	130-E10	2.60	7.65
配列番号４７５	79-B02	1.90	NT
配列番号４７９	117-F04	1.70	NT
配列番号４９２	524-H02	0.80	NT

Ｋｄ値はμＭで表されている。ＮＢ＝結合なし、　ＮＴ＝試験されていない

【０３０１】

【表７】

表９：ｃＭｅｔ結合ヘテロ体ペプチド複合体

ペアＩ		
配列番号：	単離物	クラス
配列番号４７２	130-E10	XI
配列番号３７０	551-H10	V
ペアＩＩ		
配列番号：	単離物	クラス
配列番号３６９	548-F07	V
配列番号３７０	551-H10	V
ペアＩＩＩ		
配列番号：	単離物	クラス
配列番号３７０	551-H10	V
配列番号３９９	545-H12	VIII

【０３０２】

【表８】

表１０：ＧｅｎＢａｎｋ登録ＡＡＮ１７８２５からの成熟ＨＳＡのアミノ酸配列

DAHKSEVAHR FKDLGEENFK ALVLIAFAQY LQQCPFEDHV KLVNEVTEFA
KTCVADESAE NCDKSLHTLF GDKLCTVATL RETYGEMADC CAKQEPERNE
CFLQHKDDNP NLPRLVRPEV DVMCTAFHDN EETFLKKYLY EIARRHPYFY
APELLFFAKR YKAAFTECCQ AADKAACLLP KLDELRDEGK ASSAKQRLKC
ASLQKFGERA FKAWAVARLS QRFPKAEFAE VSKLVTDLTK VHTECCHGDL
LECADDRADL AKYICENQDS ISSKLKECCE KPLLEKSHCI AEVENDEMPA
DLPSLAADFV ESKDVCKNYA EAKDVFLGMF LYEYARRHPD YSVVLLLRLA
KTYKTTLEKC CAAADPHECY AKVFDEFKPL VEEPQNLIKQ NCELFEQLGE
YKFQNALLVR YTKKVPQVST PTLVEVSRNL GKVGSKCCKH PEAKRMPCAE
DYLSVVLNQL CVLHEKTPVS DRVTKCCTES LVNRRPCFSA LEVDETYVPK
EFNAETFTFH ADICTLSEKE RQIKKQTALV ELVKHKPKAT KEQLKAVMDD
FAAFVEKCCK ADDKETCFAE EGKKLVAASR AALGL （配列番号６４７）

【０３０３】

【表９】

表１１：配列番号６４８：：ＨＳＡ：：配列番号６４９のアミノ酸配列

GSFFPCWRIDRFGYCHANAP GSGGSGG
DAHKSEVAHR FKDLGEENFK ALVLIAFAQY LQQCPFEDHV KLVNEVTEFA
KTCVADESAE NCDKSLHTLF GDKLCTVATL RETYGEMADC CAKQEPERNE
CFLQHKDDNP NLPRLVRPEV DVMCTAFHDN EETFLKKYLY EIARRHPYFY
APELLFFAKR YKAAFTECCQ AADKAACLLP KLDELRDEGK ASSAKQRLKC
ASLQKFGERA FKAWAVARLS QRFPKAEFAE VSKLVTDLTK VHTECCHGDL
LECADDRADL AKYICENQDS ISSKLKECCE KPLLEKSHCI AEVENDEMPA
DLPSLAADFV ESKDVCKNYA EAKDVFLGMF LYEYARRHPD YSVVLLLRLA
KTYKTTLEKC CAAADPHECY AKVFDEFKPL VEEPQNLIKQ NCELFEQLGE
YKFQNALLVR YTKKVPQVST PTLVEVSRNL GKVGSKCCKH PEAKRMPCAE
DYLSVVLNQL CVLHEKTPVS DRVTKCCTES LVNRRPCFSA LEVDETYVPK
EFNAETFTFH ADICTLSEKE RQIKKQTALV ELVKHKPKAT KEQLKAVMDD
FAAFVEKCCK ADDKETCFAE EGKKLVAASR AALGL
GSGGEGGSG GSWIICWWDNCGSSAP　（配列番号６５０）

【０３０４】

本発明を、その好ましい態様を参照して特別に示しそして説明したが、付随する特許請求の範囲により包含された本発明の範囲から離れることなく、形式および詳細における多様な変更をその中で行うことができることを当業者は理解するであろう。

本発明の多くの態様が記載されているが、それにもかかわらず、本発明の精神及び範囲を逸脱することなくさまざまな改変がなされ得ることが理解されるであろう。したがって、他の態様も以下の請求の範囲の範囲内である。

［態様１］

ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体を結合するポリペプチドまたは多量体ペプチド構築物。

［態様２］

アミノ酸配列：$X_1-X_2-X_3-Cys-X_4-X_5-X_6-X_7-Cys-X_8-X_9-X_{10}$を含み、式中、

X_1はＰｈｅ、Ｌｅｕ、Ｓｅｒ、Ｔｒｐ、ＴｙｒまたはＭｅｔであり；

X_2はＩｌｅ、Ｔｙｒ、Ｈｉｓ、ＴｈｒまたはＡｓｎであり；

X_3はＩｌｅ、Ｌｅｕ、Ａｓｐ、Ｍｅｔ、ＰｈｅまたはＳｅｒであり；

X_4はＡｒｇ、Ａｓｎ、Ｇｌｕ、ＰｒｏまたはＴｒｐであり；

X_5はＧｌｕ、Ｇｌｙ、Ｌｅｕ、Ｐｒｏ、Ｔｈｒ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；

X_6はＡｓｐ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、Ｐｈｅ、Ｓｅｒ、ＴｈｒまたはＴｒｐであり；

X_7はＡｌａ、Ａｒｇ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、ＰｈｅまたはＴｒｐであり；

X_8はＧｌｙ、Ａｓｎ、Ｈｉｓ、Ａｒｇ、Ｍｅｔ、Ｉｌｅ、Ａｓｐ、ＶａｌまたはＴｈｒであり；

X_9はＳｅｒ、Ｌｙｓ、Ｐｈｅ、Ｍｅｔ、Ｔｈｒ、ＡｓｐまたはＬｅｕであり；そして

X_{10}はＳｅｒ、Ｐｒｏ、Ｔｈｒ、Ｌｅｕ、Ｔｙｒ、Ａｓｎ、Ｈｉｓ、ＧｌｕまたはＴ

ｒｐである、
請求項１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様３］
配列番号１；配列番号２；配列番号３；配列番号４；配列番号５；配列番号６；配列番号７；配列番号９および配列番号１０から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項２に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様４］
アミノ酸配列：X_1－X_2－X_3－Ｃｙｓ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－Ｃｙｓ－X_{10}－X_{11}－X_{12}を含み、式中、
X_1はＧｌｙ、Ｖａｌ、Ｔｒｐ、Ｔｈｒ、ＬｙｓまたはＧｌｎであり；
X_2はＴｒｐ、Ｔｙｒ、Ｌｅｕ、ＰｈｅまたはＴｈｒであり；
X_3はＴｒｐ、Ｇｌｕ、Ｐｈｅ、Ｉｌｅ、ＬｅｕまたはＳｅｒであり；
X_4はＡｓｎ、ＧｌｎまたはＧｌｕであり；
X_5はＬｅｕ、ＧｌｕまたはＴｒｐであり；
X_6はＧｌｕ、ＳｅｒまたはＴｙｒであり；
X_7はＧｌｕ、ＭｅｔまたはＰｒｏであり；
X_8はＭｅｔ、ＳｅｒまたはＴｒｐであり；
X_9はＬｅｕ、ＰｈｅまたはＶａｌであり；
X_{10}はＡｓｐ、ＧｌｕまたはＴｒｐであり；
X_{11}はＭｅｔ、ＰｈｅまたはＴｒｐであり；そして
X_{12}はＧｌｎ、ＬｅｕまたはＴｒｐである、
請求項１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様５］
配列番号１１；配列番号１２；配列番号１３；配列番号１４；配列番号１５；配列番号１６；配列番号１７；配列番号１８；配列番号１９；配列番号２０；配列番号２１；配列番号２２；配列番号２３；配列番号２４；配列番号２５；配列番号２６；配列番号２７；配列番号２８；配列番号２９；配列番号３０；配列番号３１；配列番号３２；配列番号３３；配列番号３４；配列番号３５；配列番号３６；配列番号３７；配列番号３８；配列番号３９；および配列番号４０から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項４に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様６］
アミノ酸配列：X_1－X_2－X_3－Ｃｙｓ－X_4－Ｇｌｙ－X_5－Ｐｒｏ－X_6－Ｐｈｅ－X_7－Ｃｙｓ－X_8－X_9を含み、式中、
X_1はＧｌｕ、ＳｅｒまたはＴｒｐであり；
X_2はＰｈｅ－ ＴｈｒまたはＴｒｐであり；
X_3はＨｉｓ、ＰｈｅまたはＴｒｐであり；
X_4はＡｌａ、Ｌｙｓ、ＳｅｒまたはＴｈｒであり；
X_5はＰｒｏまたはＴｒｐであり；
X_6はＳｅｒまたはＴｈｒであり；
X_7はＧｌｕまたはＳｅｒであり；
X_8はＩｌｅ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；そして
X_9はＧｌｕ、Ｍｅｔ、ＴｒｐまたはＴｙｒである、
請求項１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様７］
配列番号４８；配列番号４９；配列番号５０；配列番号５１；配列番号５２；配列番号５３；配列番号５４；配列番号５５；配列番号５６；配列番号５７；配列番号５８；配列番号５９；配列番号６０；配列番号６１；配列番号６２；配列番号６３；配列番号６４；配列番号６５；配列番号６６；配列番号６７；配列番号６８；配列番号６９；配列番号７０；配列番号７１；配列番号７２；配列番号７３；配列番号７４；配列番号７５；配列番号７６；配列番号７９；配列番号８０；配列番号８１；配列番号８２；配列番号８３；配

列番号８４；配列番号８５；配列番号８６；配列番号８７；配列番号８８；配列番号８９；配列番号９０；配列番号９１；配列番号９２；配列番号９３；配列番号９４；配列番号９５；配列番号９６；配列番号９７；配列番号９８；配列番号９９；配列番号１００；および配列番号１０１から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項６に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。

［態様８］

アミノ酸配列：X_1－X_2－X_3－Ｃｙｓ－X_4－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－X_5－Ｐｈｅ－X_6－Ｃｙｓ－Ｔｒｐ－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}を含み、式中、

X_1はＡｒｇ、Ａｓｐ、Ａｓｎ、ＩｌｅまたはＳｅｒであり；

X_2はＬｅｕ、Ｉｌｅ、Ｐｈｅ、ＴｒｐまたはＶａｌであり；

X_3はＡｓｎ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｌｅｕ、ＴｙｒまたはＶａｌであり；

X_4はＬｅｕ、ＬｙｓまたはＳｅｒであり；

X_5はＡｌａ、Ｓｅｒ、ＴｈｒまたはＴｒｐであり；

X_6はＧｌｕまたはＳｅｒであり；

X_7はＬｅｕ、ＳｅｒまたはＴｒｐであり；

X_8はＰｈｅまたはＴｙｒであり；

X_9はＡｓｐ、Ｇｌｕ、ＧｌｙまたはＶａｌであり；

X_{10}はＭｅｔ、Ｐｒｏ、ＴｈｒまたはＳｅｒであり；そして

X_{11}はＧｌｕまたはＧｌｙである、

請求項１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。

［態様９］

配列番号１０３；配列番号１０４；配列番号１０６；配列番号１０８；配列番号１１１；配列番号１１４；配列番号１１７；配列番号１１９；配列番号１２０；配列番号１２１；配列番号１２８；配列番号１３０；配列番号１３２；配列番号１３３；配列番号１４０；配列番号１４３；配列番号１４５；配列番号１４６；配列番号１４７；配列番号１５０；配列番号１５１；配列番号１５３；配列番号１５５～配列番号１５８；配列番号１６３；配列番号１６５；配列番号１６７；配列番号１６９；配列番号１７０；配列番号１７２；配列番号１７３；配列番号１７８；配列番号１７９；配列番号１８４；配列番号１８５；配列番号１８８；配列番号１８９；配列番号１９０；配列番号１９２；配列番号１９５；配列番号１９８；配列番号２０１～配列番号２０４；配列番号２０８；配列番号２０９；配列番号２１１；配列番号２１５；配列番号２１６；配列番号２１７；配列番号２１９；配列番号２２１；配列番号２２４；配列番号２２６；配列番号２２７；配列番号２３０～配列番号２３４；配列番号２３６；配列番号２３７；配列番号２３８；配列番号２４２；配列番号２４６～配列番号２５４；配列番号２５６；配列番号２５９～配列番号２６４；配列番号２６６；配列番号２６７；配列番号２６９～配列番号２７１；配列番号２７３；配列番号２７５～配列番号２８２；配列番号２８４；配列番号２８５；配列番号２８７；配列番号２８８；配列番号２９３～配列番号２９５；配列番号２９７；配列番号２９８；配列番号３０１～配列番号３０３；配列番号３０５～配列番号３０８；配列番号３１１；配列番号３１３～配列番号３２０；配列番号３２３；配列番号３２４；配列番号３２６～配列番号３２８；配列番号３３１～配列番号３３５；配列番号３３７～配列番号３４１；配列番号３４５；配列番号３４７；配列番号３４９；配列番号３５２；配列番号３５４～配列番号３５７；および配列番号３６１～配列番号３６４から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項８に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。

［態様１０］

アミノ酸配列：X_1－X_2－X_3－X_4－Ｔｒｐ－X_5－Ｃｙｓ－X_6－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｔｈｒ－Ｐｈｅ－Ｇｌｕ－Ｃｙｓ－Ｔｒｐ－X_7－X_8を含み、式中、

X_1はＡｓｐ、ＧｌｕまたはＶａｌであり；

X_2はＡｌａ、Ａｓｐ、Ｇｌｙ、ＳｅｒまたはＶａｌであり；

X_3はＡｓｐ、Ｇｌｙ、ＳｅｒまたはＶａｌであり；

X_4はＡｒｇ、Ａｓｎ、Ｇｌｙ、ＳｅｒまたはＴｈｒであり；

X_5はＧｌｎまたはＨｉｓであり；
X_6はＡｓｎ、ＬｙｓまたはＳｅｒであり；そして
X_7はＳｅｒまたはＴｒｐである、
請求項１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様１１］
アミノ酸配列：X_1－X_2－X_3－Ｃｙｓ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－Ｃｙｓ－X_{12}－X_{13}－X_{14}を含み、式中、
X_1はＨｉｓ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、ＴｈｒまたはＴｒｐであり；
X_2はＡｌａ、Ａｒｇ、Ｇｌｕ、Ｈｉｓ、ＬｙｓまたはＰｈｅであり；
X_3はＭｅｔ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、ＴｈｒまたはＶａｌであり；
X_4はＨｉｓ、Ｌｅｕ、Ｍｅｔ、ＰｈｅまたはＴｒｐであり；
X_5はＡｒｇ、Ａｓｐ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、ＭｅｔまたはＴｒｐであり；
X_6はＧｌｕ、Ｇｌｙ、Ｉｌｅ、Ｌｙｓ、ＰｈｅまたはＰｒｏであり；
X_7はＡｓｐ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、Ｓｅｒ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；
X_8はＡｌａ、Ａｒｇ、Ａｓｎ、ＰｈｅまたはＳｅｒであり；
X_9はＡｌａ、Ｇｌｎ、Ｇｌｙ、ＬｅｕまたはＰｈｅであり；
X_{10}はＧｌｎ、Ｇｌｙ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；
X_{11}はＡｒｇ、Ａｓｐ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、ＴｙｒまたはＶａｌであり；
X_{12}はＡｓｎ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、ＩｌｅまたはＴｈｒであり；
X_{13}はＡｌａ、Ａｓｎ、Ａｓｐ、ＧｌｕまたはＨｉｓであり；そして
X_{14}はＡｓｎ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、ＨｉｓまたはＶａｌである、
請求項１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様１２］
配列番号３６５；配列番号３６６；配列番号３６７；配列番号３６８；配列番号３６９；および配列番号３７０から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様１３］
アミノ酸配列：X_1－X_2－X_3－Ｃｙｓ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－X_{12}－Ｃｙｓ－X_{13}－X_{14}－X_{15}を含み、式中、
X_1はＧｌｎ、Ｇｌｙ、Ｍｅｔ、ＰｈｅまたはＳｅｒであり；
X_2はＡｓｎ、Ｇｌｎ、ＬｅｕまたはＭｅｔであり；
X_3はＡｒｇ、Ａｓｎ、Ｇｌｙ、ＨｉｓまたはＩｌｅであり；
X_4はＡｓｎ、Ａｓｐ、Ｌｅｕ、ＴｈｒまたはＴｒｐであり；
X_5はＡｒｇ、Ｇｌｎ、Ｔｈｒ、ＴｙｒまたはＶａｌであり；
X_6はＧｌｕ、Ｇｌｙ、Ｌｅｕ、ＭｅｔまたはＴｈｒであり；
X_7はＡｌａ、Ａｓｎ、Ａｓｐ、Ｈｉｓ、Ｉｌｅ、ＬｅｕまたはＳｅｒであり；
X_8はＡｒｇ、Ｇｌｎ、Ｓｅｒ、ＴｈｒまたはＴｙｒであり；
X_9はＡｓｐ、Ｇｌｙ、ＩｌｅまたはＰｈｅであり；
X_{10}はＧｌｎ、ＰｈｅまたはＴｈｒであり；
X_{11}はＧｌｎ、Ｈｉｓ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、ＳｅｒまたはＴｙｒであり；
X_{12}はＡｓｎ、Ａｓｐ、Ｐｈｅ、ＰｒｏまたはＳｅｒであり；
X_{13}はＡｌａ、Ａｓｎ、Ｇｌｙ、ＬｅｕまたはＳｅｒであり；
X_{14}はＡｒｇ、Ｐｒｏ、ＳｅｒまたはＶａｌであり；そして
X_{15}はＡｓｐ、Ｇｌｕ、ＬｅｕまたはＭｅｔである、
請求項１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様１４］
配列番号３７１；配列番号３７２；配列番号３７３；配列番号３７４；配列番号３７５；配列番号３７６；配列番号３７７；配列番号３７８；配列番号３７９；配列番号３８０；配列番号３８１；配列番号３８２；配列番号３８３；配列番号３８４；配列番号３８５；配列番号３８６；および配列番号３８７から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む

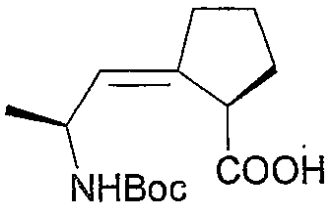
、請求項１３に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様１５］
アミノ酸配列：X_1－X_2－X_3－Ｃｙｓ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－X_{12}－X_{13}－Ｃｙｓ－X_{14}－X_{15}－X_{16}を含み、式中、
X_1はＡｌａ、Ｈｉｓ、Ｌｅｕ、ＰｒｏまたはＴｙｒであり；
X_2はＡｒｇ、Ａｓｐ、Ｌｅｕ、ＳｅｒまたはＴｙｒであり；
X_3はＧｌｕ、ＭｅｔまたはＴｒｐであり；
X_4はＡｓｐ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、ＰｈｅまたはＳｅｒであり；
X_5はＧｌｕ、Ｉｌｅ、ＰｈｅまたはＴｒｐであり；
X_6はＡｓｎ、ＡｓｐまたはＳｅｒであり；
X_7はＡｓｎ、ＡｓｐまたはＬｅｕであり；
X_8はＡｓｐ、ＧｌｕまたはＬｙｓであり；
X_9はＧｌｙ、ＰｈｅまたはＴｈｒであり；
X_{10}はＧｌｙ、Ｐｈｅ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；
X_{11}はＧｌｕ、ＳｅｒまたはＴｒｐであり；
X_{12}はＧｌｕ、Ｐｈｅ、ＴｙｒまたはＶａｌであり；
X_{13}はＧｌｕ、Ｌｙｓ、ＴｈｒまたはＶａｌであり；
X_{14}はＧｌｕまたはＴｒｐであり；
X_{15}はＡｓｐ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、ＳｅｒまたはＴｒｐであり；そして
X_{16}はＡｌａ、ＡｓｎまたはＩｌｅである、
請求項１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様１６］
配列番号３９０；配列番号３９１；配列番号３９２；配列番号３９３；配列番号３９４；配列番号３９５；配列番号３９６；配列番号３９７；配列番号３９８；配列番号３９９；配列番号４００；配列番号４０１；配列番号４０２；配列番号４０３；および配列番号４０４から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１５に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様１７］
アミノ酸配列：Ｓｅｒ－Ｃｙｓ－X_1－Ｃｙｓ－X_2－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｔｈｒ－Ｐｈｅ－Ｇｌｕ－Ｃｙｓ－Ｔｒｐ－Ｃｙｓ－Ｔｙｒ－X_3－X_4－X_5を含み、式中、
X_1はＡｓｎ、ＨｉｓまたはＴｙｒであり；
X_2はＧｌｙまたはＳｅｒであり；
X_3はＡｌａ、Ａｓｐ、Ｇｌｕ、ＧｌｙまたはＳｅｒであり；
X_4はＳｅｒまたはＴｈｒであり；そして
X_5はＡｓｐまたはＧｌｕである、
請求項１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様１８］
配列番号４０５；配列番号４０６；配列番号４０７；配列番号４０８；配列番号４０９；配列番号４１０；配列番号４１１；配列番号４１２；配列番号４１３；配列番号４１４；配列番号４１５；配列番号４１６；配列番号４１７；配列番号４１８；配列番号４１９；配列番号４２０；配列番号４２１；配列番号４２２；配列番号４２３；配列番号４２４；配列番号４２５；配列番号４２６；配列番号４２７；配列番号４２８；配列番号４２９；配列番号４３０；配列番号４３１；配列番号４３２；配列番号４３３；配列番号４３４；配列番号４３５；配列番号４３６；配列番号４３７；配列番号４３８；配列番号４３９；配列番号４４０；配列番号４４１；配列番号４４２；配列番号４４３；配列番号４４４；配列番号４４５；配列番号４４６；および配列番号４４７から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１７に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様１９］
アミノ酸配列：Ｇｌｕ－X_1－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ－Ｃｙｓ－Ｈｉｓ－Ｃｙｓ－Ｓｅｒ－Ｇ

ｌｙ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｔｈｒ－Ｐｈｅ－Ｇｌｕ－Ｃｙｓ－$Ｘ_{2}$－Ｃｙｓ－$Ｘ_{3}$を含み、式中、
$Ｘ_{1}$はＡｌａ、Ｇｌｕ、ＧｌｙまたはＳｅｒであり；
$Ｘ_{2}$はＰｈｅ、ＴｒｐまたはＴｙｒであり；そして
$Ｘ_{3}$はＰｈｅまたはＴｙｒである、
請求項１に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様２０］
配列番号４０６；配列番号４１５；配列番号４２７；配列番号４４５および配列番号４４７から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１９に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様２１］
該ポリペプチドまたは多量体ポリペプチドのｃＭｅｔに対する$Ｋ_{d}$が約１．０μＭ未満である、請求項２～２０のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。
［態様２２］
配列番号５１６または配列番号５１７のアミノ酸配列をさらに含む、請求項１２に記載の多量体ポリペプチド。
［態様２３］
配列番号５１４または配列番号５１５のアミノ酸配列を含む、請求項２２に記載の多量体ポリペプチド。
［態様２４］
配列番号５１４および配列番号５１５を含む、請求項１２に記載の多量体ポリペプチド。
［態様２５］
動物またはヒト対象においてｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとの複合体を検出する方法であって、
標識された請求項１～２４のいずれかに記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチドを提供し；
標識ポリペプチドまたは多量体ポリペプチドを対象に投与し；そして
対象中の標識ポリペプチドまたは多量体ポリペプチドを検出する、
ことを含む前記方法。
［態様２６］
標識が放射性標識または常磁性標識である、請求項２５に記載の方法。
［態様２７］
ｃＭｅｔの活性化が関与する状態を処置する方法であって、請求項１～２４のいずれかに記載のポリペプチドまたは多量体ポリペプチドを含む組成物を動物またはヒト対象に投与することを含む、前記方法。
［態様２８］
疾患が固形腫瘍である、請求項２７に記載の方法。
［態様２９］
腫瘍が、乳房、甲状腺、グリア芽細胞腫、前立腺、悪性中皮腫、直腸結腸、肝細胞、肝胆道、腎臓、骨肉腫および頚部の腫瘍からなる群より選択される、請求項２８に記載の方法。
［態様３０］
ｃＭｅｔまたはｃＭｅｔとＨＧＦとの複合体を、それを含有する溶液から精製する方法であって、
該溶液を請求項１～２４のいずれかに記載の少なくとも１つのポリペプチドまたは多量体ポリペプチドと接触させ；そして
該溶液からポリペプチドまたは多量体ポリペプチドを分離する、
ことを含む前記方法。

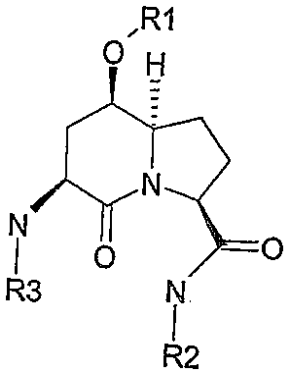
［態様３１］

ポリペプチドがバクテリオファージの表面上に展示される、請求項１～２１のいずれかに記載のポリペプチドをコードする外因性ＤＮＡを発現する組換えバクテリオファージ。

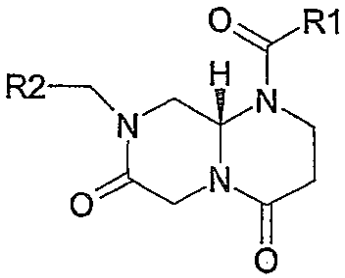
【図１Ａ】



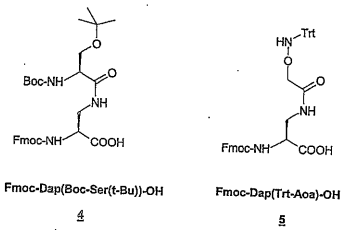
【図１Ｂ】



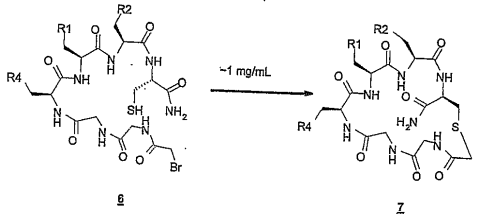
【図１Ｃ】



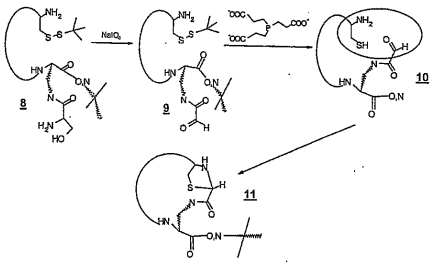
【図２】



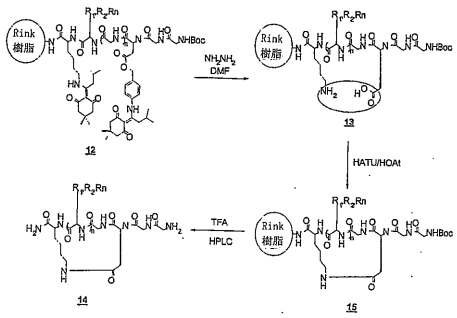
【図３】



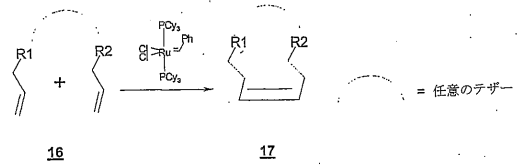
【図４】



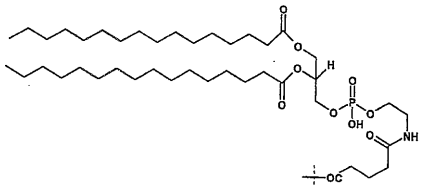
【図５】



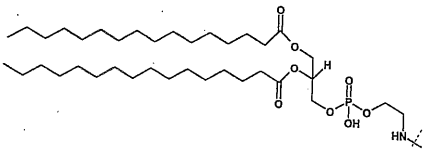
【図６】



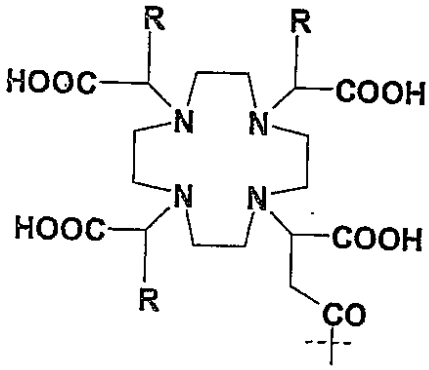
【図７Ａ】



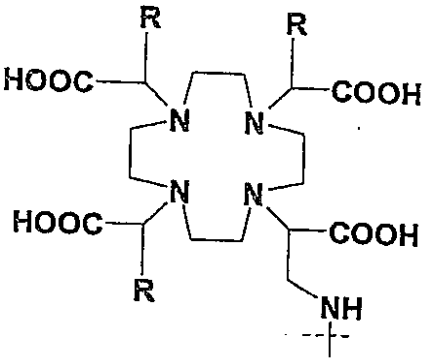
【図７Ｂ】



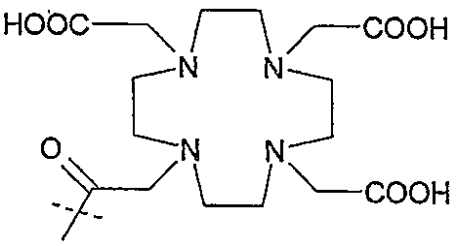
【図８Ａ】



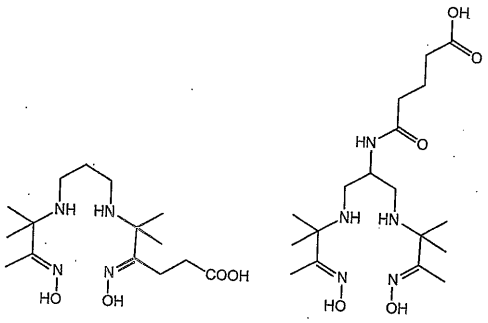
【図８Ｂ】



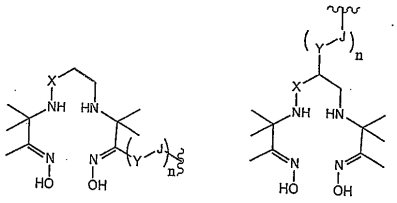
【図８Ｃ】



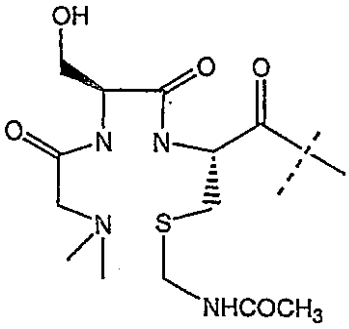
【図８Ｄ】



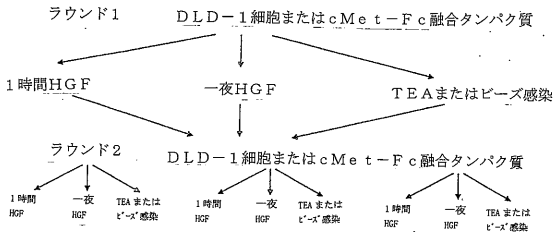
【図８Ｅ】



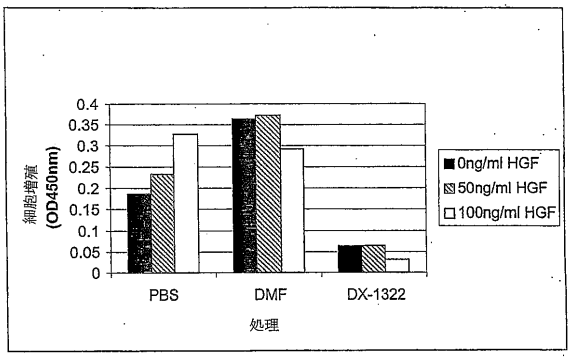
【図８Ｆ】



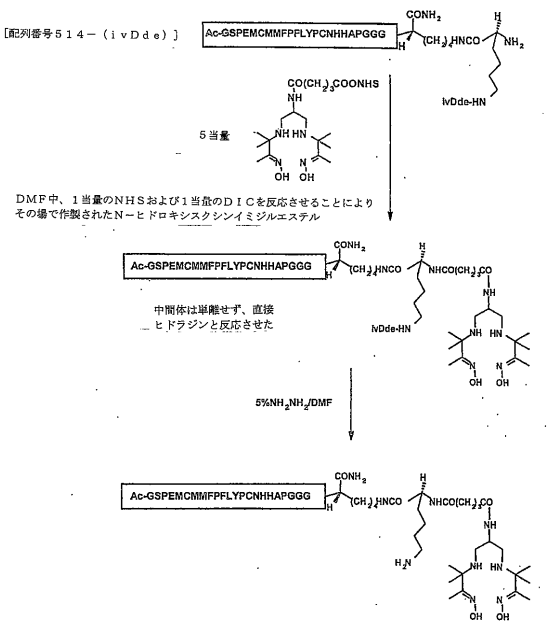
【図９】



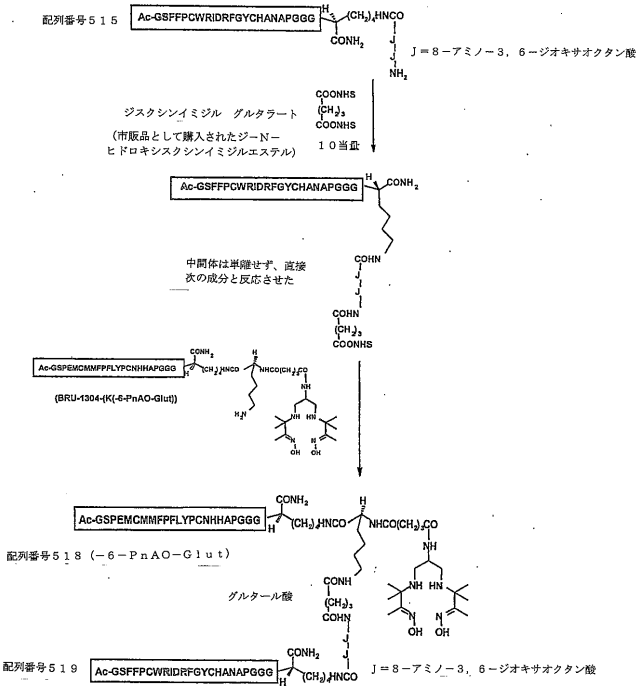
【図１０】



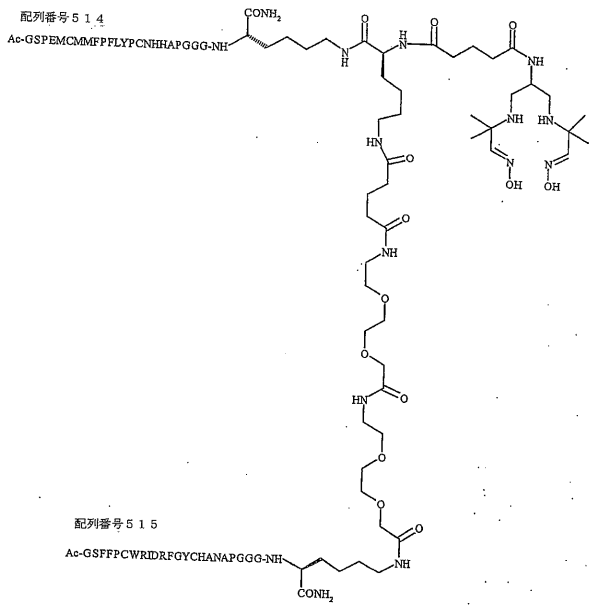
【図１１】



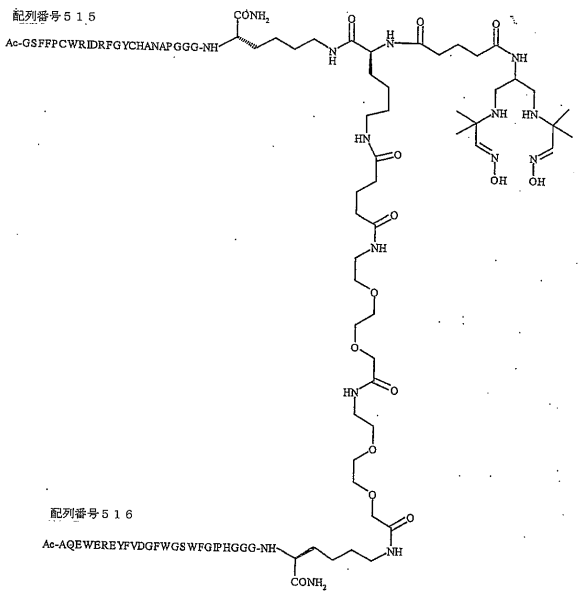
【図１２】



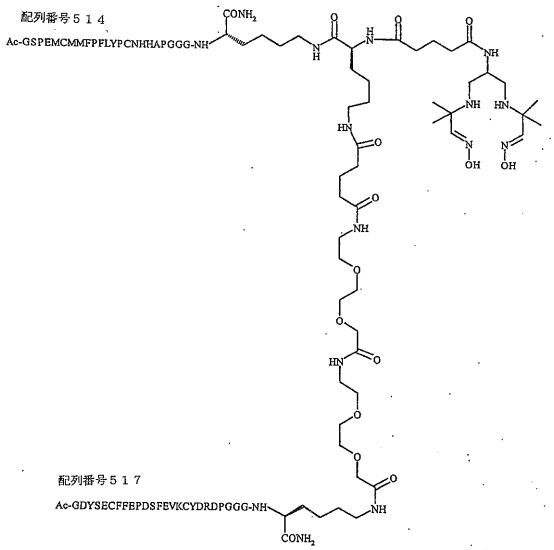
【図１３Ａ】



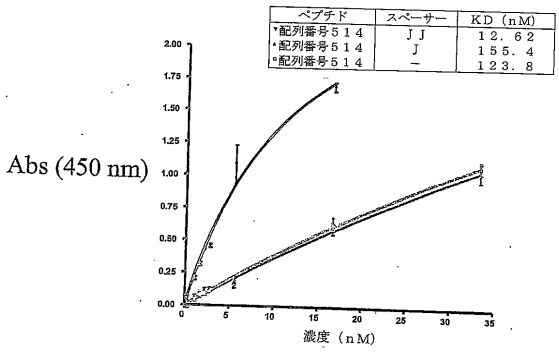
【図１３Ｂ】



【図１３Ｃ】



【図１４】



【配列表】
2017019787000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成28年8月5日(2016.8.5)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
ｃＭｅｔ又はｃＭｅｔとＨＧＦとを含む複合体に結合する単離されたポリペプチドであって、該ポリペプチドは、以下から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、前記ポリペプチド：
（ａ）　Ｇ－Ｓ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－X_5－X_6－X_7－Ｃ－X_8－X_9－X_{10}－Ａ－Ｐ－Ｇ－Ｇ－Ｋ（配列番号５２５）、式中、
X_1は、Ｆ、Ｌ、Ｓ、Ｗ、Ｙ、又はＭであり；
X_2は、Ｉ、Ｙ、Ｈ、Ｔ、又はＮであり；
X_3は、Ｉ、Ｌ、Ｄ、Ｍ、Ｆ、又はＳであり；
X_4は、Ｐ、Ｒ、Ｗ、Ｎ、又はＥであり；
X_5は、Ｗ、Ｙ、Ｅ、Ｐ、Ｌ、Ｔ、又はＧであり；
X_6は、Ｓ、Ｔ、Ｄ、Ｆ、Ｅ、Ｗ、Ｇ、又はＱであり；
X_7は、Ｆ、Ｗ、Ｎ、Ｑ、Ｅ、Ｒ、又はＡであり；
X_8は、Ｇ、Ｎ、Ｈ、Ｒ、Ｍ、Ｉ、Ｄ、Ｖ、又はＴであり；
X_9は、Ｓ、Ｋ、Ｆ、Ｍ、Ｔ、Ｄ、又はＬであり；及び
X_{10}は、Ｓ、Ｐ、Ｔ、Ｌ、Ｙ、Ｎ、Ｈ、Ｑ、又はＷである；
（ｂ）　Ａ－Ｇ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－Ｃ－X_{10}－X_{11}－X_{12}－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｋ（配列番号５２６）、式中、X_1～X_{12}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；
（ｃ）　Ｇ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－Ｇ－X_5－Ｐ－X_6－Ｆ－X_7－Ｃ－X_8－X_9－X_{10}－Ｇ－Ｔ（配列番号５２７）、式中、X_1～X_{10}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；
（ｄ）　Ｇ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－Ｇ－Ｐ－Ｐ－X_5－Ｆ－X_6－Ｃ－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－X_{12}－Ｐ－Ｔ－Ｅ（配列番号５２８）、式中、X_1～X_{12}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；
（ｅ）　Ｔ－X_1－X_2－X_3－X_4－X_5－X_6－Ｃ－X_7－Ｇ－Ｐ－Ｐ－X_8－Ｆ－X_9－Ｃ－X_{10}－X_{11}－X_{12}－Ｇ（配列番号５２９）、式中、X_1～X_{12}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；
（ｆ）　Ｓ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－Ｃ－X_{12}－X_{13}－X_{14}－Ａ－Ｐ（配列番号５３０）、式中、
X_1は、Ｗ、Ｈ、Ｆ、Ｔ、又はＰのうちの１つであり；
X_2は、Ｒ、Ｈ、Ａ、Ｋ、Ｅ、又はＦのうちの１つであり；
X_3は、Ｆ、Ｔ、Ｐ、Ｖ、又はＭのうちの１つであり；
X_4は、Ｆ、Ｌ、Ｈ、Ｍ、又はＷのうちの１つであり；
X_5は、Ｇ、Ｄ、Ｗ、Ｅ、Ｍ、又はＲのうちの１つであり；
X_6は、Ｅ、Ｇ、Ｐ、Ｋ、Ｆ、又はＩのうちの１つであり；
X_7は、Ｙ、Ｆ、Ｓ、Ｗ、Ｐ、又はＤのうちの１つであり；
X_8は、Ｓ、Ａ、Ｆ、Ｎ、又はＲのうちの１つであり；
X_9は、Ｆ、Ｇ、Ａ、Ｑ、又はＬのうちの１つであり；
X_{10}は、Ｑ、Ｗ、Ｉ、Ｌ、Ｙ、又はＧのうちの１つであり；

X_{11}は、Ｖ、Ｒ、Ｄ、Ｆ、Ｐ、又はＹのうちの１つであり；
X_{12}は、Ｑ、Ｔ、Ｉ、Ｈ、又はＮのうちの１つであり；
X_{13}は、Ｄ、Ｅ、Ａ、Ｎ、又はＨのうちの１つであり；及び
X_{14}は、Ｖ、Ｅ、Ｑ、Ｈ、又はＮのうちの１つである；
（ｇ）　Ｓ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－X_{12}－Ｃ－X_{13}－X_{14}－X_{15}－Ａ－Ｐ（配列番号５３２）、式中、X_1～X_{15}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；
（ｈ）　Ｄ－X_1－X_2－X_3－Ｃ－X_4－X_5－X_6－X_7－X_8－X_9－X_{10}－X_{11}－X_{12}－X_{13}－Ｃ－X_{14}－X_{15}－X_{16}－Ｄ－Ｐ（配列番号５３３）、式中、X_1～X_{16}はそれぞれ独立して、Ｃ以外のアミノ酸である；並びに
（ｉ）　配列番号４４９～４９６のうちいずれか１つ。
【請求項２】
（ａ）において、
X_1は、Ｆ、Ｌ、Ｓ、Ｗ、Ｙ、又はＭであり；
X_2は、Ｉ、Ｙ、Ｈ、Ｔ、又はＮであり；
X_3は、Ｉであり；
X_4は、Ｗ又はＰであり；
X_5は、Ｗ、Ｙ、Ｅ、Ｐ、Ｌ、Ｔ、又はＧであり；
X_6は、Ｓ、Ｔ、Ｄ、Ｆ、Ｅ、Ｗ、Ｇ、又はＱであり；
X_7は、Ｆ、Ｗ、Ｎ、Ｑ、Ｅ、Ｒ、又はＡであり；
X_8は、Ｇ、Ｎ、Ｈ、Ｒ、Ｍ、Ｉ、Ｄ、Ｖ、又はＴであり；
X_9は、Ｓ、Ｋ、Ｆ、Ｍ、Ｔ、Ｄ、又はＬであり；及び
X_{10}は、Ｓ、Ｐ、Ｔ、Ｌ、Ｙ、Ｎ、Ｈ、Ｑ、又はＷである；
（ｂ）において、
X_1は、Ｇ、Ｖ、Ｗ、Ｔ、Ｋ、又はＱであり；
X_2は、Ｗ、Ｙ、Ｌ、Ｆ、又はＴであり；
X_3は、Ｗ、Ｅ、Ｆ、Ｉ、Ｌ、又はＳであり；
X_4は、Ｅ、Ｎ、又はＱであり；
X_5は、Ｗ、Ｌ、又はＥであり；
X_6は、Ｅ、Ｓ、又はＹであり；
X_7は、Ｅ、Ｍ、又はＰであり；
X_8は、Ｍ、Ｓ、又はＷであり；
X_9は、Ｆ、Ｌ、又はＶであり；
X_{10}は、Ｅ、Ｄ、又はＷであり；
X_{11}は、Ｗ、Ｆ、又はＭであり；及び
X_{12}は、Ｑ、Ｗ、又はＬである；
（ｃ）において、
X_1は、Ｅ、Ｓ、Ｙ、又はＷであり；
X_2は、Ｗ、Ｔ、又はＦであり；
X_3は、Ｗ、Ｈ、又はＦであり；
X_4は、Ａ、Ｋ、Ｓ、又はＴであり；
X_5は、Ｐ又はＷであり；
X_6は、Ｔ又はＳであり；
X_7は、Ｅ又はＳであり；
X_8は、Ｗ、Ｙ、又はＩであり；
X_9は、Ｗ、Ｙ、Ｍ、又はＥであり；及び
X_{10}は、Ｙである；
（ｄ）において、
X_1は、Ｓ、Ｒ、Ｉ、Ｄ、又はＮであり；
X_2は、Ｗ、Ｌ、Ｆ、Ｖ、又はＩであり；

X_3は、Ｈ、Ｙ、Ｌ、Ｑ、Ｎ、又はＶであり；
X_4は、Ｓ、Ｋ、又はＬであり；
X_5は、Ｔ、Ｓ、Ａ、又はＷであり；
X_6は、Ｅ又はＳであり；
X_7は、Ｗであり；
X_8は、Ｗ、Ｓ、又はＬであり；
X_9は、Ｙ又はＦであり；
X_{10}は、Ｄ、Ｇ、Ｖ、又はＥであり；
X_{11}は、Ｔ、Ｐ、Ｍ、又はＳであり；及び
X_{12}は、Ｅ又はＧである；
（ｅ）において、
X_1は、Ｅ、Ｄ、又はＶであり；
X_2は、Ａ、Ｄ、Ｇ、Ｓ、又はＶであり；
X_3は、Ｇ、Ｖ、Ｄ、又はＳであり；
X_4は、Ｓ、Ｎ、Ｒ、Ｔ、又はＧであり；
X_5は、Ｗであり；
X_6は、Ｈ又はＱであり；
X_7は、Ｓ、Ｎ、又はＫであり；
X_8は、Ｔであり；
X_9は、Ｅであり；
X_{10}は、Ｗであり；
X_{11}は、Ｗ又はＳであり；及び
X_{12}は、Ｙ又はＦである；
（ｇ）において、
X_1は、Ｓ、Ｆ、Ｇ、Ｍ、又はＱであり；
X_2は、Ｍ、Ｌ、Ｎ、又はＱであり；
X_3は、Ｎ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、又はＲであり；
X_4は、Ｄ、Ｌ、Ｎ、Ｔ、又はＷであり；
X_5は、Ｑ、Ｔ、Ｒ、Ｖ、又はＹであり；
X_6は、Ｇ、Ｅ、Ｌ、Ｍ、又はＴであり；
X_7は、Ａ、Ｄ、Ｈ、Ｉ、Ｌ、Ｎ、又はＳであり；
X_8は、Ｑ、Ｒ、Ｓ、Ｔ、又はＹであり；
X_9は、Ｄ、Ｇ、Ｉ、又はＰであり；
X_{10}は、Ｔ、Ｆ、又はＱであり；
X_{11}は、Ｑ、Ｆ、Ｈ、Ｐ、Ｓ、又はＹであり；
X_{12}は、Ｄ、Ｆ、Ｎ、Ｐ、又はＳであり；
X_{13}は、Ｌ、Ａ、Ｇ、Ｎ、又はＳであり；
X_{14}は、Ｖ、Ｐ、Ｒ、又はＹであり；及び
X_{15}は、Ｍ、Ｄ、Ｅ、又はＬである；並びに
（ｈ）において、
X_1は、Ｙ、Ａ、Ｈ、Ｌ、又はＰであり；
X_2は、Ｌ、Ｒ、Ｓ、Ｄ、又はＹであり；
X_3は、Ｅ、Ｍ、又はＷであり；
X_4は、Ｅ、Ｑ、Ｄ、Ｆ、又はＳであり；
X_5は、Ｆ、Ｉ、Ｗ、又はＥであり；
X_6は、Ｄ、Ｓ、又はＮであり；
X_7は、Ｄ、Ｓ、又はＬであり；
X_8は、Ｄ、Ｋ、又はＥであり；
X_9は、Ｔ、Ｆ、又はＧであり；
X_{10}は、Ｆ、Ｗ、Ｙ、又はＧであり；

X_{11}は、Ｅ、Ｓ、又はＷであり；
X_{12}は、Ｅ、Ｖ、Ｆ、又はＹであり；
X_{13}は、Ｔ、Ｅ、Ｋ、又はＶであり；
X_{14}は、Ｗ又はＥであり；
X_{15}は、Ｄ、Ｗ、Ｆ、Ｐ、又はＳであり；及び
X_{16}は、Ｎ、Ｉ、又はＡである、
請求項１に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項３】
配列番号１～３８７、配列番号３９０～４０４、及び配列番号４４９～４９６から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項２に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項４】
多量体である、請求項１に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項５】
標識又は治療剤に結合している、請求項１に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項６】
標識又は治療剤が、リンカーを介してポリペプチドに結合している、請求項５に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項７】
超音波バブル、微粒子、ミクロスフェア、乳濁液、又はリポソーム内に取り込まれる、請求項１に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項８】
診断検出に適した標識に結合して画像診断造影剤を形成する、請求項５に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項９】
標識が、酵素、蛍光性化合物、超音波造影剤、リポソーム、及び光学色素から成る群より選択される、請求項８に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項１０】
標識が：
（ｉ）^{18}Ｆ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{77}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{99m}Ｔｃ、^{51}Ｃｒ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{47}Ｓｃ、^{167}Ｔｍ、^{141}Ｃｅ、^{111}Ｉｎ、^{168}Ｙｂ、^{175}Ｙｂ、^{140}Ｌａ、^{90}Ｙ、^{88}Ｙ、^{153}Ｓｍ、^{166}Ｈｏ、^{165}Ｄｙ、^{62}Ｃｕ、^{64}Ｃｕ、^{67}Ｃｕ、^{97}Ｒｕ、^{103}Ｒｕ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{203}Ｐｂ、^{211}Ｂｉ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{214}Ｂｉ、^{105}Ｒｈ、^{109}Ｐｄ、^{117m}Ｓｎ、^{149}Ｐｍ、^{161}Ｔｂ、^{177}Ｌｕ、^{198}Ａｕ、及び^{199}Ａｕから成る群より任意に選択される放射性標識；又は
（ｉｉ）Gd^{3+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}、Fe^{2+}、Co^{2+}、Ni^{2+}、Eu^{3+}、Dy^{3+}、Pr^{3+}、Cr^{3+}、Co^{3+}、Fe^{3+}、Ti^{3+}、Tb^{3+}、Nd^{3+}、Sm^{3+}、Ho^{3+}、Er^{3+}、Pa^{4+}、及びEu^{2+}から成る群より選択される常磁性金属イオン、
である、請求項５に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項１１】
ｃＭｅｔ又はｃＭｅｔとＨＧＦとの複合体を、それを必要とする対象内で画像化するための組成物であって、請求項１に記載のポリペプチドを含む、前記組成物。
【請求項１２】
対象が、過剰増殖性障害、又は血管新生若しくは新血管形成に関連した障害を有することが疑われるヒト患者である、請求項１１に記載の組成物。
【請求項１３】
画像化を、核磁気共鳴画像、超音波画像、光学画像、音ルミネセンス画像、光音響画像、Ｘ線画像、又は放射性核種画像により行う、請求項１１に記載の組成物。
【請求項１４】

ｃＭｅｔ又はｃＭｅｔとＨＧＦとの複合体を、それを含有する溶液から精製する方法であって：
（ａ）　該溶液を、固体支持体上に固定されている請求項１に記載の少なくとも１つのポリペプチドと接触させ；そして
（ｂ）　該溶液からポリペプチドを分離する、
ことを含む、前記方法。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ　51/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	49/00	Ｚ	
Ａ６１Ｋ　49/04	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	49/02	Ａ	
Ａ６１Ｂ　5/055	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	49/04	Ａ	
Ａ６１Ｂ　8/14	*(2006.01)*	Ａ６１Ｂ	5/05	３１１	
Ｇ０１Ｎ　21/70	*(2006.01)*	Ａ６１Ｂ	8/14		
		Ｇ０１Ｎ	21/70		

(74)代理人　100101373
弁理士　竹内　茂雄
(74)代理人　100118902
弁理士　山本　修
(74)代理人　100122644
弁理士　寺地　拓己
(72)発明者　ドランスフィールド，ダニエル・ティー
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２３４１，ハンソン，ジョージ・ストリート　１４
(72)発明者　サトー，アーロン・ケイ
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２１４５，ソマーヴィル，ペンブロック・ストリート１１，ナンバー　２
(72)発明者　ラドナー，ロバート・シー
アメリカ合衆国メリーランド州２１７５４，アイジャムスビル，グリーン・ヴァレー・ロード　３８２７
(72)発明者　ナンジャッパン，パラニアッパ
アメリカ合衆国ニュージャージー州０８５４０，プリンストン，バービエリ・コート　１

专利名称(译)	特异性结合HGF受体（cMet）的肽及其用途		
公开(公告)号	JP2017019787A	公开(公告)日	2017-01-26
申请号	JP2016137140	申请日	2016-07-11
[标]申请(专利权)人(译)	戴埃克斯有限公司 博莱科瑞士股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	模具斧，合作社 布拉科瑞士兴业ANONYME		
[标]发明人	ドランスフィールドダニエルティー サトーアーロンケイ ラドナーロバートシー ナンジャッパンパラニアッパ		
发明人	ドランスフィールド,ダニエル·ティー サトー,アーロン·ケイ ラドナー,ロバート·シー ナンジャッパン,パラニアッパ		
IPC分类号	C07K14/47 C07K1/22 A61K47/50 A61K47/42 A61K49/00 A61K51/00 A61K49/04 A61B5/055 A61B8/14 G01N21/70 A61K38/00 A61K38/10 A61K47/48 A61K51/08 C07K C07K1/00 C07K7/08 C07K14/475 C12N7/00 G01N33/53		
CPC分类号	A61K47/543 A61K47/60 A61K47/665 A61K49/0043 A61K49/0056 A61K51/08 B82Y5/00 C07K7/08 C07K14/4753 C07K14/00		
FI分类号	C07K14/47.ZNA C07K1/22 A61K47/48 A61K47/42 A61K49/00.C A61K49/00.Z A61K49/02.A A61K49/04.A A61B5/05.311 A61B8/14 G01N21/70 A61B5/055 A61B5/055.311 A61B8/13 A61K47/50 A61K47/64 A61K49/00 A61K49/04 A61K49/06 A61K49/08 A61K49/14 A61K49/18 A61K49/22 A61K51/00 A61K51/00.200 A61K51/02.200 A61K51/08.200 A61K51/12.200 C07K7/08		
F-TERM分类号	2G043/AA03 2G043/BA16 2G043/EA01 2G043/EA02 4C076/EE41 4C076/EE59 4C085/HH01 4C085/HH03 4C085/HH05 4C085/HH07 4C085/HH09 4C085/HH11 4C085/HH13 4C085/JJ03 4C085/JJ05 4C085/JJ16 4C085/JJ20 4C085/KA26 4C085/KA27 4C085/KA28 4C085/KA29 4C085/KB07 4C085/KB08 4C085/KB09 4C085/KB11 4C085/KB12 4C085/KB18 4C085/KB19 4C085/KB20 4C085/KB82 4C085/LL01 4C085/LL18 4C096/AA10 4C096/AA11 4C096/AC05 4C096/AC06 4C096/BA06 4C096/BA07 4C096/BA19 4C096/BA41 4C601/DD30 4C601/DE06 4C601/EE20 4C601/EE30 4C601/FF16 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA50 4H045/BA61 4H045/BA63 4H045/BA70 4H045/BA72 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/EA50 4H045/FA20 4H045/GA26		
代理人(译)	小林 泰 竹内茂雄 山本修 寺地匠		
优先权	60/451588 2003-03-03 US		
其他公开文献	JP6374913B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供的搜索，以及如何使用结合于肝细胞生长因子受体（cMet的）公司新增的结合部分。 结合于结合于被通过接头附连到标签或治疗剂的HGF，所述诊断性检测的复杂cMet的（多聚多肽构建体），或一个cMet的和多肽的多肽多肽的合适的诊断成像的

造影剂，以形成一个包括一个特定的氨基酸序列。标签或治疗剂通过接头结合至多肽，所述标记是酶，荧光化合物，超声造影剂，脂质体和光学染料的顺磁金属离子。

(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2017-19787
(P2017-19787A)
(43)公開日　平成29年1月26日(2017.1.26)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
C07K 14/47	(2006.01)	C07K	14/47	ZNA
C07K 1/22	(2006.01)	C07K	1/22	
A61K 47/50	(2017.01)	A61K	47/48	
A61K 47/42	(2017.01)	A61K	47/42	
A61K 49/00	(2006.01)	A61K	49/00	C

審査請求 有　請求項の数 14　ＯＬ　（全 125 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-137140 (P2016-137140)
(22)出願日　平成28年7月11日 (2016.7.11)
(62)分割の表示　特願2014-68150 (P2014-68150)の分割
原出願日　平成16年3月3日 (2004.3.3)
(31)優先権主張番号　60/451,588
(32)優先日　平成15年3月3日 (2003.3.3)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　502352519
ダイアックス、コープ
ＤＹＡＸ　ＣＯＲＰ．
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０１８０３，バーリントン，ネットワーク・ドライブ　５５
(71)出願人　511044009
ブラッコ・スイス・ソシエテ・アノニム
スイス国　６９２８　マンノ，ヴィア・カントナーレ　２
(74)代理人　100140109
弁理士　小野　新次郎
(74)代理人　100075270
弁理士　小林　泰

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＨＧＦレセプター（ｃＭｅｔ）を特異的に結合するペプチドおよびその使用