

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-507477**(P2006-507477A)**(43) 公表日 **平成18年3月2日(2006.3.2)**

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	D
GO 1 N 33/566 (2006.01)	GO 1 N 33/53	N
	GO 1 N 33/566	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 172 頁)

(21) 出願番号	特願2004-513324 (P2004-513324)	(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、ケンブリッジ、テクノロジー、スクエア、300
(86) (22) 出願日	平成15年6月16日 (2003.6.16)	(74) 代理人	100089705 弁理士 社本 一夫
(85) 翻訳文提出日	平成17年2月14日 (2005.2.14)	(74) 代理人	100076691 弁理士 増井 忠式
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/018896	(74) 代理人	100075270 弁理士 小林 泰
(87) 国際公開番号	W02003/106493	(74) 代理人	100080137 弁理士 千葉 昭男
(87) 国際公開日	平成15年12月24日 (2003.12.24)		
(31) 優先権主張番号	60/388, 642		
(32) 優先日	平成14年6月14日 (2002.6.14)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 タンパク質分析

(57) 【要約】

開示されているのは、なかでも、血清タンパク質および血清タンパク質に物理的に会合された1つ以上の化合物を含む試料を評価する方法である。本方法は、血清タンパク質およびその会合された化合物により形成された複合体を分析するために、血清タンパク質と特異的に相互作用するペプチドリガンドを使用することを含むことができる。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

試料を評価する方法であって：

(i) 血清アルブミン、(i i) 血清アルブミンと物理的に会合された 1 つ以上の化合物、および(i i i) 抗原 - 結合免疫グロブリン可変ドメインを含まない血清アルブミン - 結合剤、を含んでなる試料を提供し；

血清アルブミン - 結合剤を血清アルブミンに結合させて複合体を形成させ；

試料の 1 つ以上の成分から複合体を分離し；そして

1 つ以上の物理的に会合された化合物を評価する、

ことを含んでなる、前記方法。

10

【請求項 2】

試料を評価する方法であって：

(i) 血清アルブミン、(i i) 血清アルブミンと物理的に会合された 1 つ以上の化合物、および(i i i) 独立して血清アルブミンへ結合するペプチドを含んでなる血清アルブミン - 結合剤、を含んでなる試料を提供し；

血清アルブミン - 結合剤を血清アルブミンに結合させて複合体を形成させ；

試料の 1 つ以上の成分から複合体を分離し；そして

1 つ以上の物理的に会合された化合物を評価する、

ことを含んでなる、前記方法。

20

【請求項 3】

血清アルブミン - 結合剤が 5 μ M より小さい値の親和性で血清アルブミンを結合する、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

ペプチドが 30 アミノ酸長より短い、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

ペプチドが分子内ジスルフィド結合を含んでなる、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

ペプチドが、DX - 236 または DX - 321、または 4 アミノ酸置換より少ない程度まで DX - 236 または DX - 321 と異なったアミノ酸配列を含んでなる、請求項 4 に記載の方法。

30

【請求項 7】

血清アルブミン - 結合剤が不溶性支持体につながれている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

血清アルブミン - 結合剤が多数の種からの血清アルブミンへ結合する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

少なくとも 1 つの評価された、物理的に会合された化合物が、血清アルブミンと非共有結合的に会合されている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

1 つ以上の物理的に会合された化合物を血清アルブミンから分離することをさらに含んでなる、請求項 9 に記載の方法。

40

【請求項 11】

1 つ以上の物理的に会合された化合物を、血清アルブミンから分離することが、評価することに先立っている、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

評価することに先立って、少なくとも 1 つの非共有結合的に会合された化合物を、血清アルブミンから分離することをさらに含んでなる、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 13】

血清アルブミンから分離することが、血清アルブミンを不溶性支持体へ共有結合的に付着させることを含んでなる、請求項 12 に記載の方法。

50

【請求項 14】

共有結合的な付着が、血清アルブミンの遊離システインへ対するものである、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

試料を評価する方法であって、

(i) 血清アルブミン、(i i) 血清アルブミンと物理的に会合された 1 つ以上の化合物、および(i i i) 血清アルブミン - 結合剤、を含んでなる試料を提供し；

血清アルブミン - 結合剤を血清アルブミンに結合させて複合体を形成させ；

試料の 1 つ以上の成分から複合体を分離し；

血清アルブミンを不溶性マトリックスへ共有結合的に付着させ；そして

血清アルブミンから血清アルブミンと物理的に会合された 1 つ以上の化合物の少なくとも 1 つを分離する、

ことを含んでなる、前記方法。

10

【請求項 16】

共有結合的の付着が、血清アルブミンの遊離システインへ対するものである、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

血清アルブミンから分離されることになる、1 つ以上の物理的に会合された化合物を評価することをさらに含んでなる、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 18】

共有結合的な付着が、チオール反応性基を使用して形成される、請求項 15 に記載の方法。

20

【請求項 19】

チオール反応性基がハロゲン誘導体を含んでなる、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

チオール反応性基がヨードアセトアミドを含んでなる、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

チオール反応性基がマレイミドを含んでなる、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 22】

チオール反応性基がチオール交換試薬を含んでなる、請求項 18 に記載の方法。

30

【請求項 23】

チオール交換試薬がピリジルジスルフィドである、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

分離することが、血清アルブミンを変性することを含んでなる、請求項 13 または 15 に記載の方法。

【請求項 25】

少なくとも 1 つの評価された、共有結合的に会合された化合物が非タンパク質性である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 26】

評価することが 1 つ以上の：ゲル電気泳動、質量分光法、クロマトグラフィーおよびタンパク質配列決定を含んでなる、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 27】

評価することが、既定の化合物に特異的な親和性試薬を使用して、既定の化合物を検出することを含んでなる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 28】

親和性試薬が抗体である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

評価することが、脂肪酸、ヘマチンおよびビリルビン以外の化合物を検出することを含んでなる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 30】

50

評価することが、ポリペプチドを検出することを含んでなる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 1】

評価することが、複合体と血清アルブミン上のエピトープに特異的な合成親和性リガンドを接触させることにより、会合された化合物を血清アルブミンから溶出することを含んでなる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 2】

評価することが、複合体と血清アルブミンへ結合する天然化合物を接触させることにより、会合された化合物を溶出することを含んでなる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

天然化合物が、脂肪酸、ヘマチンおよびビリルビンからなる群より選択された成分を含んでなる、請求項 3 2 に記載の方法。 10

【請求項 3 4】

天然化合物が、500ダルトンより小さな分子量を有している、陰性に荷電された芳香族基を含んでなる、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 5】

血清アルブミンがヒト血清アルブミンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 6】

血清アルブミンが天然に存在する血清アルブミンの人工突然変異体である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 7】

(i) 評価された 1 つ以上の物理的に会合された化合物の中で、既定の化合物の存在または不在を示す、または (ii) 1 つ以上の物理的に会合された化合物を記述する、デジタル的記録情報をさらに含んでなる、請求項 1 に記載の方法。 20

【請求項 3 8】

第 2 の試料を提供し、そして第 2 の試料中の 1 つ以上の物理的に会合された化合物を評価することをさらに含んでなる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 9】

第 1 の試料に対して、1 つ以上の物理的に会合された化合物を評価した結果を、第 2 の試料と比較することをさらに含んでなる、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

第 1 の試料が第 1 の被験者からであり、そして第 2 の試料は第 2 の被験者からである、請求項 3 9 に記載の方法。 30

【請求項 4 1】

第 1 の被験者が剤で処置され、そして第 2 の被験者は剤で処置されない、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

第 1 の被験者および第 2 の被験者が異なった環境条件にさらされる、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 3】

血清アルブミン - 結合剤および血清アルブミンが pH 8 より上では、優先的に溶液中で解離する、請求項 1 または 2 に記載の方法。 40

【請求項 4 4】

試料が被験者から得られる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4 5】

被験者がヒトである、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

試料が血液または血清を含んでなる、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

試料がバイオプシから得られる、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 8】

試料が腫瘍または腫瘍の 5 mm 以内の領域から得られる、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 9】

被験者が、試料を得ることに先立って、治療組成物で処置される、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 5 0】

1 つ以上の評価された、物理的に会合された化合物が内在性化合物である、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

1 つ以上の評価された、物理的に会合された化合物が治療組成物の成分である、請求項 4 9 に記載の方法。

10

【請求項 5 2】

試料を評価する方法であって、

(i) 少なくとも 1 つの免疫グロブリンドメインを含む可溶性免疫グロブリンタンパク質、(i i) 免疫グロブリンタンパク質と物理的に会合された 1 つ以上の化合物、および(i i i) 抗原結合部位以外の部位で免疫グロブリンタンパク質へ特異的に結合するペプチドを含んでなる免疫グロブリン - 結合剤を、含んでなる試料を提供し；

免疫グロブリン - 結合剤を可溶性免疫グロブリンタンパク質へ結合させて、可溶性免疫グロブリンタンパク質と物理的に会合された 1 つ以上の化合物を含む複合体を形成させ；

試料の 1 つ以上の成分から複合体を分離し；そして

1 つ以上の物理的に会合された化合物を評価する、
ことを含んでなる、前記方法。

20

【請求項 5 3】

可溶性免疫グロブリンタンパク質が天然に存在するタンパク質である、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 4】

可溶性免疫グロブリンタンパク質が I g G である、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 5】

1 つ以上の物理的に会合された化合物が抗原を含んでなる、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 6】

試料が、感染を有している被験者から得られる、請求項 5 2 に記載の方法。

30

【請求項 5 7】

試料が、免疫学的障害を有している被験者から得られる、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 8】

免疫学的障害が自己免疫障害である、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 5 9】

ペプチドが 3 0 アミノ酸長より短い、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 6 0】

ペプチドが分子内ジスルフィド結合を含んでなる、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 6 1】

試料を評価する方法であって、

(i) 可溶性血清タンパク質、(i i) 可溶性血清タンパク質と物理的に会合された 1 つ以上の化合物、および(i i i) 血清タンパク質へ特異的に結合するペプチドを含んでなる血清タンパク質 - 結合剤を、含む試料を提供し；

血清タンパク質 - 結合剤を可溶性血清タンパク質へ結合させて、可溶性血清タンパク質と物理的に会合された 1 つ以上の化合物を含む複合体を形成させ；

試料の 1 つ以上の成分から複合体を分離し；そして

1 つ以上の物理的に会合された化合物を評価する、
ことを含んでなる、前記方法。

40

【請求項 6 2】

血清タンパク質が血清アルブミンである、請求項 6 1 に記載の方法。

50

【請求項 6 3】

血清タンパク質が、血液血清中のタンパク質分画の少なくとも 0.01% である、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 4】

血清タンパク質が、トランスフェリン、マクログロブリン、フェリチン、アポリポタンパク質、トランスサイレチン、血清に見出されたプロテアーゼ阻害剤、レチノール結合タンパク質、チオスタチン、 α -フェトプロテイン、ビタミン-D結合タンパク質またはアフアミンから成る群より選択される、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 5】

血清アルブミンおよび会合された化合物間の物理的相互作用の地図を作製する方法であって： 10

血清アルブミンおよび会合された化合物を含んでなる複合体を提供し；

複合体へのリガンド（例えば、本明細書に記載したペプチドリガンド）の結合を評価する、ここにおいて、リガンドは血清アルブミンへ 5 μ M より小さい値の親和性で結合し、リガンドは免疫グロブリン可変ドメインを含んでなく、および複合体への非抗体リガンドの結合は、会合された化合物が、非抗体リガンドにより結合されたエピトープと重複しているエピトープには結合しないことを示している、ことを含んでなる、前記方法。

【請求項 6 6】

複合体へのリガンドの結合を評価することをさらに含んでなり、ここにおいて、第 2 のリガンドは血清アルブミンへ 5 μ M より小さい値の親和性で結合する、請求項 6 5 に記載の方法。 20

【請求項 6 7】

第 1 および第 2 の非抗体リガンド結合の 1 つが、複合体への結合から妨げられている、請求項 6 5 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2002年6月14日に提出の、米国仮特許出願第60/388,642号、その開示全体が本明細書において援用される、に優先権の利益を主張する。 30

【背景技術】

【0002】

本出願は、血清タンパク質を含む、タンパク質の分析に関する。血清は、血液が凝固した後に残る、血液由来の液体である。より豊富な血清タンパク質には、血清アルブミンおよび抗体（例えば、IgG、IgMなど）が含まれる。血清中に存在可能な他のタンパク質には：トランスフェリン、 α -マクログロブリン、フェリチン、アポリポタンパク質、トランスサイレチン、プロテアーゼ阻害剤、レチノール結合タンパク質、チオスタチン、 α -フェトプロテイン、ビタミン-D結合タンパク質およびアフアミンが含まれる（例えば、米国特許第5,767,243号を参照されたい）。 40

【0003】

哺乳動物種の循環血中で、最も豊富なタンパク質成分は血清アルブミンであり、それは通常、100mlの全血当たり、約3から4.5グラムの濃度で存在している。血清アルブミンは、約70キロダルトンの血液タンパク質であり、循環系において、いくつかの重要な機能を提供している。例えば、それは、血液に見いだされる多様な有機分子の輸送体として、脂肪酸、ヘマチンおよびビリルビンのごとき多様な代謝物の主輸送体として、およびその豊富さのため、循環血の浸透圧制御因子として、機能する。それはまた、小さな、陰性に荷電した芳香族化合物に対する広範な親和性を有している。これらの結合機能は、さもなければ循環血漿に不溶性である脂肪酸の主要な担体として、血清アルブミンが働くことを可能にしている。同様に、それは酸素フリーラジカルを隔離することができ、 50

ビリルビンのごとき毒性の脂溶性代謝物を不活性化する。それはまた、リン酸ピリドキサーール、システイン、グルタチオン、およびCu(II)、Ni(II)、Hg(II)、Ag(II)およびAu(I)のごとき多様な金属イオンと共有結合的付加体を形成することが可能である。

【0004】

血清アルブミンはまた、体内に存在する薬剤(drug)へも結合できる。実際、薬剤有効性の1つの指標は、血清アルブミンまたは他の血清タンパク質に対する親和性である。血清アルブミンへの結合は、多くの薬剤の、全体の分布、代謝および生物学的利用能に影響することが可能である。少なくともいくつかの場合には、血清アルブミンに対する普通ではないほどの高親和性が、候補薬剤の不首尾に関連していた。

10

【0005】

薬剤の半減期および分布を伸ばすため、血清アルブミンへ薬剤をコンジュゲート(conjugate)することも知られている。最近、HSA-CD4およびHSA-Cu, Zn-スーパーオキシドディスムターゼのごときキメラアルブミン分子が、半減期および分布を増加させるため、およびこれらの潜在的タンパク質治療剤の免疫原性を減少させるために、利用されてきた。

【発明の開示】

【0006】

概要

1つの様相において、本発明は以下の工程を含む方法を特色としている：(i)血清アルブミン、(ii)血清アルブミンと物理的に会合(associate)された1つ以上の化合物、および(iii)血清アルブミン-結合剤を含む試料を提供し；血清アルブミン-結合剤を血清アルブミンに結合させて複合体を形成させ；試料の1つ以上の成分から複合体を分離し；そして、1つ以上の物理的に会合された化合物を評価する。本方法は、試料を評価するために使用することが可能である。本方法はさらに、例えば、評価することに先立って、血清アルブミンから1つ以上の物理的に会合された化合物を分離することを含むことが可能である。1つの態様において、血清アルブミンはヒト血清アルブミンである。

20

【0007】

1つの態様において、血清アルブミン-結合剤は、1つ以上の以下の特性を有している：合成されたものである；抗体または抗体誘導体以外のタンパク質を含む；天然に存在しない；免疫グロブリン可変ドメインを含まない；独立して血清アルブミンへ結合するペプチドを含む。

30

【0008】

最後の場合には、ペプチドは少なくとも1つの分子内ジスルフィド結合、例えば、1つまたは2つの分子内ジスルフィド結合を含むことが可能である。ペプチドは、本明細書に記載するペプチド、例えば、DX-321、DX-321-A、DX-321-B、DX-236、DX-236-AまたはDX-236B、またはその変異体(variant)、または米国公開出願第2003/0069395号；第10/094,401号；第60/331,352号；または第60/292,975号に記載されているペプチド、またはその変異体、を含むことが可能である。特別の変異体には以下のものが含まれる：1から6の間(例えば、1および4の間、例えば、1、2、3または4)の置換(例えば、保存的置換)、切り詰め、化学的に修飾された形、ペプチド模倣体、および天然に存在しない残基による置換、を有する機能性変異体。ペプチドはまた、1から4の間(例えば、1、2、3または4)の挿入または欠失を有する機能性変異体であることを含むことができる。ペプチドは、血清アルブミンへの結合に対して本明細書に記載するリガンドと競合するペプチドリガンド、または本明細書に記載するリガンドにより結合されたエピトープと重複するエピトープを結合するリガンドであることも可能である。ペプチドリガンドは、ディスプレイライブラリーのスクリーニングにより単離されたりガンドであることも可能である。独立して血清アルブミンへ結合するペプチドは、32、28、24、20ま

40

50

たは16アミノ酸長未満、または12から32、8から16または12から24の間のアミノ酸長であることが可能である。

【0009】

1つの態様において、血清アルブミン-結合剤は不溶性支持体、例えば、ビーズ（磁気ビーズのごとき）、マトリックス（クロマトグラフィーマトリックス、アガロースまたは多孔性材料のごとき）または平面表面、へ結合されている。例えば、支持体は平面表面を含むことができ、血清アルブミン-結合剤は、平面表面上の別個の位置に固定化される。平面表面はまた、第2の別個の位置に、第2の結合剤、例えば、別の血清アルブミン-結合剤または異なった血清タンパク質へ結合する剤を含むことが可能である。

【0010】

血清アルブミン-結合剤は、5、4、2、1、0.5、0.1 μM より小さい、または50、10、5または0.5 nMより小さい、および/または0.05、0.5、5または50 nM、0.001、0.1または0.1 μM より大きな値、およびこれらの値間の範囲、の結合親和性 (K_D) を有することが可能である。1つの態様において、血清アルブミン-結合剤は、生理的条件下で血清アルブミンへ結合する。1つの態様において、血清アルブミン-結合剤および血清アルブミンは、少なくともpH 8、8.5または9より上、例えば、pH 8から11の間；pH 8から10.5の間；pH 8から10の間；pH 8.5から10の間；またはpH 8.7から9.5の間の溶液中で、優先的に解離する。別の態様において、血清アルブミン-結合剤および血清アルブミンは、少なくともpH 6、5.5または6より下、例えば、pH 4から6の間；pH 4.6から6.5の間；pH 5から6.5の間；またはpH 4.7から6.0の間の溶液中で、優先的に解離する。

【0011】

1つの態様において、血清アルブミン-結合剤は7、5、3または2 kDaより小さい分子量、または1.5から7、または2から6 kDaの間の分子量である。

血清アルブミン-結合剤は、多数の種、例えば、多数の哺乳動物種、例えば、ヒトおよびマウス、からの血清アルブミンへ結合することができる。別の態様において、血清アルブミン-結合剤はヒト血清アルブミンへ結合するが、マウス血清アルブミンおよびウシ血清アルブミンとは結合しない。

【0012】

1つの態様において、少なくとも1つの評価された、物理的に会合された化合物は、血清アルブミンと非共有結合的に会合されている。こういう化合物は、血清アルブミンと直接的にまたは間接的に会合されている。間接相互作用は、1つ以上の化合物による架橋であることができ、その少なくとも1つは、血清アルブミンと直接会合している。別の態様において、少なくとも1つの評価された、物理的に会合された化合物は、血清アルブミンと共有結合的に会合されることができる。いくつかの態様において、少なくとも1つの評価された、物理的に会合された化合物は、血清アルブミンと共有結合的に会合されており、少なくとももう1つは非共有結合的に会合されている。

【0013】

本方法はさらに、例えば、評価することに先立って、血清アルブミンから少なくとも1つの非共有結合的に会合された化合物を分離することを含むことが可能である。血清アルブミンから分離することは、血清アルブミンを不溶性支持体、例えば、マトリックス、粒子または表面、へ共有結合で付着することを含むことが可能である。例えば、共有結合的付着は、血清アルブミンの遊離システインへ行うことが可能である。共有結合的付着は、チオール反応性基、例えば、ハロゲン誘導体（ヨードアセトアミドのごとき）、マレイミドまたはチオール交換試薬（例えば、ピリジルジスルフィド）、を使用して形成できる。

【0014】

分離することは、例えば、カオトロープ、有機溶剤、高または低pH、または熱を使用して、血清アルブミンを変性すること、を含むことが可能である。別の態様において、少なくとも1つの評価された、共有結合的に会合された化合物がプロテアーゼ抵抗性である

10

20

30

40

50

場合（例えば、非タンパク質性成分を含んで）、分離することは、例えば、プロテアーゼを使用して、血清アルブミンを分解することを含むことが可能である。

【0015】

評価することは、下記の工程の1つ以上を含むことが可能である：ゲル電気泳動、質量分析、クロマトグラフィー、タンパク質配列決定、標識の検出（例えば、放射活性、蛍光、酵素または化学標識）、既定の化合物に特異的な親和性試薬を使用する既定の化合物の検出、または本明細書に記載されているその他の方法。親和性試薬は抗体であることができる。例えば、検出することは、免疫プロットまたは免疫沈降を実施することを含むことが可能である。評価することからの情報は、機械読み取り可能媒体上へ記録されるか、コンピューターネットワークを通して伝達するか、またはデータベースに保存することが可能である。

10

【0016】

評価することの対象（subject）は、タンパク質性または非タンパク質性化学化合物を含むことが可能である。例えば、対象はペプチド、ポリペプチド、タンパク質複合体または薬剤を含むことが可能である。1つの態様において、化合物は表1または表2の1つ以上の化合物以外、例えば、脂肪酸、ヘマチン、ビリルビンまたは外来性化合物以外であろう。

【0017】

1つの態様において、評価することは、血清アルブミンのエピトープまたは血清アルブミンへ結合する天然の化合物（例えば、脂肪酸、ヘマチンおよびビリルビン）に対して特異的な合成親和性リガンドを使用する競合により、血清アルブミンから会合された化合物を溶出することを含んでいる。天然の化合物は、500ダルトンより小さな分子量を有している、陰性に荷電した芳香族基を含むことが可能である。

20

【0018】

1つの態様において、血清アルブミンは天然に存在する血清アルブミンの人工突然変異体である。例えば、血清アルブミンを異種ポリペプチドと融合させるか、または治療剤（例えば、細胞毒性薬剤）へ共有結合でつなぐことが可能である。

【0019】

本方法はさらに、(i) 評価された1つ以上の物理的に会合された化合物の中で、既定の化合物の存在または不在を示す、または(ii) 1つ以上の物理的に会合された化合物を記述する、デジタル的記録情報を含むことが可能である。

30

【0020】

1つの態様において、試料は被験者（subject）、例えば、ヒト、例えば、患者、から得られる。試料は血液または血清を含むことができる。別の態様において、試料はバイオプシから得られ、例えば、腫瘍、腫瘍に近接した領域、またはリンパ節から得られる。被験者は、試料を得ることに先立って、治療組成物で処置される。

【0021】

1つの態様において、1つ以上の物理的に会合された化合物は、内在性化合物である。別の態様において、1つ以上の物理的に会合された化合物は、治療組成物の成分である。

1つの態様において、本方法はさらに、第2の試料を提供し、そして第2の試料中の1つ以上の物理的に会合された化合物を評価することを含んでいる。本発明はさらに、第1の試料および第2の試料の、1つ以上の物理的に会合された化合物を評価した結果を比較することを含むことが可能である。

40

【0022】

1つの態様において、第1および第2の試料は、各々第1および第2の被験者から得られる。1つの例において、第1の被験者および第2の被験者は、各々、剤（例えば、小分子）で処置され、および剤で処置されない。別の例において、第1の被験者および第2の被験者は、異なった環境条件におかれる。さらに別の例において、第1の被験者は対照被験者であり、そして第2の被験者は実験被験者である。別の例において、第1の被験者は対照被験者であり、そして第2の被験者は影響を受けたおよび/または病気にかかった被

50

験者である。さらに別の例において、第1および第2の試料は、同一の被験者から、例えば、異なった時間に、例えば、処置間の異なった時点で得られる。

【0023】

結果は、器械または器械 - 読み取り可能媒体に記録することが可能である。例えば、結果はコンピューターデータベースに保存される。

1つの態様において、第1および第2の試料の結果を、対照試料と比較する。1つの態様において、第1および第2の試料の結果を、試料のための記録（各々の試料記録は試料についての情報（例えば、起源、疾患、環境条件、生理学的条件など）と結びつけられている）、を含むデータベースと比較する。

【0024】

別の態様において、本発明は以下の工程を含む方法を特色としている：血清アルブミン、血清アルブミンと会合された1つ以上の化合物、および血清アルブミンと会合しない成分、を含む試料を提供し；試料を、血清アルブミンに特異的である親和性リガンドと接触させ；そして、血清アルブミンおよび1つ以上の会合された化合物を含む組成物から、非会合成分を分離し、それにより、血清アルブミン会合化合物を提供する。本方法は、血清アルブミン会合化合物を提供するために使用することが可能である。本方法は本明細書に記載した他の特色を含むことが可能である。本発明はまた、上記の方法または本明細書に記載された方法により調製された組成物を提供する。

【0025】

本方法はさらに、血清アルブミンから会合された化合物を分離して、血清アルブミンを含まない調製試料を提供することを含むことが可能である。本発明はまた、上記の方法または本明細書に記載された別の方法に従って調製された、血清アルブミンを含まない調製試料も特色としている。

【0026】

別の様相において、本発明は以下の工程を含む方法を特色としている：各々が血清タンパク質（例えば、血清アルブミン、可溶性免疫グロブリンまたは他の血清タンパク質）を含む、第1および第2の試料を提供し（例えば、受け取りまたは手に入れ）；もし存在するならば、各々の試料の会合された化合物（類）を評価し、例えば、本明細書に記載された方法に従って；そして、第1および第2の試料の、評価された結果を比較する。本方法はさらに、評価することに先立って、各々の試料から、血清タンパク質および血清タンパク質に会合された化合物を分離することを含んでいる。分離することは、血清タンパク質を不溶性マトリックスに共有結合で付着させることを含むことが可能である。血清タンパク質とは、豊富な血清タンパク質、例えば、血清の少なくとも0.001、0.05または0.1%を形成している血清タンパク質であろう。

【0027】

1つの態様において、第1および第2の試料は、各々第1および第2の被験者から得られる。1つの例において、第1の被験者および第2の被験者は、各々、剤（例えば、小分子）で処置され、および剤で処置されない。別の例において、第1の被験者および第2の被験者は、異なった環境条件におかれる。さらに別の例において、第1の被験者は対照被験者であり、そして第2の被験者は実験被験者である。別の例において、第1の被験者は対照被験者であり、そして第2の被験者は影響を受けたおよび/または病気にかかった被験者である。

【0028】

1つの態様において、第1および第2の試料の結果を、対照試料と比較する。1つの態様において、第1および第2の試料の結果を、試料のための記録（各々の試料記録は試料についての情報（例えば、起源、疾患、環境条件、生理学的条件など）と結びつけられている）、を含むデータベースと比較する。

【0029】

本方法はまた、本明細書に記載された他の特色を含むことが可能である。

別の様相において、本発明は以下の工程を含む方法を特色としている：(i) 少なくと

10

20

30

40

50

も1つの免疫グロブリンドメインを含む可溶性免疫グロブリンタンパク質 (i i) 可溶性免疫グロブリンタンパク質と物理的に会合された1つ以上の化合物、および (i i i) ペプチド免疫グロブリン - 結合剤を含む試料を提供し；免疫グロブリン - 結合剤を可溶性免疫グロブリンタンパク質へ結合させて、可溶性免疫グロブリンタンパク質と物理的に会合された1つ以上の化合物を含む複合体を形成させ；試料の1つ以上の成分から複合体を分離し；そして、1つ以上の物理的に会合された化合物を評価する。本方法は、試料を評価するために使用することが可能である。

【 0 0 3 0 】

1つの態様において、可溶性免疫グロブリンタンパク質は天然に存在するタンパク質、例えば、I h G、I g M、I g A、I g EまたはI g Dである。別の態様において、可溶性免疫グロブリンタンパク質はF a bまたは単鎖抗体である。こういうタンパク質は、少なくとも1つの合成相補性決定領域 (C D R) を含むことができる。

10

【 0 0 3 1 】

1つの態様において、1つ以上の物理的に会合された化合物は、病原体の抗原を含んでいる。

試料は、感染、免疫学的障害 (例えば、自己免疫障害) または遺伝子障害を有している被験者から得ることが可能である。被験者はまた、正常被験者であることもできる。

【 0 0 3 2 】

1つの態様において、免疫グロブリン - 結合剤は、1つ以上の以下の特性を有している：合成されたものである；抗体または抗体誘導体以外のタンパク質を含む；天然に存在しない；免疫グロブリン可変ドメインを含まない；独立して免疫グロブリンへ結合するペプチドを含む。免疫グロブリン - 結合剤は、F c領域、定常ドメイン (例えば、C H 1、C H 2、C H 3、C H 4またはC L)、または可変ドメインのフレームワーク領域へ結合することが可能である。主要な態様において、免疫グロブリン - 結合剤は、免疫グロブリンの抗原結合部位へは結合しない。

20

【 0 0 3 3 】

ペプチドは少なくとも1つの分子内ジスルフィド結合、例えば、1つまたは2つの分子内ジスルフィド結合を含むことが可能である。F c領域へ結合する免疫グロブリン - 結合剤の場合、ペプチドは本明細書に記載するペプチド、例えば、D X 2 4 9、D X 2 4 9 - A、D X 2 4 9 - B、D X 2 5 3、D X 2 5 3 - A、D X 2 5 3 - B、D X 3 9 8、D X 3 9 8 - A、D X 3 9 8 - Bまたはその変異体、または2002年4月18日に提出の、第10 / 125, 869号に記載されている化合物またはその変異体を含むことが可能である。

30

【 0 0 3 4 】

変異体の例には以下のものが含まれる：1から6の間 (例えば、1および4の間、例えば、1、2、3または4) の置換 (例えば、保存的置換)、切り詰め、化学的に修飾された形、ペプチド模倣体、および天然に存在しない残基による置換、を有する機能性変異体。ペプチドは、免疫グロブリンへの結合に対して本明細書に記載するリガンドと競合するペプチドリガンド、または本明細書に記載するリガンドにより結合されたエピトープと重複するエピトープを結合するリガンドであることも可能である。ペプチドリガンドは、ディスプレイライブラリーのスクリーニングにより単離されたりガンドであることも可能である。独立して免疫グロブリンへ結合するペプチドは、32、28、24、20または16アミノ酸長未満、または12から32、8から16または12から24の間のアミノ酸長であることが可能である。

40

【 0 0 3 5 】

1つの態様において、免疫グロブリン - 結合剤は不溶性支持体、例えば、ビーズ (磁気ビーズのごとき)、マトリックス (クロマトグラフィーマトリックスのごとき) または平面表面、へ結合されている。例えば、支持体は平面表面を含むことができ、免疫グロブリン - 結合剤は、平面表面上の別個の位置に固定化される。平面表面はまた、第2の別個の位置に、第2の結合剤、例えば、別の免疫グロブリン - 結合剤または異なった血清タンパ

50

ク質へ結合する剤を含むことが可能である。

【0036】

免疫グロブリン - 結合剤は、5、4、2、1、0.5、0.1 μM より小さい、および/または0.001、0.1または0.1 μM より大きな値、およびこれらの値間の範囲、の結合親和性 (K_D) を有することが可能である。1つの態様において、免疫グロブリン - 結合剤は、生理的条件下で免疫グロブリンへ結合する。

【0037】

1つの態様において、免疫グロブリン - 結合剤は7、5、3または2 kDaより小さい分子量、または1.5から7、または2から6 kDaの間の分子量である。

免疫グロブリン - 結合剤は、多数の種、例えば、多数の哺乳動物種、例えば、ヒトおよびマウス、からの免疫グロブリンへ結合することができる。別の態様において、免疫グロブリン - 結合剤はヒト免疫グロブリンへ結合するが、マウス免疫グロブリンとは結合しない。

10

【0038】

1つの態様において、少なくとも1つの評価された、物理的に会合された化合物は、免疫グロブリンと非共有結合的に会合されている。こういう化合物は、免疫グロブリンと直接的にまたは間接的に会合されている。間接相互作用は、1つ以上の化合物による架橋であることができ、その少なくとも1つは、免疫グロブリンと直接会合している。1つの態様において、会合された化合物は、免疫グロブリンにより認識される抗原である。例えば、抗原は病原体、例えば、ウイルスまたは細菌、例えば、複製可能ウイルスまたは生きて

20

【0039】

本方法はさらに、例えば、評価することに先立って、血清アルブミンから少なくとも1つの非共有結合的に会合された化合物を分離することを含むことが可能である。血清アルブミンから分離することは、血清アルブミンを不溶性支持体、例えば、マトリックス、粒子または表面、へ共有結合で付着することを含むことが可能である。

【0040】

分離することは、例えば、カオトロップ、有機溶剤、高または低pH、または熱を使用して、血清アルブミンを変性すること、を含むことが可能である。別の態様において、少なくとも1つの評価された、共有結合的に会合された化合物がプロテアーゼ抵抗性である

30

【0041】

評価することは、下記の工程の1つ以上を含むことが可能である：ゲル電気泳動、質量分析、クロマトグラフィー、タンパク質配列決定、標識の検出（例えば、放射活性、蛍光、酵素または化学標識）、既定の化合物に特異的な親和性試薬を使用する既定の化合物の検出、または本明細書に記載されているその他の方法。親和性試薬は抗体であることができる。例えば、検出することは、免疫ブロットまたは免疫沈降を実施することを含むことが可能である。

【0042】

評価することは、免疫グロブリンに会合された病原体（例えば、ウイルスまたは細菌）を培養することを含むことが可能である。

40

評価することの対象は、タンパク質性または非タンパク質性化学化合物を含むことが可能である。例えば、対象はペプチド、ポリペプチド、タンパク質複合体または薬剤を含むことが可能である。1つの態様において、化合物は抗原以外の化合物であり、例えば、化合物は、CDR領域の外側での相互作用により、免疫グロブリンと会合されている。

【0043】

1つの態様において、評価することは、免疫グロブリンのエピトープまたは抗原に対して特異的な合成親和性リガンドを使用する競合により、免疫グロブリンから会合された化合物を溶出することを含んでいる。天然の化合物は、500ダルトンより小さな分子量を

50

有している、陰性に荷電した芳香族基を含むことが可能である。

【0044】

1つの態様において、血清アルブミンは天然に存在する血清アルブミンの人工突然変異体である。例えば、血清アルブミンを異種ポリペプチドと融合させるか、または治療剤（例えば、細胞毒性薬剤）へ共有結合でつなぐことが可能である。

【0045】

本方法はさらに、(i) 評価された1つ以上の物理的に会合された化合物の中で、既定の化合物の存在または不在を示す、または(ii) 1つ以上の物理的に会合された化合物を記述する、デジタル的記録情報を含むことが可能である。

【0046】

1つの態様において、本方法はさらに、第2の試料を提供し、そして第2の試料中の1つ以上の物理的に会合された化合物を評価することを含んでいる。本発明はさらに、第1の試料および第2の試料の、1つ以上の物理的に会合された化合物を評価した結果を比較することを含むことが可能である。

【0047】

1つの態様において、試料は被験者、例えば、ヒト、例えば、患者、から得られる。試料は血液または血清を含むことができる。別の態様において、試料はバイオプシから得られ、例えば、腫瘍、腫瘍に近接した領域、またはリンパ節から得られる。被験者は、試料を得ることに先立って、治療組成物で処置される。

【0048】

1つの態様において、1つ以上の物理的に会合された化合物は、内在性化合物である。別の態様において、1つ以上の物理的に会合された化合物は、治療組成物の成分である。

さらに別の様相において、本発明は以下の工程を含む方法を特色としている：血清アルブミンおよび会合された化合物を含んでいる複合体を提供し；複合体に対する非抗体リガンド（例えば、本明細書に記載するペプチドリガンド）の結合を評価し、ここで非抗体リガンドは血清アルブミンに結合する、例えば、5、3、2、1、0.5または0.1 μM より小さい値の親和性で、および複合体に対する非抗体リガンドの結合は、会合された化合物が、非抗体リガンドにより結合されたエピトープと重複しているエピトープには結合しないことを示している。本方法は、血清アルブミンおよび会合された化合物間の、物理的相互作用の地図を作る (map) ために使用することが可能である。本方法はまた、例

【0049】

本方法はさらに、複合体へのリガンドの結合を評価することを含む方法を特色としており：ここにおいて、第2のリガンドは血清アルブミンへ、例えば、5、3、2、1、0.5または0.1 μM より小さい値の親和性で、結合する。例えば、第2のリガンドは抗体以外である（例えば、ペプチドリガンド）。1つの態様において、第1および第2の非抗体リガンド結合の1つは、複合体への結合から妨げられている。例えば、会合された化合物は、血清アルブミンへの非抗体リガンドの結合を立体的に邪魔しており、または、血清アルブミンに対する非抗体リガンドの結合部位をふさいでいる。本方法はまた、例

【0050】

関連する様相において、本発明は以下の工程を含む方法を特色としている：血清アルブミンおよび非抗体リガンドを含んでいる複合体を提供し、そして、複合体に対する、既定の化合物の結合を評価する。既定の化合物は血清アルブミンへ結合することが知られている化合物、または血清アルブミンに会合して試料から単離された（例えば、本明細書に記載されているように）化合物であることが可能である。本方法は、血清アルブミンおよび既定の化合物間の、物理的相互作用の地図を作るために使用することが可能である。

【0051】

10

20

30

40

50

本方法は、第2のリガンドのために繰り返すことが可能である。1つの態様において、第2のリガンドは、抗原結合免疫グロブリンドメインを含んでいない。

本方法は、第2の既定の化合物のために繰り返すことが可能である。

【0052】

本方法は、本明細書に記載する他の特色を含むことが可能である。

別の様相において、本発明はデータベースを特色としており、前記データベースは(i)試料中の血清タンパク質に会合された化合物を記述しているデータ；および(ii)試料についての情報を示しているデータを含んでおり、ここにおいて、(i)の実例は、(ii)の実例に結びつけられている。データは、本明細書に記載する方法の結果から得ることが可能である。

10

【0053】

別の様相において、本発明は以下の工程を含む方法(例えば、器械に基づいた方法)を特色としている：既定試料中の、血清タンパク質に会合された化合物についての情報を受け取り；受け取った情報により示された、化合物または試料についての情報を位置づけるため、多数の照合試料中の、血清タンパク質に会合された化合物についての情報を含むデータベースと情報を比較し；そして、位置づけされた情報または位置づけされた情報に対する照合を、ユーザーに提供する。本方法は、本明細書に記載する他の特色を含むことが可能である。

【0054】

さらに別の様相において、本発明は、本明細書に記載する組成物中の化合物を分離する、分離プロセスを示している情報、および/または血清アルブミン(例えば、血清アルブミンまたは免疫グロブリン)に会合された化合物の特性(例えば、物理的特性、化学構造など)を示している情報が、その上にコードされた器械-読み取り可能媒体を特色としている。

20

【0055】

本発明はまた、本明細書に記載する組成物を分離する、2次元ゲルのイメージを特色としている。各々のイメージが本明細書に記載する組成物の2次元ゲル分離に対応する、多数のイメージを含んでいる、データベースも特色としている。

【0056】

本明細書に記載する組成物で検出された多数の化合物の特性を示している情報が、その上にコードされている、器械-読み取り可能媒体も特色としている。特性の例には、分子量、等電点、配列、化学組成、存在量、タンパク質分解断片プロフィールなどが含まれる。

30

【0057】

別の様相において、本発明は、(i)血清タンパク質、(ii)血清タンパク質と物理的に会合された、1つ以上の化合物、および(iii)血清タンパク質-結合剤、を含む試料を含み；血清タンパク質-結合剤を血清タンパク質と結合させて、複合体を形成させ；試料の1つ以上の成分から、前記複合体を分離し；そして、1つ以上の物理的に会合された化合物を評価する、方法を特色としている。血清タンパク質の例には、血清アルブミン、抗体(例えば、IgG、IgMなど)、トランスフェリン、マクログロブリン、フェリチン、アポリポタンパク質、トランスサイレチン、プロテアーゼ阻害剤、レチノール結合タンパク質、チオスタチン、フェトプロテイン、ビタミン-D結合タンパク質およびアフアミンが含まれる。本方法は、例えば、本明細書の前および別の所で記載した、他の特色を含むことが可能である。

40

【0058】

1つの態様において、本方法は被験者から試料を得ることを含んでいる。例えば、被験者は、代謝的障害を有していてもよいし、そして血清タンパク質は1つ以上の代謝物のための非アルブミンキャリアタンパク質である。

【0059】

別の関連する様相において、本発明は以下の工程を含む方法を特色としている：血清ア

50

ルブミンと物理的に会合された1つ以上の化合物を有している血清アルブミンを含んでなる試料を提供し；血清アルブミンを結合する親和性試薬を使用して、血清アルブミンと血清アルブミンと物理的に会合された1つ以上の化合物を分離し；そして、1つ以上の物理的に会合された化合物を検出する。本方法は、血清アルブミン会合化合物を検出するために使用することが可能である。

【0060】

1つの態様において、親和性試薬には、抗原結合免疫グロブリンドメインを有していないタンパク質性リガンドが含まれる。例えば、タンパク質性リガンドとは、例えば、5、4、2、1、0.5または0.1 μM より小さな値の親和性で、血清アルブミンを結合するペプチドリガンドである。親和性試薬は、本明細書に記載したような1つ以上のペプチドリガンド（例えば、DX-236およびDX-321）を含むことが可能である。1つの態様において、親和性試薬は、異なったエピトープを結合する、2つのリガンドを含んでいる。本方法は、例えば、本明細書の前および別の所で記載した、他の特色を含むことが可能である。

10

【0061】

さらに別の様相において、本発明は、被験者に化合物を含んでなる組成物を投与し、そして、被験者の血清タンパク質と化合物の会合を決定すること、を含む方法を特色としている。決定することは、被験者からの血清タンパク質（例えば、血清アルブミン）を親和性試薬（例えば、本明細書に記載したリガンド）へ共有結合でまたは非共有結合で結合させることを含むことが可能である。本方法は、本明細書に記載した1つ以上の他の特色を含むことが可能である。

20

【0062】

別の様相において、本発明は、血清アルブミンを既定の化合物へ接触させ；血清アルブミンを本明細書に記載した親和性試薬へ結合させ；そして、血清アルブミンに対する既定の化合物の会合を決定すること、を含む方法を特色としている。本方法は、本明細書に記載した1つ以上の他の特色を含むことが可能である。

【0063】

本方法は、血清タンパク質と天然の化合物間の会合、および同様に、血清タンパク質と、医薬のような非天然の化合物間の会合を見出すために使用することが可能である。本方法はまた、既定の血清タンパク質（例えば、血清アルブミン）に会合された化合物のプロフィールにより、被験者（例えば、ヒト患者または動物）を特徴付けるために使用することが可能である。

30

【0064】

いくつかの態様において、ペプチドリガンドを、血清タンパク質を結合するための、親和性試薬として使用する。ペプチドリガンドはいくつかの利点を与える。例えば、結合部位当たりの大きさが小さく、例えば、こういう低分子量ペプチドドメインは、抗体のごときより大きなタンパク質よりも、グラム当たりでより高い結合活性を示すことができる。小さな表面のみが利用可能であるので、非特異的結合の可能性が減少する。ペプチドは、例えば、合成的方法により、N末端SerまたはThr残基、または末端単または多リジンセグメントのごとき、独特の繋ぎ止め部位を有するように、設計することが可能である（N末端SerまたはThrは、高い特異性で他の分子へ繋ぐことが可能な、アルデヒドへ特異的に酸化できる）。さらに、いくつかの態様で使用されるように、束縛されたペプチド構造は、多様な状況において、その機能性を保持するようである。

40

【0065】

本発明はまた、血清アルブミンに会合された内因性化合物の、単離された調製試料も特色としている。調製試料は、本明細書に記載された方法により単離することが可能である。調製試料は、少なくとも50、60、70、80、90または95%純粋（重量/容量）でもある、単一化学種を含むことが可能である。化学種は、図1の単離された化学種に従った、等電点および分子量を有することが可能である。

【0066】

50

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

Cys - Xaa₁ - Xaa₂ - Xaa₃ - Xaa₄ - Cys (配列番号 1)

式中、Xaa₁はAsp、Asn、Ser、ThrまたはTrpであり；Xaa₂はAsn、Gln、His、Ile、LeuまたはLysであり；Xaa₃はAla、Asp、Phe、TrpまたはTyrであり；およびXaa₄はAsp、Gly、Leu、Phe、SerまたはThrである。

【0067】

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の別の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

Xaa₁ - Xaa₂ - Xaa₃ - Cys - Xaa₄ - Xaa₅ - Xaa₆ - Xaa₇ - Cys - Xaa₈ - Xaa₉ - Xaa₁₀ (配列番号 2)

式中、Xaa₁はAsn、His、Leu、Phe、TrpまたはValであり；Xaa₂はAla、Glu、His、Lys、TrpまたはValであり；Xaa₃はAsp、Gly、Ile、His、Ser、TrpまたはValであり；Xaa₄はAsp、Asn、Ser、ThrまたはTrpであり；Xaa₅はAsn、Gln、His、Ile、LeuまたはLysであり；Xaa₆はAla、Asp、Phe、TrpまたはTyrであり；Xaa₇はAsp、Gly、Leu、Phe、SerまたはThrであり；Xaa₈はGlu、Ile、Leu、Met、SerまたはValであり；Xaa₉はAsn、Asp、Gln、Gly、Met、SerまたはTrpであり；およびXaa₁₀はAla、Asn、Asp、Pro、TyrまたはValである。

【0068】

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の別の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

Ala - Glu - Gly - Thr - Gly - Ser - Xaa₁ - Xaa₂ - Xaa₃ - Cys - Xaa₄ - Xaa₅ - Xaa₆ - Xaa₇ - Cys - Xaa₈ - Xaa₉ - Xaa₁₀ - Ala - Pro - Glu (配列番号 3)

式中、Xaa₁はAsn、His、Leu、Phe、TrpまたはValであり；Xaa₂はAla、Glu、His、Lys、TrpまたはValであり；Xaa₃はAsp、Gly、Ile、His、Ser、TrpまたはValであり；Xaa₄はAsp、Asn、Ser、ThrまたはTrpであり；Xaa₅はAsn、Gln、His、Ile、LeuまたはLysであり；Xaa₆はAla、Asp、Phe、TrpまたはTyrであり；Xaa₇はAsp、Gly、Leu、Phe、SerまたはThrであり；Xaa₈はGlu、Ile、Leu、Met、SerまたはValであり；Xaa₉はAsn、Asp、Gln、Gly、Met、SerまたはTrpであり；およびXaa₁₀はAla、Asn、Asp、Pro、TyrまたはValである。

【0069】

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の別の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

Cys - Xaa₁ - Xaa₂ - Xaa₃ - Xaa₄ - Xaa₅ - Xaa₆ - Cys (配列番号 431)

式中、Xaa₁はAla、Leu、His、Met、Phe、SerまたはThrであり；Xaa₂はIle、Phe、Pro、Ser、TrpまたはTyrであり；Xaa₃はAsp、Gln、Glu、Lys、Pro、TrpまたはTyrであり；Xaa₄はAsp、Gln、Gly、Leu、ProまたはTrpであり；Xaa₅はAsp、Ile、Leu、Lys、Met、Pro、TrpまたはTyrであり；およびXaa₆はGln、Gly、Ile、Phe、Thr、TrpまたはValである。

【0070】

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の別の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

10

20

30

40

50

X a a₁ - X a a₂ - X a a₃ - C y s - X a a₄ - X a a₅ - X a a₆ - X a a₇ - X a a₈
- X a a₉ - C y s - X a a₁₀ - X a a₁₁ - X a a₁₂ (配列番号 9 9)

式中、X a a₁はA l a、G l n、L e u、L y s、P h e、T r pまたはT y rであり；X a a₂はA s n、G l n、G l u、I l e、T h rまたはT r pであり；X a a₃はA s n、G l y、P h e、T h r、T r pまたはT y rであり；X a a₄はA l a、L e u、H i s、M e t、P h e、S e rまたはT h rであり；X a a₅はI l e、P h e、P r o、S e r、T r pまたはT y rであり；X a a₆はA s p、G l n、G l u、L y s、P r o、T r pまたはT y rであり；X a a₇はA s p、G l n、G l y、L e u、P r oまたはT r pであり；X a a₈はA s p、I l e、L e u、L y s、M e t、P r o、T r pまたはT y rであり；X a a₉はG l n、G l y、I l e、P h e、T h r、T r pまたはV a lであり；X a a₁₀はA s p、G l u、G l y、L e u、L y s、P r oまたはS e rであり；X a a₁₁はG l u、H i s、I l e、L e u、L y s、S e r、T r pまたはV a lであり；およびX a a₁₂はA l a、A s n、H i s、I l e、M e t、P h e、P r oまたはS e rである。

10

【 0 0 7 1 】

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の別の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

A l a - G l y - X a a₁ - X a a₂ - X a a₃ - C y s - X a a₄ - X a a₅ - X a a₆ -
X a a₇ - X a a₈ - X a a₉ - C y s - X a a₁₀ - X a a₁₁ - X a a₁₂ - G l y - T h r
(配列番号 1 0 0)

20

式中、X a a₁はA l a、G l n、L e u、L y s、P h e、T r pまたはT y rであり；X a a₂はA s n、G l n、G l u、I l e、T h rまたはT r pであり；X a a₃はA s n、G l y、P h e、T h r、T r pまたはT y rであり；X a a₄はA l a、L e u、H i s、M e t、P h e、S e rまたはT h rであり；X a a₅はI l e、P h e、P r o、S e r、T r pまたはT y rであり；X a a₆はA s p、G l n、G l u、L y s、P r o、T r pまたはT y rであり；X a a₇はA s p、G l n、G l y、L e u、P r oまたはT r pであり；X a a₈はA s p、I l e、L e u、L y s、M e t、P r o、T r pまたはT y rであり；X a a₉はG l n、G l y、I l e、P h e、T h r、T r pまたはV a lであり；X a a₁₀はA s p、G l u、G l y、L e u、L y s、P r oまたはS e rであり；X a a₁₁はG l u、H i s、I l e、L e u、L y s、S e r、T r pまたはV a lであり；およびX a a₁₂はA l a、A s n、H i s、I l e、M e t、P h e、P r oまたはS e rである。

30

【 0 0 7 2 】

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の別の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

C y s - X a a₁ - X a a₂ - X a a₃ - X a a₄ - X a a₅ - X a a₆ - X a a₇ - X a a₈
- C y s (配列番号 1 0 1)

式中、X a a₁はG l n、G l u、P h eまたはM e tであり；X a a₂はA s p、P r oまたはT h rであり；X a a₃はI l e、S e rまたはT r pであり；X a a₄はH i s、M e t、P h eまたはP r oであり；X a a₅はA s n、L e uまたはT h rであり；X a a₆はA r g、A s n、H i sまたはT h rであり；X a a₇はA r g、M e t、P h eまたはT y rであり；およびX a a₈はA s p、G l y、P h eまたはT r pである。

40

【 0 0 7 3 】

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の別の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

X a a₁ - X a a₂ - X a a₃ - C y s - X a a₄ - X a a₅ - X a a₆ - X a a₇ - X a a₈
- X a a₉ - X a a₁₀ - X a a₁₁ - C y s - X a a₁₂ - X a a₁₃ - X a a₁₄ (配列番号 1
0 2)、

式中、X a a₁はA r g P h eまたはT y rであり；X a a₂はA r g、L e u、S e rまたはT r pであり；X a a₃はA s n、A s p、P h eまたはT y rであり；X a a₄は

50

Gln、Glu、PheまたはMetであり；Xaa₅はAsp、ProまたはThrであり；Xaa₆はIle、SerまたはTrpであり；Xaa₇はHis、Met、PheまたはProであり；Xaa₈はAsn、LeuまたはThrであり；Xaa₉はArg、Asn、HisまたはThrであり；Xaa₁₀はArg、Met、PheまたはTyrであり；Xaa₁₁はAsp、Gly、PheまたはTrpであり；Xaa₁₂はAla、AsnまたはAspであり；Xaa₁₃はArg、Phe、ProまたはTyrであり；およびXaa₁₄はArg、His、PheまたはSerである。

【0074】

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の別の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

Gly - Ser - Xaa₁ - Xaa₂ - Xaa₃ - Cys - Xaa₄ - Xaa₅ - Xaa₆ - Xaa₇ - Xaa₈ - Xaa₉ - Xaa₁₀ - Xaa₁₁ - Cys - Xaa₁₂ - Xaa₁₃ - Xaa₁₄ - Ala - Pro (配列番号103)

式中、Xaa₁はArg、PheまたはTyrであり；Xaa₂はArg、Leu、SerまたはTrpであり；Xaa₃はAsn、Asp、PheまたはTyrであり；Xaa₄はGln、Glu、PheまたはMetであり；Xaa₅はAsp、ProまたはThrであり；Xaa₆はIle、SerまたはTrpであり；Xaa₇はHis、Met、PheまたはProであり；Xaa₈はAsn、LeuまたはThrであり；Xaa₉はArg、Asn、HisまたはThrであり；Xaa₁₀はArg、Met、PheまたはTyrであり；Xaa₁₁はAsp、Gly、PheまたはTrpであり；Xaa₁₂はAla、AsnまたはAspであり；Xaa₁₃はArg、Phe、ProまたはTyrであり；およびXaa₁₄はArg、His、PheまたはSerである。

【0075】

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の別の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

Cys - Xaa₁ - Xaa₂ - Xaa₃ - Xaa₄ - Xaa₅ - Xaa₆ - Xaa₇ - Xaa₈ - Xaa₉ - Xaa₁₀ - Cys (配列番号4)

式中、Xaa₁はAla、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、Ile、Leu、Lys、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₂はAla、Arg、Asp、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₃はAla、Arg、Asp、Gln、Glu、Gly、Ile、Leu、Lys、Met、Pro、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₄はAla、Arg、Asn、Asp、Ile、Leu、Phe、Pro、Ser、TrpまたはTyrであり；Xaa₅はAla、Asp、Glu、Gly、Ile、Met、Phe、Pro、Thr、TrpまたはTyrであり；Xaa₆はAla、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、His、Ile、Leu、Lys、Phe、Ser、Thr、TrpまたはTyrであり；Xaa₇はAla、Arg、Asp、Glu、Gly、His、Met、Phe、Pro、Ser、ThrまたはTrpであり；Xaa₈はAla、Arg、Asp、Gln、Glu、His、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、TrpまたはValであり；Xaa₉はAla、Arg、Asp、Gln、Glu、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₁₀はAla、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValである。

【0076】

天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤の別の例は、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドである：

Xaa₁ - Xaa₂ - Xaa₃ - Cys - Xaa₄ - Xaa₅ - Xaa₆ - Xaa₇ - Xaa₈ - Xaa₉ - Xaa₁₀ - Xaa₁₁ - Xaa₁₂ - Xaa₁₃ - Cys - Xaa₁₄ - Xaa₁₅ -

X a a₁₆ (配列番号 5)

式中、X a a₁はA l a、A r g、A s p、A s n、G l y、H i s、L e u、P h e、P r o、S e r、T r p、T y rであり；X a a₂はA l a、A r g、A s p、A s n、G l y、H i s、P h e、P r o、S e rまたはT r pであり；X a a₃はA l a、A s n、A s p、G l n、G l u、G l y、H i s、L e u、M e t、P h e、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₄はA l a、A s n、A s p、G l n、G l u、G l y、I l e、L e u、L y s、P h e、P r o、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₅はA l a、A r g、A s p、G l u、G l y、H i s、I l e、L e u、L y s、M e t、P h e、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₆はA l a、A r g、A s p、G l n、G l u、G l y、I l e、L e u、L y s、M e t、P r o、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₇はA l a、A r g、A s n、A s p、I l e、L e u、P h e、P r o、S e r、T r pまたはT y rであり；X a a₈はA l a、A s p、G l u、G l y、I l e、M e t、P h e、P r o、T h r、T r pまたはT y rであり；X a a₉はA l a、A r g、A s n、A s p、G l n、G l u、H i s、I l e、L e u、L y s、P h e、S e r、T h r、T r pまたはT y rであり；X a a₁₀はA l a、A r g、A s p、G l u、G l y、H i s、M e t、P h e、P r o、S e r、T h rまたはT r pであり；X a a₁₁はA l a、A r g、A s p、G l n、G l u、H i s、I l e、L e u、M e t、P h e、P r o、S e r、T h r、T r pまたはV a lであり；X a a₁₂はA l a、A r g、A s p、G l n、G l u、H i s、I l e、L e u、L y s、M e t、P h e、P r o、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₁₃はA l a、A s p、G l n、G l u、G l y、H i s、I l e、L e u、L y s、P h e、P r o、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₁₄はA l a、A r g、A s n、A s p、G l u、G l y、H i s、I l e、L e u、L y s、M e t、P r o、S e r、T h r、T r pまたはT y rであり；X a a₁₅はA l a、A r g、A s n、A s p、G l y、H i s、L e u、P h e、P r o、S e r、T r pまたはT y rであり；およびX a a₁₆はA l a、A s n、A s p、G l y、H i s、L e u、P h e、P r o、S e r、T r pまたはT y rである。

【0077】

上記配列番号5の構造を有する血清アルブミン - 結合リガンドのさらなる例には、アミノ酸配列(A)または(B)を含んでなるポリペプチドが含まれる：

(A) X a a₁ - A r g - X a a₂ - C y s - X a a₃ - T h r - X a a₄ - X a a₅ - P r o - X a a₆ - X a a₇ - X a a₈ - X a a₉ - X a a₁₀ - C y s - X a a₁₁ - X a a₁₂ - X a a₁₃ (配列番号 425)

式中、X a a₁はA s n、L e uまたはP h eであり、好ましくはL e u；X a a₂はA l a、A s n、A s p、G l n、G l u、G l y、H i s、L e u、M e t、P h e、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₃はA l a、A s n、A s p、G l n、G l u、G l y、I l e、L e u、L y s、P h e、P r o、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₄はA l a、A r g、A s p、G l n、G l u、G l y、I l e、L e u、L y s、M e t、P r o、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₅はP h e、T r pまたはT y rであり、好ましくはT r p；X a a₆はH i sまたはP h eであり、好ましくはP h e；X a a₇はA s p、G l uまたはT h rであり；X a a₈はA l a、A r g、A s p、G l n、G l u、H i s、I l e、L e u、M e t、P h e、P r o、S e r、T h r、T r pまたはV a lであり；X a a₉はA l a、A r g、A s p、G l n、G l u、H i s、I l e、L e u、L y s、M e t、P h e、P r o、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₁₀はA l a、A s p、G l n、G l u、G l y、H i s、I l e、L e u、L y s、P h e、P r o、S e r、T h r、T r p、T y rまたはV a lであり；X a a₁₁はP r oまたはS e rであり；X a a₁₂はA s nまたはP r oであり；およびX a a₁₃はA s nまたはP r oである；または

(B) Xaa₁ - Xaa₂ - Xaa₃ - Cys - Ile - Thr - Xaa₄ - Pro - Phe - Xaa₅ - Xaa₆ - Xaa₇ - Xaa₈ - Xaa₉ - Cys - Xaa₁₀ - Asn - Xaa₁₁ (配列番号426)

式中、Xaa₁はAla、Arg、Asp、Asn、Gly、His、Leu、Phe、Pro、Ser、Trp、Tyrであり；Xaa₂はAla、Arg、Asp、Asn、Gly、His、Phe、Pro、SerまたはTrpであり；Xaa₃はGlu、LeuまたはMetであり、好ましくはMet；Xaa₄はTrpまたはTyrであり、好ましくはTrp；Xaa₅はGln、GluまたはLysであり；Xaa₆はAla、Arg、Asp、Glu、Gly、His、Met、Phe、Pro、Ser、ThrまたはTrpであり；Xaa₇はMet、ProまたはSerであり、好ましくはPro；Xaa₈はAla、Arg、Asp、Gln、Glu、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₉はHisまたはProであり、好ましくはPro；Xaa₁₀はAla、Arg、Asn、Asp、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Pro、Ser、Thr、TrpまたはTyrであり；およびXaa₁₁はAla、Asn、Asp、Gly、His、Leu、Phe、Pro、Ser、TrpまたはTyrである。

【0078】

さらに他の天然に存在しない血清アルブミン - 結合リガンドには、下式のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドが含まれる：

Ala - Glu - Gly - Thr - Gly - Xaa₀ - Xaa₁ - Xaa₂ - Xaa₃ - Cys - Xaa₄ - Xaa₅ - Xaa₆ - Xaa₇ - Xaa₈ - Xaa₉ - Xaa₁₀ - Xaa₁₁ - Xaa₁₂ - Xaa₁₃ - Cys - Xaa₁₄ - Xaa₁₅ - Xaa₁₆ - Xaa₁₇ - Pro - Glu (配列番号6)

式中、Xaa₀はAlaまたはAspであり；Xaa₁はAla、Arg、Asp、Asn、Gly、His、Leu、Phe、Pro、Ser、Trp、Tyrであり；Xaa₂はAla、Arg、Asp、Asn、Gly、His、Phe、Pro、SerまたはTrpであり；Xaa₃はAla、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Met、Phe、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₄はAla、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、Ile、Leu、Lys、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₅はAla、Arg、Asp、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₆はAla、Arg、Asp、Gln、Glu、Gly、Ile、Leu、Lys、Met、Pro、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₇はAla、Arg、Asn、Asp、Ile、Leu、Phe、Pro、Ser、TrpまたはTyrであり；Xaa₈はAla、Asp、Glu、Gly、Ile、Met、Phe、Pro、Thr、TrpまたはTyrであり；Xaa₉はAla、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、His、Ile、Leu、Lys、Phe、Ser、Thr、TrpまたはTyrであり；Xaa₁₀はAla、Arg、Asp、Glu、Gly、His、Met、Phe、Pro、Ser、ThrまたはTrpであり；Xaa₁₁はAla、Arg、Asp、Gln、Glu、His、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、TrpまたはValであり；Xaa₁₂はAla、Arg、Asp、Gln、Glu、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₁₃はAla、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、TyrまたはValであり；Xaa₁₄はAla、Arg、Asn、Asp、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Pro、Ser、Thr、TrpまたはTyrであり；Xaa₁₅はAla、Arg、Asn、Asp、Gly、His、Leu、Phe、Pro、Ser、TrpまたはTyrであり；Xaa₁₆はAla、Asn、Asp、Gly、His、Leu、Phe、Pro、Ser、TrpまたはTyrであり；およびXaa₁₇はAlaまたはAsp

である。

【0079】

さらなる態様において、本発明は下式からなる群より選択されるアミノ酸配列を含んでなる、天然に存在しない血清アルブミン - 結合剤を提供する：

PTVVQPKFAFTHEDLLWIF (配列番号104)、
LKSQMVHALPAASLHDQHEL (配列番号105) および
SQVQGTPDLQFTVRDFIYMF (配列番号106)。

【0080】

血清アルブミン - 結合剤の例には、下式からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドが含まれる (20の普通のL - アミノ酸の標準1文字略語を使用して示されている)：

CTIFLC (配列番号7)、
CEGKDMIDWVYC (配列番号8)、
CDRIAWYPQHLC (配列番号9)、
CDRIAWYPQHAC (配列番号41)、
CDRIAWYPQALC (配列番号42)、
CDRIAWYPAHLC (配列番号43)、
CDRIAWYAQHLC (配列番号44)、
CDRIAWAPQHLC (配列番号45)、
CDRIAAYPQHLC (配列番号46)、
CDRAAWYPQHLC (配列番号47)、
CDAIAWYPQHLC (配列番号48)、
CARIAWYPQHLC (配列番号49)、
CEPWMLRFGC (配列番号10)、
CDQWFC (配列番号11)、
CNNALC (配列番号12)、
CDHFFC (配列番号13)、
CWHFSC (配列番号14)、
CVTRWANRDQQC (配列番号15)、
CVTDWANRHQHC (配列番号16)、
CVKDWANRRRGC (配列番号17)、
CKFSWIRSPAFC (配列番号18)、
CQTTWPFTMMQC (配列番号107)、
CVTMWPFEQIFC (配列番号108)、
CFTYYPFTTFSC (配列番号109)、
CWTKFPFDLVWC (配列番号110)、
CVSYWPHFVPVC (配列番号111)、
CYISFPFDQMYC (配列番号112)、
CSVQYPFEVVVC (配列番号113)、
CWTQYPFDHSTC (配列番号114)、
CITWPFKRPWPC (配列番号115)、
CISWPFEMPFC (配列番号116)、
CITWPFKRPWPC (配列番号117)、
CITYPFHEMFPC (配列番号118)、
CITWPFQTSYPC (配列番号119)、
CKFSWIRSPAFC (配列番号120)、
CWI VDE DGT KW C (配列番号121)、
CDSAYWQEIPAC (配列番号122)、
CLWDPMLC (配列番号123)、
CEHPYWTEVDKC (配列番号124)、

10

20

30

40

50

C D T P Y W R D L W Q C (配列番号 1 2 5)、
 C Q L P Y M S T P E F C (配列番号 1 2 6)、
 C G R G F D K E S I Y C (配列番号 1 2 7)、
 C V T Y I G T W E T V C (配列番号 1 2 8)、
 C T D T N W S W M F D C (配列番号 1 2 9)、
 C T L E I G T W F V F C (配列番号 1 3 0)、
 C K I A L F Q H F E V C (配列番号 1 3 1)、
 C I K L Y G L G H M Y C (配列番号 1 3 2)、
 C E M Q S I I P W W E C (配列番号 1 3 3)、
 C V E K Y Y W D V L I C (配列番号 1 3 4)、 10
 C P H G R Y S M F P C (配列番号 1 3 5)、
 C N V R W T D T P Y W C (配列番号 1 3 6)、
 C T Y D P I A D L L F C (配列番号 1 3 7)、
 C M D W P N H R D C (配列番号 1 3 8)、
 C F P I H L T M F C (配列番号 1 3 9)、
 C Q T S F T N Y W C (配列番号 1 4 0)、
 C M E F G P D D C (配列番号 1 4 1)、
 C S W D P I F C (配列番号 1 4 2)、
 C A W D P L V C (配列番号 1 4 3)、
 C H I Y D W F C (配列番号 1 4 4)、 20
 C L W D P M I C (配列番号 1 4 5)、
 C S P P G K T C (配列番号 1 4 6)、
 C T F W Q Y W C (配列番号 1 4 7)、
 C M F E L P F C (配列番号 1 4 8)、
 C F S K P D Q C (配列番号 1 4 9)、
 C F Y Q W W G C (配列番号 1 5 0)、
 C T W D P I F C (配列番号 1 5 1)、
 C W L Y D C (配列番号 1 5 2)、
 C D K Y G C (配列番号 1 5 3) および
 C S K D T C (配列番号 1 5 4)。 30

【0081】

血清アルブミン - 結合剤の追加の例は、下式からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドである：

A D F C E G K D M I D W V Y C R L Y (配列番号 2 7)、
 F W F C D R I A W Y P Q H L C E F L (配列番号 2 8)、
 F W F C D R I A W Y P Q H L C E F A (配列番号 5 0)、
 F W F C D R I A W Y P Q H L C E A L (配列番号 5 1)、
 F W F C D R I A W Y P Q H L C A F L (配列番号 5 2)、
 F W F C D R I A W Y P Q H A C E F L (配列番号 5 3)、
 F W F C D R I A W Y P Q A L C E F L (配列番号 5 4)、 40
 F W F C D R I A W Y P A H L C E F L (配列番号 5 5)、
 F W F C D R I A W Y A Q H L C E F L (配列番号 5 6)、
 F W F C D R I A W A P Q H L C E F L (配列番号 5 7)、
 F W F C D R I A A Y P Q H L C E F L (配列番号 5 8)、
 F W F C D R A A W Y P Q H L C E F L (配列番号 5 9)、
 F W F C D A I A W Y P Q H L C E F L (配列番号 6 0)、
 F W F C A R I A W Y P Q H L C E F L (配列番号 6 1)、
 F W A C D R I A W Y P Q H L C E F L (配列番号 6 2)、
 F A F C D R I A W Y P Q H L C E F L (配列番号 6 3)、
 A W F C D R I A W Y P Q H L C E F L (配列番号 6 4)、 50

DWDCVTRWANRDQQCWGP (配列番号29)、
 DWDCVTRWANRDQQCWAL (配列番号30)、
 DWDCVTDWANRHHQCWAL (配列番号31)、
 DWQCVKDWANRRRGCMAD (配列番号32)、
 RNMCKFSWIRSPAFCARA (配列番号33)、
 LRDCQTTWPFMMQCPNN (配列番号155)、
 NRECVTMWPFEQIFCPWP (配列番号156)、
 LRSCFTYYYPFTTFS CSP A (配列番号157)、
 LSHCWTKFPFDLVWC DSP (配列番号158)、
 LRMCVSYWPHFVPVCENP (配列番号159)、 10
 LRDCYISFPFDQMYCSHF (配列番号160)、
 FRHCSVQYPFEVVCPAN (配列番号161)、
 LRNCWTQYPFDHSTCSPN (配列番号162)、
 DSMCITWPFKRPWPCAN (配列番号163)、
 AFMCISWPFEMP FHCSPD (配列番号164)、
 DSMCITWPFKRPWPCANP (配列番号165)、
 WDL CITYPFHEMFPCEDG (配列番号166)、
 GGECITWPFQTSYPCTNG (配列番号167)、
 RNMCKFSWIRSPAFCARA (配列番号168)、
 FSLCWIVDEEDGTKWCLP (配列番号169)、 20
 RWFCDSAYWQEIPACARD (配列番号170)、
 RWYCLWDPMLCMSD (配列番号171)、
 AWYCEHPYWTEVDKCHSS (配列番号172)、
 SDFCDTPYWRDLWQCNSP (配列番号173)、
 LPWCQLPYMSTPEFCIRP (配列番号174)、
 YHVCGRGFDKESIYCKFL (配列番号175)、
 SFCVTYIGTWETVCKRS (配列番号176)、
 NDGCTDTNWSWMFDCPLL (配列番号177)、
 WRDCTLEIGTWVFCVCKGS (配列番号178)、
 SPYCKIALFQHFVCAAD (配列番号179)、 30
 RHWCIKLYGLGHMYCNRS (配列番号180)、
 DHACEMQSIIPWWECPH (配列番号181)、
 PRSCVEKY YWDLICGFF (配列番号182)、
 FHTCPHGRYSMFPCDYW (配列番号183)、
 HGWCNVRWTDTPYWCAFS (配列番号184)、
 YRVCTYDPIADLLFCPFN (配列番号185)、
 RSFCMDWPNHRDCDYS (配列番号186)、
 FWDCFPIHLTMFCDRF (配列番号187)、
 YLYCQTSFTNYWCAFH (配列番号188)、
 GLYCFMEFGPDDCAWH (配列番号189)、 40
 KNFCSWDPIFCGIH (配列番号190)、
 KWYCAWDPLVCEIF (配列番号191)、
 WTTCHIYDWFCSSS (配列番号192)、
 QWYCLWDPMICGLI (配列番号193)、
 QTNCSPPGKTC DKN (配列番号194)、
 AICTFWQYWCLEP (配列番号195)、
 FEWCMFELPFC SWP (配列番号196)、
 QEGCF SKPDQCKVM (配列番号197)、
 LEYCFYQWWGCPHA (配列番号198)、
 YQFCTWDPIFCGWH (配列番号199)、 50

LWDCWLYDCEGN (配列番号200)、
 VHSCDKYGCVNA (配列番号201)、
 FEHCSKDTCSGN (配列番号202)、
 VAWCTIFLCLDV (配列番号203)、
 FKICDQWFCLMP (配列番号204)、
 HVGCNNA LCMQY (配列番号205)、
 WKVCDHFFCLSP (配列番号206)、
 NHGCWHFSCIWD (配列番号207)、
 FRNCEPWMLRFGCNP (配列番号208)、
 ADFCEGKDMIDWVYCRLY (配列番号209)、
 FWFCDRIAWYPQHLCFLD (配列番号210)、
 DWDCVTRWANRDQQCWGP (配列番号211)、
 DWDCVTRWANRDQQCWAL (配列番号212)、
 DWDCVTDWANRHHQHCWAL (配列番号213)、
 DWQCVKDWANRRRGCMAD (配列番号214)、
 RNMCKFSWIRSPAFCARADP (配列番号215)。

10

【0082】

血清アルブミン - 結合剤の追加の例は、下式からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドである：

AEGTGDAADFCEGKDMIDWVYCRLYDPE (配列番号34)、
 AEGTGDFWFCDRIAWYPQHLCFLDPE (配列番号35)、
 AEGTGDFWFCDRIAWYPQHLCFLAPE (配列番号65)、
 AEGTGDFWFCDRIAWYPQHLCFLADPE (配列番号66)、
 AEGTGDFWFCDRIAWYPQHLCFLDPE (配列番号67)、
 AEGTGDFWFCDRIAWYPQHLCFLDPE (配列番号68)、
 AEGTGDFWFCDRIAWYPQHLCFLDPE (配列番号69)、
 AEGTGDFWFCDRIAWYPQALCFLDPE (配列番号70)、
 AEGTGDFWFCDRIAWYPAHLCFLDPE (配列番号71)、
 AEGTGDFWFCDRIAWYAQHLCFLDPE (配列番号72)、
 AEGTGDFWFCDRIAWAPQHLCFLDPE (配列番号73)、
 AEGTGDFWFCDRIAAYPQHLCFLDPE (配列番号74)、
 AEGTGDFWFCDRAAWYPQHLCFLDPE (配列番号75)、
 AEGTGDFWFCDIAAWYPQHLCFLDPE (配列番号76)、
 AEGTGDFWFCDRIAWYPQHLCFLDPE (配列番号77)、
 AEGTGDFWACDRIAWYPQHLCFLDPE (配列番号78)、
 AEGTGDFAFCDRIAWYPQHLCFLDPE (配列番号79)、
 AEGTGDAWFCDRIAWYPQHLCFLDPE (配列番号80)、
 AEGTGAFWFCDRIAWYPQHLCFLDPE (配列番号81)、
 AEGTGDDWDCVTRWANRDQQCWGPDPPE (配列番号36)、
 AEGTGDDWDCVTRWANRDQQCWALDPE (配列番号37)、
 AEGTGDDWDCVTDWANRHHQHCWALDPE (配列番号38)、
 AEGTGDDWQCVKDWANRRRGCMADDPE (配列番号39)、および

20

30

40

AEGTGDRNMCKFSWIRSPAFCARADPE (配列番号40)。

【0083】

血清アルブミン - 結合剤の特別の例には、下式の化合物が含まれる：

AEGTGDFWFCDRIAWYPQHLCFLDPEGGGK (配列番号19)。
このペプチドはDX-236と名付けられた。

【0084】

DX-236は哺乳動物血清アルブミンを結合し、適切な条件下、「全哺乳動物」血清

50

アルブミン - 結合剤として有用である。1 から 5 の間、例えば、1 から 3 の間または 1 または 2、のアミノ酸変化（置換、挿入または欠失）；または、1 から 6 の間、例えば、1 から 4、1 から 3、または 1 から 2 の間、の保存的アミノ酸置換を含む；および血清アルブミンに結合する、DX - 236 変異体もまた使用することが可能である。以下の 2 つの DX - 236 変異体を使用することが可能である：ペプチド配列 F W F C D R I A W Y P Q H L C E F L D（配列番号 210）を含む DX - 236 A、および C D R I A W Y P Q H L C（配列番号 9）を含む DX - 236 B。

【0085】

DX - 236 はまた、追加の化学修飾を含むことができる：例えば、Ac - A E G T G D F W F C D R I A W Y P Q H L C E F L D P E G G G K - N H₂（配列番号 19）、式中、Ac は N 末端アセチルキャッピング基を示しており、および - N H₂ は C 末端アミドキャッピング基を示している。DX - 236 変異体の例には、以下の配列を含む化合物が含まれる：

10

A E G T G D F W F C D R I A W Y P Q H L C E F L A P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D R I A W Y P Q H L C E F A D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D R I A W Y P Q H L C E A L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D R I A W Y P Q H L C A F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D R I A W Y P Q H A C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D R I A W Y P Q A L C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D R I A W Y P A H L C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D R I A W Y A Q H L C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D R I A W A P Q H L C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D R I A A Y P Q H L C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D R A A W Y P Q H L C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C D A I A W Y P Q H L C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W F C A R I A W Y P Q H L C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F W A C D R I A W Y P Q H L C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D F A F C D R I A W Y P Q H L C E F L D P E G G G K -、
 A E G T G D A W F C D R I A W Y P Q H L C E F L D P E G G G K -、および
 A E G T G A F W F C D R I A W Y P Q H L C E F L D P E G G G K -、（各々、配列

20

30

番号 82 から 98）。

【0086】

変異体はさらに、N または C 末端修飾を含むことが可能である。変異体の例は 1 から 6、1 から 5、1 から 4、または 1 から 3 の間のアミノ酸置換、例えば、1 または 2 のアミノ酸置換を有している。他の変異体は、1、2、3 または 5 より少ないアミノ酸挿入、欠失または置換を含んでいる。

【0087】

追加の血清アルブミン - 結合剤には以下のものが含まれる：

G D L R D C Q T T W P F T M M Q C P N N D P G G G K -、
 G D N R E C V T M W P F E Q I F C P W P D P G G G K -、
 G D L R S C F T Y Y P F T T F S C S P A D P G G G K -、
 G D D S M C I T W P F K R P W P C A N D P G G G K -、
 G D R N M C K F S W I R S P A F C A R A D P G G G K -、
 G D F S L C W I V D E D G T K W C L P D P G G G K -、
 G D R W F C D S A Y W Q E I P A C A R D D P G G G K -、
 G D S D F C D T P Y W R D L W Q C N S P D P G G G K -、
 G D S F C V T Y I G T W E T V C K R S D P G G G K -、
 G D N D G C T D T N W S W M F D C P P L D P G G G K -、
 G D S P Y C K I A L F Q H F E V C A A D D P G G G K -、
 G D P R S C V E K Y Y W D V L I C G F F D P G G G K -、

40

50

G S R S F C M D W P N H R D C D Y S A P G G G K - 、
 A G K W Y C A W D P L V C E I F G T G G G K - 、
 A G W T T C H I Y D W F C S S S G T G G G K - 、
 A G L E Y C F Y Q W W G C P H A G T G G G K - 、
 A G Y Q F C T W D P I F C G W H G T G G G K - 、 および
 G S L W D C W L Y D C E G N A P G G G K - 、 (各々、配列番号 2 1 6 から 2 3 3)

【 0 0 8 8 】

別の特別な血清アルブミン - 結合剤は : A E G T G D R N M C K F S W I R S P A F C A R A D P E (配列番号 2 0) を含む化合物である。この結合部分は、ポリペプチド化合物 D X - 3 2 1 と名付けられた。D X - 3 2 1 はまた、例えば、下記のように修飾することが可能である :

A c - A E G T G D R N M C K F S W I R S P A F C A R A D P E - X - K - N H ₂
 (配列番号 2 4)、式中、A c は N 末端アセチルキAPPING 基を示しており、X (上記) はポリペプチド連結 6 - アミノヘキサ酸基を示しており、および - N H ₂ は C 末端アミドキAPPING 基を示している。D X - 3 2 1 は、適切な条件下、他の種からの血清アルブミンよりもヒト血清アルブミン (H S A) を優先的に結合する。D X - 3 2 1 は特異的に H S A を検出または単離するための試薬として有用である。いくつかの態様において、化合物は N 末端アセチルキAPPING 基を含んではおらず、そして C 末端アミドキAPPING 基を含んでいても、または含んでいなくてもよい。

【 0 0 8 9 】

1 から 5 の間、例えば、1 から 3 の間または 1 または 2、のアミノ酸変化 (置換、挿入または欠失) ; または、1 から 6 の間、例えば、1 から 4、1 から 3、または 1 から 2 の間、の保存的アミノ酸置換を含む ; および血清アルブミンに結合する、D X - 3 2 1 変異体もまた使用することが可能である。以下の D X - 3 2 1 もまた使用することが可能である : ペプチド配列 R N M C K F S W I R S P A F C A R A (配列番号 4 3 0) を含む D X - 3 2 1 - A ; およびペプチド配列 C K F S W I R S P A F C (配列番号 1 2 0) を含む D X - 3 2 1 - B。

【 0 0 9 0 】

具体的な免疫グロブリン結合分子 (免疫グロブリンの F c 領域を結合する) の例には、以下の 4 つの一般式のアミノ酸を含んでなるポリペプチドが含まれる :

I . Z 1 - X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - W - C - Z 2 (配列番号 2 3 4) ;

式中、Z 1 は少なくとも 6 アミノ酸のポリペプチドであり ; X 1 は G、H、N、R または S であり ; X 2 は A、D、E、F、I、M または S であり ; X 3 は A、I、L、M または V であり ; X 4 は I、M、T または V であり ; Z 2 は少なくとも 1 アミノ酸のポリペプチドであるか、または不在であり ; および Z 1 は、不変異体システイン残基とのジスルフィド結合の形成が、1 2 アミノ酸の環状ペプチドを形成するように、少なくとも 1 つのシステイン残基を含んでいる。

【 0 0 9 1 】

I I . Z 1 - X - W - Z 2 - W - Z 3 (配列番号 2 3 5) ;

式中、Z 1 は少なくとも 1 アミノ酸のポリペプチドであるか、または不在であり ; X は F または Y であり ; Z 2 はトリペプチドであり ; および Z 3 は少なくとも 1 アミノ酸のポリペプチドであり ;

式中、ポリペプチド Z 1、Z 2 および Z 3 の少なくとも 2 つは、そのシステイン残基間のジスルフィド結合で 7 - 1 2 アミノ酸の環状ペプチドを形成するように、システイン残基を含んでいる。

【 0 0 9 2 】

前記式 I I のポリペプチドにおいて、Z 2 は式 (I I A) を有することができる :

X 1 - X 2 - X 3 (I I A)、

式中、X 1 は A、C、F、K、P、R、W または Y であり ; X 2 は C、D、E、G、H

、K、M、N、Q、R、S、T、VまたはYであり；およびX3はA、E、F、H、I、K、L、Q、R、S、T、VまたはYである；ただし、多くてX1、X2およびX3の1つはCであることが可能である。いくつかの実行において、X2がCである場合は、X1はYである。いくつかの実行において、X1はCである。

【0093】

III. Z1 - W - Z2 - W - W - Z3 (配列番号236)；

式中、Z1は少なくとも1アミノ酸のポリペプチドであり；Z2はトリペプチドであり；およびZ3は少なくとも1アミノ酸のポリペプチドである；式中、ポリペプチドZ1、Z2およびZ3の少なくとも2つは、そのシステイン残基間のジスルフィド結合で8 - 12アミノ酸の環状ペプチドを形成するように、システイン残基を含んでおり、ただし、Z1がシステインを含んでいる場合、Z2はシステインを含んでおらず、およびZ2がシステインを含んでいる場合、それはトリペプチドの真ん中の残基であり、およびZ3もまたシステインを含んでいる。

10

【0094】

いくつかの場合において、式IIIのポリペプチドについて、Z1およびZ3が各々システイン残基を含んでいる場合、Z1のシステインは不変異体トリプトファン(W)に隣接しており、Z2の第1のアミノ酸はリジンであり、およびZ3の第2のアミノ酸はアスパラギン酸(D)である。

【0095】

IV. Z1 - P - X1 - W - X2 - C - X3 - X4 - X5 (配列番号237)；

式中、Z1は少なくとも1アミノ酸のポリペプチドであり、およびシステイン残基を含んでおり；X1はA、E、R、SまたはTであり；X2はF、WまたはYであり；X3はD、E、L、MまたはQであり；X4はH、WまたはYであり；X5はFまたはYである；および式中、Z1中のシステイン残基、およびX2およびX3間のシステイン残基は、10 - 12アミノ酸の環状ペプチドを形成する。

20

【0096】

免疫グロブリン結合ポリペプチドの例には、下式から成る群より選択されるアミノ酸配列を含んでなる、ポリペプチドが含まれる：

R - R - A - C - S - R - D - W - S - G - A - L - V - W - C - A - G - H (配列番号238)

30

W - G - E - C - T - V - T - S - Y - G - E - L - I - W - C - G - G - L (配列番号239)

S - S - A - C - A - F - D - P - M - G - A - V - I - W - C - T - Y - D (配列番号240)

L - L - E - C - A - Y - N - T - S - G - E - L - I - W - C - N - G - S (配列番号241)

P - D - D - C - S - I - H - F - S - G - E - L - I - W - C - E - P - L (配列番号242)

L - G - E - C - T - V - T - S - Y - G - E - L - I - W - C - G - G - L (配列番号243)

40

W - G - E - C - T - V - T - S - Y - G - E - L - I - W - C - G - G - H (配列番号244)

D - H - M - C - V - Y - T - T - W - G - E - L - I - W - C - D - D - H (配列番号245)

W - G - E - C - T - V - T - S - Y - G - E - L - I - W - C - G - G - L (配列番号246)

C - R - A - C - S - R - D - W - P - G - A - L - V - W - C - A - G - H (配列番号247)

R - R - A - C - S - R - D - W - S - G - A - L - V - W - C - A - G - H (配列番号248)

50

- L - H - A - C - A - F - D - P - M - G - A - V - I - W - C - T - Y - D (配列
番号 2 4 9)
- D - H - M - C - V - Y - T - T - W - G - E - L - M - W - C - D - N - H (配列
番号 2 5 0)
- P - P - T - C - T - W - D - W - Q - G - I - L - V - W - C - S - G - H (配列
番号 2 5 1)
- S - N - K - C - S - N - T - W - D - G - S - L - I - W - C - S - A - N (配列
番号 2 5 2)
- F - P - E - C - T - F - D - M - E - G - F - L - I - W - C - S - S - F (配列
番号 2 5 3)
- H - D - L - C - A - Q - A - P - F - G - D - A - T - W - C - D - L - R (配列
番号 2 5 4)
- P - N - H - C - S - Y - N - L - K - S - E - L - I - W - C - Q - D - L (配列
番号 2 5 5)
- P - L - D - C - A - R - D - I - H - N - S - L - I - W - C - S - L - G (配列
番号 2 5 6)
- G - S - E - C - S - W - T - S - L - N - E - L - I - W - C - A - H - W (配列
番号 2 5 7)
- W - P - D - C - S - F - T - V - Q - R - D - L - I - W - C - E - A - L (配列
番号 2 5 8)
- S - H - S - C - A - Y - D - Y - A - H - M - L - V - W - C - T - H - F (配列
番号 2 5 9)
- D - H - M - C - V - Y - T - T - W - G - E - L - I - W - C - D - N - H (配列
番号 2 6 0)
- R - P - N - C - T - F - A - A - S - G - E - L - I - W - C - M - H - Y (配列
番号 2 6 1)
- W - W - G - C - Q - F - D - W - R - G - E - L - V - W - C - P - Y - L (配列
番号 2 6 2)
- G - G - V - C - S - Y - S - G - M - G - E - I - V - W - C - R - W - F (配列
番号 2 6 3)
- A - L - M - C - S - H - D - M - W - G - S - L - I - W - C - K - H - F (配列
番号 2 6 4)
- W - W - N - C - H - N - G - W - T - W - T - G - G - W - C - W - W - F (配列
番号 2 6 5)
- Y - H - V - C - A - R - D - S - W - D - Q - L - I - W - C - E - A - F (配列
番号 2 6 6)
- N - Y - W - C - N - F - W - Q - L - P - T - C - D - N - L (配列番号 2 6 7)
- Y - W - Y - C - K - W - F - S - E - S - A - S - C - S - S - R (配列番号 2 6
8)
- Y - W - Y - C - K - W - F - E - D - K - H - P - C - D - S - S (配列番号 2 6
9)
- Y - W - Y - C - S - W - F - P - D - R - P - D - C - P - L - Y (配列番号 2 7
0)
- N - Y - W - C - N - V - W - L - L - G - D - V - C - R - S - H (配列番号 2 7
1)
- L - Y - W - C - H - V - W - F - G - Q - H - A - W - Q - C - K - Y - P (配列
番号 2 7 2)
- Y - W - K - C - K - W - M - P - W - M - C - G - F - D (配列番号 2 7 3)
- D - D - H - C - Y - W - F - R - E - W - F - N - S - E - C - P - H - G (配列
番号 2 7 4)

10

20

30

40

50

N - Y - W - C - N - I - W - G - L - H - G - C - N - S - H	(配列番号 2 7 5)	
Y - W - F - C - Q - W - F - S - Q - N - H - T - C - F - R - D	(配列番号 2 7	
6)		
H - Y - W - C - D - I - W - F - G - A - P - A - C - Q - F - R	(配列番号 2 7	
7)		
S - G - D - C - G - F - W - P - R - I - W - G - L - C - M - D - N	(配列番号	
2 7 8)		
F - W - Y - C - K - W - F - Y - E - D - A - Q - C - S - H - D	(配列番号 2 7	
9)		
Y - Y - W - C - N - Y - W - G - L - C - P - D - Q	(配列番号 2 8 0)	10
S - Y - W - C - K - I - W - D - V - C - P - Q - S	(配列番号 2 8 1)	
K - Y - W - C - N - L - W - G - V - C - P - A - N	(配列番号 2 8 2)	
Q - Y - W - C - Y - Q - W - G - L - C - G - A - N	(配列番号 2 8 3)	
K - Y - W - C - Q - Q - W - G - V - C - N - G - S	(配列番号 2 8 4)	
K - Y - W - C - V - Q - W - G - V - C - P - E - S	(配列番号 2 8 5)	
K - Y - W - C - M - Q - W - G - L - C - G - W - E	(配列番号 2 8 6)	
H - F - W - C - E - V - W - G - L - C - P - S - I	(配列番号 2 8 7)	
Q - Y - W - C - T - K - W - G - L - C - T - N - V	(配列番号 2 8 8)	
A - Y - W - C - K - V - W - G - L - C - Q - G - E	(配列番号 2 8 9)	
K - Y - W - C - N - L - W - G - V - C - P - A - N	(配列番号 2 9 0)	20
Q - Y - W - C - N - V - W - G - V - C - L - P - S	(配列番号 2 9 1)	
H - Y - W - C - Q - Q - W - G - I - C - E - R - P	(配列番号 2 9 2)	
R - Y - W - C - N - I - W - D - V - C - P - E - Q	(配列番号 2 9 3)	
Q - Y - W - C - T - H - W - G - L - C - G - K - Y	(配列番号 2 9 4)	
T - Y - W - C - T - K - W - G - L - C - P - H - N	(配列番号 2 9 5)	
F - Y - W - C - G - Q - W - G - L - C - A - P - P	(配列番号 2 9 6)	
G - Y - W - C - N - V - W - G - L - C - S - T - E	(配列番号 2 9 7)	
R - Y - W - C - G - V - W - G - V - C - E - I - D	(配列番号 2 9 8)	
K - F - W - C - T - I - W - G - V - C - H - M - P	(配列番号 2 9 9)	
H - Y - W - C - Q - Q - W - G - I - C - E - R - P	(配列番号 3 0 0)	30
R - Y - W - C - N - I - W - D - V - C - P - E - Q	(配列番号 3 0 1)	
F - Y - W - C - S - Q - W - G - L - C - K - Y - D	(配列番号 3 0 2)	
H - Y - W - C - E - K - W - G - L - C - L - M - S	(配列番号 3 0 3)	
H - Y - W - C - Q - K - W - G - V - C - P - T - D	(配列番号 3 0 4)	
H - Y - W - C - S - L - W - G - V - C - D - I - N	(配列番号 3 0 5)	
R - F - W - C - S - A - W - G - V - C - P - A	(配列番号 3 0 6)	
S - Y - W - C - K - I - W - D - V - C - P - Q - S	(配列番号 3 0 7)	
Q - Y - W - C - S - I - W - K - V - C - P - G - R	(配列番号 3 0 8)	
Y - W - Y - C - E - W - F - G - A - C - 1 - N - D	(配列番号 3 0 9)	
E - Y - W - C - K - Y - W - G - L - E - C - V - H - R	(配列番号 3 1 0)	40
K - Y - W - C - T - Q - W - G - L - K - C - D - K - Q	(配列番号 3 1 1)	
K - Y - W - C - S - F - W - G - L - Q - C - K - T	(配列番号 3 1 2)	
R - Y - W - C - N - F - W - G - V - N - C - D - A - N	(配列番号 3 1 3)	
N - Y - W - C - T - H - W - G - V - M - C - L - D - H	(配列番号 3 1 4)	
Y - W - F - C - K - W - F - P - S - Q - C - Q - F - M	(配列番号 3 1 5)	
A - Y - W - C - K - Q - W - G - L - K - C - Q - L - G	(配列番号 3 1 6)	
K - Y - W - C - K - F - W - G - L - E - C - K - V - G	(配列番号 3 1 7)	
N - Y - W - C - T - E - W - G - L - N - C - N - N - K	(配列番号 3 1 8)	
S - Y - W - C - E - K - W - G - L - T - C - E - T - H	(配列番号 3 1 9)	
E - Y - W - C - R - I - W - G - L - Q - C - N - M - V	(配列番号 3 2 0)	50

K - Y - W - C - K - K - W - G - V - N - C - D - F - N	(配列番号 3 2 1)	
K - Y - W - C - S - V - W - G - V - Q - C - P - H - S	(配列番号 3 2 2)	
F - Y - W - C - T - K - W - G - L - E - C - I - H - S	(配列番号 3 2 3)	
H - Y - W - C - Q - Q - W - G - L - M - C - F - E - T	(配列番号 3 2 4)	
K - Y - W - C - K - R - W - G - L - M - C - N - G - G	(配列番号 3 2 5)	
A - Y - W - C - M - T - W - G - V - P - C - I - S - W	(配列番号 3 2 6)	
K - Y - W - C - K - K - W - G - V - N - C - D - F - N	(配列番号 3 2 7)	
K - Y - W - C - S - V - W - G - V - Q - C - P - D - S	(配列番号 3 2 8)	
K - Y - W - C - S - V - W - G - V - Q - C - P - H - S	(配列番号 3 2 9)	
L - Y - W - C - T - K - W - G - V - T - C - Q - K - D	(配列番号 3 3 0)	10
T - Y - W - C - H - K - W - G - V - K - C - A - T - T	(配列番号 3 3 1)	
T - Y - W - C - T - F - W - E - L - P - C - D - P - A	(配列番号 3 3 2)	
K - Y - W - C - T - K - W - Q - L - N - C - E - E - V	(配列番号 3 3 3)	
N - Y - W - C - H - F - W - Q - V - P - C - L - E - Q	(配列番号 3 3 4)	
T - Y - W - C - V - V - W - N - V - P - C - S - T - D	(配列番号 3 3 5)	
N - F - W - C - H - T - W - G - L - Q - C - N - D - L	(配列番号 3 3 6)	
F - W - Y - C - Y - W - F - N - E - K - C - K - T - P	(配列番号 3 3 7)	
G - F - W - C - T - F - W - G - V - T - C - E - A - G	(配列番号 3 3 8)	
P - H - N - C - D - D - H - Y - W - Y - C - K - W - F	(配列番号 3 3 9)	
E - M - T - C - S - S - H - Y - W - Y - C - T - W - M	(S 配列番号 3 4 0)	20
H - I - D - C - K - T - N - Y - W - W - C - R - W - T	(配列番号 3 4 1)	
E - M - R - C - G - Q - H - F - W - Y - C - E - W - F	(配列番号 3 4 2)	
N - Y - W - C - N - F - W - Q - L - P - T - C - D - N - L	(配列番号 3 4 3)	
Y - W - Y - C - Q - W - F - Q - E - V - N - K - C - F - N - S	(配列番号 3 4	
4)		
Y - Y - W - C - R - H - W - F - P - D - F - D - C - V - H - S	(配列番号 3 4	
5)		
Y - W - Y - C - S - W - F - P - D - R - P - D - C - P - L - Y	(配列番号 3 4	
6)		
Y - W - Y - C - V - W - F - D - N - A - D - Q - C - V - H - H	(配列番号 3 4	30
7)		
A - A - T - C - S - T - S - Y - W - Y - Y - Q - W - F - C - T - D - S	(配列	
番号 3 4 8)		
Y - W - A - C - V - W - G - L - K - S - C - V - D - R	(配列番号 3 4 9)	
Y - W - R - C - V - W - F - P - A - S - C - P - T	(配列番号 3 5 0)	
D - W - Q - C - L - W - W - G - N - S - F - W - P - Y - C - A - N - L	(配列	
番号 3 5 1)		
F - W - R - C - H - W - W - P - E - R - C - P - V - D	(配列番号 3 5 2)	
N - P - M - C - W - K - K - S - W - W - E - D - A - Y - C - I - N - H	(配列	
番号 3 5 3)		40
S - W - V - C - W - K - A - K - W - W - E - D - K - R - C - A - P - F	(配列	
番号 3 5 4)		
S - R - Q - C - W - K - E - L - W - W - T - D - Q - M - C - L - D - L	(配列	
番号 3 5 5)		
S - F - R - C - Q - S - S - F - P - S - W - Y - C - D - Y - Y	(S 配列番号 3	
5 6)		
S - W - H - C - Q - N - T - Y - P - E - W - Y - C - Q - W - Y	(配列番号 3 5	
7)		
G - S - K - C - K - Q - T - G - F - P - R - W - W - C - E - H - Y	(配列番号	
3 5 8)		50

- D - G - V - C - G - P - R - G - F - G - P - A - W - F - C - M - H - Y (配列
番号 359)
- Y - S - H - C - A - T - H - Y - P - T - W - Y - C - L - H - F (配列番号 36
0)
- F - C - N - C - W - G - S - H - E - F - T - F - C - V - D - D (配列番号 36
1)
- P - G - W - C - Y - S - D - I - W - G - F - K - H - F - C - N - L - D (配列
番号 362)
- D - S - S - C - I - K - H - H - N - K - V - T - C - F - F - P (配列番号 36
3) 10
- R - W - S - C - W - G - V - W - G - C - V - W - V (配列番号 364)
- P - V - D - C - K - H - H - F - W - W - C - Y - W - N (配列番号 365)
- S - W - N - C - A - F - H - H - N - E - M - V - W - C - D - D - G (配列番号
366)
- Y - W - Y - C - W - F - P - D - R - P - E - C - P - L - Y (配列番号 367)
- N - P - M - C - W - R - A - S - W - W - E - D - A - Y - C - I - N - H (配列
番号 409)
- N - P - M - C - W - R - A - H - W - W - E - D - A - Y - C - I - N - H (配列
番号 410)
- E - H - M - C - V - Y - T - T - W - G - E - L - I - W - C - D - N - H (配列 20
番号 411)
- A - C - V - Y - T - T - W - G - E - L - I - W - C - D - N - H (配列番号 41
2)
- T - C - V - Y - T - T - W - G - E - L - I - W - C - D - N - H (配列番号 41
3)
- E - C - V - Y - T - T - W - G - E - L - I - W - C - D - N - H (配列番号 41
4)
- V - C - V - Y - T - T - W - G - E - L - I - W - C - D - N - H (配列番号 41
5)
- [N l e] - C - V - Y - T - T - W - G - E - L - I - W - C - D - N - H (配列番 30
号 416)
- S - R - A - C - S - R - D - W - S - G - A - L - V - W - C - A - G - H (配列
番号 417)
- E - R - A - C - S - R - D - W - S - G - A - L - V - W - C - A - G - H (配列
番号 418)
- A - C - S - R - D - W - S - G - A - L - V - W - C - A - G - H (配列番号 41
9)
- T - C - S - R - D - W - S - G - A - L - V - W - C - A - G - H (配列番号 42
0)
- E - C - S - R - D - W - S - G - A - L - V - W - C - A - G - H (配列番号 42 40
1)
- V - C - S - R - D - W - S - G - A - L - V - W - C - A - G - H (配列番号 42
2) および
- G - C - S - R - D - W - S - G - A - L - V - W - C - A - G - H (配列番号 42
3)。

【0097】

上記 Fc 領域結合ポリペプチドの N 末端および / または C 末端切り詰め体、特に、抗体 Fc 領域に対する結合親和性を保持しているもの、もまた使用することが可能である。

上記の式に従った Fc 領域結合分子は、以下のものを含むことができる：式 I のポリペプチド、式中、X1 は G であり；X2 は A または E であり；X3 は L であり；および X4 50

はIまたはVである；式IIのポリペプチド、式中、XはFまたはYであり；および式IIAのトリペプチドにおいて、X1はCまたはYであり；X2はC、K、NまたはTであり；およびX3はF、I、K、QまたはVである。

【0098】

免疫グロブリン結合分子の具体的例には、以下のポリペプチドを含むタンパク質が含まれる：

RRACSRDWSGALVWCAGH (配列番号238)；
 DHMCVYTTWGE LIWCDNH (配列番号260)；
 KYWCSFWGLQCKT (配列番号312)；
 PVDCKHHFWWCYWN (配列番号365)； 10
 DDHCYWFREWFNSECPHG (配列番号274)；
 YYWCNYWGLCPDQ (配列番号280)；
 PHNCDDHYWYCKWF (配列番号339)；
 SYWCKIWDVCPQS (配列番号281)；
 KYWCNLLWGVCPAN (配列番号282)；
 AATCSTSYWY YQWFCTDS (配列番号348)；
 TYWCTFWELPCDPA (配列番号332)；
 YWYCWF PDRPECP LY (配列番号367)；
 SWVCWKAKWWEDKRCAPF (配列番号354)；
 NPMCWKKS WWEDAYCINH (配列番号353)；および 20
 SWNC AFHHNEMVWCDDG (配列番号366)。

【0099】

さらに他のポリペプチドの例は以下の配列を有しており、そして随意のアミノ末端（例えば、アセチル化）およびカルボキシ末端修飾（例えば、アミド化）を含むことができる：

GDDHMCVYTTWGE LIWCDNH EPGPEGGGK (配列番号368、DX249と名付けられた)；
 AGKYWCSFWGLQCKTGTPEGGGGK (配列番号370、DX250と名付けられた)；
 AGPVDCKHHFWWCYWNGTPEGGGGK (配列番号377、DX251と名付けられた)； 30
 GDDDHHCYWFREWFNSECPHGEPEGGGGK (配列番号378、DX252と名付けられた)；
 GDRRACSRDWSGALVWCAGHEPGPEGGGK (配列番号369、DX253と名付けられた)；
 AGYYWCNYWGLCPDQGTPEGGGGK (配列番号379、DX254と名付けられた)；
 AGPHNCDDHYWYCKWFPGEPEGGGK (配列番号374、DX389と名付けられた)；
 AGSYWCKIWDVCPQSPGPEGGGK (配列番号371、DX392と名付けられた)； 40
 AGKYWCNLLWGVCPANPGPEGGGK (配列番号372、DX395と名付けられた)；
 AGAATCSTSYWY YQWFCTDSPGPEGGGK (配列番号375、DX398と名付けられた)；
 AGTYWCTFWELPCDPA PGPEGGGK (配列番号373、DX404と名付けられた)；
 AGYWYCWF PDRPECP LY PGPEGGGK (配列番号376、DX413と名付けられた)；
 GDSWVCWKAKWWEDKRCAPFGTPEGGGGK (配列番号380) 50

- 、DX595と名付けられた) ;
 GDNPMCWKKSWWEDAYCINHGTPEGGGK (配列番号381)
- 、DX596と名付けられた) ;
 GDSWNC AFHHNEMVWCDDGGTPEGGGK (配列番号382、
 DX597と名付けられた) ;
 GDWGECTVTSYGELIWCGGLEPEGGGK (配列番号383、
 DX1070と名付けられた) ;
 GDNPMCWRA SWWEDAYCINHEPEGGGK (配列番号384、
 DX1071と名付けられた) ;
 GDNPMCWRAHWWEDAYCINHEPEGGGK (配列番号385、 10
 DX1072と名付けられた) ;
 GDDHMCVYTTWGE LIWCDNHEPEG - J - NH₂ (配列番号3
 86、DX877と名付けられた) ;
 GDDHMCVYTTWGE LIWCDNHEPEG - J - Su - J - NH₂ (配列番
 号387、DX878と名付けられた) ;
 GDDHMCVYTTWGE LIWCDNHEPEG - J - Z - J - NH₂ (配列番号
 388、DX905と名付けられた) ;
 GDDHMCVYTTWGE LIWCDNH - J - NH₂ (配列番号389、DX9
 07と名付けられた) ;
 GDDHMCVYTTWGE LIWCDNH - J - Su - J - NH₂ (配列番号39 20
 0、DX909と名付けられた) ;
 GDDHMCVYTTWGE LIWCDNH - J - Z - J - NH₂ (配列番号391
 、DX911と名付けられた) ;
 DHMCVYTTWGE LIWCDNHEPEGGGK (配列番号392、DX
 1062と名付けられた) ;
 EHMCVYTTWGE LIWCDNHEPEGGGK (配列番号393、DX
 1063と名付けられた) ;
 ACVYTTWGE LIWCDNHEPEGGGK (配列番号394、DX10
 64と名付けられた) ;
 TCVYTTWGE LIWCDNHEPEGGGK (配列番号395、DX10 30
 65と名付けられた) ;
 ECVYTTWGE LIWCDNHEPEGGGK (配列番号396、DX10
 66と名付けられた) ;
 VCVYTTWGE LIWCDNHEPEGGGK (配列番号397、DX10
 67と名付けられた) ;
 Ac - [Nle] CVYTTWGE LIWCDNHEPEGGGK (配列番号3
 98、DX1068と名付けられた) ;
 CVYTTWGE LIWCDNHEPEGGGK (配列番号399、DX106
 9と名付けられた) ;
 SRACSRDWSGALVWCAGHEPEGGGK (配列番号400、DX 40
 1139と名付けられた) ;
 RRACSRDWSGALVWCAGHEPEGGGK (配列番号401、DX
 1142と名付けられた) ;
 ERACSRDWSGALVWCAGHEPEGGGK (配列番号402、DX
 1141と名付けられた) ;
 ACSRDWSGALVWCAGHEPEGGGK (配列番号403、DX11
 42と名付けられた) ;
 TCSR DWSGALVWCAGHEPEGGGK (配列番号404、DX11
 43と名付けられた) ;
 ECSRDWSGALVWCAGHEPEGGGK (配列番号405、DX11 50

4 4 と名付けられた) ;

V C S R D W S G A L V W C A G H E P G P E G G G K (配列番号 4 0 6 、 D X 1 1

4 5 と名付けられた) ;

G C S R D W S G A L V W C A G H E P G P E G G G K (配列番号 4 0 7 、 D X 1 1

4 6 と名付けられた) ; および

C S R D W S G A L V W C A G H E P G P E G G G K - N H ₂ (配列番号 4 0 8 、 D X 1 1 4 7 と名付けられた) 。

【 0 1 0 0 】

上記のポリペプチドに関して、ポリペプチドはさらに化学修飾を含むことが可能である、例えば、N末端アセチル化および/またはC末端アミド化：以下の1つ： - J - N H ₂ はC末端基 - N H - (C H ₂ C H ₂ O) ₂ - C H ₂ C H ₂ - N H ₂を表し、 - J - S u - J - N H ₂はC末端基 - N H - (C H ₂ C H ₂ O) ₂ - C H ₂ C H ₂ - N H - C : O - C H ₂ C H ₂ - C : O - N H - (C H ₂ C H ₂ O) ₂ - C H ₂ C H ₂ - N H ₂を表し、 - J - Z - J - N H ₂はC末端基 - N H - (C H ₂ C H ₂ O) ₂ - C H ₂ C H ₂ - N H - C : O - C H ₂ - O - (C H ₂ C H ₂ O) ₂ - C H ₂ - C : O - N H - (C H ₂ C H ₂ O) ₂ - C H ₂ C H ₂ - N H ₂を表し、および [N l e] はノルロイシンを表している。

【 0 1 0 1 】

免疫グロブリン結合ポリペプチドは、ヒトFcポリペプチドまたは特定のIgGアイソタイプ(例えば、IgG1、IgG2、IgG3および/またはIgG4)に対して高い親和性(例えば、10 μMから0.01 μMの範囲、より好適には0.1 μMから0.01 μMの範囲のK_D)を有することが可能である。いくつかのポリペプチドもまた種特異性を示す(例えば、ヒトIgGには結合するが、他の哺乳動物IgGには結合しない)。例えば：

D X 2 4 9 は、ヒトIgG1に対して、pH5.7で0.1 μMより小さな、およびpH7.4で0.5 μMより小さな解離定数(K_D)を示し；

D X 2 5 2 は、ヒトIgG3に対して、pH5.7で0.1 μMより小さな、およびIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4に対して、pH7.4で~2.1 μMから~3.4 μMの範囲の解離定数(K_D)を示し；

D X 2 5 3 は、緩衝液およびタバコ抽出物からのFcタンパク質の定量的結合を示し(捕捉効率は全添加量の>90%)；

D X 2 5 4 は、ヒトIgG1に対して、pH5.7で0.1 μMより小さな、pH7.4で0.5 μMより小さな、およびpH9.3で1.0 μMより小さな解離定数(K_D)を示し；

D X 3 0 1 は、ヒトFc、IgG1、IgG2およびIgG4に対し、約10 μMより下の解離定数を示し；および

D X 3 0 0 は、ヒトIgG3に対して4.1 ± 4.6の解離定数を示す。セグメントDX-249-A、DHMCVYTTWGE LIWCDNH(配列番号260)；セグメントDX253-A、RRACSRDWSGALVWCAGH(配列番号238)；およびAATCSTSYWY YQWFCTDS(配列番号348)が含む上記のペプチドの変異体もまた使用することが可能である。

【 0 1 0 2 】

用語「会合された(associated)」とは、化合物間の直接的または間接的な、物理的付着を指している。付着は、共有結合的または非共有結合的相互作用により媒介される。間接的な、物理的付着とは、例えば、2つの化合物はお互いに直接的な接触ではないが、各々が1つ以上の媒介化合物と接触している場合を指している。

【 0 1 0 3 】

用語「ポリペプチド」とは、3つ以上のアミノ酸がペプチド結合により連結されているポリマーを指している。ポリペプチドは1つ以上の非天然アミノ酸を含むことができる。典型的には、ポリペプチドは天然のアミノ酸のみを含んでいる。用語「ペプチド」とは、3から32の間のアミノ酸長であるポリペプチドを指している。タンパク質は1つ以上の

ポリペプチド鎖を含むことができる。

【0104】

本明細書において、用語「抗体」とは、免疫グロブリン分子またはその免疫学的に活性な部分、即ち、抗原結合部分を指している。抗体は少なくとも1つの、および好適には2つの重(H)鎖可変領域(本明細書においてはVHと略記される)、および少なくとも1つの、および好適には2つの軽(L)鎖可変領域(本明細書においてはVLと略記される)を含むことができる。VHおよびVL領域はさらに、散在する、「相補性決定領域」(「CDR」と名付けられた、超可変性の領域、「フレームワーク領域」(FR)と名付けられた、より保存的である領域に副分割できる。フレームワーク領域およびCDRの範囲は正確に決定されている(Kabat, E. A.ら(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, 米国保健社会福祉省, NIH出版番号第91-3242号, およびChothia, C.ら(1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917, を参照されたい)。各々のVHおよびVLは、アミノ末端からカルボキシ末端へ以下の順序: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4、で配列された、3つのCDRおよび4つのFRから構成されている。

10

【0105】

本明細書において、用語「免疫グロブリン」とは、免疫グロブリン遺伝子により実質的にコードされている1つ以上のポリペプチドから成るタンパク質を指している。いくつかのヒト免疫グロブリン遺伝子は、カッパ、ラムダ、アルファ(IgA1およびIgA2)、ガンマ(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、デルタ、イプシロンおよびミュー定常領域遺伝子、ならびに種々の免疫グロブリン可変領域遺伝子を含んでいる。完全長免疫グロブリン「軽鎖」(約25kDaまたは214アミノ酸)はNH₂-末端の可変領域遺伝子(約110アミノ酸)およびCOOH-末端のカッパまたはラムダ定常領域遺伝子によりコードされている。完全長免疫グロブリン「重鎖」(約50kDaまたは446アミノ酸)は同様に、可変領域遺伝子(約116アミノ酸)および他の前記定常領域遺伝子の1つ、例えば、ガンマ(約330アミノ酸をコードしている)によりコードされている。

20

【0106】

本明細書において、用語「抗体の「抗原結合断片」(または単に「抗体部分」または「断片」)とは、抗原に特異的に結合する能力を保持している、完全長抗体の1つ以上の断片を指している。抗原結合断片の例には、限定されるわけではないが、(i) Fab断片、VL、VH、CLおよびCH1ドメインから成っている1価断片; (ii) F(ab')₂断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結されている、2つのFab断片を含んでなる2価断片; (iii) VHおよびCH1ドメインから成っているFd断片; (iv) 抗体の単一アームのVLおよびVHドメインから成っているFv断片; (v) dAb断片(Wardら、(1989) Nature 341: 544-546)、それはVHドメインから成っている; および(vi) 単離された相補性決定領域(CDR)、が含まれる。

30

【0107】

さらに、Fv断片の2つのドメイン、VLおよびVHは別々の遺伝子によりコードされているが、組換え法を使用し、VLおよびVH領域が対をなして1価分子を形成する、単一タンパク質鎖のごとくそれらを作り上げることを可能にする合成リンカーにより、それらをつなぎ合わせることが可能である(単鎖Fv(scFv)として知られている; 例えば、Birdら、(1988) Science 242: 423-426; およびHoustonら、(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883、を参照されたい)。こういう単鎖抗体もまた、用語「抗体の「抗原結合断片」に包含されている。これらの抗体断片は、当業者には既知である通常の技術(免疫化、ファージディスプレイおよびCDR移植を含んで)を使用して得られ、そして、断片を、無傷の抗体と同一の様式で、有用性についてスクリーニングする。

40

50

【0108】

「単離された組成物」とは、単離された組成物を得ることができる天然試料の少なくとも1つの成分の少なくとも90%が除去されている組成物を指している。

本発明は、配列および1つ以上の置換、例えば、1から6の間の置換を含む変異体、を含んでいる。特定の置換が許容されるであろうにせよ、即ち、所望の生物学的特性に不利に影響しないであろうので、結合活性は、Bowier、(1990) Science 247:1306-1310、に記載されているように決定することが可能である。1つ以上の、またはすべての置換は保存的であることができる。「保存的アミノ酸置換」とは、アミノ酸残基が類似の側鎖を有しているアミノ酸残基で置き換えられることである。類似の側鎖を有しているアミノ酸残基のファミリーは、当該分野で定義されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、ベータ-分岐側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸が含まれる。さらに他の置換を天然に存在しないアミノ酸に挿入することもできる。

10

【0109】

本明細書で引用した、すべての特許出願、特許および参考文献は、その全体が本明細書において援用される。従って、2001年3月9日に提出された米国仮出願第60/331,352号、2001年3月23日に提出された第60/292,975号、2001年4月18日に提出された第60/284,534号、2002年3月8日に提出された第10/094,401号、および2002年4月18日に提出された第10/125,869号、米国公開出願第2003/0069395号は、すべての目的のためその全体が、本明細書において援用される。

20

【発明を実施するための最良の形態】

【0110】

発明の詳細な説明

血清タンパク質は循環系の重要な成分であり、そして生理学に、および、役割の中でも、免疫応答において広範囲な機能を有している。血清タンパク質に会合されている化合物の特性付けは、被験者を研究する、診断するおよびモニターすることのための有用な指標を提供する。血清タンパク質は、親和性試薬を使用して単離することが可能である。単離された血清タンパク質に共有結合で、または非共有結合で会合されている化合物を、例えば、その同一性および/または存在量を決定するために分析する。

30

血清アルブミンおよび会合されている化合物の単離

1つの実行において、ヒト血清アルブミン(HSA)を試料、例えば、血液、血漿または血清から単離する。血清アルブミンに会合されている化合物を次に分析する。

【0111】

1. 第1の例においては、血清試料を、1つ以上のHSAのための親和性リガンドを含む不溶性マトリックスに応用する。親和性リガンドの例には、以下に説明するようなペプチドリガンドが含まれる。マトリックスを生理学的強度の緩衝液（例えば、リン酸緩衝液）、またはよりストリンジェントな緩衝液（例えば、より高いイオン強度、界面活性剤、カオトロップ、などを含んでいる）で洗浄する。

40

【0112】

HSAおよびそれに会合されている化合物をマトリックスから溶出し、そして回収する。溶出は、例えば、親和性リガンドからのHSAの解離を有利にする適切な緩衝液を応用することにより、もしくは不溶性マトリックスから親和性リガンドを分離することにより、達成することが可能である。

【0113】

50

溶出された材料において、血清アルブミンは、精製された組成物の実質的分画を代表することができる（例えば、図1および実施例1を参照されたい）。この故に、会合された化合物は、試料の10%より少なくてもよい。会合された化合物の少なくとも一部はタンパク質性、例えば、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質複合体であることができる。例えば、タンパク質複合体の場合、会合された化合物の少なくとも一部は、HSAと間接的に会合されていることができる。他の化合物は代謝物、小分子（例えば、5000または1000ダルトンより小さな分子量を有している）であることができる。

【0114】

2. 第2の例においては、試料を、HSAに対する1つ以上の親和性リガンドを含む不溶性マトリックスへ応用する。マトリックスを生理学的強度の緩衝液（例えば、リン酸緩衝化食塩水）で洗浄するが、しかしよりストリンジェントな緩衝液では洗浄しない。

10

【0115】

HSAおよびそれに会合されている任意の化合物は、マトリックスから親和性リガンドを分離することにより（例えば、親和性リガンドは共有結合によりマトリックスへ結合でき、それを切断する）、マトリックスから除去される。

【0116】

この調製試料を次ぎに、チオール反応性基、例えば、活性化マレイミドまたはヨードアセトアミド（また、下記「チオール反応性化合物」を参照されたい）を含む不溶性マトリックスへ応用する。例えば、活性化マレイミドはHSAの遊離システイン（システイン34）と反応する。血清から単離された場合または酸化された試料からの、他の豊富なタンパク質は、遊離システインをほとんど含んでいない。反応後、HSAへ会合されていないタンパク質および他の化合物を除去するため、マトリックスを洗浄する。

20

【0117】

HSAへ会合されている化合物は、1つ以上の以下のプロセスにより、マトリックスから放出させることが可能である：

(a) HSAはカオトロープまたは他の変性条件で変性させることが可能である。変性されたHSAはマトリックスへ共有結合的に結合されたまま残存するが、一方、非共有結合的に会合された化合物はマトリックスから放出される。変性剤はマトリックスへ、例えば、段階的にまたは連続的勾配で増加させることにより、マトリックスへ応用できる。

【0118】

カオトロープの例には、グアニジウムHCl（例えば、>4、5または6M）、または尿素（例えば、>6または8M）が含まれる。他の変性条件には、酸（例えば、リン酸、pH1）、イオン性界面活性剤（例えば、1%以上の濃度のSDS）、加熱（例えば、>60）、煮沸または有機溶媒（例えば、アセトニトリル）が含まれる。

30

【0119】

(b) 会合された化合物は、HSAへ結合する親和性リガンド（例えば、抗体、ペプチドリガンド、またはHSAへ結合することが知られている化合物、例えば、長鎖脂肪酸、薬剤、例えば、表1に掲げられている薬剤、または内在性化合物、例えば、表2に掲げられている内在性化合物）を使用する競合により溶出することが可能である。このプロセスは、HSAの特定のエピトープと会合している化合物を特異的に溶出することができる。

40

【0120】

(c) 会合された化合物は、例えば、溶液パラメータを変化させる（例えば、イオン強度、pH、カオトロープ濃度）、段階的または勾配的溶出を使用する、選択的溶出により、お互いから分離することが可能である。分画を集め、個々に分析することが可能である。例えば、このプロセスは、会合された化合物のサブセットを含む調製試料を得るために使用することが可能である。

【0121】

溶出した会合された化合物の分画は、追加の精製工程、例えば、Scopes (1994) Protein Purification: Principles and Practice, ニューヨーク: Springer-Verlag に記載されている調製ま

50

たは分析プロセス、を行うことが可能である。

【0122】

本明細書に記載した方法は、他の種、例えば、非ヒト哺乳動物種および非哺乳動物種、から血清アルブミンを単離するために使用することも可能である。

血清アルブミンを結合するペプチドリガンド

いくつかの態様において、血清アルブミンおよび会合されたタンパク質を単離するために、ペプチドリガンドを使用する。2001年3月9日に提出された仮特許出願第60/331,352号および2001年5月23日に提出された仮特許出願第60/292,975号は、血清アルブミンへ結合する多くのペプチドリガンドの例を記載している。ペプチドリガンドのいくつかの例には、DX-321、DX-321-A、DX-321-B、DX-236、DX-236-AおよびDX-236Bが含まれる。

10

【0123】

DX-321はペプチド配列：

AEGTGDRNMCKFSWIRSPAFCARADPE（配列番号40）を含んでいる。DX-321は、ヒト血清アルブミンへ結合し、ヒト血清アルブミンおよび会合された化合物を単離するために有用である。

【0124】

DX-321-Aはペプチド配列：

RNMCKFSWIRSPAFCARA（配列番号215）を含んでいる。

DX-321-Bはペプチド配列：

CKFSWIRSPAFC（配列番号120）を含んでいる。

20

【0125】

DX-236はペプチド配列：

AEGTGDFWFCDRIAWYPQHLCFLDPEGGGK（配列番号19）を含んでいる。DX-236は、多くの哺乳動物血清アルブミンへ少なくとも結合し、適切な条件下、多くの種からの血清アルブミンへ結合する血清アルブミン-結合剤として有用である。

【0126】

DX-236Aはペプチド配列：

FWFCDRIAWYPQHLCFLD（配列番号210）を含んでいる。

DX-236Bはペプチド配列：

CDRIAWYPQHLC（配列番号9）を含んでいる。

30

【0127】

1つの実行において、血清アルブミンを精製するための親和性マトリックスは、複数の結合リガンド、例えば、血清アルブミン上の異なったエピトープに特異性を有している結合リガンドを含んでいる。例えば、HSAを結合するための親和性マトリックスは、HSA結合ペプチドの2つの異なった化学種、例えば、DX-236およびDX-321、を含むことが可能である。

【0128】

ペプチドリガンドに加え、より大きなポリペプチドリガンド、例えば、少なくとも1つの免疫グロブリンドメイン（例えば、抗体または抗体断片）を含むタンパク質を使用することが可能である。

40

血清アルブミンに会合された化合物の例

多くの内在性および外来性化合物は、血清アルブミンと会合することが知られている。本明細書に記載された方法は、1つ以上のこういう化合物（例えば、表1または表2の化合物）が、単離された血清アルブミンと会合するかどうかを決定することを含むことが可能である。血清アルブミン以外の化合物もまた評価することが可能である。

【0129】

【表 1】

表 1 血清アルブミンへ結合する薬剤

サリチレート	スルフィソキサゾール	
ワルファリン	フェニルブタゾン	
ジギトキシン	インドメタシン	
トルブタミド	フロセミド	10
フェニトイン	クロルプロバミド	
クロロチアジド	オキサシリン	
ベンジルペニシリン	アセトトリゾエート	
フェノールレッド	ブロムセゾールグリーン	
ブromoフェノールブルー	イオフェノキセート	
スルホブromoフタレイン	メチルオレンジ	
メチルレッド	エバンスブルー	
ジアゼパム (S)	イブプロフェン	20
ナプロキセン	オクタノエート	
クロフィプレート	クロロプロマジン	
イミプラミン	キニジン	

【 0 1 3 0 】

【表 2】

表 2 血清アルブミンを結合する内在性化合物

長鎖脂肪酸	エイコサノイド	
胆汁酸		
ステロイド	コルチゾール	10
プロジェステロン	テストステロン	
アルドステロン		
ヘマチン	ビリルビン	
L-チロキシン	L-トリプトファン	
25-OH-ビタミンD ₃	1, 25-(OH) ₂ -ビタミンD ₃	
アクオコバラミン	フォレート	
アスコルベート		
銅 (I I)	亜鉛 (I I)	
カルシウム	マグネシウム	20
クロライド		

【0131】

チオール反応性化合物

上に説明したように、チオール反応性基を、遊離システインを含む血清タンパク質を固定するために使用することが可能である。特に、血清アルブミンは、遊離システインを含む豊富な血清タンパク質である。例えば、典型的にはHSAのシステイン34がカップリンに利用可能である。チオール反応性基の例には以下のものが含まれる。

【0132】

ハロゲン誘導体。ハロアセチル化合物およびベンジルハライド、特に、ヨードおよびブロモ誘導体がシステインと反応可能である。例えば、ヨード酢酸がシステインと反応させるために使用可能である。もし、アルカリ性pH下、ヨード酢酸が利用可能なスルフヒドリルの数に関連して限定された量で存在するとしたら、反応はより特異的である。

【0133】

マレイミド。マレイミド(マレイン酸イミド)の2重結合は、スルフヒドリル基とアルキル化反応を行うことが可能で、チオエーテル結合を生じる。マレイミドは、pH6.5から7.5の間で、スルフヒドリルに特に特異的である。

【0134】

チオール-ジスルフィド交換試薬。システインはまた、ジスルフィド結合を有する化合物を使用して架橋することが可能であり、血清タンパク質上の遊離システインとジスルフィド交換を行う。例えば、ピリジルジスルフィドは、2-イミノチオランと4,4'-ジピリジルジスルフィドとの反応により発生することが可能である。

【0135】

さらに別のチオール反応性化合物には、アジリジン、アクリロイル誘導体およびアリアル化試薬(2,4-ジニトロフルオロベンザインのごとき)が含まれる。また、Hermanson(1996)Bioconjugate Techniquesの「第2節： 50

「チオール反応性化学反応」, Academic Press、も参照されたい。

免疫グロブリンへ結合するペプチドリガンド

別の実行において、可溶性免疫グロブリンが、試料（例えば、血液、血漿または血清）から単離される。免疫グロブリンに会合されている化合物をその後で分析する。

【0136】

ペプチドリガンドを、可溶性免疫グロブリンを単離するために使用することが可能である。WO 2002/086070および2001年4月18日に提出された仮特許出願第60/284,534号は、免疫グロブリンのFc領域に結合する多くのペプチドリガンドの例を記載している。例えば：

DX249、GDDHMCVYTTWGE LIWCDNHEPGPEGGGK（配列番号368）、これはヒトIgG1に対して、pH5.7で0.1μMより小さな、およびpH7.4で0.5μMより小さな解離定数（ K_D ）を示す、セグメントDX249-A、DHMCVYTTWGE LIWCDNH（配列番号260）またはセグメントDX-249-B、CVYTTWGE LIWC（配列番号427）；

DX253、GDRRACSRDWSGALVWCAGHEPGPEGGGK（配列番号369）、Fcタンパク質の定量的結合を示す（捕捉効率、全添加量の>90%）、セグメントDX253-A、RRACSRDWSGALVWCAGH（配列番号238）またはセグメントDX253-B、CSR DWSGALVWC（配列番号428）；

DX398、AGAAATCSTSYWY YQWFCTDSPGPEGGGK（配列番号375）、DX398-A：AATCSTSYWY YQWFCTDS（配列番号348）またはDX398-B：CSTSYWY YQWFCTDS（配列番号429）；

DX252、GDDDHCHYWFREWFNSECPHGEPEGPEGGGK（配列番号378）、ヒトIgG3に対し、pH5.7で0.1μMより小さな、およびIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4に対し、pH7.4で~2.1μMから~3.4μMの範囲の解離定数（ K_D ）を示す；および

DX254、AGY YWCNYWGLCPDQGTGPEGGGK（配列番号379）、ヒトIgG1に対して、pH5.7で0.1μMより小さな、pH7.4で2.0μMより小さな、およびpH9.3で1.0μMより小さな解離定数（ K_D ）を示す。

【0137】

1つの実行においては、試料を、免疫グロブリンへ結合するリガンドを含む親和性マトリックスに接触させる。免疫グロブリンおよび会合された化合物を単離する。1つの例において、例えば、免疫グロブリンに会合された抗原を特性付けるため、単離した材料を分析する。別の例において、例えば、免疫グロブリンに結合された病原体を同定するため、単離した材料を培養する。

会合された化合物の分析

血清タンパク質および会合された化合物の分画は、多くのプロセスにより分析することが可能である。血清タンパク質に会合されたタンパク質性化合物を分析するための方法の例には、以下の方法が含まれる：ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）、2-Dゲル電気泳動（等電点およびPAGE）、HPLC、FPLC（イオンクロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、疎水的相互作用クロマトグラフィーなど）免疫分析（例えば、免疫プロット、酵素連結免疫吸着アッセイ（ELISA）、免疫沈降など）、質量分析法、およびタンパク質配列決定。

【0138】

血清タンパク質に会合された非タンパク質性化合物を分析するための方法の例には、以下の方法が含まれる：質量分析法（例えば、GC-質量分析法またはGC/MS）、薄層クロマトグラフィー、および他の化学検出法。

【0139】

1-Dゲル。タンパク質をそのアクリルアミドゲル中での見掛けの/近似の分子量により分離するために、SDS-PAGEを使用できる。アクリルアミドの濃度は、予想されるサイズに従って変化させることが可能であり、またはアクリルアミド濃度の濃度勾配を

10

20

30

40

50

使用することが可能である。電気泳動後、クーマシーブルーを含む多様な色素、銀染色、Sypro Red (Molecular Probes, Inc., Eugene, OR) のごとき蛍光色素を使用して、タンパク質を染色することが可能である。アクリルアミドゲルは、例えば、タンパク質の分離されたバンドの相対的濃度を決定するため、イメージ化することが可能である。イメージはコンピューターデータベースに保存することが可能である。

【0140】

2-Dゲル。この方法は2つの特性、等電点(pI)および見掛けの分子量(MW)、に従ってポリペプチドを分離するために使用することが可能である。タンパク質は最初にpIにより分離し(等電点電気泳動)、そして次ぎにSDS-PAGEにより見掛けの分子量に従って分離する。2Dゲルを染色し、イメージ化する。検出されたタンパク質の「スポット」は、同一性、修飾状態および各々のタンパク質の相対的存在比についての情報を提供する。タンパク質はまた、スポットから切り出し、そして質量分析法またはタンパク質配列決定により、さらに特性付けることが可能である。

10

【0141】

1次元目のための等電点電気泳動は、ポリカルボン酸両性電解質が固定されている、固定化pH濃度勾配ストリップを利用することが可能である。ストリップは、所望のpH範囲(ナローおよびワイドの両方)内に焦点を合わせるように製造することが可能である。ストリップは、適切な分離度で選択することが可能である。

【0142】

等電点電気泳動後、ストリップ中のタンパク質を、例えば、SDSおよびチオール還元剤を使用して、変性および還元する。ストリップをSDS-PAGEスラブゲルへ付着させ、タンパク質を分子量により分離する。

20

【0143】

免疫検出。抗体(特性付けられたまたは特性付けられていない)を血清タンパク質に会合された化合物を同定するために使用することが可能である。抗体は、分離された試料(例えば、電気泳動した試料、ウェスタンブロットにおける)または全体としての試料(例えば、ELISA)へ応用することが可能である。抗体はまた、化合物を免疫沈降させるためにも使用することが可能である。抗体は、化合物の検出を可能にする標識または信号発生源とカップルさせることが可能である。抗体断片および他の誘導体もまた使用することが可能である。

30

【0144】

質量分析法。飛行時間型質量分析法(TOF-MS)およびエレクトロスプレー質量分析法を、血清タンパク質に会合された化合物を特性付けるために使用することが可能である。TOF-MSは高感度で、高精度で、および迅速である(R. J. Cotter, (1992) Anal. Chem. 64:1027)。例えば、TOF-MSは、ミリ秒時間尺度で完全質量スペクトルを記録することが可能である。

【0145】

1つの普通のTOF-MS法は、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI)(KarasおよびHillenkamp, Anal. Client. 60, 2299(1988))である。この方法は、オリゴヌクレオチドおよび核酸に対して質量分析法を受け入れることを可能にしている。一般的には、P. Limbachら、Current Opinion in Biotechnology中の、「質量分析法によるオリゴヌクレオチドおよび核酸の特性付け」, 6, 96-102(1995)を参照されたい。

40

【0146】

質量分析法は、タンパク質のタンパク分解性断片の正確な分子量を決定するために、プロテアーゼ消化と組み合わせることが可能である。この情報を、タンパク質の配列を推論するために、コンピューター配列データベースと比較することが可能である。例えば、データベースは、ゲノム配列からの予想タンパク質配列を含むことが可能である。例えば、

50

Zhang および Chait (2000) Anal. Chem. 72: 2482、を参照されたい。質量分析法はまた、タンパク質の修飾状態（例えば、酸化、グリコシル化）を決定するためにも使用することが可能である。

【0147】

タンパク分解性断片の地図作製のためのプロテアーゼの例には、以下のものが含まれる：エラスターゼ、トリプシン、キモトリプシン、ペプシン、パパインおよび Glu-C。特定の化学剤、例えば、ギ酸および臭化シアン、もまた使用することが可能である。

【0148】

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-MS または MALDI-TOF) のためには、タンパク分解試料をマトリックス（例えば、 α -シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸、シナピン酸またはゲンチシン酸）と混合し、質量分析プレート上で乾燥させる。次にプレートを質量分析計中のタンパク質断片がイオン化される場所に設置し、次に飛行時間を分析する。正確な分子量がこれらの測定から決定される。

【0149】

タンパク質配列決定。精製したタンパク質（例えば、2 から 5 ピコモルのタンパク質）の N 末端を、エドマン分解により配列決定することが可能である。このプロセスは自動化することが可能である。タンパク質を明確に同定するため、N 末端配列情報を、質量分析法情報および包括的データベースと組み合わせることが可能である。

ペプチドおよびタンパク質アレイ

いくつかの実行において、その少なくとも 1 つが血清タンパク質に結合する、タンパク質および / またはペプチドリガンドのアレイを使用することが可能である。例えば、アレイは本明細書に記載した 1 つ以上のペプチドリガンドを含むことが可能である。特別の例において、アレイは、血清アルブミンへ結合する少なくとも 2 つの異なったペプチドリガンドを含んでいる。

【0150】

一般には、試料をアレイと接触させ、そして、例えば、血清結合タンパク質の異なった複合体が異なりガンドにより単離されるように、試料内の複合体をアレイ上のリガンドへ結合させるようにする。各々の別個のアドレスは、別々に評価することが可能である。

【0151】

ポリペプチドアレイを製造する方法は、De Wildt ら、(2000) Nat. Biotechnol. 18: 989 - 994; Lueking ら、(1999) Anal. Biochem. 270: 103 - 111; Ge (2000) Nucleic Acids Res. 28, e3, I-VII; MacBeath および Schreiber (2000) Science 289: 1760 - 1763; US 2002 - 192673 WO 01/98534、WO 01/83827、WO 02/12893、WO 00/63701、WO 01/40803 および WO 99/51773、に記載されている。いくつかの実行において、ポリペプチド（ペプチドを含んで）は、例えば、例えば Genetic Microsystems または BioRobotics から商業的に入手可能なロボット装置を使用して、例えば高速で、別個のアドレスにスポットされる。アレイ基質は、例えば、ニトロセルロース、プラスチック、ガラス（例えば、表面修飾ガラス）であることが可能である。アレイはまた、例えば、アクリルアミド、アガロースまたは他のポリマーのような多孔性マトリックスを含むことが可能である。

【0152】

ペプチドのアレイは同様に製造することが可能である。加えて、ペプチドは、例えば、米国特許第 5,143,854 号に従って、アレイ様式に直接合成することが可能である。また、血清タンパク質および会合された複合体を単離するため、リガンドとして核酸アプタマー (aptamer) を使用することもできる。

変化したまたは異常な状態の分析

本明細書に記載された方法は、被験者の変化したまたは異常な状態を特性付けるために

10

20

30

40

50

使用することが可能である。例えば、1つ以上の血清タンパク質へ会合されている化合物のプロフィールは、1つ以上の例で、被験者のために決定することが可能である。被験者は、病気にかかった被験者、遺伝子に変化している被験者、遺伝子障害に苦しめられている被験者、毒素（例えば、環境毒素、麻薬など）に暴露された被験者、または処置を受けている被験者であることが可能である。例えば、被験者の処置をモニターしている場合においては、プロフィールは処置に先立って、および処置後に規則的な間隔で決定することが可能である。プロフィールは、被験者の病理学（例えば、もし病気にかかっているならば）、投与された薬剤の存在量、または被験者の血清中の薬剤副産物、そのレベルが処置により影響されるかもしれない天然の成分についての情報を提供することができる。

薬剤試験

本明細書に記載された方法は、血清成分に対する試験化合物（例えば、薬剤）の親和性を試験するためにも使用することが可能である。血清タンパク質が潜在的医薬と相互作用するかどうかについての情報は、治療剤としてのその効果および有用性を特性付けるために有用である。

10

【0153】

例えば、試験化合物は、血液または血清、または少なくとも部分的に精製された血清タンパク質（例えば、組換え血清タンパク質）のごとき生物学的試料と混合することが可能である。インキュベーション後、1つ以上の血清タンパク質が、例えば、親和性試薬、例えば、本明細書に記載したようなペプチドリガンドを含む試薬、を使用して、試料から分離する。単離された血清タンパク質への試験化合物の結合は、例えば、血清タンパク質と単離された試験化合物の量を定量することにより決定することが可能である。試験化合物は標識されていなくてもまたは標識されていても（例えば、放射活性標識または蛍光標識を使用して）よい。標識された試験化合物は、例えば、シンチレーション近接アッセイまたは蛍光アッセイを使用して、直接的に検出することが可能である。

20

【0154】

非標識化合物もまた検出することが可能である。例えば、質量分析法を、非標識化合物を検出するために使用することが可能である。別の例において、非標識化合物は競合アッセイで検出することが可能である。血清タンパク質に結合された非標識化合物を血清タンパク質から分離し、結合反応液（例えば、マイクロタイタープレートのウェル中の）へ添加する。結合反応液は、非標識化合物へ結合する抗体および既知の量の標識化合物を含んでいる。存在する非標識化合物の量は、抗体に結合された標識化合物の量を測定することにより決定される。非標識化合物による競合は、結合された標識化合物の量を減少させる。

30

【0155】

関連した方法は、被験者（例えば、動物モデル）へ試験化合物を投与することを含んでいる。1つ以上の適切な間隔後、被験者から血液または血清試料を抽出する。血清タンパク質に会合された試験化合物の量は、例えば、前記のように決定することが可能である。もし被験者が非ヒト哺乳動物であるならば、種特異的ではない親和性リガンドを使用することが可能である。

血清タンパク質との相互作用を変調する化合物

血清タンパク質結合化合物および血清タンパク質（例えば、血清アルブミン）の相互作用を変調する、変調化合物をスクリーニングすることもまた可能である。例えば、天然に存在するタンパク質および血清タンパク質間の相互作用を破壊（または促進）する化合物のための高スループットスクリーニングを使用することが可能である。

40

【0156】

スクリーニングの1つの方法は以下の工程を含んでいる：候補変調化合物を、血清タンパク質結合化合物および血清タンパク質を含む複合体に接触させ；そして血清タンパク質結合化合物および血清タンパク質間の相互作用を評価する。1つの実行において、血清タンパク質を親和性試薬（例えば、ペプチドリガンド）へ結合させ、そして単離する。単離された材料を分析して、血清タンパク質結合化合物の存在および/または量を決定する。

50

血清タンパク質結合化合物および血清タンパク質の相互作用を破壊する変調化合物は、血清タンパク質結合化合物の単離を減少または阻止することができる。

【0157】

スクリーニングの関連した方法は、血清タンパク質を候補変調化合物と接触させ、そして続いて、血清タンパク質結合化合物を添加して、候補変調剤が血清タンパク質および血清タンパク質結合化合物間の相互作用を損なったか促進したかどうかを決定することを含んでいる。同様に、3つすべての成分を一緒に合わせ、次ぎに分析することも可能である。

血清タンパク質に対する結合リガンドの同定

血清タンパク質へ結合するリガンドは、ディスプレイライブラリーのスクリーニングを含んでいる多様な方法により同定することが可能である。例えば、ファージディスプレイが、既定の血清タンパク質へ結合するペプチドに対して、直線状または環状ペプチドのライブラリー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。加えて、免疫グロブリンドメインを含むリガンド、例えば、抗体を発生させることが可能である（例えば、免疫化、またはディスプレイライブラリースクリーニングにより）。

【0158】

ヒト血清アルブミンおよび免疫グロブリンのFc領域へ結合するペプチドリガンドが本明細書および2001年3月9日に提出された米国仮出願第60/331,352号、2001年5月23日に提出された第60/292,975号、2001年4月18日に提出された第60/284,534号に記載されている。同様に、トランスフェリン、マクログロブリン、フェリチン、アポリポタンパク質、トランスサイレチン、血清中に観察されるプロテアーゼ阻害剤、レチノール結合タンパク質、チオスタチン、フェトプロテイン、ビタミン-D結合タンパク質またはアフアミンのごとき血清タンパク質へ結合するリガンドを単離することが可能である。

【0159】

血清タンパク質の結合リガンドを同定する1つの方法は、ディスプレイライブラリーをスクリーニングすることである。ディスプレイライブラリーは実体の収集である：各々の実体は、到達できるポリペプチド成分、およびポリペプチド成分をコードするまたは同定する回収可能な成分を含んでいる。ポリペプチド成分は、例えば、3アミノ酸から300を超えるアミノ酸の長さであることが可能である。選択において、ライブラリーの各々のメンバーのポリペプチド成分は、血清タンパク質で探索され、もしポリペプチド成分がタンパク質へ結合すれば、ディスプレイライブラリーメンバーが同定される（典型的には支持体上の保持により）。

【0160】

ディスプレイライブラリーのスクリーニングは好都合であり、そこでは潜在的結合剤の非常に多くのメンバー（例えば、 5×10^9 ）が試験でき、成功した結合剤が短時間で単離される。さらに免疫化と異なり、異なった種間で保存されている、血清タンパク質のエピトープへ結合するリガンドを同定することが可能である。

【0161】

保持されたディスプレイライブラリーメンバーを支持体から回収し、そして分析する。分析は、増幅、および同様のまたは異なった条件下での続けるの選択を含むことが可能である。例えば、陽性および陰性選択が交互に可能である。分析はまた、ポリペプチド成分のアミノ酸配列の決定、および詳細な特性付けのためのポリペプチド成分の精製も含むことが可能である。

【0162】

多様な様式がディスプレイライブラリーに使用することが可能である。例には以下のものが含まれる。

ファージディスプレイ。1つの様式は、ウイルス、特にバクテリオファージを利用する。この様式は「ファージディスプレイ」と名付けられている。ポリペプチド成分は、典型的にはバクテリオファージコートタンパク質へ、共有結合で連結されている。結合は、コ

10

20

30

40

50

ートタンパク質へ融合されたポリペプチド成分をコードしている核酸の翻訳を生じる。結合は、可動性ペプチドリンカー、プロテアーゼ部位、または終止コドンの抑制の結果として取り込まれたアミノ酸を含むことが可能である。ファージディスプレイは、例えば、Ladnerら、米国特許第5,223,409号; Smith(1985) Science 228:1315-1317; WO 92/18619; WO 91/17271; WO 92/20791; WO 92/15679; WO 93/01288; WO 92/01047; WO 92/09690; WO 90/02809; de Haardら、(1999) J. Biol. Chem 274:18218-30; Hoogenboomら、(1998) Immunotechnology 4:1-20; Hoogenboomら、(2000) Immunol Today 2:371-8; Fuchsら、(1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hayら、(1992) Hum Antibod Hybridomas 3:81-85; Huseら、(1989) Science 246:1275-1281; Griffithsら、(1993) EMBO J 12:725-734; Hawkinsら、(1992) J Mol Biol 226:889-896; Clacksonら、(1991) Nature 352:624-628; Gramら、(1992) PNAS 89:3576-3580; Garrardら、(1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Rebarら、(1996) Methods Enzymol. 267:129-49; Hoogenboomら、(1991) Nuc Acid Res 19:4133-4137; および Barbassら、(1991) PNAS 88:7978-7982、に記載されている。

【0163】

ファージディスプレイシステムは、繊維状ファージ(ファージ f1、fd および M13) ならびに他のバクテリオファージ(例えば、T7バクテリオファージおよびラムダ字形ファージ: 例えば、Santini(1998) J. Mol. Biol. 282:125-135; Rosenberglら、(1996) Innovations 6:1-6; Houshmら、(1999) Anal Biochem 268:363-370を参照されたい) に対して開発されている。繊維状ファージディスプレイシステムは、典型的には、遺伝子IIIタンパク質のごとき副コートタンパク質、および遺伝子VIIITタンパク質(主コートタンパク質)への融合を使用するが、遺伝子VIITタンパク質、遺伝子VITタンパク質、遺伝子IXタンパク質またはそれらの断片のごとき他のコートタンパク質への融合もまた使用することが可能である(例えば、WO 00/71694を参照されたい)。好適な態様において、融合は遺伝子IIIタンパク質のドメイン、例えば、アンカードメインまたは「スタンプ(stump)」に対するものである(例えば、遺伝子IIIタンパク質アンカードメインの記述は米国特許第5,658,727号を参照されたい)。ポリペプチド成分の結合価はまた制御することが可能である。ポリペプチド成分をコードしている配列の、完全ファージゲノム内へのクローニングは、遺伝子IIIタンパク質のすべての複製がポリペプチド成分へ融合されるので、多価ディスプレイを生じる。結合価を減少させるには、ファージミドシステムを利用することが可能である。このシステムにおいて、遺伝子IIIへ融合されたポリペプチド成分をコードしている核酸は、プラスミド上に提供され、典型的には700ヌクレオチドより短い長さである。プラスミドは、プラスミドを運んでいる細菌細胞がヘルパーファージ(例えば、M13K01)で感染された場合にプラスミドがバクテリオファージ内へ取り込まれるように、複製のファージ起点を含んでいる。ヘルパーファージは、遺伝子IIIの無傷のコピーおよびファージ複製および組み立てに必要なとされる他のファージ遺伝子を提供する。ヘルパーファージは、野生型起点を有するプラスミドと比較して、ファージ粒子内へヘルパーファージゲノムが効率よく取り込まれないように、欠陥のある起点を有している。

【0164】

ポリペプチド成分を表示しているバクテリオファージは、増殖することが可能であり、そして標準ファージ準備法(例えば、増殖培地からのPEG沈殿)を使用して採取するこ

とが可能である。

【0165】

個々のディスプレイファージの選択後、選択されたファージを使用して細胞を感染させることにより、選択されたポリペプチド成分をコードしている核酸を増幅する。個々のコロニーまたはプラークを選び取ることが可能であり、核酸を単離しおよび配列決定する。

【0166】

細胞に基づいたディスプレイライブラリー

さらに別の様式においては、ライブラリーは細胞ディスプレイライブラリーである。

タンパク質は細胞、例えば、真核生物または原核生物細胞の表面上に示されている。原核生物細胞の例には大腸菌細胞、B. サブチリス細胞、胞子が含まれる（例えば、Luら、(1995) *Biotechnology* 13:366を参照されたい）。真核生物細胞の例には酵母（例えば、サッカロミセス セレビジエ、シゾサッカロミセス (*Schizosaccharomyces*) ポムベ、ハンゼヌラ (*Hansenula*)、またはピキア パストリス (*Pichia pastoris*)）が含まれる。酵母表面ディスプレイは、例えば、BoderおよびWittrup (1997) *Nat. Biotechnol.* 15:553-557、およびWO 03/029,456に記載されている。この出願は、Fab断片のごとき免疫グロブリンタンパク質を示すために使用できる酵母ディスプレイシステム、および重および軽鎖の組み合わせを発生させるための接合の使用を記載している。

【0167】

1つの態様において、斑入り (*variegate*) 核酸配列が、酵母ディスプレイのためのベクター内へクローン化される。クローニングは、斑入り核酸と、酵母細胞表面タンパク質のドメイン（または完全）、例えば、Aga2、Aga1、Flo1またはGas1をつなぎ合わせる。これらのタンパク質のドメインは、斑入り核酸配列により、膜貫通ドメイン（例えば、Flo1）により、またはリン脂質2重層への共有結合により（例えば、Gas1）、コードされたポリペプチドを繋ぎ止めることが可能である。ベクターは、鎖の1つが酵母細胞表面タンパク質に連結されるように、細胞表面上の2つのポリペプチド鎖を発現させるために形成することが可能である。例えば、2つの鎖は免疫グロブリン鎖であろう。

【0168】

リボソームディスプレイ。RNAおよびRNAによりコードされているポリペプチドは、RNAを翻訳している、および新生ポリペプチドがまだ付着している安定化リボソームにより物理的に会合することが可能である。典型的には高い2価Mg²⁺濃度および低温を使用する。例えば、Matthealdsら、(1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:9022およびHanesら、(2000) *Nat. Biotechnol.* 18:1287-92; Hanesら、(2000) *Methods Enzymol.* 328:404-30およびSchaffitzelら、(1999) *J. Immunol. Methods.* 231(1-2):119-35、を参照されたい。

【0169】

ペプチド-核酸融合。別の様式はペプチド-核酸融合を利用する。ポリペプチド-核酸融合物は、例えば、RobertsおよびSzostak (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:12297-12302および米国特許第6,207,446号、に記載されているように、共有結合で付着されたピューロマイシン基を含むmRNAのインビトロ翻訳により発生させることが可能である。mRNAは次ぎにDNAへ逆転写され、そしてポリペプチドへ架橋される。

【0170】

他のディスプレイ様式。さらに別の様式は、ポリペプチド成分が、ポリペプチドを同定する非核酸タグへ付着された、非生物学的ディスプレイである。例えば、タグは、ポリペプチドを示すビーズへ付着された化学的タグ、または高周波タグであることが可能である

10

20

30

40

50

(例えば、米国特許第5,874,214号を参照されたい)。

【0171】

足場 (scaffold)。ディスプレイのための足場は以下のものを含むことが可能である：抗体 (例えば、Fab断片、単鎖Fv分子 (scFv)、単ドメイン抗体、ラクダ抗体、およびラクダ化抗体)；T細胞レセプター；MHCタンパク質；細胞外ドメイン (例えば、フィブロネクチンタイプIIリピート、EGFリピート)；プロテアーゼ阻害剤 (例えば、クニッツ (Kunitz)ドメイン、エコチン、BPTIなど)；TPRリピート；トリフォイル (trifoil)構造；ジンクフィンガードメイン；DNA結合タンパク質；特に単量体DNA結合タンパク質；RNA結合タンパク質；酵素、例えば、プロテアーゼ (特に不活性化プロテアーゼ)、RNase；シャペロン、例えば、チオレドキシンおよび熱ショックタンパク質；および細胞内シグナル伝達ドメイン (SH2およびSH3ドメインのごとき)。

10

【0172】

足場材料ドメインの別の有用な型は免疫グロブリン (Ig)ドメインである。ディスプレイのために免疫グロブリンドメインを使用する方法も既知である (例えば、Haardら、(1999)J. Biol. Chem. 274:18218-30；Hoogenboomら、(1998)Immunotechnology 4:1-20およびHoogenboomら、(2000)Immunol Today 21:371-8、を参照されたい)。

【0173】

合成ペプチド。結合リガンドは、合成リガンド (例えば、30アミノ酸またはそれ未満の人工ペプチド)を含むことが可能である。合成ペプチドは、1つ以上のジスルフィド結合を含むことが可能である。別の合成ペプチド、いわゆる「直線状ペプチド」は、システインが欠けている。合成ペプチドは、溶液中では構造をほとんどまたは全く有しておらず (例えば、未構造化)、不均一構造 (例えば、別のコンホメーションまたは「ゆるく」構造化された)、またはまれな (singular)天然構造 (例えば、協同的に折り畳まれた)を有していてもよい。いくつかの合成ペプチドは、標的分子に結合した場合、特定の構造を採用する。いくつかの合成ペプチドの例は、いわゆる「環状ペプチド」であり、それは少なくともジスルフィド結合、そして、例えば、約4から12の非システイン残基のループを有している。

20

30

【0174】

分子標的に結合するペプチド配列は、ファージディスプレイライブラリーから選択する。同定後、そのようなペプチドは、合成的にまたは組換え法により製造することが可能である。配列は、より長い配列内へ取り込むことが (例えば、挿入されて、付け加えて、または付着させて)可能である。

結合ペプチドを同定するためのファージディスプレイライブラリーの例

組換えファージまたは他の遺伝子パッケージ (細菌、酵母、その他の宿主細胞)の表面上に、斑入り異種ペプチドを示しているディスプレイライブラリーは、当該分野で知られている、いくつかの任意の方法で調製することができる。例えば、Kayら、Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual (Academic Press, Inc., サンディエゴ 1996)および米国特許第5,223,409号 (Ladnerら)、を参照されたい。

40

【0175】

下記のもの、本明細書に記載した、少なくともいくつかのポリペプチドリガンドを発見するためにスクリーニングすることが可能である、ファージライブラリーの6つの例である。各々のディスプレイは、M13の表面上に、短い、斑入りの外来性ペプチドを示している。ライブラリーの5つのペプチドディスプレイは、システイン残基が隣接した、各々4、5、6、7、8または10アミノ酸のセグメントを有する親ドメインに基づいていた。システインの対は、安定なジスルフィド結合を形成し、環状ディスプレイライブラリ

50

ーを生じていると信じられる。環状ペプチドは、ファージ表面上のタンパク質 I I I のアミノ末端に示されている。ライブラリーは T N 6 / 6、T N 8 / 9、T N 9 / 4、T N 10 / 9 および T N 12 / 1 と名付けられた。20 アミノ酸直線状ディスプレイを有するファージライブラリーもまたスクリーニングした：このライブラリーは L i n 20 と名付けられた。

【0176】

T N 6 / 6 ライブラリーは、12 アミノ酸斑入り鑄型に含まれている単一環状ペプチドを示すために構築した。T N 6 / 6 ライブラリーは、 $X a a_1 - X a a_2 - X a a_3 - C y s_4 - X a a_5 - X a a_6 - X a a_7 - X a a_8 - C y s_9 - X a a_{10} - X a a_{11} - X a a_{12}$ (配列番号 21) (式中、鑄型のアミノ酸配列中の各々の可変アミノ酸位は添字整数により示されている) の鑄型配列を利用した。鑄型中の各々の可変アミノ酸位 (X a a) は、以下の置換を許容するために、独立して変化させた：残基 $X a a_1$ および $X a a_{12}$ は、任意の以下の 14 アミノ酸を含むように変化させた：A l a、A s p、P h e、G l y、H i s、L e u、A s n、P r o、G l n、A r g、S e r、V a l、T r p および T y r；および残基 $X a a_2$ 、 $X a a_3$ 、 $X a a_5$ 、 $X a a_6$ 、 $X a a_7$ 、 $X a a_8$ 、 $X a a_{10}$ および $X a a_{11}$ は、システイン (C y s) を除く任意の通常のアミノ酸を含むように独立して変化させた。潜在的設計配列の数は 3.3×10^{12} であり； 2.0×10^8 の独立した形質転換体がライブラリー中に含まれていた。

【0177】

T N 8 / 9 ライブラリーは、14 アミノ酸鑄型に含まれている単一結合ループを示すために構築した。T N 8 / 9 ライブラリーは、 $X a a_1 - X a a_2 - X a a_3 - C y s - X a a_5 - X a a_6 - X a a_7 - X a a_8 - X a a_9 - X a a_{10} - C y s - X a a_{12} - X a a_{13} - X a a_{14}$ (配列番号 25) の鑄型配列を利用した。鑄型中のアミノ酸位 1、2、3、5、6、7、8、9、10、12、13 および 14 は、システイン (C y s) を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。

【0178】

T N 9 / 4 ライブラリーは、15 アミノ酸鑄型に含まれている単一結合ループを示すために構築した。T N 9 / 4 ライブラリーは鑄型配列、 $X a a_1 - X a a_2 - X a a_3 - C y s - X a a_5 - X a a_6 - X a a_7 - X a a_8 - X a a_9 - X a a_{10} - X a a_{11} - C y s - X a a_{13} - X a a_{14} - X a a_{15}$ (配列番号 424) を利用した。鑄型中のアミノ酸位 1、2、3、5、6、7、8、9、10、11、13、14 および 15 は、システイン (C y s) を除く任意のアミノ酸を許容するように変化させた。

【0179】

T N 10 / 9 ライブラリーは、16 アミノ酸斑入り鑄型に含まれている単一環状ペプチドを示すために構築した。T N 10 / 9 ライブラリーは鑄型配列、 $X a a_1 - X a a_2 - X a a_3 - C y s_4 - X a a_5 - X a a_6 - X a a_7 - X a a_8 - X a a_9 - X a a_{10} - X a a_{11} - X a a_{12} - C y s_{13} - X a a_{14} - X a a_{15} - X a a_{16}$ (配列番号 22) (式中、鑄型のアミノ酸配列中の各々の可変アミノ酸位は添字整数により示されている) を利用した。鑄型中の各々の可変アミノ酸位 (X a a) は、以下の置換を許容するために、独立して変化させた。鑄型のアミノ酸位 $X a a_1$ 、 $X a a_2$ 、 $X a a_{15}$ および $X a a_{16}$ は、A s p、P h e、H i s、L e u、A s n、P r o、A r g、S e r、T r p および T y r から成る 10 アミノ酸の群から選択された各々のアミノ酸を許容するように、独立して変化させた；鑄型中のアミノ酸位 $X a a_3$ および $X a a_{14}$ のアミノ酸は、A l a、A s p、G l u、P h e、G l y、H i s、L e u、A s n、P r o、A r g、S e r、V a l、T r p および T y r から成る 14 アミノ酸の群から選択された各々のアミノ酸を許容するように、独立して変化させた；アミノ酸位 $X a a_5$ 、 $X a a_6$ 、 $X a a_7$ 、 $X a a_8$ 、 $X a a_9$ 、 $X a a_{10}$ 、 $X a a_{11}$ および $X a a_{12}$ (即ち、鑄型中の 4 および 13 位の不変システイン残基間) のアミノ酸は、システイン (C y s) を除く通常のアミノ酸の各々を許容するように、独立して変化させた。潜在的設計配列の数は 3.0×10^{16} であり；約 2.5×10^8 の独立した形質転換体がライブラリー中に含まれていた。

【0180】

TN12 / 1ライブラリーは、18アミノ酸鑄型に含まれている単一環状ペプチドを示すために構築した。TN12 / 1ライブラリーは鑄型配列、Xaa₁ - Xaa₂ - Xaa₃ - Cys₄ - Xaa₅ - Xaa₆ - Xaa₇ - Xaa₈ - Xaa₉ - Xaa₁₀ - Xaa₁₁ - Xaa₁₂ - Xaa₁₃ - Xaa₁₄ - Cys₁₅ - Xaa₁₆ - Xaa₁₇ - Xaa₁₈ (配列番号23) (式中、鑄型のアミノ酸配列中の各々の可変アミノ酸位は添字整数により示されている) を利用した。鑄型中のアミノ酸位Xaa₁、Xaa₂、Xaa₁₇およびXaa₁₈は、Ala、Asp、Phe、Gly、His、Leu、Asn、Pro、Arg、Ser、Trp およびTyrから成る12アミノ酸の群から選択された各々のアミノ酸を許容するように、独立して変化させた。鑄型のアミノ酸位Xaa₃、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈、Xaa₉、Xaa₁₀、Xaa₁₁、Xaa₁₂、Xaa₁₃、Xaa₁₄、Xaa₁₆は、システインを除く通常の - アミノ酸の各々を許容するように、独立して変化させた。

10

【0181】

Lin20ライブラリーは、20アミノ酸鑄中の単一直線状ペプチドを示すために構築した。鑄型中の各々の位でのアミノ酸は、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。

【0182】

Kayら、Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual (Academic Press, Inc., 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、選択された親鑄型に対応する潜在的結合剤のライブラリーを調製するために有用である。上に記載したライブラリーは、そのような技術に従って調製することが可能であり、固体表面上に固定された、または溶液中で自由な、血清タンパク質に対する結合ペプチドをスクリーニングした。

20

血清タンパク質結合ペプチドのためのファージディスプレイライブラリーのスクリーニング

典型的スクリーニングにおいては、ファージライブラリーを標的化合物(例えば、目的の血清タンパク質)またはその特定の断片または副成分と接触させ、そして結合させる。スクリーニング過程において、結合剤および非結合剤の分離を容易にするため、標的化合物を固体支持体上に固定化することがしばしば都合がよいが、しかしながら、最初に溶液中で標的化合物と結合することを許容し、次に、標的化合物の支持体へのカップリングにより、非結合剤から結合剤を隔離することも可能である。実例として、標的の存在下でインキュベートした場合、標的結合部分を運んでいるファージは、固体支持体上に固定化された標的化合物と複合体を形成するが、一方、非結合ファージは溶液中に残存し、そして緩衝液で洗い流すことができる。結合されたファージは次に、緩衝液を比較的高い酸性または塩基性pH(例えば、pH2または10)へ変更する、緩衝液のイオン強度を変更する、変性剤を添加する、または既知の他の手段のごとき、多くの手段により、標的から遊離させることができる。

30

【0183】

例えば、HSA結合リガンドを同定するためには、HSAを、マルチウェルアッセイプレート中のウェルのプラスチック表面のごとき固体表面に吸着でき(例えば、受動的固定化により)、次に、pH6-7のごとき、固定化されたHSAおよびファージの構造を維持する適切な条件下で、ウェルへファージディスプレイライブラリーの一部を加えた。固定化HSAを結合するペプチドループ構造を示すライブラリー中のファージは、ウェルの表面へ接着しているHSAへ結合されて維持され、そして非結合ファージは除去することが可能である。固定化HSAへ結合されたファージは次に、比較的高い酸性pH(例えば、pH2)、またはアルカリ性pH(例えば、pH8-9)を有している緩衝溶液で洗浄することにより溶出することができる。HSAから溶出された、回収されたファージの溶液は次に、もし望むなら、血清アルブミン結合ペプチドを示しているファージの濃縮混合ライブラリー集団としてプールしてもよい。もしくは、各々のライブラリーからの

40

50

溶出されたファージは、H S A 結合剤のライブラリー - 特異的濃縮集団として別々に保存することもできる。血清アルブミン結合ペプチドを示しているファージの濃縮集団は次に、さらなるラウンドのスクリーニングのために、および/またはファージ上に示されたペプチド分析のために、および/または示された結合ペプチドをコードしている D N A の配列決定のために、標準法により増殖させることもできる。

【 0 1 8 4 】

多くの可能な代替スクリーニングプロトコルの1つは、ビオチニル化された H S A 標的分子を使用しており、それは例えば、粒子上に被覆されたストレプトアビジンへの結合により捕捉することが可能である。下記の実施例に記載されているように、温度 - 誘発変性およびタンパク分解性攻撃に対して H S A を安定化することが知られている、0 . 1 % トゥーン 2 0 非イオン性界面活性剤およびまた 0 . 1 % カプリル酸ナトリウムを補給したリン酸緩衝食塩水 (P B S) の p H 7 . 4 の溶液中で、H S A 結合ペプチドを示しているファージがカプリル酸 - ビオチニル化 - H S A へ結合されるようなプロトコルにおいて、H S A 結合ペプチドを示しているファージをライブラリーから選択した。溶液中のカプリル酸 - ビオチニル化 - H S A 複合体は次に、ストレプトアビジン - 被覆磁気ビーズ上に捕捉した。ファージは続いて、さらなる研究のため、ビーズから溶出した。

10

【 0 1 8 5 】

回収されたファージは次に、細菌細胞の感染により増幅することができ、そして、非 H S A 結合剤が枯渇され、および H S A 結合剤が濃縮されている、新しいファージの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できる。ほんの少しの結合ファージの回収でも、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、通常の方法により決定し、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。選択の各々のラウンド後に回収されたファージ数の増加、および密接に 관련된配列の回収は、所望の特性を有しているライブラリーの配列へ、スクリーニングが収束していることを示している。

20

【 0 1 8 6 】

結合ポリペプチドの組が同定された後、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次ライブラリーを設計するために使用することができる。

30

【 0 1 8 7 】

ディスプレイ技術はまた、標的の特定のエピトープへ結合するリガンド (例えば、抗体リガンドまたはペプチドリガンド) を得るために使用することが可能である。このことは、例えば、特定のエピトープを欠く、またはエピトープ内が変異されている (例えば、アラニンで)、競合的非標的分子を使用することにより行うことが可能である。こういう非標的分子は、以下に説明するようなネガティブ選択法において、例えば、標的に特異的ではないディスプレイライブラリーメンバーを、解離している洗浄溶液中で捕捉するため、ディスプレイライブラリーを標的に結合させる時の競合分子として、または前溶出剤として使用できる。

【 0 1 8 8 】

血清タンパク質を結合するリガンドの結合特質は、多様なアッセイ様式を使用して容易に評価することが可能である。例えば、リガンドの結合特質は、1つ以上の種からの血清アルブミンに対する、結合部分の解離定数 (K_D) を決定するための便利でおよび正確な方法を提供する、蛍光異方性により、溶液中で測定することが可能である。1つのこういう手法においては、本明細書に記載した結合部分を、フルオレセインで標識する。フルオレセイン標識結合部分は次に、マルチウェルアッセイプレートのウェル中で、多様な濃度の血清アルブミンの特定の種と混合する。次に蛍光異方性測定を、蛍光偏光プレートリーダーを使用して実施する。血清タンパク質および非共有結合で会合された化合物間の結合相互作用は、同様に特性付けすることが可能である。結合特質を研究するための他の溶液測定には、蛍光共鳴エネルギー転移 (F R E T) および N M R が含まれる。

40

50

【0189】

結合特質はまた、1つの結合相手が固定化されている方法を使用して特性付けることも可能である。こういう方法には、ELISAおよび表面プラズモン共鳴が含まれる。

血清結合タンパク質リガンド変異体

本明細書に記載されている、または本明細書に記載されている方法により単離された、血清結合タンパク質リガンドの変異体を使用することも可能である。多数の変異体が可能である。変異体は調製することが可能で、そして次ぎに、例えば、上記の結合アッセイ（蛍光異方性のような）を使用して試験することが可能である。もし変異体が機能するならば、血清タンパク質および会合された化合物を単離するための親和性試薬として使用することが可能である。

10

【0190】

変異体の1つの型は、本明細書に記載されている、または本明細書に記載されている方法により単離された、リガンドの切り詰め体である。この例において、変異体は、NまたはC末端から除去可能な、リガンドの1つ以上のアミノ酸残基を除去することにより調製する。いくつかの場合において、一連のそのような変異体を調製し、試験した。一連の変異体を試験した情報は、血清タンパク質を結合するために必須であるリガンドの領域を決定するために使用した。一連の内部欠失または挿入が、同様に構築でき、そして試験することが可能である。

【0191】

変異体の別の型は置換である。1つの例において、結合活性に寄与する残基を同定するため、リガンドをアラニンスキャンニングにかけた。別の例において、1つ以上の位置での置換のライブラリーを構築した。ライブラリーは偏ってはならず、特にもし多数の位置が変化されていれば、本来の残基に向かって偏らせることができる。

20

【0192】

変異体の関連した型は、1つ以上の天然には存在しないアミノ酸を含むリガンドである。こういう変異体リガンドは、化学合成により製造することが可能である。1つ以上の位置を天然には存在しないアミノ酸で置換することが可能である。いくつかの場合において、置換されたアミノ酸は本来の天然に存在する残基に化学的に関連させることができ（例えば、脂肪族、荷電、塩基性、酸性、芳香族、親水性）、または本来の残基のアイソスター（*isostere*）であることができる。

30

【0193】

また、非ペプチド結合および他の化学修飾を含むようにすることも可能である。例えば、リガンドの一部または全部を、ペプチド模倣体、例えば、ペプトイド（例えば、Simonら、(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:9367-71およびHorwell(1995) Trends Biotechnol. 13:132-4、を参照されたい）として合成することもできる。

【0194】

例えば、血清アルブミン結合リガンド（DX-321、DX-321-A、DX-321-B、DX-36、DX-236-AおよびDX-236Bのごとき）および免疫グロブリン結合リガンド（DX249、DX249-A、DX253、DX-253-1、DX398およびDX398-Aのごとき）の変異体を使用することが可能である。

40

ヒト血清タンパク質の配列

ヒト血清タンパク質のアミノ酸配列はよく知られており、公共配列貯蔵所、例えば、GenBank（国立バイオテクノロジー情報センター、国立保健研究所、ベセスダ、MD）で見ることが可能である。さらに、ヒト集団において、天然遺伝子変異が、個体の中の血清タンパク質間のアミノ酸相違を生じさせることが可能である。

【0195】

下記の配列は、特定の個体からの、少なくともいくつかのヒト血清タンパク質アミノ酸配列の例である。

多くの個体において、HSAは、SwissProtエントリー：P02768および

50

／または成熟後、に掲げられたアミノ酸配列を有している。

【0196】

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDH
 VKLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVAT
 LRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNLPRLVRPE
 VDVMCTAFHDNEETF LKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAK
 RYKAAFTTECCQAADKAA CLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK
 CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT
 KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLECC
 EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNY 10
 AEAKDVF LGMFLYEYARRHPDY SVVLLRLAKTYETTLEK
 CCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFELG
 EYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCK
 HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE
 SLVNRPRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEK
 ERQIKKQTA LVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC
 KADDKETCF AE EGKKLVAASQAALGL (配列番号26)。

【0197】

ヒト血清アルブミン変異体の例には、H27Q、H27Y、E106K、R122S、
 E378K、E400KおよびE529K (プロセシングされていない配列を使用して番
 号付けた、ここにおいて、配列番号26の最初のDは、プロセシングされていない配列の
 残基25に対応している)が含まれる。 20

自動化された方法および情報管理

血清タンパク質分析プラットフォームの任意のおよび全ての様相は、自動化することが可能である。自動化は、例えば、多数の異なる試料を自動的に処理するために使用することが可能である。液体取り扱いユニットは、試料から血清タンパク質で会合された化合物を単離するために使用することが可能であり、そして単離された化合物を、電気泳動および／または質量分析法のごとき分析法に自動的にかけることが可能である。

【0198】

機器。多様なロボットの装置を自動化プロセスにおいて用いることが可能である。これ
 らには、マルチウェルプレート運搬システム、磁気ビーズ粒子プロセッサ、および液体
 取り扱いユニットが含まれる。これらの装置は、注文設計書で組み上げるか、またはA u
 t o g e n (フラミンガム MA)、Beckman Coulter (USA)、Bi
 o r o b o t i c s (ウォバーン MA)、Genetix (ニューミルトン、ハンブシ
 ャー UK)、Hamilton (リーノー NV)、Hudson (スプリングフィー
 ルド NJ)、Labsystems (ヘルシンキ、フィンランド)、Packard
 B i o s c i e n c e (メリデン CT)およびTecan (マンドルフ、スイス)のよ
 うな商業的供給元から購入することが可能である。 30

【0199】

情報管理。プラットフォームにより発生した情報は、コンピューターデータベースに保
 存することが可能である (例えば、デジタルの形で)。血清タンパク質に会合された化合
 物の特性付けを記載した情報を含んでいる情報は、中央データベースに保存する。例えば
 、データベースは、会合された化合物の特質 (例えば、タンパク質配列、化学構造、存在
 量、修飾状態その他)を記載している情報、および試料 (例えば、その起源の同一性、日
 付、処理法、病理学、処置その他)を記載している情報、を含むことが可能である。情報
 のこれらの項目は、お互いに関連付けることが可能である。例えば、特定の状態 (例えば
 、特定の疾患または処置)についてのクエリー (query)は、その状態で観察された
 会合された化合物の特質を同定するために使用することが可能である。同様に、1つ以上
 の会合された化合物の特定の特質は、その特質が優勢である状態を同定するためのクエリ
 ーとして使用することが可能である。 40

【0200】

データベースはまた、プロフィール、例えば、特定の状態における試料からの、多数の会合された化合物の記述、を含むことも可能である。プロフィールを比較するため、例えば、プロフィールの収集物との比較により既定の試料を評価するため、ソフトウェアを使用することが可能である。1つ以上の同様のプロフィールは、試料についての情報を推論するために使用することが可能である（例えば、診断を行うため）。

【0201】

データベースサーバーもまた、装置が解釈可能であるコマンドおよび他の信号を使用し、各々の装置と通信するように形づくることも可能である。システムのコンピューターに基づいた様相は、デジタル電気回路において、またはコンピューターハードウェア、ファームウェア、ソフトウェアまたはその組み合わせにおいて、実行することが可能である。本発明の機器、例えば、データベースサーバーは、プログラム可能なプロセッサにより実行するため、機械が読み取り可能な記憶装置内に具体的に組み入れられた、コンピュータープログラム製品において実行することが可能である；そして、インプットデータおよび発生しているアウトプットに影響を及ぼすことにより、本明細書に記載された機能を実行するために、命令のプログラムを実行しているプログラム可能なプロセッサにより、測定行為を実行することが可能である。実行環境の1つの非制限的例には、ウィンドウNT4.0またはそれ以降（Microsoft）、またはソラリス2.6またはそれ以降（Sun Microsystems）のオペレーションシステムが走っているコンピューターが含まれる。

10

20

【0202】

データベースサーバーはまた、ネットワーク（例えば、イントラネットまたはインターネット）とインターフェースで連結することも可能である。サーバーは遠隔システムからクエリーを受け、要求しているシステムへ情報（例えば、血清タンパク質に会合された化合物のプロフィールについての）を送ることが可能である。

【0203】

クエリーに対する既定の許容に匹敵する記録を同定するため、クエリーは、データベースをフィルターするために使用することが可能である。例えば、質量分光法ピークの組は、クエリーを定式化するために使用することが可能である。フィルターは、クエリー中に存在する、1つ以上の（例えば、全部の）ピークを含む記録を探し当てる（および任意に示す）ことができる。

30

NHS-セファロース（Sephacrose）樹脂上でのペプチド固定化

固定化ペプチドを有しているマトリックスを製造するための1つの方法は以下のものである。

【0204】

5マイクロモルの各々のペプチドを、最少量のDMSOに溶解し、次に、ジメチルスルホキシド（DMSO）で1度洗浄されている、1mlのNHS-セファロースアフィニティークロマトグラフィー樹脂（Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, ニュージャージー）へ添加した。固定化反応は、2%（容量/容量）までジイソプロピルエチルアミンを添加することにより開始した。室温において、振盪台上で4時間ゆっくりと混合した後、等量の0.5Mヒドロキシルアミン水溶液、pH8, を添加することにより反応をクエンチさせた。ivDde保護内部リジンを含むペプチドに対しては、ヒドロキシルアミンクエンチ処理はまた、ivDde保護基を除去する。完全な保護基除去を行うため、クエンチした反応液を室温で、1夜インキュベートした。クエンチし、および脱保護したら、溶媒および非結合ペプチドを除去するため、固定化されたペプチド-セファロース樹脂を少なくとも3回、水で洗浄した。非特異的に結合されているペプチドは、30mMリン酸、pH2、中で、少なくとも3回樹脂を洗浄することにより、樹脂から溶出させた。加水分解後はNHS-セファロース樹脂表面が陰性に荷電されるようになるため、酸性洗浄液が表面を中和し、そして静電的相互作用を経て、表面に非共有結合的に結合されているペプチドを除去する。洗浄後、樹脂を50% v/v混

40

50

合物として水に再懸濁した。50 μ l の分割量を、定量的アミノ酸分析で樹脂上のリガンド密度の決定するために使用した。最後に、分析試験のため、樹脂スラリーを0.35 ml の OMNIFITTM ガラスカラム (3 mm \times 50 mm) へ充填した。

【0205】

より大きな分取用カラムのためには、ペプチドおよびセファロースの量を比例してスケールアップし、そして最終ペプチドセファロースバッチをより大きなOmniFitカラム (直径10 mm) へ充填した。

【実施例1】

【0206】

血清からのHSAの精製

ヒト血清試料を、ペプチドリガンドDX-236およびDX-321を含んだHSA-結合ペプチドマトリックスと接触させた。マトリックスをPBSでよく洗浄し、そして塩基性溶液、100 mM トリス、pH 9.1、で溶出した。溶出された物質は、迅速に緩衝液で中和した。この物質の一定分量を分析した。図1は、この物質を分離した2-Dゲルである。

【0207】

この物質の別の一定分量を、活性化マレイミドを含む、クロマトグラフィー樹脂へ接触させた。樹脂と反応しない分画は、pH 9.1での溶出の間に、HSAから解離した化合物を含むことができる。マレイミドはHSA上の遊離システインと反応し、そして樹脂にHSAを共有結合で結合する。樹脂を変性剤 (例えば、8 M 尿素) で処理し、そして溶出液を集め、分析した。

【0208】

特に、溶出液は、pIおよび見掛けの分子量による2-D電気泳動により、分離することが可能である。2-Dゲルを染色し、個々のタンパク質染色スポットを切り出し、プロテアーゼで消化し、そしてMALDI-MSで分析した。各々のスポットの分析は、データベースに保存した。

【実施例2】

【0209】

血清からのHSAの精製

HSAを、分取用DX-236-セファロースカラム (10 ml、0.3 μ mol/ml) を使用して、血液血清から精製した。カラムおよび血清試料の両方を、3 mM リン酸ナトリウム、20 mM NaCl、0.1% トウイン-20、pH 6.2、で交換した。カラムへの非特異的タンパク質結合を最少にするため、結合緩衝液に20 mM NaClを加えた。100 μ l の分割量 (約5 mg HSA) を、前もって透析に使用したのと同じの緩衝液で平衡化したDX-236-セファロースカラムへ加えた。20から44 mMの間の塩濃度勾配を行い、HSAを100 mM トリス、pH 9.1、で溶出した。精製プロセスの結果が表3に示されている。

【0210】

【表3】

表3. DX-236セファロースアフィニティーカラムを使用したHSAの精製

分画	μ g HSA	%初期量
初期添加	4805	100
フロースルー	565	12
洗浄/濃度勾配	88	1.8
溶出	4003	83
総計	4656	96.8

【0211】

表 6 に示されているように、0.1 ml 血清注入 (総計 ~ 5 mg H S A) でカラムは本質的に全ての H S A を結合し、100 mM トリス、p H 9.1、洗浄で本質的に全ての結合された H S A を放出した (表 6)。

【実施例 3】

【0212】

H S A - 結合マトリックス

D X - 232、D X - 236 および D X - 321 結合ペプチドをアフィニティークロマトグラフィー展開に使用した。各々のペプチドは、前に概説した方法を使用して、N H S - セファロース樹脂上に高密度で固定化した。ペプチドは C 末端リジンを経て固定化した。定量的アミノ酸分析により決定されたごとく、D X - 321 - セファロース、D X - 236 - セファロースおよび D X - 232 - セファロースカラムのリガンド密度は、各々、3.2、0.8 および 2.4 μ モル/ml であった。各々のカラムは、結合緩衝液 (3 mM リン酸ナトリウム、0.1% トウイン - 20 界面活性剤、p H 6.2) 中で、H S A 結合 (1 mg 注入) を試験した。ペプチドのいくつかは、p H を 9.1 へ増加させると、 K_D の鋭い増加を示したので、100 mM トリス、p H 9.1、緩衝液を、これらのカラムから H S A を溶出させるために使用することが可能である。

10

【0213】

分析用アフィニティークラム試験のため、アルブミンを 1 mg/ml の濃度で、3 mM リン酸ナトリウム、p H 6.2、0.1% トウイン - 20 非イオン性界面活性剤 (平衡化緩衝液) に溶解した。1 ミリリットルのアルブミン溶液を、前もって平衡化緩衝液で平衡化した、各々のカラム (0.35 ml) を通過させた。カラムを同一の平衡化緩衝液で洗浄し、次に 100 mM トリス、p H 9.1、で溶出した (全ての工程に対し、流速、0.5 ml/分)。カラムクロマトグラフィーは、この試験を通じて B I O - R A D B I O L O G I C TM モニタリングシステム (ヘルキュレス , C A) を使用して実施し、280 nm での吸光度モニタリングを行った。

20

【0214】

分取用 D X - 236 - セファロースアフィニティークラム (10 ml) 試験のためには、ヒト血清を 3 mM リン酸ナトリウム、p H 6.2、20 mM N a C l、0.01% トウイン - 20 非イオン性界面活性剤 (平衡化緩衝液)、に対して透析した。100 マイクロリットル (100 μ l) の透析血清を、前もって緩衝液で平衡化した分取用 D X - 236 - セファロースクロマトグラフィーカラムへ注入した。カラムを同一の緩衝液、続いて 20 から 44 mM N a C l の間の濃度勾配で洗浄し、そして最後に 100 mM トリス、p H 9.1、で H S A を溶出した。全ての工程に対し、流速は 0.5 ml/分であった。

30

【0215】

各々のカラムは、最初の H S A 結合試験において異なって機能した。可溶性 D X - 232 は H S A を最も高い親和性で結合するが、セファロースカラムへ固定化された D X - 232 は検出可能な H S A を捕捉しなかった。一方、D X - 236 - セファロースは最良の実行者 (p e r f o r m e r) であり、全 1 mg 注入を定量的に結合した (全収容力 2.7 mg/ml) (下記表 4 を参照されたい)。

40

【0216】

【表 4】

表4. HSAフィニティーカラムの分析

アフィニティーカラム 中のペプチド	分画	μg HSA	%初期添加量	総収容力
DX-321	フロースルー	554	55.4	
	溶出	370	37.0	>1.1 mg/ml
DX-236	フロースルー	0	0	
	溶出	947	94.7	≥ 2.7 mg/ml

10

【0217】

より高いHSA添加では、同じDX-236カラムは、少なくとも4mgのHSAを結合することが可能であり、それは11mg/mlより高い全収容力に相当した。DX-321-セファロースは中間の実行者であり、全物質の分画を結合した(全収容力 1.1 mg/ml)。トリス溶出緩衝液は、DX-236-およびDX-321-セファロースカラムの両方から、全ての結合されたHSAを溶出した。

【実施例 4】

【0218】

単離されたHSA結合剤の種特異性

HSA以外の他のアルブミンに対するDX-236およびDX-321の結合特異性を試験するため、3mMリン酸ナトリウム、pH6.2、中およびPBS(10mMリン酸ナトリウム、140mM NaCl、pH7.4)中の両方で、一団の哺乳動物アルブミンに対するその解離定数(K_D)を決定した。結果は表5に示されている。

20

【0219】

【表 5】

表5. アフィニティーカラムに対する種特異性データ

種	pI	ヒトに対する %同一性	DX-236 リン酸 pH 6.2, 0 M NaCl	DX-236 PBS, pH 7.4, 0.14 M NaCl	DX-321 リン酸 pH 6.2, 0 M NaCl	DX-321 PBS, pH 7.4, 0.14 M NaCl
			K_D (μM)	K_D (μM)	K_D (μM)	K_D (μM)
ヒト	5.67	100	1.9	11.0	0.9	84
アカゲザル	5.67	93.2	1.1	23	38	82
ウシ	5.60	75.6	1.1	13.3	21	>200
ヤギ	N.D.	N.D.	1.6	23	95	83
ブタ	5.75	75.0	0.5	12	21	>200
ウサギ	5.65	75.0	0.5	18	32	>200
ラット	5.80	73.2	1.6	25	23	117
マウス	5.53	72.0	5.5	32	>200	>200
ニワトリ (卵)	5.19	N.D.	>200	>200	>200	>200

30

N. D. = 決定されていない

【0220】

3mMリン酸ナトリウム、pH6.2緩衝液において、標識DX-236は、マウス血清アルブミン(MSA)を除いて、試験された全てのアルブミンに対して高い親和性で結合した。PBSにおいては、同じ親和性傾向がDX-236で現れたが、ただし、全ての K_D 値は、低塩、pH6.2条件よりも高かった。

【0221】

50

標識DX-321は、各々の哺乳動物アルブミンを、低塩、pH6.2緩衝液中でのHSAと比較してかなり高い K_D で結合した。特に、MSAは、DX-321をマイクロモル以下の K_D で結合するHSAと比較して、200 μ Mより大きな K_D でDX-321を結合した。全ての他の非ヒトアルブミンもまた、DX-321へ弱く結合し、HSAよりも少なくとも10倍より大きな K_D 値を有していた。PBAにおいては、しかしながら、HSAおよび他のアルブミン間の、DX-321親和性の相違は、pH6.2の結果と比較すると、明白さが減少した。陰性対照として、各々のペプチド(DX-236およびDX-321)はまた、両方の組の緩衝液中で、ニワトリ卵白アルブミンへの結合も試験し、両方のペプチドとも有意な結合を示さないことが観察された(表5)。ニワトリ卵白アルブミンは、配列アラインメント分析により決定されたように、HSAと相同的ではない。この分析は、固定化されたDX-236は、他の哺乳動物アルブミンを精製するために使用することが可能であることを示している。

10

【0222】

この特質を示すため、同一のDX-236-およびDX-321-セファロースカラムを、ウシ血清アルブミン(BSA)、ヤギ血清アルブミン(GSA)およびマウス血清アルブミン(MSA)に対して、pH6.2緩衝液中で試験した。1mgの各々の型のアルブミンを、前もって3mMリン酸塩、pH6.2、0.01%トウィーン-20、で平衡化された、各々のカラム(0.35ml)上へ注入した。カラムを平衡化緩衝液で洗浄し、次に、100mMトリス、pH9.1、で溶出した。(流速、1ml/分)。下記表6に示したように、DX-236-セファロースは、HSA同様に、3つ全てのアルブミンを定量的に捕捉した。

20

【0223】

【表6】

表6. DX-236およびDX-321を用いた哺乳動物血清アルブミン試験

アルブミン	添加 タンパク質	DX-236 カラム		DX-321 カラム	
		FT (mg)	溶出 (mg)	FT (mg)	溶出 (mg)
ウシ	1 mg	0	0.72	0.86	0.15
ヤギ	1 mg	0	0.79	0.93	0.11
マウス	0.5 mg	0.05	0.59	0.49	0.13

30

FT=フロースルー

【0224】

DX-236-セファロースは、血清からの、ほとんどの哺乳動物アルブミンのアフィニティー精製のための、「全アルブミン」結合剤として使用することが可能である。これらの結果は、DX-236はまた、他の分析に先だって、血清試料からアルブミンを枯渇させるためにも使用できることを示している。

【0225】

表6のデータはまた、DX-321-セファロースは、表4に示された溶液親和性データに基づいて予想されるように、3つの非ヒトアルブミンを弱くしか捕捉しないことも示している。3つの非ヒトアルブミンの内、BSAがDX-321-セファロース樹脂により最も有効に捕捉された。出発物質中に存在する約15%のBSAが捕捉され、そして、DX-236-セファロース樹脂では定量的捕捉を与える同一クロマトグラフィー条件下で、続いて溶出された。ヤギ血清アルブミン(GSA)およびマウス血清アルブミン(MSA)は、DX-321-セファロースカラムでは、BSAよりもさらに有効性が低下して捕捉された。それ故、DX-321-セファロースカラムは、非ヒト血清アルブミンを含んでいる溶液から、HSAを精製するために都合よく使用することができる。

40

【実施例5】

50

【0226】

免疫グロブリン結合ペプチド

下記の免疫グロブリン結合ペプチドの解離定数が決定され、それらは各々、配列番号 B 57、B 58、B 108、B 115、B 124 および B 143 の Fc 領域結合ペプチドを使用して製造した：

A c - A G S Y W C K I W D V C P Q S P G P E G G G K - N H ₂ (配列番号 371、DX 392 と名付けられた)；

A c - A G K Y W C N L W G V C P A N P G P E G G G K - N H ₂ (配列番号 372、DX 395 と名付けられた)；

A c - A G T Y W C T F W E L P C D P A P G P E G G G K - N H ₂ (配列番号 373、DX 404 と名付けられた)； 10

A c - A G P H N C D D H Y W Y C K W F P G P E G G G K - N H ₂ (配列番号 374、DX 389 と名付けられた)；

A c - A G A A T C S T S Y W Y Y Q W F C T D S P G P E G G G K - N H ₂ (配列番号 75、DX 398 と名付けられた)；および

A c - A G Y W Y C W F P D R P E C P L Y P G P E G G G K - N H ₂ (S 配列番号 376、DX 413 と名付けられた)。

【0227】

ペプチドは B A C H E M により合成され、そしてオレゴングリーン標識し、H P L C 精製した。結合研究は、C a l b i o c h e m から得た、ヒト血漿 I g G アイソフォーム： I g G 1、I g G 2、I g G 3 および I g G 4、を使用して実施した。 20

【0228】

結合研究は、下記の緩衝液中、塩とまたな塩なしで、p H 4 . 0、7 . 5 かまたは 9 . 5 で実行した：

1) 10 m M クエン酸ナトリウム、0 . 0 1 % トウイーン 20、p H 4 . 0 ；

2) 10 m M クエン酸ナトリウム、500 m M 塩化ナトリウム、0 . 0 1 % トウイーン 20、p H 4 . 0 ；

3) 10 m M トリス - H C l、0 . 0 1 % トウイーン 20、p H 7 . 5 ；

4) 10 m M トリス - H C l、500 m M 塩化ナトリウム、0 . 0 1 % トウイーン 20、p H 7 . 5 ； 30

5) 10 m M 炭酸水素ナトリウム、0 . 0 1 % トウイーン 20、p H 9 . 5 ；

6) 10 m M 炭酸水素ナトリウム、500 m M 塩化ナトリウム、0 . 0 1 % トウイーン 20、p H 9 . 5 ；または

7) T B S、0 . 0 1 % トウイーン 20、p H 7 . 5 。

【0229】

結合研究の結果は、表 7 に示されている。

【0230】

【表 7】

表 7. IgG 結合オレゴングリーン標識ペプチドに対する K_D 値の要約

ペプチド	IgG アイソフォーム	K_D (μ M)						TBS
		pH 4.0 -塩	pH 4.0 +塩	pH 7.5 -塩	pH 7.5 +塩	pH 9.5 -塩	pH 9.5 +塩	
DX389	IgG1	nb*	nb	nb	nb	nb	nb	nb
	IgG2	nb	nb	nb	結合 ^o	nb	nb	nb
	IgG3	2.5 ± 1.0	1.8 ± 1.4	nb	結合	nb	nb	nb
	IgG4	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
DX392	IgG1	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
	IgG2	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
	IgG3	0.32 ± 0.08	0.6 ± 0.2	nb	結合	nb	結合	nb
	IgG4	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
DX395	IgG1	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
	IgG2	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
	IgG3	1.0 ± 0.26	1.8 ± 1	nb	1.9 ± 0.9	nb	結合	nb
	IgG4	nb	nb	結合	nb	nb	nb	nb
DX398	IgG1	2.4 ± 3.3	nb	4.6 ± 1.2	nb	nb	nb	nb
	IgG2	1.8 ± 1.2	nb	nb	nb	結合	nb	nb
	IgG3	0.02 ± 1.0	0.04 ± 0.01	nb	0.3 ± 0.03	結合	0.3 ± 0.1	結合
	IgG4	1.6 ± 1.5	nb	3.5 ± 0.8	nb	nb	nb	nb
DX404	IgG1	1.5 ± 0.8	2.0 ± 1.7	8.8 ± 4.0	nb	nb	nb	nd
	IgG2	1 ± 0.4	2.0 ± 1	8.6 ± 3.5	nb	nb	nb	nd
	IgG3	0.01 ± 0.01	0.20 ± 0.06	11 ± 5.4	3.7 ± 0.8	nb	結合	nd
	IgG4	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nd [#]
DX413	IgG1	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nd
	IgG2	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nd
	IgG3	0.84 ± 0.08	1.1 ± 0.2	nb	nb	nb	nb	nd
	IgG4	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nd

* nb : 有意な結合は観察されない。

^o 結合 : ペプチドは結合しているように思われるが、信号変化は信頼できる K_D の見積もりを得るのに適することはできなかった。 K_D は 10μ M より大きいと推定されている。

nd : 決定されていない。

【 0 2 3 1 】

表 7 に示された結果は、DX389 は、中程度の親和性で ($K_D = 2 \mu$ M)、塩の存在下または不在下、pH 4.0 にて IgG3 を特異的に結合することを示している。この相互作用は、塩の存在下または不在下、pH 7.5 かまたは 9.5 では、観察されなかった。

【 0 2 3 2 】

ペプチド DX392 は、高い親和性で ($K_D = 0.3 - 0.6 \mu$ M)、塩の存在下または不在下の両方で、pH 4.0 にて IgG3 を特異的に結合した。この相互作用は、塩の存在下、pH 7.5 および pH 9.5 ではより低く、塩不在下では両方の pH で観察されなかった。

【 0 2 3 3 】

ペプチド DX395 は、中程度の親和性で ($K_D = 1 - 2 \mu$ M)、塩の存在下または不在下

10

20

30

40

50

在下、pH 4.0にてIgG3を特異的に結合した。親和性は、塩存在下ではほとんど同じであった($K_D = 1.9 \mu M$)。この相互作用は、塩存在下、pH 9.5では弱くなり、塩不在下、pH 7.5または9.5では、観察されなかった。

【0234】

ペプチドDX398は、IgG1、IgG2およびIgG4に対して中程度の親和性で($K_D = 2 \mu M$)、IgG3に対して高い親和性で($K_D = 0.02 \mu M$)、塩不在下、pH 4.0にて4つすべてのIgGアイソフォームを結合した。塩存在下でのpH 4.0では、ペプチドDX398はIgG3に対する高い親和性を維持していたが、IgG1、IgG2またはIgG4とは相互作用しなかった。

【0235】

pH 7.5にては、DX398は、塩不在下のみで、IgG1およびIgG4を結合し、そして塩存在下では、IgG3のみを結合した。pH 9.5にては、このペプチドはIgG3のみを結合し、相互作用は、イオン強度を増加させることにより強くなった。

【0236】

ペプチドDX404は、中程度の親和性で($K_D = 2 \mu M$)、塩の存在下または不在下、pH 4.0にてIgG1およびIgG2を結合し、IgG3に対してはより高い親和性($K_D = 0.1 \mu M$)を有していた。塩存在下では、IgG3に対する親和性が $0.2 \mu M$ へ増加した。IgG1およびIgG2に対する親和性は、塩不在下、pH 7.5で減少し、塩存在下またはpH 9.5では観察されなかった。pH 7.5および9.5でのIgG3結合は、塩存在下で強くなった。

【0237】

ペプチドDX413は、中程度の親和性で($K_D = 1.0 \mu M$)、塩の存在下または不在下、pH 4.0にてIgG3のみに結合した。

表7のデータは、ペプチドが、pHおよび塩-依存性様式で、アイソフォーム特異性を変化させながら、IgGを結合することを示している。一般に、表7のペプチドは、その特異性および相互作用の様式に基づいて、2つの「クラス」へグループ分けできる：

クラス1はDX389、DX392、DX395およびDX413を含んでいる。本質的に、これらのペプチドはすべてIgG3に対して主な特異性を示すようである。加えて、相互作用は低pHおよび高イオン強度が好まれるようである。結合は、高pHおよび低塩で最も弱い。

【0238】

クラス2はDX398を含んでいる。このペプチドは、イオン強度により変更可能である、アイソフォーム特異性を示している。塩不在下、低pHでは、このペプチドはすべてのIgGアイソフォームを結合するが、しかし塩存在下では、pH 4.0、7.5および9.5にて、非常に強い親和性($K_D = 0.04 - 0.3 \mu M$)でIgG3のみを結合する(表7を参照されたい)。DX404はDX398と似ているが、しかしながら、このペプチドはDX398と異なり、pH 4.0では塩依存性IgG3特異性を示さないが、pH 7.5および9.5では、塩依存性IgG3特異性を強く示した。

【0239】

他の態様は付随する特許請求の範囲内である。

【図面の簡単な説明】

【0240】

【図1】図1はアフィニティー-精製血清アルブミンおよび会合されたタンパク質分画中のタンパク質の、2次元ゲルのイメージである。

【配列表】

10

20

30

40

SEQUENCE LISTING

<110> Dyax Corporation

<120> PROTEIN ANALYSIS

<130> 10280-052W01

<150> US 60/388,642

<151> 2002-06-14

<160> 430

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary motif

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Asp, Asn, Ser, Thr, or Trp

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Asn, Gln, His, Ile, Leu, or Lys

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Ala, Asp, Phe, Trp, or Tyr

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Asp, Gly, Leu, Phe, Ser, or Thr

<400> 1

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary motif

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Asn, His, Leu, Phe, Trp, or Val

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Ala, Glu, His, Lys, Trp, or Val

10

20

30

40

<221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Asp, Gly, Ile, His, Ser, Trp, or Val

<221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Asp, Asn, Ser, Thr, or Trp

<221> VARIANT
 <222> 6
 <223> Xaa = Asn, Gln, His, Ile, Leu, or Lys

<221> VARIANT
 <222> (7).
 <223> Xaa = Ala, Asp, Phe, Trp, or Tyr

10

<221> VARIANT
 <222> (8).
 <223> Xaa = Asp, Gly, Leu, Phe, Ser, or Thr

<221> VARIANT
 <222> (10)
 <223> Xaa = Glu, Ile, Leu, Met, Ser, or Val

<221> VARIANT
 <222> (11)
 <223> Asn, Asp, Gln, Gly, Met, Ser, or Trp

<221> VARIANT
 <222> (12)
 <223> Ala, Asn, Asp, Pro, Tyr, or Val

20

<400> 2
 Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 3
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Exemplary motif

<221> VARIANT
 <222> 7
 <223> Xaa = Asn, His, Leu, Phe, Trp, or Val

30

<221> VARIANT
 <222> 8
 <223> Xaa = Ala, Glu, His, Lys, Trp, or Val

<221> VARIANT
 <222> 9
 <223> Xaa = Asp, Gly, Ile, His, Ser, Trp, or Val

<221> VARIANT
 <222> 11
 <223> Xaa = Asp, Asn, Ser, Thr, or Trp

40

<221> VARIANT
 <222> 12
 <223> Xaa = Asn, Gln, His, Ile, Leu, or Lys

 <221> VARIANT
 <222> (13)
 <223> Xaa = Ala, Asp, Phe, Trp, or Tyr

 <221> VARIANT
 <222> (14)
 <223> Xaa = Asp, Gly, Leu, Phe, Ser, or Thr

 <221> VARIANT
 <222> (16).
 <223> Xaa = Glu, Ile, Leu, Met, Ser, or Val

 <221> VARIANT
 <222> (17).
 <223> Xaa = Asn, Asp, Gln, Gly, Met, Ser, or Trp

 <221> VARIANT
 <222> (18).
 <223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Pro, Tyr, or Val

 <400> 3
 Ala Glu Gly Thr Gly Ser Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Ala Pro Glu
 20

 <210> 4
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Exemplary motif

 <221> VARIANT
 <222> 2
 <223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, Ile, Leu, Lys,
 Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

 <221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys,
 Met, Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

 <221> VARIANT
 <222> 4
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, Gly, Ile, Leu, Lys,
 Met, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

 <221> CONFLICT
 <222> 5
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Ile, Leu, Phe, Pro, Ser,
 Trp, or Tyr

 <221> VARIANT
 <222> 6
 <223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Gly, Ile, Met, Phe, Pro, Thr,

10

20

30

40

Trp, or Tyr

<221> VARIANT

<222> (7).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys, Phe, Ser, Thr, Trp, or Tyr

<221> VARIANT

<222> (8).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Glu, Gly, His, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, or Trp

<221> VARIANT

<222> (9).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, or Val

10

<221> VARIANT

<222> (10).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT

<222> (11).

<223> Xaa = Ala, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<400> 4

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys
1 5 10

20

<210> 5

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Exemplary motif

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Asn, Gly, His, Leu, Phe, Pro, Ser, Trp, Tyr

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Asn, Gly, His, Phe, Pro, Ser, or Trp

30

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Met, Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, Ile, Leu, Lys, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT

<222> 6

40

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT

<222> (7).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, Gly, Ile, Leu, Lys, Met, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT

<222> (8).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Ile, Leu, Phe, Pro, Ser, Trp, or Tyr

<221> VARIANT

<222> (9).

<223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Gly, Ile, Met, Phe, Pro, Thr, Trp, or Tyr

10

<221> VARIANT

<222> (10).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys, Phe, Ser, Thr, Trp, or Tyr

<221> VARIANT

<222> (11).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Glu, Gly, His, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, or Trp

<221> VARIANT

<222> (12).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp or Val

20

<221> VARIANT

<222> (13).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT

<222> (14).

<223> Xaa = Ala, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT

<222> (16).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Pro, Ser, Thr, Trp, or Tyr

30

<221> VARIANT

<222> (17).

<223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Gly, His, Leu, Phe, Pro, Ser, Trp, or Tyr

<221> VARIANT

<222> (18).

<223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Gly, His, Leu, Phe, Pro, Ser, Trp, or Tyr

<400> 5

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

40

Xaa Xaa

<210> 6
<211> 27
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Exemplary motif

<221> VARIANT
<222> 6
<223> Xaa = Ala or Asp

<221> VARIANT
<222> 7
<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Asn, Gly, His, Leu, Phe, Pro,
Ser, Trp, or Tyr

10

<221> VARIANT
<222> 8
<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Asn, Gly, His, Phe, Pro, Ser,
or Trp

<221> VARIANT
<222> 9
<223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Met,
Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
<222> 11
<223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, Ile, Leu, Lys,
Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

20

<221> VARIANT
<222> (12).
<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys,
Met, Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
<222> (13).
<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, Gly, Ile, Leu, Lys,
Met, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
<222> (14).
<223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Ile, Leu, Phe, Pro, Ser,
Trp, or Tyr

30

<221> VARIANT
<222> (15).
<223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Gly, Ile, Met, Phe, Pro, Thr,
Trp, or Tyr

<221> VARIANT
<222> (16).
<223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu,
Lys, Phe, Ser, Thr, Trp, or Tyr

<221> VARIANT

40

<222> (17).
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Glu, Gly, His, Met, Phe, Pro,
 Ser, Thr, or Trp

<221> VARIANT
 <222> (18).
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Met,
 Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, or Val

<221> VARIANT
 <222> (19).
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys,
 Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
 <222> (20).
 <223> Xaa = Ala, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys,
 Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
 <222> (22).
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Glu, Gly, His, Ile, Leu,
 Lys, Met, Pro, Ser, Thr, Trp, or Tyr

<221> VARIANT
 <222> (23).
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Gly, His, Leu, Phe, Pro,
 Ser, Trp, or Tyr

<221> VARIANT
 <222> (24).
 <223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Gly, His, Leu, Phe, Pro,
 Ser, Trp, or Tyr

<221> VARIANT
 <222> (25).
 <223> Xaa = Ala or Asp

<400> 6
 Ala Glu Gly Thr Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Glu
 20 25

<210> 7
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 7
 Cys Thr Ile Phe Leu Cys
 1 5

<210> 8
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

20

30

40

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent
 <400> 8
 Cys Glu Gly Lys Asp Met Ile Asp Trp Val Tyr Cys
 1 5 10

<210> 9
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 9
 Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys
 1 5 10

<210> 10
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 10
 Cys Glu Pro Trp Met Leu Arg Phe Gly Cys
 1 5 10

<210> 11
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 11
 Cys Asp Gln Trp Phe Cys
 1 5

<210> 12
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 12
 Cys Asn Asn Ala Leu Cys
 1 5

<210> 13
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

10

20

30

40

<223> example of serum albumin-binding agent

<400> 13
 Cys Asp His Phe Phe Cys
 1 5

<210> 14
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 14
 Cys Trp His Phe Ser Cys
 1 5

10

<210> 15
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 15
 Cys Val Thr Arg Trp Ala Asn Arg Asp Gln Gln Cys
 1 5 10

<210> 16
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 16
 Cys Val Thr Asp Trp Ala Asn Arg His Gln His Cys
 1 5 10

<210> 17
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 17
 Cys Val Lys Asp Trp Ala Asn Arg Arg Arg Gly Cys
 1 5 10

<210> 18
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

40

<400> 18
 Cys Lys Phe Ser Trp Ile Arg Ser Pro Ala Phe Cys
 1 5 10

<210> 19
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agents

<221> ACETYLATION
 <222> 1
 <223> acetyl capping group is present or absent 10

<221> AMIDATION
 <222> (0)...(0)
 <223> amide capping group is present or absent

<400> 19
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

<210> 20
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence 20

<220>
 <223> serum albumin-binding agents

<400> 20
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Arg Asn Met Cys Lys Phe Ser Trp Ile Arg
 1 5 10 15
 Ser Pro Ala Phe Cys Ala Arg Ala Asp Pro Glu
 20 25

<210> 21
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220> 30
 <223> template sequence

<221> VARIANT
 <222> 1, 12
 <223> Xaa = Ala, Asp, Phe, Gly, His, Leu, Asn, Pro, Gln,
 Arg, Ser, Val, Trp, and Tyr

<221> VARIANT
 <222> 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11
 <223> Xaa = any of common alfa-amino acids, except
 cysteine (Cys)

<400> 21
 Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa

40

<223> acetyl capping group

<221> AMIDATION

<222> 29

<223> amide capping group

<221> VARIANT

<222> 23

<223> Xaa = 6-aminohexanoic acid group

<400> 24

Ala Glu Gly Thr Gly Asp Arg Asn Met Cys Lys Phe Ser Trp Ile Arg
 1 5 10 15
 Ser Pro Ala Phe Cys Ala Arg Ala Asp Pro Glu Xaa Lys
 20 25

10

<210> 25

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> template sequence

<221> VARIANT

<222> 1-3, 5-10, 12-14

<223> Xaa = any amino acid except cysteine (Cys)

<400> 25

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

20

<210> 26

<211> 585

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80
 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95
 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110
 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125
 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140
 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160
 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175
 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

30

40

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 180 185 190
 195 200 205
 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220
 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

<210> 27
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 27

10

20

30

40

Ala Asp Phe Cys Glu Gly Lys Asp Met Ile Asp Trp Val Tyr Cys Arg
 1 5 10 15
 Leu Tyr

<210> 28
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 28
 Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

10

<210> 29
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 29
 Asp Trp Asp Cys Val Thr Arg Trp Ala Asn Arg Asp Gln Gln Cys Trp
 1 5 10 15
 Gly Pro

20

<210> 30
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 30
 Asp Trp Asp Cys Val Thr Arg Trp Ala Asn Arg Asp Gln Gln Cys Trp
 1 5 10 15
 Ala Leu

30

<210> 31
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 31
 Asp Trp Asp Cys Val Thr Asp Trp Ala Asn Arg His Gln His Cys Trp
 1 5 10 15
 Ala Leu

40

<210> 32
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 32
 Asp Trp Gln Cys Val Lys Asp Trp Ala Asn Arg Arg Arg Gly Cys Met
 1 5 10 15
 Ala Asp

<210> 33
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 33
 Arg Asn Met Cys Lys Phe Ser Trp Ile Arg Ser Pro Ala Phe Cys Ala
 1 5 10 15
 Arg Ala

<210> 34
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 34
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Ala Asp Phe Cys Glu Gly Lys Asp Met Ile
 1 5 10 15
 Asp Trp Val Tyr Cys Arg Leu Tyr Asp Pro Glu
 20 25

<210> 35
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 35
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

<210> 36
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

20

30

40

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 36
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Asp Trp Asp Cys Val Thr Arg Trp Ala Asn
1 5 10 15
Arg Asp Gln Gln Cys Trp Gly Pro Asp Pro Glu
20 25

<210> 37
<211> 27
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

10

<400> 37
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Asp Trp Asp Cys Val Thr Arg Trp Ala Asn
1 5 10 15
Arg Asp Gln Gln Cys Trp Ala Leu Asp Pro Glu
20 25

<210> 38
<211> 27
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

20

<400> 38
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Asp Trp Asp Cys Val Thr Asp Trp Ala Asn
1 5 10 15
Arg His Gln His Cys Trp Ala Leu Asp Pro Glu
20 25

<210> 39
<211> 27
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 39
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Asp Trp Gln Cys Val Lys Asp Trp Ala Asn
1 5 10 15
Arg Arg Arg Gly Cys Met Ala Asp Asp Pro Glu
20 25

30

<210> 40
<211> 27
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 40
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Arg Asn Met Cys Lys Phe Ser Trp Ile Arg

40

1	5	10	15
Ser	Pro	Ala	Phe
	Cys	Ala	Arg
		Ala	Asp
			Pro
			Glu
	20	25	

<210> 41
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 41
Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Ala Cys
1 5 10

10

<210> 42
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 42
Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln Ala Leu Cys
1 5 10

<210> 43
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 43
Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Ala His Leu Cys
1 5 10

<210> 44
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

30

<400> 44
Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Ala Gln His Leu Cys
1 5 10

<210> 45
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 45

40

1 5 10 15
 Phe Ala

<210> 51
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 51
 Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu

10

<210> 52
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 52
 Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys Ala
 1 5 10 15
 Phe Leu

20

<210> 53
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 53
 Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Ala Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

<210> 54
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 54
 Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln Ala Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

<210> 55

40

<211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 55
 Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Ala His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

<210> 56
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 56
 Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Ala Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

<210> 57
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 57
 Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Ala Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

<210> 58
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 58
 Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Ala Tyr Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

<210> 59
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

40

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 59

Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ala Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

<210> 60

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

10

<400> 60

Phe Trp Phe Cys Asp Ala Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

<210> 61

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 61

Phe Trp Phe Cys Ala Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

20

<210> 62

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 62

Phe Trp Ala Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

30

<210> 63

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 63

Phe Ala Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15

40

Phe Leu

<210> 64
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 64
 Ala Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu

10

<210> 65
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 65
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Ala Pro Glu
 20 25

20

<210> 66
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 66
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Ala Asp Pro Glu
 20 25

<210> 67
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 67
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Ala Leu Asp Pro Glu
 20 25

<210> 68
 <211> 27

40

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 68
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Ala Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

<210> 69
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 69
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Ala Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

<210> 70
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 70
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln Ala Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

<210> 71
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

30

<400> 71
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Ala His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

<210> 72
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

40

<400> 72
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Ala Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

<210> 73
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 73
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Ala
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

10

<210> 74
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 74
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Ala Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

20

<210> 75
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 75
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ala Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

30

<210> 76
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 76
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Ala Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu

40

20

25

<210> 77
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 77
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Ala Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

10

<210> 78
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 78
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Ala Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

<210> 79
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 79
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Ala Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

<210> 80
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 80
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Ala Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
 20 25

<210> 81
 <211> 27
 <212> PRT

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 81

```
Ala Glu Gly Thr Gly Ala Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1           5           10           15
Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu
          20           25
```

<210> 82

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 82

```
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1           5           10           15
Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Ala Pro Glu Gly Gly Gly Lys
          20           25           30
```

<210> 83

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

20

<400> 83

```
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1           5           10           15
Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Ala Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
          20           25           30
```

<210> 84

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

30

<400> 84

```
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1           5           10           15
Pro Gln His Leu Cys Glu Ala Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
          20           25           30
```

<210> 85

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

40

<400> 85
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Ala Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

<210> 86
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 86
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Ala Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

10

<210> 87
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 87
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln Ala Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

20

<210> 88
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 88
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Ala His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

30

<210> 89
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 89
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Ala Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

40

<210> 90
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 90
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Ala
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

<210> 91
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 91
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Ala Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

<210> 92
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 92
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ala Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

<210> 93
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 93
 Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Asp Ala Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

<210> 94
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

20

30

40

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 94

```
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Phe Cys Ala Arg Ile Ala Trp Tyr
 1                               5 10 15
Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
                20                25                30
```

<210> 95

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 95

```
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Trp Ala Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1                               5 10 15
Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
                20                25                30
```

<210> 96

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 96

```
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Phe Ala Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1                               5 10 15
Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
                20                25                30
```

<210> 97

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 97

```
Ala Glu Gly Thr Gly Asp Ala Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1                               5 10 15
Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
                20                25                30
```

<210> 98

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 98

10

20

30

40

Ala Glu Gly Thr Gly Ala Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Gln His Leu Cys Glu Phe Leu Asp Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25 30

<210> 99

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Ala, Gln, Leu, Lys, Phe, Trp, or Tyr

10

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Asn, Gln, Glu, Ile, Thr, or Trp

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Asn, Gly, Phe, Thr, Trp, or Tyr

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Ala, Leu, His, Met, Phe, Ser, or Thr

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Ile, Phe, Pro, Ser, Trp, or Tyr

20

<221> VARIANT

<222> (7)...(0)

<223> Xaa = Asp, Gln, Glu, Lys, Pro, Trp, or Tyr

<221> VARIANT

<222> (8)...(0)

<223> Xaa = Asp, Gln, Gly, Leu, Pro, or Trp

<221> VARIANT

<222> (9)...(0)

<223> Xaa = Asp, Ile, Leu, Lys, Met, Pro, Trp or Tyr

<221> VARIANT

<222> (10)...(0)

<223> Xaa = Gln, Gly, Ile, Phe, Thr, Trp, or Val

30

<221> VARIANT

<222> (12)...(0)

<223> Xaa = Asp, Glu, Gly, Leu, Lys, Pro, or Ser

<221> VARIANT

<222> (13)...(0)

<223> Xaa = Glu, His, Ile, Leu, Lys, Ser, Trp, or Val

<221> VARIANT

<222> (14)...(0)

<223> Xaa = Ala, Asn, His, Ile, Met, Phe, Pro, or Ser

40

<400> 99
 Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 100
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Ala, Gln, Leu, Lys, Phe, Trp, or Tyr

10

<221> VARIANT
 <222> 4
 <223> Xaa = Asn, Gln, Glu, Ile, Thr, or Trp

<221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Xaa = Asn, Gly, Phe, Thr, Trp, or Tyr

<221> VARIANT
 <222> 7
 <223> Xaa = Ala, Leu, His, Met, Phe, Ser, or Thr

<221> VARIANT
 <222> 8
 <223> Xaa = Ile, Phe, Pro, Ser, Trp, or Tyr

20

<221> VARIANT
 <222> (9)...(0)
 <223> Xaa = Asp, Gln, Glu, Lys, Pro, Trp, or Tyr

<221> VARIANT
 <222> (10)...(0)
 <223> Xaa = Asp, Gln, Gly, Leu, Pro, or Trp

<221> VARIANT
 <222> (11)...(0)
 <223> Xaa = Asp, Ile, Leu, Lys, Met, Pro, Trp, or Tyr

<221> VARIANT
 <222> (12)...(0)
 <223> Xaa = Gln, Gly, Ile, Phe, Thr, Trp, or Val

30

<221> VARIANT
 <222> (14)...(0)
 <223> Xaa = Asp, Glu, Gly, Leu, Lys, Pro, or Ser

<221> VARIANT
 <222> (15)...(0)
 <223> Xaa = Glu, His, Ile, Leu, Lys, Ser, Trp, or Val

<221> VARIANT
 <222> (16)...(0)
 <223> Xaa = Ala, Asn, His, Ile, Met, Phe, Pro, or Ser

<400> 100

40

<221> VARIANT
 <222> 2
 <223> Xaa = Arg, Leu, Ser, or Trp

<221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Asn, Asp, Phe, or Tyr

<221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Xaa = Gln, Glu, Phe, or Met

<221> VARIANT
 <222> 6
 <223> Xaa = Asp, Pro, or Thr

10

<221> VARIANT
 <222> (7)...(0)
 <223> Xaa = Ile, Ser, or Trp

<221> VARIANT
 <222> (8)...(0)
 <223> Xaa = His, Met, Phe or Pro

<221> VARIANT
 <222> (9)...(0)
 <223> Xaa = Asn, Leu, or Thr

<221> VARIANT
 <222> (10)...(0)
 <223> Xaa = Arg, Asn, His, or Thr

20

<221> VARIANT
 <222> (11)...(0)
 <223> Xaa = Arg, Met, Phe or Tyr

<221> VARIANT
 <222> (12)...(0)
 <223> Xaa = Asp, Gly, Phe, or Trp

<221> VARIANT
 <222> (14)...(0)
 <223> Xaa = Ala, Asn, or Asp

<221> VARIANT
 <222> (15)...(0)
 <223> Xaa = Arg, Phe, Pro, or Tyr

30

<221> VARIANT
 <222> (16)...(0)
 <223> Xaa = Arg, His, Phe, or Ser

<400> 102
 Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

<210> 103
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

40

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<221> VARIANT
<222> 3
<223> Xaa = Arg, Phe, or Tyr

<221> VARIANT
<222> 4
<223> Xaa = Arg, Leu, Ser, or Trp

<221> VARIANT
<222> 5
<223> Xaa = Asn, Asp, Phe, or Tyr

<221> VARIANT
<222> 7
<223> Xaa = Gln, Glu, Phe, or Met

<221> VARIANT
<222> 8
<223> Xaa = Asp, Pro, or Thr

<221> VARIANT
<222> (9)...(0)
<223> Xaa = Ile, Ser, or Trp

<221> VARIANT
<222> (10)...(0)
<223> Xaa = His, Met, Phe or Pro

<221> VARIANT
<222> (11)...(0)
<223> Xaa = Asn, Leu, or Thr

<221> VARIANT
<222> (12)...(0)
<223> Xaa = Arg, Asn, His, or Thr

<221> VARIANT
<222> (13)...(0)
<223> Xaa = Arg, Met, Phe, or Tyr

<221> VARIANT
<222> (14)...(0)
<223> Xaa = Asp, Gly, Phe, or Trp

<221> VARIANT
<222> (16)...(0)
<223> Xaa = Ala, Asn, or Asp

<221> VARIANT
<222> (17)...(0)
<223> Xaa = Arg, Phe, Pro, or Tyr

<221> VARIANT
<222> (18)...(0)
<223> Xaa = Arg, His, Phe, or Ser

<400> 103

10

20

30

40

Gly Ser Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Ala Pro
 20

<210> 104
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 104
 Pro Thr Val Val Gln Pro Lys Phe His Ala Phe Thr His Glu Asp Leu
 1 5 10 15
 Leu Trp Ile Phe
 20

10

<210> 105
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 105
 Leu Lys Ser Gln Met Val His Ala Leu Pro Ala Ala Ser Leu His Asp
 1 5 10 15
 Gln His Glu Leu
 20

20

<210> 106
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 106
 Ser Gln Val Gln Gly Thr Pro Asp Leu Gln Phe Thr Val Arg Asp Phe
 1 5 10 15
 Ile Tyr Met Phe
 20

30

<210> 107
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 107
 Cys Gln Thr Thr Trp Pro Phe Thr Met Met Gln Cys
 1 5 10

<210> 108
 <211> 12

40

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

 <400> 108
 Cys Val Thr Met Trp Pro Phe Glu Gln Ile Phe Cys
 1 5 10

 <210> 109
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

 <400> 109
 Cys Phe Thr Tyr Tyr Pro Phe Thr Thr Phe Ser Cys
 1 5 10

 <210> 110
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

 <400> 110
 Cys Trp Thr Lys Phe Pro Phe Asp Leu Val Trp Cys
 1 5 10

 <210> 111
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

 <400> 111
 Cys Val Ser Tyr Trp Pro His Phe Val Pro Val Cys
 1 5 10

 <210> 112
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

 <400> 112
 Cys Tyr Ile Ser Phe Pro Phe Asp Gln Met Tyr Cys
 1 5 10

 <210> 113
 <211> 12
 <212> PRT

10

20

30

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 113

Cys Ser Val Gln Tyr Pro Phe Glu Val Val Val Cys
1 5 10

<210> 114

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

10

<400> 114

Cys Trp Thr Gln Tyr Pro Phe Asp His Ser Thr Cys
1 5 10

<210> 115

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 115

Cys Ile Thr Trp Pro Phe Lys Arg Pro Trp Pro Cys
1 5 10

20

<210> 116

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 116

Cys Ile Ser Trp Pro Phe Glu Met Pro Phe His Cys
1 5 10

<210> 117

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 117

Cys Ile Thr Trp Pro Phe Lys Arg Pro Trp Pro Cys
1 5 10

<210> 118

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

40

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

 <400> 118
 Cys Ile Thr Tyr Pro Phe His Glu Met Phe Pro Cys
 1 5 10

 <210> 119
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

 <400> 119
 Cys Ile Thr Trp Pro Phe Gln Thr Ser Tyr Pro Cys
 1 5 10

 <210> 120
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

 <400> 120
 Cys Lys Phe Ser Trp Ile Arg Ser Pro Ala Phe Cys
 1 5 10

 <210> 121
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

 <400> 121
 Cys Trp Ile Val Asp Glu Asp Gly Thr Lys Trp Cys
 1 5 10

 <210> 122
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

 <400> 122
 Cys Asp Ser Ala Tyr Trp Gln Glu Ile Pro Ala Cys
 1 5 10

 <210> 123
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

20

30

40

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 128

Cys Val Thr Tyr Ile Gly Thr Trp Glu Thr Val Cys
1 5 10

<210> 129

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 129

Cys Thr Asp Thr Asn Trp Ser Trp Met Phe Asp Cys
1 5 10

10

<210> 130

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 130

Cys Thr Leu Glu Ile Gly Thr Trp Phe Val Phe Cys
1 5 10

<210> 131

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 131

Cys Lys Ile Ala Leu Phe Gln His Phe Glu Val Cys
1 5 10

<210> 132

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 132

Cys Ile Lys Leu Tyr Gly Leu Gly His Met Tyr Cys
1 5 10

<210> 133

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

40

<400> 133
 Cys Glu Met Gln Ser Ile Ile Pro Trp Trp Glu Cys
 1 5 10

<210> 134
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 134
 Cys Val Glu Lys Tyr Tyr Trp Asp Val Leu Ile Cys
 1 5 10

10

<210> 135
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 135
 Cys Pro His Gly Arg Tyr Ser Met Phe Pro Cys
 1 5 10

<210> 136
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 136
 Cys Asn Val Arg Trp Thr Asp Thr Pro Tyr Trp Cys
 1 5 10

<210> 137
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

30

<400> 137
 Cys Thr Tyr Asp Pro Ile Ala Asp Leu Leu Phe Cys
 1 5 10

<210> 138
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

40

<400> 138
Cys Met Asp Trp Pro Asn His Arg Asp Cys
1 5 10

<210> 139
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 139
Cys Phe Pro Ile His Leu Thr Met Phe Cys
1 5 10

10

<210> 140
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 140
Cys Gln Thr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Cys
1 5 10

<210> 141
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

20

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 141
Cys Met Glu Phe Gly Pro Asp Asp Cys
1 5

<210> 142
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

30

<400> 142
Cys Ser Trp Asp Pro Ile Phe Cys
1 5

<210> 143
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 143

40

Cys Ala Trp Asp Pro Leu Val Cys
1 5

<210> 144
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 144
Cys His Ile Tyr Asp Trp Phe Cys
1 5

<210> 145
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 145
Cys Leu Trp Asp Pro Met Ile Cys
1 5

<210> 146
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 146
Cys Ser Pro Pro Gly Lys Thr Cys
1 5

<210> 147
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 147
Cys Thr Phe Trp Gln Tyr Trp Cys
1 5

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 148
Cys Met Phe Glu Leu Pro Phe Cys

10

20

30

40

<210> 154
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 154
 Cys Ser Lys Asp Thr Cys
 1 5

<210> 155
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 155
 Leu Arg Asp Cys Gln Thr Thr Trp Pro Phe Met Met Gln Cys Pro Asn
 1 5 10 15
 Asn

<210> 156
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 156
 Asn Arg Glu Cys Val Thr Met Trp Pro Phe Glu Gln Ile Phe Cys Pro
 1 5 10 15
 Trp Pro

<210> 157
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 157
 Leu Arg Ser Cys Phe Thr Tyr Tyr Pro Phe Thr Thr Phe Ser Cys Ser
 1 5 10 15
 Pro Ala

<210> 158
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

40

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 158

Leu Ser His Cys Trp Thr Lys Phe Pro Phe Asp Leu Val Trp Cys Asp
 1 5 10 15
 Ser Pro

<210> 159

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

10

<400> 159

Leu Arg Met Cys Val Ser Tyr Trp Pro His Phe Val Pro Val Cys Glu
 1 5 10 15
 Asn Pro

<210> 160

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

20

<400> 160

Leu Arg Asp Cys Tyr Ile Ser Phe Pro Phe Asp Gln Met Tyr Cys Ser
 1 5 10 15
 His Phe

<210> 161

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 161

Phe Arg His Cys Ser Val Gln Tyr Pro Phe Glu Val Val Val Cys Pro
 1 5 10 15
 Ala Asn

30

<210> 162

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 162

Leu Arg Asn Cys Trp Thr Gln Tyr Pro Phe Asp His Ser Thr Cys Ser
 1 5 10 15

40

Pro Asn

<210> 163
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 163
 Asp Ser Met Cys Ile Thr Trp Pro Phe Lys Arg Pro Trp Pro Cys Ala
 1 5 10 15
 Asn

10

<210> 164
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 164
 Ala Phe Met Cys Ile Ser Trp Pro Phe Glu Met Pro Phe His Cys Ser
 1 5 10 15
 Pro Asp

20

<210> 165
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 165
 Asp Ser Met Cys Ile Thr Trp Pro Phe Lys Arg Pro Trp Pro Cys Ala
 1 5 10 15
 Asn Pro

<210> 166
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 166
 Trp Asp Leu Cys Ile Thr Tyr Pro Phe His Glu Met Phe Pro Cys Glu
 1 5 10 15
 Asp Gly

<210> 167
 <211> 18

40

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 167
 Gly Gly Glu Cys Ile Thr Trp Pro Phe Gln Thr Ser Tyr Pro Cys Thr
 1 5 10 15
 Asn Gly

<210> 168
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 168
 Arg Asn Met Cys Lys Phe Ser Trp Ile Arg Ser Pro Ala Phe Cys Ala
 1 5 10 15
 Arg Ala

<210> 169
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 169
 Phe Ser Leu Cys Trp Ile Val Asp Glu Asp Gly Thr Lys Trp Cys Leu
 1 5 10 15
 Pro

<210> 170
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

30

<400> 170
 Arg Trp Phe Cys Asp Ser Ala Tyr Trp Gln Glu Ile Pro Ala Cys Ala
 1 5 10 15
 Arg Asp

<210> 171
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

40

<400> 171

Arg Trp Tyr Cys Leu Trp Asp Pro Met Leu Cys Met Ser Asp
 1 5 10

<210> 172

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 172

Ala Trp Tyr Cys Glu His Pro Tyr Trp Thr Glu Val Asp Lys Cys His
 1 5 10 15

10

Ser Ser

<210> 173

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 173

Ser Asp Phe Cys Asp Thr Pro Tyr Trp Arg Asp Leu Trp Gln Cys Asn
 1 5 10 15

20

Ser Pro

<210> 174

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 174

Leu Pro Trp Cys Gln Leu Pro Tyr Met Ser Thr Pro Glu Phe Cys Ile
 1 5 10 15

30

Arg Pro

<210> 175

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agents

<400> 175

Tyr His Val Cys Gly Arg Gly Phe Asp Lys Glu Ser Ile Tyr Cys Lys
 1 5 10 15

40

Phe Leu

<210> 176
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agents

<400> 176
 Ser Phe Cys Val Thr Tyr Ile Gly Thr Trp Glu Thr Val Cys Lys Arg
 1 5 10 15
 Ser

<210> 177
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 177
 Asn Asp Gly Cys Thr Asp Thr Asn Trp Ser Trp Met Phe Asp Cys Pro
 1 5 10 15
 Pro Leu

<210> 178
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 178
 Trp Arg Asp Cys Thr Leu Glu Ile Gly Thr Trp Phe Val Phe Cys Lys
 1 5 10 15
 Gly Ser

<210> 179
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 179
 Ser Pro Tyr Cys Lys Ile Ala Leu Phe Gln His Phe Glu Val Cys Ala
 1 5 10 15
 Ala Asp

<210> 180
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

40

<220>

<223> example of serum albumin-binding agent

<400> 180

Arg His Trp Cys Ile Lys Leu Tyr Gly Leu Gly His Met Tyr Cys Asn
 1 5 10 15
 Arg Ser

<210> 181

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> serum albumin-binding agent

10

<400> 181

Asp His Ala Cys Glu Met Gln Ser Ile Ile Pro Trp Trp Glu Cys Tyr
 1 5 10 15
 Pro His

<210> 182

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agent

20

<400> 182

Pro Arg Ser Cys Val Glu Lys Tyr Tyr Trp Asp Val Leu Ile Cys Gly
 1 5 10 15
 Phe Phe

<210> 183

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agent

<400> 183

Phe His Thr Cys Pro His Gly Arg Tyr Ser Met Phe Pro Cys Asp Tyr
 1 5 10 15
 Trp

30

<210> 184

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> example of serum albumin-binding agent

<400> 184

His Gly Trp Cys Asn Val Arg Trp Thr Asp Thr Pro Tyr Trp Cys Ala

40

<400> 194
 Gln Thr Asn Cys Ser Pro Pro Gly Lys Thr Cys Asp Lys Asn
 1 5 10

<210> 195
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 195
 Ala Ile Cys Thr Phe Trp Gln Tyr Trp Cys Leu Glu Pro
 1 5 10

10

<210> 196
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 196
 Phe Glu Trp Cys Met Phe Glu Leu Pro Phe Cys Ser Trp Pro
 1 5 10

<210> 197
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 197
 Gln Glu Gly Cys Phe Ser Lys Pro Asp Gln Cys Lys Val Met
 1 5 10

<210> 198
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

30

<400> 198
 Leu Glu Tyr Cys Phe Tyr Gln Trp Trp Gly Cys Pro His Ala
 1 5 10

<210> 199
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 199

40

Tyr Gln Phe Cys Thr Trp Asp Pro Ile Phe Cys Gly Trp His
 1 5 10

<210> 200
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 200
 Leu Trp Asp Cys Trp Leu Tyr Asp Cys Glu Gly Asn
 1 5 10

<210> 201
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 201
 Val His Ser Cys Asp Lys Tyr Gly Cys Val Asn Ala
 1 5 10

<210> 202
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 202
 Phe Glu His Cys Ser Lys Asp Thr Cys Ser Gly Asn
 1 5 10

<210> 203
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 203
 Val Ala Trp Cys Thr Ile Phe Leu Cys Leu Asp Val
 1 5 10

<210> 204
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 204
 Phe Lys Ile Cys Asp Gln Trp Phe Cys Leu Met Pro

10

20

30

40

1	5	10	
<210> 205			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> example of serum albumin-binding agent			
<400> 205			
His Val Gly Cys Asn Asn Ala Leu Cys Met Gln Tyr			
1	5	10	
<210> 206			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> example of serum albumin-binding agent			
<400> 206			
Trp Lys Val Cys Asp His Phe Phe Cys Leu Ser Pro			
1	5	10	
<210> 207			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> example of serum albumin-binding agent			
<400> 207			
Asn His Gly Cys Trp His Phe Ser Cys Ile Trp Asp			
1	5	10	
<210> 208			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> example of serum albumin-binding agent			
<400> 208			
Phe Arg Asn Cys Glu Pro Trp Met Leu Arg Phe Gly Cys Asn Pro Arg			
1	5	10	15
<210> 209			
<211> 18			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> example of serum albumin-binding agent			
<400> 209			
Ala Asp Phe Cys Glu Gly Lys Asp Met Ile Asp Trp Val Tyr Cys Arg			
1	5	10	15

10

20

30

40

Leu Tyr

<210> 210
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 210
 Phe Trp Phe Cys Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Pro Gln His Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Phe Leu Asp

10

<210> 211
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 211
 Asp Trp Asp Cys Val Thr Arg Trp Ala Asn Arg Asp Gln Gln Cys Trp
 1 5 10 15
 Gly Pro

20

<210> 212
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 212
 Asp Trp Asp Cys Val Thr Arg Trp Ala Asn Arg Asp Gln Gln Cys Trp
 1 5 10 15
 Ala Leu

<210> 213
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 213
 Asp Trp Asp Cys Val Thr Asp Trp Ala Asn Arg His Gln His Cys Trp
 1 5 10 15
 Ala Leu

<210> 214
 <211> 18

40

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 214
 Asp Trp Gln Cys Val Lys Asp Trp Ala Asn Arg Arg Arg Gly Cys Met
 1 5 10 15
 Ala Asp

<210> 215
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> example of serum albumin-binding agent

<400> 215
 Arg Asn Met Cys Lys Phe Ser Trp Ile Arg Ser Pro Ala Phe Cys Ala
 1 5 10 15
 Arg Ala Asp Pro
 20

<210> 216
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

<400> 216
 Gly Asp Leu Arg Asp Cys Gln Thr Thr Trp Pro Phe Thr Met Met Gln
 1 5 10 15
 Cys Pro Asn Asn Asp Pro Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 217
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

30

<400> 217
 Gly Asp Asn Arg Glu Cys Val Thr Met Trp Pro Phe Glu Gln Ile Phe
 1 5 10 15
 Cys Pro Trp Pro Asp Pro Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 218
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

40

<400> 218
 Gly Asp Leu Arg Ser Cys Phe Thr Tyr Tyr Pro Phe Thr Thr Phe Ser
 1 5 10 15
 Cys Ser Pro Ala Asp Pro Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 219
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

<400> 219
 Gly Asp Asp Ser Met Cys Ile Thr Trp Pro Phe Lys Arg Pro Trp Pro
 1 5 10 15
 Cys Ala Asn Asp Pro Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 220
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

<400> 220
 Gly Asp Arg Asn Met Cys Lys Phe Ser Trp Ile Arg Ser Pro Ala Phe
 1 5 10 15
 Cys Ala Arg Ala Asp Pro Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 221
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

<400> 221
 Gly Asp Phe Ser Leu Cys Trp Ile Val Asp Glu Asp Gly Thr Lys Trp
 1 5 10 15
 Cys Leu Pro Asp Pro Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 222
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

<400> 222
 Gly Asp Arg Trp Phe Cys Asp Ser Ala Tyr Trp Gln Glu Ile Pro Ala
 1 5 10 15
 Cys Ala Arg Asp Asp Pro Gly Gly Gly Lys

10

20

30

40

20 25

<210> 223
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

<400> 223
 Gly Asp Ser Asp Phe Cys Asp Thr Pro Tyr Trp Arg Asp Leu Trp Gln
 1 5 10 15
 Cys Asn Ser Pro Asp Pro Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 224
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

<400> 224
 Gly Asp Ser Phe Cys Val Thr Tyr Ile Gly Thr Trp Glu Thr Val Cys
 1 5 10 15
 Lys Arg Ser Asp Pro Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 225
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

<400> 225
 Gly Asp Asn Asp Gly Cys Thr Asp Thr Asn Trp Ser Trp Met Phe Asp
 1 5 10 15
 Cys Pro Pro Leu Asp Pro Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 226
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> serum albumin-binding agent

<400> 226
 Gly Asp Ser Pro Tyr Cys Lys Ile Ala Leu Phe Gln His Phe Glu Val
 1 5 10 15
 Cys Ala Ala Asp Asp Pro Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 227
 <211> 26
 <212> PRT

10

20

30

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> serum albumin-binding agent

<400> 227

```

Gly Asp Pro Arg Ser Cys Val Glu Lys Tyr Tyr Trp Asp Val Leu Ile
 1           5           10           15
Cys Gly Phe Phe Asp Pro Gly Gly Gly Lys
          20           25

```

<210> 228

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> serum albumin-binding agent

<400> 228

```

Gly Ser Arg Ser Phe Cys Met Asp Trp Pro Asn His Arg Asp Cys Asp
 1           5           10           15
Tyr Ser Ala Pro Gly Gly Gly Lys
          20

```

<210> 229

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> serum albumin-binding agent

<400> 229

```

Ala Gly Lys Trp Tyr Cys Ala Trp Asp Pro Leu Val Cys Glu Ile Phe
 1           5           10           15
Gly Thr Gly Gly Gly Lys
          20

```

<210> 230

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> serum albumin-binding agent

30

<400> 230

```

Ala Gly Trp Thr Thr Cys His Ile Tyr Asp Trp Phe Cys Ser Ser Ser
 1           5           10           15
Gly Thr Gly Gly Gly Lys
          20

```

<210> 231

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> serum albumin-binding agent

40

<400> 231

Ala Gly Leu Glu Tyr Cys Phe Tyr Gln Trp Trp Gly Cys Pro His Ala
 1 5 10 15
 Gly Thr Gly Gly Gly Lys
 20

<210> 232

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> serum albumin-binding agent

<400> 232

Ala Gly Tyr Gln Phe Cys Thr Trp Asp Pro Ile Phe Cys Gly Trp His
 1 5 10 15
 Gly Thr Gly Gly Gly Lys
 20

10

<210> 233

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> serum albumin-binding agent

<400> 233

Gly Ser Leu Trp Asp Cys Trp Leu Tyr Asp Cys Glu Gly Asn Ala Pro
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Lys
 20

20

<210> 234

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> exemplary motif

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Z1 = 6 amino acid with at least one cysteine
 residue

30

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Gly, His, Asn, Arg, or Ser

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Ala, Asp, Glu, Phe, Ile, Met, or Ser

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Ala, Ile, Leu, Met, or Val

<221> VARIANT

<222> 5

40

<223> Xaa = Ile, Met, Thr, or Val

<221> VARIANT

<222> (8)...(0)

<223> Xaa = Z2 =one amino acid or absent

<400> 234

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Cys Xaa
1 5

<210> 235

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> exemplary motif

10

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Z1 = one amino acid or is absent

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Phe or Tyr

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Z2 = Ala, Cys, Phe, Lys, Pro, Arg, Trp, or Tyr

20

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Z2 = Cys, Asp, Glu, Gly, His, Lys, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, or Tyr

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Z2 = Ala, Glu, Phe, His, Ile, Lys, Leu, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, or Tyr

<221> VARIANT

<222> (8)...(0)

<223> Xaa = Z3 =at least one amino acid

<400> 235

Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Xaa Trp Xaa
1 5

30

<210> 236

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> exemplary motif

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Z1 = polypeptide of at least one amino acid

40

<221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Z2 = tripeptide

<221> VARIANT
 <222> 6
 <223> Xaa = Z3 = polypeptide of at least one amino acid

<400> 236
 Xaa Trp Xaa Trp Trp Xaa
 1 5

<210> 237
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> exemplary motif

<221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa = Z1 = polypeptide of at least one amino acid
 and includes a cysteine residue

<221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Ala, Glu, Arg, Ser, or Thr

<221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Xaa = Phe, Trp, or Tyr

20

<221> VARIANT
 <222> 7
 <223> Xaa = Asp, Glu, Leu, Met, or Gln

<221> VARIANT
 <222> 8
 <223> Xaa = His, Trp, or Tyr;

<221> VARIANT
 <222> (9)...(0)
 <223> Xaa = Phe or Tyr

<400> 237
 Xaa Pro Xaa Trp Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5

30

<210> 238
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 238
 Arg Arg Ala Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala
 1 5 10 15
 Gly His

40

<210> 239
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 239
 Trp Gly Glu Cys Thr Val Thr Ser Tyr Gly Glu Leu Ile Trp Cys Gly
 1 5 10 15
 Gly Leu

10

<210> 240
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 240
 Ser Ser Ala Cys Ala Phe Asp Pro Met Gly Ala Val Ile Trp Cys Thr
 1 5 10 15
 Tyr Asp

<210> 241
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 241
 Leu Leu Glu Cys Ala Tyr Asn Thr Ser Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asn
 1 5 10 15
 Gly Ser

<210> 242
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 242
 Pro Asp Asp Cys Ser Ile His Phe Ser Gly Glu Leu Ile Trp Cys Glu
 1 5 10 15
 Pro Leu

<210> 243
 <211> 18
 <212> PRT

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 243

Leu Gly Glu Cys Thr Val Thr Ser Tyr Gly Glu Leu Ile Trp Cys Gly
 1 5 10 15
 Gly Leu

<210> 244

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 244

Trp Gly Glu Cys Thr Val Thr Ser Tyr Gly Glu Leu Ile Trp Cys Gly
 1 5 10 15
 Gly His

<210> 245

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 245

Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp
 1 5 10 15
 Asp His

<210> 246

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

30

<400> 246

Trp Gly Glu Cys Thr Val Thr Ser Tyr Gly Glu Leu Ile Trp Cys Gly
 1 5 10 15
 Gly Leu

<210> 247

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

40

<400> 247

Cys Arg Ala Cys Ser Arg Asp Trp Pro Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala
 1 5 10 15
 Gly His

<210> 248

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 248

Arg Arg Ala Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala
 1 5 10 15
 Gly His

10

<210> 249

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 249

Leu His Ala Cys Ala Phe Asp Pro Met Gly Ala Val Ile Trp Cys Thr
 1 5 10 15
 Tyr Asp

20

<210> 250

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 250

Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Met Trp Cys Asp
 1 5 10 15
 Asn His

30

<210> 251

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 251

Pro Pro Thr Cys Thr Trp Asp Trp Gln Gly Ile Leu Val Trp Cys Ser
 1 5 10 15
 Gly His

40

<210> 252
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 252
 Ser Asn Lys Cys Ser Asn Thr Trp Asp Gly Ser Leu Ile Trp Cys Ser
 1 5 10 15
 Ala Asn

10

<210> 253
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 253
 Phe Pro Glu Cys Thr Phe Asp Met Glu Gly Phe Leu Ile Trp Cys Ser
 1 5 10 15
 Ser Phe

<210> 254
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 254
 His Asp Leu Cys Ala Gln Ala Pro Phe Gly Asp Ala Thr Trp Cys Asp
 1 5 10 15
 Leu Arg

<210> 255
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 255
 Pro Asn His Cys Ser Tyr Asn Leu Lys Ser Glu Leu Ile Trp Cys Gln
 1 5 10 15
 Asp Leu

<210> 256
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

40

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide
 <400> 256
 Pro Leu Asp Cys Ala Arg Asp Ile His Asn Ser Leu Ile Trp Cys Ser
 1 5 10 15
 Leu Gly

<210> 257
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 257
 Gly Ser Glu Cys Ser Trp Thr Ser Leu Asn Glu Leu Ile Trp Cys Ala
 1 5 10 15
 His Trp

<210> 258
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 258
 Trp Pro Asp Cys Ser Phe Thr Val Gln Arg Asp Leu Ile Trp Cys Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu

<210> 259
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 259
 Ser His Ser Cys Ala Tyr Asp Tyr Ala His Met Leu Val Trp Cys Thr
 1 5 10 15
 His Phe

<210> 260
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 260

10

20

30

40

Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp
 1 5 10 15
 Asn His

<210> 261
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 261
 Arg Pro Asn Cys Thr Phe Ala Ala Ser Gly Glu Leu Ile Trp Cys Met
 1 5 10 15
 His Tyr

10

<210> 262
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 262
 Trp Trp Gly Cys Gln Phe Asp Trp Arg Gly Glu Leu Val Trp Cys Pro
 1 5 10 15
 Tyr Leu

20

<210> 263
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 263
 Gly Gly Val Cys Ser Tyr Ser Gly Met Gly Glu Ile Val Trp Cys Arg
 1 5 10 15
 Trp Phe

30

<210> 264
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 264
 Ala Leu Met Cys Ser His Asp Met Trp Gly Ser Leu Ile Trp Cys Lys
 1 5 10 15
 His Phe

40

<210> 265
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 265
 Trp Trp Asn Cys His Asn Gly Trp Thr Trp Thr Gly Gly Trp Cys Trp
 1 5 10 15
 Trp Phe

<210> 266
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 266
 Tyr His Val Cys Ala Arg Asp Ser Trp Asp Gln Leu Ile Trp Cys Glu
 1 5 10 15
 Ala Phe

<210> 267
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 267
 Asn Tyr Trp Cys Asn Phe Trp Gln Leu Pro Thr Cys Asp Asn Leu
 1 5 10 15

<210> 268
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

30

<400> 268
 Tyr Trp Tyr Cys Lys Trp Phe Ser Glu Ser Ala Ser Cys Ser Ser Arg
 1 5 10 15

<210> 269
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 269

40

Tyr Trp Tyr Cys Lys Trp Phe Glu Asp Lys His Pro Cys Asp Ser Ser
 1 5 10 15

<210> 270
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 270
 Tyr Trp Tyr Cys Ser Trp Phe Pro Asp Arg Pro Asp Cys Pro Leu Tyr
 1 5 10 15

<210> 271
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 271
 Asn Tyr Trp Cys Asn Val Trp Leu Leu Gly Asp Val Cys Arg Ser His
 1 5 10 15

<210> 272
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 272
 Leu Tyr Trp Cys His Val Trp Phe Gly Gln His Ala Trp Gln Cys Lys
 1 5 10 15
 Tyr Pro

<210> 273
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 273
 Tyr Trp Lys Cys Lys Trp Met Pro Trp Met Cys Gly Phe Asp
 1 5 10

<210> 274
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

10

20

30

40

<400> 274

Asp Asp His Cys Tyr Trp Phe Arg Glu Trp Phe Asn Ser Glu Cys Pro
 1 5 10 15
 His Gly

<210> 275

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 275

Asn Tyr Trp Cys Asn Ile Trp Gly Leu His Gly Cys Asn Ser His
 1 5 10 15

10

<210> 276

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 276

Tyr Trp Phe Cys Gln Trp Phe Ser Gln Asn His Thr Cys Phe Arg Asp
 1 5 10 15

<210> 277

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 277

His Tyr Trp Cys Asp Ile Trp Phe Gly Ala Pro Ala Cys Gln Phe Arg
 1 5 10 15

<210> 278

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 278

Ser Gly Asp Cys Gly Phe Trp Pro Arg Ile Trp Gly Leu Cys Met Asp
 1 5 10 15
 Asn

<210> 279

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

40

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide
 <400> 279
 Phe Trp Tyr Cys Lys Trp Phe Tyr Glu Asp Ala Gln Cys Ser His Asp
 1 5 10 15

<210> 280
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 280
 Tyr Tyr Trp Cys Asn Tyr Trp Gly Leu Cys Pro Asp Gln
 1 5 10

<210> 281
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 281
 Ser Tyr Trp Cys Lys Ile Trp Asp Val Cys Pro Gln Ser
 1 5 10

<210> 282
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 282
 Lys Tyr Trp Cys Asn Leu Trp Gly Val Cys Pro Ala Asn
 1 5 10

<210> 283
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 283
 Gln Tyr Trp Cys Tyr Gln Trp Gly Leu Cys Gly Ala Asn
 1 5 10

<210> 284
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

10

20

30

40

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 284

Lys Tyr Trp Cys Gln Gln Trp Gly Val Cys Asn Gly Ser
1 5 10

<210> 285

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 285

Lys Tyr Trp Cys Val Gln Trp Gly Val Cys Pro Glu Ser
1 5 10

10

<210> 286

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 286

Lys Tyr Trp Cys Met Gln Trp Gly Leu Cys Gly Trp Glu
1 5 10

<210> 287

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 287

His Phe Trp Cys Glu Val Trp Gly Leu Cys Pro Ser Ile
1 5 10

<210> 288

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 288

Gln Tyr Trp Cys Thr Lys Trp Gly Leu Cys Thr Asn Val
1 5 10

<210> 289

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

40

<400> 289
 Ala Tyr Trp Cys Lys Val Trp Gly Leu Cys Gln Gly Glu
 1 5 10

<210> 290
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 290
 Lys Tyr Trp Cys Asn Leu Trp Gly Val Cys Pro Ala Asn
 1 5 10

10

<210> 291
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 291
 Gln Tyr Trp Cys Asn Val Trp Gly Val Cys Leu Pro Ser
 1 5 10

<210> 292
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 292
 His Tyr Trp Cys Gln Gln Trp Gly Ile Cys Glu Arg Pro
 1 5 10

<210> 293
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

30

<400> 293
 Arg Tyr Trp Cys Asn Ile Trp Asp Val Cys Pro Glu Gln
 1 5 10

<210> 294
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

40

<400> 294
 Gln Tyr Trp Cys Thr His Trp Gly Leu Cys Gly Lys Tyr
 1 5 10

<210> 295
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 295
 Thr Tyr Trp Cys Thr Lys Trp Gly Leu Cys Pro His Asn
 1 5 10

10

<210> 296
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 296
 Phe Tyr Trp Cys Gly Gln Trp Gly Leu Cys Ala Pro Pro
 1 5 10

<210> 297
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 297
 Gly Tyr Trp Cys Asn Val Trp Gly Leu Cys Ser Thr Glu
 1 5 10

<210> 298
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

30

<400> 298
 Arg Tyr Trp Cys Gly Val Trp Gly Val Cys Glu Ile Asp
 1 5 10

<210> 299
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 299

40

Lys Phe Trp Cys Thr Ile Trp Gly Val Cys His Met Pro
 1 5 10

<210> 300
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 300
 His Tyr Trp Cys Gln Gln Trp Gly Ile Cys Glu Arg Pro
 1 5 10

<210> 301
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 301
 Arg Tyr Trp Cys Asn Ile Trp Asp Val Cys Pro Glu Gln
 1 5 10

<210> 302
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 302
 Phe Tyr Trp Cys Ser Gln Trp Gly Leu Cys Lys Tyr Asp
 1 5 10

<210> 303
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 303
 His Tyr Trp Cys Glu Lys Trp Gly Leu Cys Leu Met Ser
 1 5 10

<210> 304
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 304
 His Tyr Trp Cys Gln Lys Trp Gly Val Cys Pro Thr Asp

10

20

30

40

<p>1 5 10</p> <p><210> 305 <211> 13 <212> PRT <213> Artificial Sequence</p> <p><220> <223> immunoglobulin binding polypeptide</p> <p><400> 305 His Tyr Trp Cys Ser Leu Trp Gly Val Cys Asp Ile Asn 1 5 10</p> <p><210> 306 <211> 12 <212> PRT <213> Artificial Sequence</p> <p><220> <223> immunoglobulin binding polypeptide</p> <p><400> 306 Arg Phe Trp Cys Ser Ala Trp Gly Val Cys Pro Ala 1 5 10</p> <p><210> 307 <211> 13 <212> PRT <213> Artificial Sequence</p> <p><220> <223> immunoglobulin binding polypeptide</p> <p><400> 307 Ser Tyr Trp Cys Lys Ile Trp Asp Val Cys Pro Gln Ser 1 5 10</p> <p><210> 308 <211> 13 <212> PRT <213> Artificial Sequence</p> <p><220> <223> immunoglobulin binding polypeptide</p> <p><400> 308 Gln Tyr Trp Cys Ser Ile Trp Lys Val Cys Pro Gly Arg 1 5 10</p> <p><210> 309 <211> 13 <212> PRT <213> Artificial Sequence</p> <p><220> <223> immunoglobulin binding polypeptide</p> <p><400> 309 Tyr Trp Tyr Cys Glu Trp Phe Gly Ala Cys Ile Asn Asp 1 5 10</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
---	---

<210> 310
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 310
 Glu Tyr Trp Cys Lys Tyr Trp Gly Leu Glu Cys Val His Arg
 1 5 10

<210> 311
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 311
 Lys Tyr Trp Cys Thr Gln Trp Gly Leu Lys Cys Asp Lys Gln
 1 5 10

<210> 312
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

20

<400> 312
 Lys Tyr Trp Cys Ser Phe Trp Gly Leu Gln Cys Lys Thr
 1 5 10

<210> 313
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 313
 Arg Tyr Trp Cys Asn Phe Trp Gly Val Asn Cys Asp Ala Asn
 1 5 10

30

<210> 314
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 314
 Asn Tyr Trp Cys Thr His Trp Gly Val Met Cys Leu Asp His
 1 5 10

40

<210> 315
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 315
 Tyr Trp Phe Cys Lys Trp Phe Pro Ser Gln Cys Gln Phe Met
 1 5 10

<210> 316
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 316
 Ala Tyr Trp Cys Lys Gln Trp Gly Leu Lys Cys Gln Leu Gly
 1 5 10

<210> 317
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

20

<400> 317
 Lys Tyr Trp Cys Lys Phe Trp Gly Leu Glu Cys Lys Val Gly
 1 5 10

<210> 318
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 318
 Asn Tyr Trp Cys Thr Glu Trp Gly Leu Asn Cys Asn Asn Lys
 1 5 10

30

<210> 319
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 319
 Ser Tyr Trp Cys Glu Lys Trp Gly Leu Thr Cys Glu Thr His
 1 5 10

<210> 320

40

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 320
 Glu Tyr Trp Cys Arg Ile Trp Gly Leu Gln Cys Asn Met Val
 1 5 10

<210> 321
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 321
 Lys Tyr Trp Cys Lys Lys Trp Gly Val Asn Cys Asp Phe Asn
 1 5 10

<210> 322
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

20

<400> 322
 Lys Tyr Trp Cys Ser Val Trp Gly Val Gln Cys Pro His Ser
 1 5 10

<210> 323
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 323
 Phe Tyr Trp Cys Thr Lys Trp Gly Leu Glu Cys Ile His Ser
 1 5 10

30

<210> 324
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 324
 His Tyr Trp Cys Gln Gln Trp Gly Leu Met Cys Phe Glu Thr
 1 5 10

<210> 325
 <211> 14

40

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 325
 Lys Tyr Trp Cys Lys Arg Trp Gly Leu Met Cys Asn Gly Gly
 1 5 10

<210> 326
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 326
 Ala Tyr Trp Cys Met Thr Trp Gly Val Pro Cys Ile Ser Trp
 1 5 10

<210> 327
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 327
 Lys Tyr Trp Cys Lys Lys Trp Gly Val Asn Cys Asp Phe Asn
 1 5 10

<210> 328
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 328
 Lys Tyr Trp Cys Ser Val Trp Gly Val Gln Cys Pro Asp Ser
 1 5 10

<210> 329
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 329
 Lys Tyr Trp Cys Ser Val Trp Gly Val Gln Cys Pro His Ser
 1 5 10

<210> 330
 <211> 14
 <212> PRT

10

20

30

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 330

Leu Tyr Trp Cys Thr Lys Trp Gly Val Thr Cys Gln Lys Asp
 1 5 10

<210> 331

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

10

<400> 331

Thr Tyr Trp Cys His Lys Trp Gly Val Lys Cys Ala Thr Thr
 1 5 10

<210> 332

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 332

Thr Tyr Trp Cys Thr Phe Trp Glu Leu Pro Cys Asp Pro Ala
 1 5 10

20

<210> 333

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 333

Lys Tyr Trp Cys Thr Lys Trp Gln Leu Asn Cys Glu Glu Val
 1 5 10

<210> 334

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 334

Asn Tyr Trp Cys His Phe Trp Gln Val Pro Cys Leu Glu Gln
 1 5 10

<210> 335

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

40

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 335
 Thr Tyr Trp Cys Val Val Trp Asn Val Pro Cys Ser Thr Asp
 1 5 10

 <210> 336
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide 10

 <400> 336
 Asn Phe Trp Cys His Thr Trp Gly Leu Gln Cys Asn Asp Leu
 1 5 10

 <210> 337
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 337
 Phe Trp Tyr Cys Tyr Trp Phe Asn Glu Lys Cys Lys Thr Pro
 1 5 10 20

 <210> 338
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 338
 Gly Phe Trp Cys Thr Phe Trp Gly Val Thr Cys Glu Ala Gly
 1 5 10

 <210> 339
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence 30

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 339
 Pro His Asn Cys Asp Asp His Tyr Trp Tyr Cys Lys Trp Phe
 1 5 10

 <210> 340
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 40

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 340
 Glu Met Thr Cys Ser Ser His Tyr Trp Tyr Cys Thr Trp Met
 1 5 10

 <210> 341
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 341
 His Ile Asp Cys Lys Thr Asn Tyr Trp Trp Cys Arg Trp Thr
 1 5 10

 <210> 342
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 342
 Glu Met Arg Cys Gly Gln His Phe Trp Tyr Cys Glu Trp Phe
 1 5 10

 <210> 343
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 343
 Asn Tyr Trp Cys Asn Phe Trp Gln Leu Pro Thr Cys Asp Asn Leu
 1 5 10 15

 <210> 344
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 344
 Tyr Trp Tyr Cys Gln Trp Phe Gln Glu Val Asn Lys Cys Phe Asn Ser
 1 5 10 15

 <210> 345
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>

10

20

30

40

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 345

Tyr Tyr Trp Cys Arg His Trp Phe Pro Asp Phe Asp Cys Val His Ser
 1 5 10 15

<210> 346

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 346

Tyr Trp Tyr Cys Ser Trp Phe Pro Asp Arg Pro Asp Cys Pro Leu Tyr
 1 5 10 15

10

<210> 347

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 347

Tyr Trp Tyr Cys Val Trp Phe Asp Asn Ala Asp Gln Cys Val His His
 1 5 10 15

<210> 348

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 348

Ala Ala Thr Cys Ser Thr Ser Tyr Trp Tyr Tyr Gln Trp Phe Cys Thr
 1 5 10 15
 Asp Ser

<210> 349

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 349

Tyr Trp Ala Cys Val Trp Gly Leu Lys Ser Cys Val Asp Arg
 1 5 10

<210> 350

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

40

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 350
 Tyr Trp Arg Cys Val Trp Phe Pro Ala Ser Cys Pro Thr
 1 5 10

 <210> 351
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 351
 Asp Trp Gln Cys Leu Trp Trp Gly Asn Ser Phe Trp Pro Tyr Cys Ala
 1 5 10 15
 Asn Leu

 <210> 352
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 352
 Phe Trp Arg Cys His Trp Trp Pro Glu Arg Cys Pro Val Asp
 1 5 10

 <210> 353
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 353
 Asn Pro Met Cys Trp Lys Lys Ser Trp Trp Glu Asp Ala Tyr Cys Ile
 1 5 10 15
 Asn His

 <210> 354
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

 <400> 354
 Ser Trp Val Cys Trp Lys Ala Lys Trp Trp Glu Asp Lys Arg Cys Ala
 1 5 10 15
 Pro Phe

10

20

30

40

<210> 355
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 355
Ser Arg Gln Cys Trp Lys Glu Leu Trp Trp Thr Asp Gln Met Cys Leu
1 5 10 15
Asp Leu

<210> 356
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

10

<220>
<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 356
Ser Phe Arg Cys Gln Ser Ser Phe Pro Ser Trp Tyr Cys Asp Tyr Tyr
1 5 10 15

<210> 357
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

20

<220>
<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 357
Ser Trp His Cys Gln Asn Thr Tyr Pro Glu Trp Tyr Cys Gln Trp Tyr
1 5 10 15

<210> 358
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 358
Gly Ser Lys Cys Lys Gln Thr Gly Phe Pro Arg Trp Trp Cys Glu His
1 5 10 15
Tyr

30

<210> 359
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 359

40

Asp Gly Val Cys Gly Pro Arg Gly Phe Gly Pro Ala Trp Phe Cys Met
 1 5 10 15
 His Tyr

<210> 360
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 360
 Tyr Ser His Cys Ala Thr His Tyr Pro Thr Trp Tyr Cys Leu His Phe
 1 5 10 15

10

<210> 361
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 361
 Phe Cys Asn Cys Trp Gly Ser His Glu Phe Thr Phe Cys Val Asp Asp
 1 5 10 15

<210> 362
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 362
 Pro Gly Trp Cys Tyr Ser Asp Ile Trp Gly Phe Lys His Phe Cys Asn
 1 5 10 15
 Leu Asp

<210> 363
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 363
 Asp Ser Ser Cys Ile Lys His His Asn Lys Val Thr Cys Phe Phe Pro
 1 5 10 15

<210> 364
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

40

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 364

Arg Trp Ser Cys Trp Gly Val Trp Gly Cys Val Trp Val
1 5 10

<210> 365

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 365

Pro Val Asp Cys Lys His His Phe Trp Trp Cys Tyr Trp Asn
1 5 10

10

<210> 366

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 366

Ser Trp Asn Cys Ala Phe His His Asn Glu Met Val Trp Cys Asp Asp
1 5 10 15

Gly

20

<210> 367

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 367

Tyr Trp Tyr Cys Trp Phe Pro Asp Arg Pro Glu Cys Pro Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 368

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 368

Gly Asp Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp
1 5 10 15

Cys Asp Asn His Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
20 25

<210> 369

<211> 29

<212> PRT

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 369

Gly	Asp	Arg	Arg	Ala	Cys	Ser	Arg	Asp	Trp	Ser	Gly	Ala	Leu	Val	Trp
1				5				10						15	
Cys	Ala	Gly	His	Glu	Pro	Gly	Pro	Glu	Gly	Gly	Gly	Lys			
			20					25							

<210> 370

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 370

Ala	Gly	Lys	Tyr	Trp	Cys	Ser	Phe	Trp	Gly	Leu	Gln	Cys	Lys	Thr	Gly
1				5				10						15	
Thr	Pro	Gly	Pro	Glu	Gly	Gly	Gly	Lys							
			20					25							

<210> 371

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

20

<400> 371

Ala	Gly	Ser	Tyr	Trp	Cys	Lys	Ile	Trp	Asp	Val	Cys	Pro	Gln	Ser	Pro
1				5				10						15	
Gly	Pro	Glu	Gly	Gly	Gly	Lys									
			20												

<210> 372

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

30

<400> 372

Ala	Gly	Lys	Tyr	Trp	Cys	Asn	Leu	Trp	Gly	Val	Cys	Pro	Ala	Asn	Pro
1				5				10						15	
Gly	Pro	Glu	Gly	Gly	Gly	Lys									
			20												

<210> 373

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

40

<400> 373

Ala Gly Thr Tyr Trp Cys Thr Phe Trp Glu Leu Pro Cys Asp Pro Ala
 1 5 10 15
 Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20

<210> 374

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 374

Ala Gly Pro His Asn Cys Asp Asp His Tyr Trp Tyr Cys Lys Trp Phe
 1 5 10 15
 Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20

10

<210> 375

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 375

Ala Gly Ala Ala Thr Cys Ser Thr Ser Tyr Trp Tyr Tyr Gln Trp Phe
 1 5 10 15
 Cys Thr Asp Ser Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20 25

20

<210> 376

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 376

Ala Gly Tyr Trp Tyr Cys Trp Phe Pro Asp Arg Pro Glu Cys Pro Leu
 1 5 10 15
 Tyr Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

30

<210> 377

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 377

Ala Gly Pro Val Asp Cys Lys His His Phe Trp Trp Cys Tyr Trp Asn
 1 5 10 15
 Gly Thr Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

40

<210> 378
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 378
 Gly Asp Asp Asp His Cys Tyr Trp Phe Arg Glu Trp Phe Asn Ser Glu
 1 5 10 15
 Cys Pro His Gly Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20 25

<210> 379
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 379
 Ala Gly Tyr Tyr Trp Cys Asn Tyr Trp Gly Leu Cys Pro Asp Gln Gly
 1 5 10 15
 Thr Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20 25

<210> 380
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 380
 Gly Asp Ser Trp Val Cys Trp Lys Ala Lys Trp Trp Glu Asp Lys Arg
 1 5 10 15
 Cys Ala Pro Phe Gly Thr Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20 25 30

<210> 381
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 381
 Gly Asp Asn Pro Met Cys Trp Lys Lys Ser Trp Trp Glu Asp Ala Tyr
 1 5 10 15
 Cys Ile Asn His Gly Thr Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20 25 30

<210> 382
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

20

30

40

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide
 <400> 382
 Gly Asp Ser Trp Asn Cys Ala Phe His His Asn Glu Met Val Trp Cys
 1 5 10 15
 Asp Asp Gly Gly Thr Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 383
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 383
 Gly Asp Trp Gly Glu Cys Thr Val Thr Ser Tyr Gly Glu Leu Ile Trp
 1 5 10 15
 Cys Gly Gly Leu Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 384
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 384
 Gly Asp Asn Pro Met Cys Trp Arg Ala Ser Trp Trp Glu Asp Ala Tyr
 1 5 10 15
 Cys Ile Asn His Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 385
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 385
 Gly Asp Asn Pro Met Cys Trp Arg Ala His Trp Trp Glu Asp Ala Tyr
 1 5 10 15
 Cys Ile Asn His Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 386
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<221> VARIANT

10

20

30

40

<222> 27
 <223> Xaa = J-NH2 = C- terminal group
 -NH-(CH2CH2O)2-CH2CH2-NH2

<400> 386
 Gly Asp Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp
 1 5 10 15
 Cys Asp Asn His Glu Pro Gly Pro Glu Gly Xaa
 20 25

<210> 387
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

10

<221> VARIANT
 <222> 24
 <223> Xaa = J-Su-J-NH2 = C-terminal group
 -NH-(CH2CH2O)2-CH2CH2-NH-C:O-CH2CH2-C:O-NH-(CH2CH2O)2-CH2CH2-NH2

<400> 387
 Gly Asp Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp
 1 5 10 15
 Cys Asp Asn His Glu Pro Gly Xaa
 20

<210> 388
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<221> VARIANT
 <222> 24
 <223> Xaa = J-Z-J-NH2 = C-terminal group
 -NH-(CH2CH2O)2-CH2CH2-NH-C:O-CH2-O-(CH2CH2O)2-CH2-C:O-NH-(CH2CH2O)2-CH2CH2-NH2

<400> 388
 Gly Asp Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp
 1 5 10 15
 Cys Asp Asn His Glu Pro Gly Xaa
 20

30

<210> 389
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<221> VARIANT
 <222> 21
 <223> Xaa = C-terminal group -NH-(CH2CH2O)2-CH2CH2-NH2,

40

-J-Su-J-NH2

<400> 389

Gly Asp Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp
 1 5 10 15
 Cys Asp Asn His Xaa
 20

<210> 390

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

10

<221> VARIANT

<222> 21

<223> Xaa = J-Su-J-NH2 = C-terminal group
 -NH-(CH2CH2O)2-CH2CH2-NH-C:O-CH2CH2-C:O-NH-(CH2CH2
 O)2-CH2CH2-NH2

<400> 390

Gly Asp Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp
 1 5 10 15
 Cys Asp Asn His Xaa
 20

<210> 391

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<221> VARIANT

<222> 21

<223> Xaa = J-Z-J -NH2 = C-terminal group
 -NH-(CH2CH2O)2-CH2CH2-NH-C:O-CH2-O-(CH2CH2O)2-CH2-
 C:O-NH-(CH2CH2O)2-CH2CH2-NH2

<400> 391

Gly Asp Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp
 1 5 10 15
 Cys Asp Asn His Xaa
 20

30

<210> 392

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 392

Asp His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp
 1 5 10 15
 Asn His Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20 25

40

<210> 393
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 393
 Glu His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp
 1 5 10 15
 Asn His Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 394
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 394
 Ala Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His
 1 5 10 15
 Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 395
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 395
 Thr Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His
 1 5 10 15
 Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 396
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 396
 Glu Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His
 1 5 10 15
 Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 397
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

20

30

40

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide
 <400> 397
 Val Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His
 1 5 10 15
 Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 398
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<221> ACETYLATION
 <222> 1

<221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa =[Nle] = norleucine

<400> 398
 Xaa Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His
 1 5 10 15
 Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 399
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 399
 Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His Glu
 1 5 10 15
 Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20

<210> 400
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 400
 Ser Arg Ala Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala
 1 5 10 15
 Gly His Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 401
 <211> 27

10

20

30

40

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide
 <400> 401
 Arg Arg Ala Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala
 1 5 10 15
 Gly His Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20 25

<210> 402
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide
 <400> 402
 Glu Arg Ala Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala
 1 5 10 15
 Gly His Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20 25

<210> 403
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide
 <400> 403
 Ala Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His
 1 5 10 15
 Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20 25

<210> 404
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide
 <400> 404
 Thr Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His
 1 5 10 15
 Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Lys
 20 25

30

<210> 405
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

40

<400> 405

Glu Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His
 1 5 10 15
 Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

<210> 406

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 406

Val Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His
 1 5 10 15
 Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

10

<210> 407

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 407

Gly Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His
 1 5 10 15
 Glu Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20 25

20

<210> 408

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 408

Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His Glu
 1 5 10 15
 Pro Gly Pro Glu Gly Gly Gly Lys
 20

30

<210> 409

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 409

Asn Pro Met Cys Trp Arg Ala Ser Trp Trp Glu Asp Ala Tyr Cys Ile
 1 5 10 15
 Asn His

40

<210> 410
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 410
 Asn Pro Met Cys Trp Arg Ala His Trp Trp Glu Asp Ala Tyr Cys Ile
 1 5 10 15
 Asn His

10

<210> 411
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 411
 Glu His Met Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp
 1 5 10 15
 Asn His

<210> 412
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 412
 Ala Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His
 1 5 10 15

<210> 413
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 413
 Thr Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His
 1 5 10 15

<210> 414
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

40

<400> 414
 Glu Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His
 1 5 10 15

<210> 415
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 415
 Val Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His
 1 5 10 15

10

<210> 416
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa = [Nle] = norleucine

<400> 416
 Xaa Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys Asp Asn His
 1 5 10 15

20

<210> 417
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 417
 Ser Arg Ala Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala
 1 5 10 15
 Gly His

30

<210> 418
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 418
 Glu Arg Ala Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala
 1 5 10 15
 Gly His

40

<210> 419
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 419
 Ala Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His
 1 5 10 15

<210> 420
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 420
 Thr Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His
 1 5 10 15

<210> 421
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

20

<400> 421
 Glu Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His
 1 5 10 15

<210> 422
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 422
 Val Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His
 1 5 10 15

30

<210> 423
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin binding polypeptide

<400> 423
 Gly Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys Ala Gly His
 1 5 10 15

<210> 424

40

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> template sequence

<221> VARIANT
 <222> 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14 15
 <223> Xaa = any amino acid except cysteine (Cys)

<400> 424
 Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

<210> 425
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Exemplary motif

<221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa = Asn, Leu, or Phe, preferably Leu

<221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Met,
 Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, Ile, Leu, Lys,
 Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
 <222> 7
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, Gly, Ile, Leu, Lys,
 Met, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
 <222> 8
 <223> Xaa = Phe, Trp, or Tyr, preferably Trp

<221> VARIANT
 <222> (10)...(0)
 <223> Xaa = His or Phe, preferably Phe

<221> VARIANT
 <222> (11)...(0)
 <223> Xaa = Asp, Glu, or Thr

<221> VARIANT
 <222> (12)...(0)
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Met,
 Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, or Val

<221> VARIANT
 <222> (13)...(0)

10

20

30

40

<223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
 <222> {14}...(0)
 <223> Xaa = Ala, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
 <222> {16}...(0)
 <223> Xaa = Pro or Ser

<221> VARIANT
 <222> {17}...(18)
 <223> Xaa = Asn or Pro

<400> 425
 Xaa Arg Xaa Cys Xaa Thr Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa

<210> 426
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> exemplary motif

<221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Asn, Gly, His, Leu, Phe, Pro, Ser, Trp, Tyr

<221> VARIANT
 <222> 2
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Asn, Gly, His, Phe, Pro, Ser, or Trp

<221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Glu, Leu, or Met, preferably Met

<221> VARIANT
 <222> 7
 <223> Xaa = Trp or Tyr, preferably Trp

<221> VARIANT
 <222> 10
 <223> Xaa = Gln, Glu, or Lys

<221> VARIANT
 <222> {11}...(0)
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Glu, Gly, His, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, or Trp

<221> VARIANT
 <222> {12}...(0)
 <223> Xaa = Met, Pro, or Ser, preferably Pro

10

20

30

40

<221> VARIANT
 <222> (13)...(0)
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys,
 Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, or Val

<221> VARIANT
 <222> (14)...(0)
 <223> Xaa = His or Pro, preferably Pro

<221> VARIANT
 <222> (16)...(0)
 <223> Xaa = Ala, Arg, Asn, Asp, Glu, Gly, His, Ile, Leu,
 Lys, Met, Pro, Ser, Thr, Trp, or Tyr

<221> VARIANT
 <222> (18)...(0)
 <223> Xaa = Ala, Asn, Asp, Gly, His, Leu, Phe, Pro, Ser,
 Trp, or Tyr

<400> 426
 Xaa Xaa Xaa Cys Ile Thr Xaa Pro Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa
 1 5 10 15
 Asn Xaa

<210> 427
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin segment

<400> 427
 Cys Val Tyr Thr Thr Trp Gly Glu Leu Ile Trp Cys
 1 5 10

<210> 428
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin segment

<400> 428
 Cys Ser Arg Asp Trp Ser Gly Ala Leu Val Trp Cys
 1 5 10

<210> 429
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> immunoglobulin segment

<400> 429
 Cys Ser Thr Ser Tyr Trp Tyr Tyr Gln Trp Phe Cys
 1 5 10

10

20

30

40

<210> 430
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> serum albumin - binding agent

<400> 430
Arg Asn Met Cys Lys Phe Ser Trp Ile Arg Ser Pro Ala Phe Cys Ala
1 5 10 15
Arg Ala

【 図 1 】

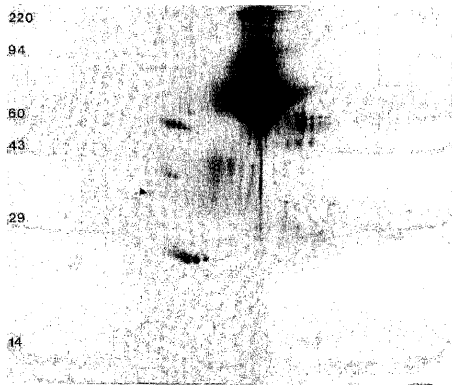


FIG. 1

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US03/18896
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(7) : C07K 14/765 US CL : 435/7.1, 7.21; 436/501, 518; According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 435/7.1, 7.21; 436/501, 518;		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 00/37501 A1 (AMERSHAM PHARMACIA BIOTECH AB) 29 June 2000, see entire document.	1-67
Y	BO AKERSTROM et al. Definition of IgG- and Albumin-binding regions of Streptococcal protein G. The Journal of Biological Chemistry. 05 October 1987, Vol. 262, No. 28, pages 13388-13391, see entire document.	1-67
Y	VENERANDO et al. Interaction of ganglioside Gm1 with human and fetal calf sera formation of ganglioside-serum albumin complexes. Biochimica et Biophysica Acta. 1982, Vol. 692, pages 18-26, see entire document.	1-67
Y	US 5,538,897 A (YATES, III et al.) 23 July 1996, see entire document.	1-67
A	YOUSIF et al. Staphylococcal neutral phosphatase: A highly cationic molecule with binding properties for immunoglobulin. APMIS. 1994, Vol. 102, pages 891-900, see entire document.	1-67
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 23 September 2003 (23.09.2003)		Date of mailing of the international search report 03 NOV 2003
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer Lisa A. Daniels-Cook Telephone No. (703) 308-0196

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US03/18896

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
East and West Patent Database Search.
STN- biosis, caplus, erubase, medline, cancerlit

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA, GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ, EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,M W,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100096013

弁理士 富田 博行

(72)発明者 サト, アーロン・ケイ

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02145, ソマービル, ペンブローク・ストリート 11, ナンバー 2

(72)発明者 ドーソン, ブルース・エム

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02482, ウェズリー, オーバーブルック・ドライブ 111

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2006507477A5	公开(公告)日	2006-06-22
申请号	JP2004513324	申请日	2003-06-16
[标]申请(专利权)人(译)	戴埃克斯有限公司		
申请(专利权)人(译)	模具斧, 合作社		
[标]发明人	サトアーロンケイ ドーソンプルースエム		
发明人	サト,アーロン・ケイ ドーソン,ブルース・エム		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	G01N33/6848 G01N33/564 G01N33/68 G01N33/6851 G01N33/6854		
FI分类号	G01N33/53.D G01N33/53.N G01N33/566		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫		
优先权	60/388642 2002-06-14 US		
其他公开文献	JP2006507477A		

摘要(译)

公开了一种用于评估样品的方法，所述样品包括与血清蛋白和血清蛋白物理相关的一种或多种化合物等。该方法可包括使用与血清蛋白特异性相互作用的肽配体，以分析由血清蛋白及其相关化合物形成的复合物。