

(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2014-505014

(P2014-505014A)

(43) 公表日 平成26年2月27日(2014.2.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C07K 14/755 (2006.01)</b>	C07K 14/755 ZNA	4B024
<b>C07K 19/00 (2006.01)</b>	C07K 19/00	4B063
<b>C12N 15/09 (2006.01)</b>	C12N 15/00 A	4C084
<b>C12Q 1/02 (2006.01)</b>	C12Q 1/02	4H045
<b>A61K 38/36 (2006.01)</b>	A61K 37/46	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 74 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-536845 (P2013-536845)	(71) 出願人	502178849
(86) (22) 出願日	平成23年10月27日 (2011.10.27)		バクスター、インターナショナル、インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成25年6月6日 (2013.6.6)		アメリカ合衆国60015イリノイ、ディヤフィールド、バクスターパークウェイ1
(86) 国際出願番号	PCT/US2011/058165	(71) 出願人	512107787
(87) 国際公開番号	W02012/058480		バクスター ヘルスケア エス. エー.
(87) 国際公開日	平成24年5月3日 (2012.5.3)		スイス国 グラットパーク (オブフィコン)
(31) 優先権主張番号	61/407, 402		サーガワーシュトラーセ130
(32) 優先日	平成22年10月27日 (2010.10.27)	(74) 代理人	100102978
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 清水 初志
(31) 優先権主張番号	61/502, 476	(74) 代理人	100102118
(32) 優先日	平成23年6月29日 (2011.6.29)		弁理士 春名 雅夫
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100160923
(31) 優先権主張番号	61/467, 894		弁理士 山口 裕孝
(32) 優先日	平成23年3月25日 (2011.3.25)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫寛容誘導および免疫診断のためのF V I I Iペプチド

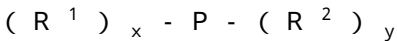
## (57) 【要約】

本発明は、血友病Aなどを有する患者においてF V I I Iに対する免疫応答を低下させるためまたはヒトF V I I Iに対する寛容を誘導するために使用することができるペプチドに関する。さらに該ペプチドを、免疫診断目的で、F V I I I特異的C D 4 + T細胞を検出して補充療法中および免疫寛容誘導療法中の血友病Aを有する患者をモニターするために使用することもできる。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

それを必要とする対象において F V I I I に対する免疫寛容を誘導する方法であって、  
該対象に、



からなるアミノ酸配列を有するペプチドの治療有効量を投与するステップ

を含み、

式中、

P は、SEQ ID NO : 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、

R<sup>1</sup> は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

R<sup>2</sup> は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

x および y はそれぞれ独立して、0 または 1 である、

方法。

## 【請求項 2】

P が、SEQ ID NO : 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

P が、SEQ ID NO : 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 4】

P が、SEQ ID NO : 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 5】

P が、SEQ ID NO : 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 6】

x および y がともに 0 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 7】

x が 1 であり、y が 0 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 8】

x が 0 であり、y が 1 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 9】

x および y がともに 1 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記ペプチドが 9 ~ 100 個のアミノ酸からなる、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 11】

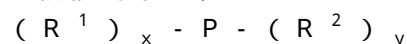
前記ペプチドが 9 ~ 50 個のアミノ酸からなる、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 12】

前記ペプチドが 9 ~ 25 個のアミノ酸からなる、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 13】

前記対象に、



からなるアミノ酸配列を有する第 2 のペプチドの治療有効量を投与するステップ

をさらに含み、

式中、

P は、SEQ ID NO : 10、68、159、250、344、477、568、659、および 740 から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、

10

20

30

40

50

$R^1$  は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

$R^2$  は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

$x$  および  $y$  はそれぞれ独立して、0または1である、

請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

前記薬学的組成物の投与が、前記対象における抗FVIII抗体の発生を防止する、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項15】

前記薬学的組成物の投与が、前記対象中に存在する抗FVIII抗体の量を減少させる、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項16】

アミノ酸配列：

$(R^1)_x - P - (R^2)_y$

からなる、ペプチドであって、

式中、

Pは、SEQ ID NO：344の少なくとも9個の連続するアミノ酸に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、

$R^1$  は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

$R^2$  は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

$x$  および  $y$  はそれぞれ独立して、0または1である、

20

ペプチド。

【請求項17】

Pが、SEQ ID NO：344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項16に記載のペプチド。

【請求項18】

Pが、SEQ ID NO：344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項16に記載のペプチド。

【請求項19】

Pが、SEQ ID NO：344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である、請求項16に記載のペプチド。

30

【請求項20】

Pが、SEQ ID NO：344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である、請求項16に記載のペプチド。

【請求項21】

$x$  および  $y$  がともに0である、請求項16～20のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項22】

$x$  が1であり、 $y$  が0である、請求項16～20のいずれか1項に記載のペプチド。

40

【請求項23】

$x$  が0であり、 $y$  が1である、請求項16～20のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項24】

$x$  および  $y$  がともに1である、請求項16～20のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項25】

9～100個のアミノ酸からなる、請求項16～20のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項26】

9～50個のアミノ酸からなる、請求項25に記載のペプチド。

【請求項27】

50

9 ~ 25 個のアミノ酸からなる、請求項 25 に記載のペプチド。

【請求項 28】

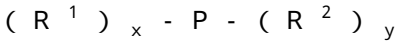
請求項 16 ~ 27 のいずれか 1 項に記載のペプチドを含む、組成物。

【請求項 29】

薬学的投与のために製剤化される、請求項 28 に記載の組成物。

【請求項 30】

アミノ酸配列：



からなる第 2 のポリペプチドをさらに含み、

式中、

P は、SEQ ID NO : 10、68、159、250、344、477、568、659、および 740 から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、

$R^1$  は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

$R^2$  は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、

x および y はそれぞれ独立して、0 または 1 である、

請求項 28 または 29 に記載の組成物。

10

【請求項 31】

(a) 請求項 16 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の F V I I I ペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む細胞の培養物を供給するステップ、および

20

(b) 該細胞の培養物において該ペプチドを発現させるステップを含む、F V I I I ペプチドを作製する方法。

【請求項 32】

(a) M H C クラス I I 多量体と複合体を形成したペプチドと複数の C D 4 + T 細胞を混合するステップであって、該ペプチドが、請求項 16 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の F V I I I ペプチドである、ステップ、および

(b) 該 M H C クラス I I 多量体と複合体を形成した該ペプチドに対して特異的な該複数の C D 4 + T 細胞のメンバーのうち少なくとも 1 つを特定するステップ

を含む、F V I I I ペプチド特異的 T 細胞を特定する方法。

30

【請求項 33】

前記 M H C クラス I I 多量体が M H C クラス I I 四量体である、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

前記ペプチドまたは前記 M H C クラス I I 多量体が検出可能部分をさらに含む、請求項 32 または 33 に記載の方法。

【請求項 35】

前記ペプチドに対して特異的な少なくとも 1 つの前記 C D 4 + T 細胞を単離するステップをさらに含む、請求項 32 ~ 34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 36】

フローサイトメトリーを用いて前記 C D 4 + T 細胞を単離する、請求項 35 に記載の方法。

40

【請求項 37】

請求項 16 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の第 V I I I 因子ペプチドと、

第 2 のペプチドと

を含む、融合タンパク質。

【請求項 38】

前記第 2 のペプチドがレポーターペプチドである、請求項 37 に記載の融合タンパク質

。

【請求項 39】

核酸によってコードされる、請求項 37 または 38 に記載の融合タンパク質。

50

## 【請求項 40】

前記 F V I I I ペプチドが前記第 2 のペプチドと化学的に連結している、請求項 37 または 38 に記載の融合タンパク質。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## 関連出願の相互参照

本出願は、2010年10月27日に出願された米国仮特許出願第61/407,402号、2011年3月25日に出願された米国仮特許出願第61/467,894号、および2011年6月29日に出願された米国仮特許出願第61/502,476号に基づく優先権を主張するものであり、前記出願の開示内容は参照によりあらゆる目的で全体が本明細書に援用される。

10

## 【0002】

合衆国政府に支援された研究または開発の下でなされた発明の権利に関する陳述

該当なし。

## 【0003】

コンパクトディスクで提出された付属書類の「配列リスト」、表、またはコンピュータプログラム一覧の参照

該当なし。

20

## 【背景技術】

## 【0004】

## 発明の背景

第 V I I I 因子 ( F V I I I ) は、血漿中に見られるタンパク質であり、血液凝固をもたらす反応のカスケードにおいて補因子として機能する。血友病 A は、機能的 F V I I I タンパク質の減少または欠乏によって引き起こされ、およそ 5000 人 ~ 10000 人に 1 人の男性が侵される最も一般的な出血性障害である。血友病の臨床症状は、高頻度の筋肉内および関節内出血であり、外傷が命にかかわる状況につながる恐れすらある。現在、血友病の有効な治療には、組換えまたは血漿由来の F V I I I 製剤の静脈内適用を用いた、不足している F V I I I タンパク質の補充がある。このような製剤は、一般に、出血症状の発現に対して投与されるか ( オンデマンド療法 )、または制御不良の出血を防ぐために高頻度の定期的間隔で投与される ( 予防 )。残念なことに、中和抗 F V I I I 抗体 ( F V I I I 阻害物質 ) の出現は、F V I I I 製剤による補充療法における主な合併症である。治療を受けている患者のおよそ 25% は、F V I I I タンパク質に対するこの免疫を生じ、そのためさらに出血を制御することが非常に困難になる。

30

## 【0005】

F V I I I タンパク質に対するこの免疫応答の原因は完全には解明されていないが、患者の免疫系の特性は、治療反応に影響を与える恐れがある。通常は、免疫系は特定の抗原、例えば「自己」抗原に対する寛容を生じる。この特性がなければ、自己抗原が外来抗原として認識された場合に自己免疫疾患が生じるため、この特性は重要である。とりわけ、血友病 A の患者は、F V I I I 遺伝子に遺伝子異常を有し、これにより免疫系は投与された F V I I I タンパク質を「自己」抗原として認識しない。したがって、凝固因子補充療法において F V I I I タンパク質が投与されたとき、患者の免疫系は、F V I I I タンパク質を外來抗原または変性自己タンパク質として認識し、それに応じて抗 F V I I I 抗体を発生する。

40

## 【0006】

F V I I I 阻害物質、すなわち抗 F V I I I 抗体は、F V I I I 特異的 B 細胞由来の形質細胞によって生成される。B 細胞は、増殖して、抗 F V I I I 抗体を生成する形質細胞に分化するために、活性化 C D 4 + T 細胞の助けを必要とする。例えば、F V I I I タンパク質は、B リンパ球および T リンパ球によって異なる方式で認識される。抗 F V I I I 抗体の誘導は、T ヘルパー細胞に依存する。B 細胞は、全タンパク質エピトープをその特

50

異的B細胞受容体によって認識する。一方T細胞は、抗原提示細胞の表面に存在するMHCクラスII分子と複合体を形成した、プロセシングされたペプチドの形で、タンパク質を認識する。それぞれのCD4<sup>+</sup>T細胞クローンは、1つのみの特異的ペプチド-MHC複合体を認識する。ペプチドをT細胞に提示するために、MHCクラスII分子は、様々な長さのペプチドを収め、細胞表面に提示させる、開放した結合溝を有する。さらに、MHCクラスIIタンパク質は、種々のハプロタイプのための異なる4つの結合ポケットを含む(Jones et al., Nature Rev. Immunol. 6:271-282(2006)(非特許文献1))。特定のアミノ酸のみがこれらの結合ポケット内に収まり、結合ペプチドの最小サイズはアミノ酸9個である。特に、異なるMHCクラスIIハプロタイプは、異なるペプチドを提示することができる。したがって、患者のMHCクラスIIハプロタイプが、抗FVII抗体を発生する危険性に影響を及ぼす可能性が高い。実際に、いくつかの研究は、ヒトMHCクラスIIハプロタイプHLA-DRB1\*1501と抗FVII抗体発生の危険性の増加との相関が存在することを示している(Pavlova et al., J. Thromb. Haemost. 7:2006-2015(2009)(非特許文献2)、Oldenburg et al., Thromb. Haemost. 77:238-242(1997)(非特許文献3)、Hay et al., Thromb. Haemost. 77:234-237(1997)(非特許文献4))。

10

## 【0007】

特定のアプローチが、FVIIタンパク質投与による血友病の治療に関連する困難に対処するために研究されている。例えば、WO 03/087161(特許文献1)は、タンパク質上に存在する潜在的T細胞エピトープの数を減少または排除することによってFVIIタンパク質の免疫特性が改変された、改変FVIIタンパク質を開示している。FVIIタンパク質に沿ってT細胞エピトープを含む複数の領域が特定されているが、これには例えばFVII<sup>2030-2044</sup>が含まれる。この開示によると、そのような領域の除去は、抗FVII抗体の生成を誘導しない機能的FVIIタンパク質を提供するために使用できる。また、WO 09/071886(特許文献2)も、患者の免疫応答に關与するHLA-DR2結合ペプチドを生じると予想されるFVIIタンパク質の特定の領域、例えば、FVII<sup>475-495</sup>、FVII<sup>542-562</sup>、FVII<sup>1785-1805</sup>、およびFVII<sup>2158-2178</sup>を開示している。これらのペプチドは、患者の免疫寛容の誘導における使用可能性のために特定された。

20

30

## 【0008】

免疫応答に關与するFVIIタンパク質の領域の特定においては進歩が見られるが、例えば、血友病Aなどを有する患者を治療するために使用することができる他の治療用ペプチドおよび手法を開発するために使用することができるFVIIタンパク質の他の領域を特定する必要性は依然として存在する。

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0009】

【特許文献1】WO 03/087161

【特許文献2】WO 09/071886

## 【非特許文献】

## 【0010】

【非特許文献1】Jones et al., Nature Rev. Immunol. 6:271-282(2006)

【非特許文献2】Pavlova et al., J. Thromb. Haemost. 7:2006-2015(2009)

【非特許文献3】Oldenburg et al., Thromb. Haemost. 77:238-242(1997)

【非特許文献4】Hay et al., Thromb. Haemost. 77:234

40

50

- 237 (1997)

【発明の概要】

【0011】

本発明は、F V I I I 分子に対する免疫応答に関連する F V I I I タンパク質の領域の特定に基づく。より具体的には、F V I I I タンパク質のその領域を含む F V I I I ペプチドは、血友病 A などを有する患者において、ヒト F V I I I に対する寛容を誘導するために使用することができる。さらに、この F V I I I ペプチドは、免疫診断目的で、補充療法中および免疫寛容誘導療法中の血友病 A を有する患者をモニターするために使用することもできる。

【0012】

一態様において、本発明は、それを必要とする対象において F V I I I に対する免疫寛容を誘導する方法を提供し、この方法は、該対象に、 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$  からなるアミノ酸配列を有するペプチドの治療有効量を投与するステップを含み、式中、P が、SEQ ID NO: 10、68、344、および 740 から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$  が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$  が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である。

【0013】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 10 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0014】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 10 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0015】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 68 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0016】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 68 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0017】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 68 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0018】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0019】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0020】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 344 の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0021】

上記で提供される方法の一実施形態において、P は、SEQ ID NO: 344 の少

10

20

30

40

50

なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0022】

上記で提供される方法の一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85%の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0023】

上記で提供される方法の一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90%の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0024】

上記で提供される方法の一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95%の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0025】

上記で提供される方法の一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

【0026】

上記で提供される方法の一実施形態において、xおよびyはともに0である。

【0027】

上記で提供される方法の一実施形態において、xは1であり、yは0である。

【0028】

上記で提供される方法の一実施形態において、xは0であり、yは1である。

【0029】

上記で提供される方法の一実施形態において、xおよびyはともに0である。

【0030】

上記で提供される方法の一実施形態において、ペプチドは9~100個のアミノ酸からなる。

【0031】

上記で提供される方法の一実施形態において、ペプチドは9~50個のアミノ酸からなる。

【0032】

上記で提供される方法の一実施形態において、ペプチドは9~25個のアミノ酸からなる。

【0033】

上記で提供される方法の一実施形態において、薬学的組成物の投与は、対象における抗FVII抗体の発生を防止する。

【0034】

上記で提供される方法の一実施形態において、薬学的組成物の投与は、対象中に存在する抗FVII抗体の量を減少させる。

【0035】

一態様において、本発明は、アミノ酸配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$  からなり、式中、Pが、SEQ ID NO: 10、68、159、250、344、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ペプチドを提供する。

【0036】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 10の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90%の同一性を有するアミノ酸配列である。

10

20

30

40

50

## 【0037】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 10の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

## 【0038】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 68の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。

## 【0039】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 68の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。

10

## 【0040】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 68の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

## 【0041】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。

## 【0042】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。

20

## 【0043】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。

## 【0044】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 344の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

## 【0045】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。

30

## 【0046】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。

## 【0047】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。

40

## 【0048】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 740の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列と同一のアミノ酸配列である。

## 【0049】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、xおよびyはともに0である。

## 【0050】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、xは1であり、yは0である。

## 【0051】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、xは0であり、yは1である。

50

## 【0052】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、 $x$ および $y$ はともに0である。

## 【0053】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、ペプチドは9～100個のアミノ酸からなる。

## 【0054】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、ペプチドは9～50個のアミノ酸からなる。

## 【0055】

上記で提供されるペプチドの一実施形態において、ペプチドは9～25個のアミノ酸からなる。

10

## 【0056】

一態様において、本発明は、本明細書に記載するペプチドを含む組成物を提供する。

## 【0057】

上記で提供される組成物の一実施形態において、組成物は薬学的投与のために製剤化される。

## 【0058】

上記で提供される組成物の一実施形態において、組成物は第2のポリペプチドをさらに含み、該第2のポリペプチドは、アミノ酸配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ からなり、式中、 $P$ は、SEQ ID NO: 10、68、159、250、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$ は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$ は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $x$ および $y$ はそれぞれ独立して、0または1である。

20

## 【0059】

一態様において、本発明は、FVIIIペプチドを作製する方法を提供し、この方法は、(a)請求項24～41のいずれか1項に記載のFVIIIペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む細胞の培養物を供給するステップ、および(b)該細胞の培養物において該ペプチドを発現させるステップを含む。

## 【0060】

一態様において、本発明は、FVIIIペプチド特異的T細胞を特定する方法を提供し、この方法は、(a)MHCクラスII多量体と複合体を形成した該ペプチドと複数のCD4+T細胞を混合するステップであって、該ペプチドが、請求項24～41のいずれか1項に記載のFVIIIペプチドである、ステップ、および(b)MHCクラスII多量体と複合体を形成した該ペプチドに対して特異的な該複数のCD4+T細胞のメンバーのうちの少なくとも1つを特定するステップを含む。

30

## 【0061】

上記で提供される方法の一実施形態において、MHCクラスII多量体はMHCクラスII四量体である。

## 【0062】

上記で提供される方法の一実施形態において、ペプチドまたはMHCクラスII多量体は、検出可能部分をさらに含む。

40

## 【0063】

上記で提供される方法の一実施形態において、方法は、当該ペプチドに対して特異的な少なくとも1つのCD4+T細胞を単離するステップをさらに含む。

## 【0064】

上記で提供される方法の一実施形態において、CD4+T細胞はフローサイトメトリーを用いて単離される。

## 【0065】

一態様において、本発明は、本明細書において提供されるFVIIIペプチドと第2の

50

ペプチドとを含む融合タンパク質を提供する。

【0066】

上記で提供される方法の一実施形態において、第2のペプチドはレポーターペプチドである。

【0067】

上記で提供される方法の一実施形態において、融合タンパク質は核酸によってコードされる。

【0068】

上記で提供される方法の一実施形態において、FV III ペプチドは第2のペプチドと化学的に連結している。

【0069】

一態様において、本明細書において提供されるFV III ペプチドを使用して、FV III 阻害物質の発生を防止するためにヒトFV III に対する免疫寛容を誘導する。

【0070】

一態様において、本明細書において提供されるFV III ペプチドを使用して、確立されたFV III 阻害物質を有する患者を治療するためにヒトFV III に対する寛容を誘導する。

【0071】

一態様において、本明細書において提供されるFV III ペプチドを使用して、補充療法中または免疫寛容誘導療法中の患者の免疫モニタリングにおけるFV III 特異的T細胞の直接染色に好適な試薬（例えば、MHCクラスII多量体またはMHCクラスII四量体）を作成する。

【0072】

一態様において、本明細書において提供されるFV III ペプチドを使用して、抗原特異的T細胞を特定する。一実施形態において、これらの試薬を使用して、インビトロ環境およびエクスピボ環境でFV III 特異的T細胞を追跡することができる。別の実施形態において、これらの試薬を使用して、FV III 特異的T細胞を単離し、さらに特徴付けることができる。一実施形態において、これらの目的で蛍光活性化細胞選別法（FACS）または単一細胞PCRを使用することができる。

【0073】

一態様において、免疫寛容誘導療法中のFV III 特異的T細胞の免疫モニタリングに、本明細書において提供されるFV III ペプチドを使用することができる。

【0074】

一態様において、FV III 治療中のFV III 特異的T細胞の免疫モニタリングに、本明細書において提供されるFV III ペプチドを使用することができる。

【0075】

一態様において、本明細書において提供されるFV III ペプチドは、FV III 阻害物質を阻止するための新しい免疫調節薬の臨床開発において、FV III 特異的T細胞の免疫診断に使用される。

【発明を実施するための形態】

【0076】

発明の詳細な説明

I. 序論

本発明は、例えば血友病Aを有する患者において、FV III タンパク質に対する寛容を誘導するために使用することができる可第V III 因子（FV III）ペプチドに関する。さらに、このペプチドは、補充療法中および免疫寛容誘導療法中の血友病Aを有する患者におけるFV III 特異的T細胞をモニターするために、免疫診断目的で使用することもできる。

【0077】

本発明は、部分的に、FV III のいくつかの領域、具体的にはFV III<sup>102-1</sup>

10

20

30

40

50

<sup>2</sup> <sup>2</sup>、F V I I I <sup>2</sup> <sup>4</sup> <sup>6</sup> - <sup>2</sup> <sup>6</sup> <sup>6</sup>、およびF V I I I <sup>1</sup> <sup>4</sup> <sup>0</sup> <sup>1</sup> - <sup>1</sup> <sup>4</sup> <sup>2</sup> <sup>4</sup>が、第V I I I 因子補充療法中にF V I I I タンパク質に対して開始される免疫応答に關与する、あるいは後天性血友病と關連するという発見に基づく。特定されたそれらの領域のアミノ酸配列は、それぞれ TVVITLKNMASHPVSLHAVGV (SEQ ID NO:740), AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68), および QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

である。本発明は、これらのF V I I I タンパク質領域の初めての特定、およびそれらの領域とF V I I I タンパク質に対する免疫応答との關係を提供すると考えられている。

#### 【0078】

本発明のペプチドは、MHCクラスII分子と複合体を形成して、患者の免疫応答に關与するT細胞によって認識可能なT細胞エピートープを生成する領域であるF V I I I <sup>1</sup> <sup>0</sup> <sup>2</sup> - <sup>1</sup> <sup>2</sup> <sup>2</sup>、F V I I I <sup>2</sup> <sup>4</sup> <sup>6</sup> - <sup>2</sup> <sup>6</sup> <sup>6</sup>、およびF V I I I <sup>1</sup> <sup>4</sup> <sup>0</sup> <sup>1</sup> - <sup>1</sup> <sup>4</sup> <sup>2</sup> <sup>4</sup>の少なくとも一部を有するペプチドを含む。一部の実施形態において、このペプチドは、F V I I I <sup>1</sup> <sup>0</sup> <sup>2</sup> - <sup>1</sup> <sup>2</sup> <sup>2</sup>、F V I I I <sup>2</sup> <sup>4</sup> <sup>6</sup> - <sup>2</sup> <sup>6</sup> <sup>6</sup>、またはF V I I I <sup>1</sup> <sup>4</sup> <sup>0</sup> <sup>1</sup> - <sup>1</sup> <sup>4</sup> <sup>2</sup> <sup>4</sup>中の9個の連続アミノ酸に対応する、少なくとも9個の連続アミノ酸を含む。下記でさらに説明するように、本明細書において提供されるペプチドは、9アミノ酸長よりも長いペプチド、ならびにF V I I I <sup>1</sup> <sup>0</sup> <sup>2</sup> - <sup>1</sup> <sup>2</sup> <sup>2</sup>、F V I I I <sup>2</sup> <sup>4</sup> <sup>6</sup> - <sup>2</sup> <sup>6</sup> <sup>6</sup>、およびF V I I I <sup>1</sup> <sup>4</sup> <sup>0</sup> <sup>1</sup> - <sup>1</sup> <sup>4</sup> <sup>2</sup> <sup>4</sup>配列の変異体も含む。本発明のペプチドのそのような特定は、血友病Aなどの血液凝固に關連する疾患を治療するための治療方針の改善および発展に影響を与え得る。

#### 【0079】

##### II. 定義

「第V I I I 因子タンパク質」または「F V I I I タンパク質」という用語は、Bドメインの少なくとも一部が無傷であり、天然のヒトF V I I I タンパク質に關連する生物活性を示す、あらゆるF V I I I 分子を指す。F V I I I 分子は、全長F V I I I であってもよい。また、F V I I I 分子は、天然のF V I I I の保存的に改変された変異体であってもよい。F V I I I タンパク質は、ヒト血漿由来であっても、組換え技術によって生成されたものでもよい。F V I I I タンパク質のさらなる特徴付けは、例えば、米国特許第2010/0168018号の段落[0042]~[0055]に記載されており、これは参照により本明細書に援用される。

#### 【0080】

「第V I I I 因子ペプチド」または「F V I I I ペプチド」という用語は、F V I I I に対する免疫応答において重要であることが発見されたF V I I I タンパク質の領域に対応するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載されるペプチドを指す。F V I I I ペプチドは、MHCクラスIIタンパク質と複合体を形成して免疫応答に關与するT細胞に提示される、少なくとも9個のアミノ酸を含む。このペプチドの少なくとも9個のアミノ酸コアのいずれか一端に付加的なアミノ酸が存在してもよい。一部の実施形態において、F V I I I ペプチドは、天然のヒトF V I I I タンパク質の特定の領域と同一の配列を含んでもよい。他の実施形態において、F V I I I ペプチドは、F V I I I タンパク質の領域の保存的に改変された変異体であってもよい。本明細書においてさらに説明するように、F V I I I ペプチドは、天然ヒトF V I I I タンパク質の領域の配列に対する特定の同一性パーセント、例えば85%同一などによって特徴付けることができる。

#### 【0081】

「アミノ酸」という用語は、天然に存在するアミノ酸、および天然に存在するアミノ酸と同様に機能する、アミノ酸類似体およびアミノ酸模倣体を含む非天然アミノ酸を指す。天然に存在するアミノ酸には、遺伝暗号によってコードされたもの、ならびにのちに修飾されたアミノ酸、例えば、ヒドロキシプロリン、γ-カルボキシグルタメート、およびO-ホスホセリンがある。天然に存在するアミノ酸は、例えば、D-アミノ酸およびL-アミノ酸を含み得る。本明細書において使用するアミノ酸は、非天然アミノ酸も含んでよい

10

20

30

40

50

。アミノ酸類似体とは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を有する化合物、すなわち水素、カルボキシル基、アミノ基、およびR基に結合した任意の炭素、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、またはメチオニンメチルスルホニウムを指す。このような類似体は、改変されたR基（例えば、ノルロイシン）または改変されたペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を保持する。アミノ酸模倣体は、アミノ酸の一般的化学構造と異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様に機能する化合物を指す。アミノ酸は、本明細書において、一般に知られている3文字表記またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字表記のいずれかで言及することがある。ヌクレオチドは、同様に、それらの一般に認められている1文字コードで言及することがある。

10

#### 【0082】

「保存的に改変された変異体」は、アミノ酸および核酸の両配列に適用される。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された変異体は、同一または本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸を指し、あるいは核酸がアミノ酸配列をコードしない場合、本質的に同一の配列を指す。遺伝暗号の縮重により、多数の機能的に同一の核酸が任意の所定のペプチドをコードする。例えば、コドンGCA、GCC、GCG、およびGCUは、全てアミノ酸アラニンをコードする。したがって、コドンによってアラニンが指定される全ての位置で、そのコドンを、コードされるポリペプチドを変更することなく記載した対応するコドンのいずれかに変更することができる。そのような核酸変異は「サイレント変異」であり、これは保存的に改変された変異の一種である。本明細書におけるポリペプチドをコードする全ての核酸配列は、その核酸の全ての考えられるサイレント変異も表す。当業者は、核酸中の各コドン（通常メチオニンの唯一のコドンであるAUGと、通常トリプトファンの唯一のコドンであるTGGを除く）を改変して機能的に同一な分子が得られることを理解するであろう。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、発現産物については記載した各配列に暗示されるが、実際のプローブ配列についてはそうではない。

20

#### 【0083】

アミノ酸配列に関して、当業者は、コードされた配列中の単一のアミノ酸またはわずかな比率のアミノ酸を変更、付加、または欠失させる、核酸もしくはペプチド配列に対する個々の置換、欠失、または付加が、その変更によってアミノ酸を化学的に類似するアミノ酸に置換することになる「保存的に改変された変異体」であることを理解するであろう。機能的に類似するアミノ酸を提示する保存的置換表は、当技術分野で周知である。保存的に改変されたそのような変異体は、本発明の多型変異体、種間相同体、および対立遺伝子に加えられるものであり、これらを排除するものではない。

30

#### 【0084】

以下の8つの群はそれぞれ、互いに保存的置換体であるアミノ酸を含む：(1)アラニン(A)、グリシン(G)；(2)アスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)；(3)アスパラギン(N)、グルタミン(Q)；(4)アルギニン(R)、リジン(K)；(5)イソロイシン(I)、ロイシン(L)、メチオニン(M)、バリン(V)；(6)フェニルアラニン(F)、チロシン(Y)、トリプトファン(W)；(7)セリン(S)、スレオニン(T)；および(8)システイン(C)、メチオニン(M)。例えば、Creighton, Proteins (1984)を参照されたい。

40

#### 【0085】

2つ以上の核酸配列またはペプチド配列に関連して、「同一の」または「同一性」パーセントという用語は、BLASTまたはBLAST 2.0配列比較アルゴリズムを後述のデフォルトパラメータで用いて、あるいは手作業によるアラインメントおよび目視検査によって測定したときに、同じであるか、または指定されたパーセンテージの同じアミノ酸残基またはヌクレオチドを有する（すなわち、比較ウィンドウまたは指定領域にわたって比較し、最大限の一致が得られるようにアラインメントしたときの、指定領域にわたる

50

約60%の同一性、好ましくは65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれ以上の同一性)、2つ以上の配列またはサブ配列を指す。

【0086】

「治療有効量もしくは用量」または「十分な量もしくは用量」は、本明細書において、投与した目的の効果を生じる用量を意味する。正確な用量は、治療の目的によって異なり、既知の手法を用いて当業者により確定可能である(例えば、Augsburger & Hoag, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 3rd Ed., 2008)、Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (3rd Ed., 2008)、Pickar, Dosage Calculations (8th Ed., 2007)、および Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., 2005, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkinsを参照)。

10

【0087】

III. FVIIIPeptid

本発明は、FVIIIPeptidに対する免疫応答に關与するFVIIIPeptidタンパク質の領域に対応するFVIIIPeptidに關連する。一態様において、本発明は、アミノ酸配列: AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68); QANRSLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344);または TVVITLKNMASHPVSLHAVGV (SEQ ID NO:740)

20

のうちの1つにおける9個の連続するアミノ酸と少なくとも85%同一である連続する9個のアミノ酸の配列からなるFVIIIPeptidであって、9~180個のアミノ酸からなるFVIIIPeptidを提供する。

【0088】

具体的な実施形態において、FVIIIPeptidは、配列:  $(R^1)_x - P - (R^2)_y$  を有し、式中、Pは、SEQ ID NO: 68、344、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R<sup>1</sup>は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyはそれぞれ独立して、0または1である。一実施形態において、R<sup>1</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

30

【0089】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31

40

50

個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【0090】

一実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0091】

一般に、本発明のFV I I I ペプチドは、特定された領域のFV I I I<sup>102-122</sup>、FV I I I<sup>246-266</sup>、またはFV I I I<sup>1401-1424</sup>、あるいは例えば、FV I I I<sup>102-122</sup>、FV I I I<sup>246-266</sup>、またはFV I I I<sup>1401-1424</sup>と類似する、または同一の保持された機能を有することができる改変された変異体中に存在する任意のアミノ酸配列を含んでもよい。とりわけ、本発明のFV I I I ペプチドは、T細胞エピトープを含むアミノ酸の配列を含む。FV I I I ペプチドは、アミノ酸配列

AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68);

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344); または TVVITLKNMASHPVSLHAVGV

(SEQ ID NO:740)

に対するパーセント同一性に幅があってもよい、少なくとも9個のアミノ酸の配列を含む。例えば、FV I I I ペプチドは、FV I I I<sup>102-122</sup>、FV I I I<sup>246-266</sup>、またはFV I I I<sup>1401-1424</sup>中の任意の9個の連続するアミノ酸と同一、または少なくとも50%、60%、70%、80%、もしくは85%同一である9個のアミノ酸を有してもよい。

【0092】

別の実施形態群において、FV I I I ペプチドは、9個のアミノ酸よりも長いアミノ酸配列を有してもよく、このアミノ酸配列は、FV I I I<sup>102-122</sup>、FV I I I<sup>246-266</sup>、またはFV I I I<sup>1401-1424</sup>中の連続するアミノ酸の配列と同一、または少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一であってもよい領域を含む。当業者は、アラニン置換などの既知の突然変異誘発技術を用いて、FV I I I<sup>102-122</sup>、FV I I I<sup>246-266</sup>、またはFV I I I<sup>1401-1424</sup>領域の機能を保持する改変された変異体を特定できることを理解するであろう。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 9 3 】

さらに、F V I I I ペプチドは、上述のF V I I I ペプチドのコア配列のいずれか一端に付加的なアミノ酸配列をさらに含んでもよい。この付加的な配列は、 $(R^1)_x$  および  $(R^2)_y$  と指定される。特定の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、1 ~ 約 80 の範囲のアミノ酸長であってよい。あるいは、 $R^1$  および  $R^2$  は、1 ~ 約 40 の範囲のアミノ酸長であってよい。特定の実施形態において、添字  $x$  および  $y$  はそれぞれ独立して、0 または 1 である。一部の実施形態において、 $x$  および  $y$  はともに 0 であってよい。他の実施形態において、 $x$  は 1 であってよく、 $y$  は 0 であってよい。さらに他の実施形態において、 $x$  は 0 であってよく、 $y$  は 1 であってよい。別の実施形態において、 $x$  および  $y$  はともに 1 であってよい。いずれか一端の付加的なアミノ酸は、様々な目的で付加することができ、これにはペプチドの安定性の増加、MHC クラス II 分子および / または T 細胞との結合の向上、ならびに当業者が理解するであろう他の態様が含まれる。

10

## 【 0 0 9 4 】

一実施形態において、本発明は、配列  $(R^1)_x - P - (R^2)_y$  を有し、式中、 $P$  が、表 1 において特定される第 V I I I 因子領域の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85 % の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$  が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$  が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $x$  および  $y$  がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ポリペプチドを提供する。あるいは、 $R^1$  および  $R^2$  は、1 ~ 約 40 の範囲のアミノ酸長であってよい。一実施形態において、 $P$  は、表 1 において特定される第 V I I I 因子領域の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $P$  は、表 1 において特定される第 V I I I 因子領域の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 95 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一部の実施形態において、 $x$  および  $y$  はともに 0 であってよい。他の実施形態において、 $x$  は 1 であってよく、 $y$  は 0 であってよい。他の実施形態において、 $x$  は 0 であってよく、 $y$  は 1 であってよい。さらに別の実施形態において、 $x$  および  $y$  はともに 1 であってよい。一実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 150 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 100 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 50 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 25 個のアミノ酸からなる。

20

30

## 【 0 0 9 5 】

(表 1) T 細胞エピトープを含む F V I I I の領域

T細胞エピトープを含む領域	アミノ酸配列
FVIII <sup>102-119</sup>	TVVITLKNMASHPVSLHA (SEQ ID NO:10)
FVIII <sup>246-266</sup>	AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)
FVIII <sup>474-494</sup>	GEVGD TLLIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)
FVIII <sup>540-560</sup>	PTKSDPRCLTRYSSFVNMER (SEQ ID NO:250)
FVIII <sup>1401-1424</sup>	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)
FVIII <sup>1785-1805</sup>	EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)
FVIII <sup>2025-2045</sup>	LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)
FVIII <sup>2160-2180</sup>	NPPIIARYIRLHPHTYSIRST (SEQ ID NO:659)
FVIII <sup>102-122</sup>	TVVITLKNMASHPVSLHAVGV (SEQ ID NO:740)

40

## 【 0 0 9 6 】

50

上述のように、本発明の F V I I I ペプチドは、F V I I I<sup>1401-1424</sup> の特定された領域、あるいは例えば、F V I I I<sup>1401-1424</sup> と類似する、または同一の保持された機能を有することができる改変された変異体中に存在する任意のアミノ酸配列を含んでもよい。特定の実施形態において、このペプチドは、ヒト F V I I I タンパク質の B ドメイン全体を包含してもよい。また、本発明は、アミノ酸配列：

GEVGDLLLIFKNQASRPYNI (FVIII<sup>474-494</sup>; SEQ ID NO:159),

PTKSDPRCLTRYSSFVNMER (FVIII<sup>540-560</sup>; SEQ ID NO:250),

EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (FVIII<sup>1785-1805</sup>; SEQ ID NO:477),

LHAGMSTLFLVYSNKCQTPGLG (FVIII<sup>2025-2045</sup>; SEQ ID NO:568),

NPPIIARYIRLHPHYSIRST (FVIII<sup>2160-2180</sup>; SEQ ID NO:659), TVVITLKNMASHPVSLSHA

(FVIII<sup>102-119</sup>; SEQ ID NO:10), AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (FVIII<sup>246-266</sup>; SEQ ID NO:68),

および TVVITLKNMASHPVSLSHAVGV (FVIII<sup>102-122</sup>; SEQ ID NO:740)

のうちのいずれか 1 つに対するパーセント同一性に幅があってもよい、少なくとも 9 個のアミノ酸の配列を有するペプチドを含む、他の F V I I I ペプチドも含み得る。

【0097】

例えば、F V I I I<sup>474-494</sup>、F V I I I<sup>540-560</sup>、F V I I I<sup>1785-1805</sup>、F V I I I<sup>2025-2045</sup>、F V I I I<sup>2160-2180</sup>、F V I I I<sup>102-119</sup>、F V I I I<sup>246-266</sup>、または F V I I I<sup>102-122</sup> 中の任意の 9 個の連続するアミノ酸と同一、または少なくとも 50%、60%、70%、80%、もしくは 85% 同一である 9 個のアミノ酸を有する、F V I I I ペプチド。別の実施形態群において、F V I I I ペプチドは、9 個のアミノ酸よりも長いアミノ酸配列を有してもよく、このアミノ酸配列は、F V I I I<sup>474-494</sup>、F V I I I<sup>540-560</sup>、F V I I I<sup>1785-1805</sup>、F V I I I<sup>2025-2045</sup>、F V I I I<sup>2160-2180</sup>、F V I I I<sup>102-119</sup>、F V I I I<sup>246-266</sup>、または F V I I I<sup>102-122</sup> 中の任意の 9 個の連続するアミノ酸と同一、または少なくとも 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一であってもよい。当業者は、アラニン置換などの既知の突然変異誘発技術を用いて、F V I I I<sup>474-494</sup>、F V I I I<sup>540-560</sup>、F V I I I<sup>1785-1805</sup>、F V I I I<sup>2025-2045</sup>、F V I I I<sup>2160-2180</sup>、F V I I I<sup>102-119</sup>、F V I I I<sup>246-266</sup>、または F V I I I<sup>102-122</sup> 領域の機能を保持する改変された変異体を特定できることを理解するであろう。本明細書において開示される F V I I I ペプチドは、F V I I I<sup>1401-1424</sup> に関連して F V I I I ペプチドについて上述した方法を用いて作成することができる。

【0098】

A. 第 V I I I 因子<sup>102-119</sup> ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 (R<sup>1</sup>)<sub>x</sub> - P - (R<sup>2</sup>)<sub>y</sub> を有するポリペプチドであって、式中、P が、配列：

TVVITLKNMASHPVSLSHA (SEQ ID NO:10)

を有する第 V I I I 因子<sup>102-119</sup> ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、R<sup>1</sup> が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup> が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ポリペプチドを提供する。

【0099】

一実施形態において、P は、配列：

TVVITLKNMASHPVSLSHA (SEQ ID NO:10)

10

20

30

40

50

を有する第VII因子<sup>102-119</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 1~55 (SEQ ID NO: 10) から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 1~55 から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 1~55 から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

10

#### 【0100】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

#### 【0101】

特定の実施形態において、R<sup>1</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。一実施形態において、FVIIペプチドは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIペプチドは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、

40

50

135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、  
175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0102】

(表2) 例示的 F V I I I<sup>102</sup> - 119 ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII <sup>102-119</sup> -1	TVVITLKNM	1
FVIII <sup>102-119</sup> -2	TVVITLKNMA	2
FVIII <sup>102-119</sup> -3	TVVITLKNMAS	3
FVIII <sup>102-119</sup> -4	TVVITLKNMASH	4
FVIII <sup>102-119</sup> -5	TVVITLKNMASHP	5
FVIII <sup>102-119</sup> -6	TVVITLKNMASHPV	6
FVIII <sup>102-119</sup> -7	TVVITLKNMASHIPVS	7
FVIII <sup>102-119</sup> -8	TVVITLKNMASHIPVSL	8
FVIII <sup>102-119</sup> -9	TVVITLKNMASHIPVSLH	9
FVIII <sup>102-119</sup> -10	TVVITLKNMASHIPVSLHA	10
FVIII <sup>102-119</sup> -11	VVITLKNMA	11
FVIII <sup>102-119</sup> -12	VVITLKNMAS	12
FVIII <sup>102-119</sup> -13	VVITLKNMASH	13
FVIII <sup>102-119</sup> -14	VVITLKNMASHP	14
FVIII <sup>102-119</sup> -15	VVITLKNMASHPV	15
FVIII <sup>102-119</sup> -16	VVITLKNMASHPVS	16
FVIII <sup>102-119</sup> -17	VVITLKNMASHPVSL	17
FVIII <sup>102-119</sup> -18	VVITLKNMASHPVSLH	18
FVIII <sup>102-119</sup> -19	VVITLKNMASHPVSLHA	19
FVIII <sup>102-119</sup> -20	VITLKNMAS	20
FVIII <sup>102-119</sup> -21	VITLKNMASH	21
FVIII <sup>102-119</sup> -22	VITLKNMASHP	22
FVIII <sup>102-119</sup> -23	VITLKNMASHPV	23
FVIII <sup>102-119</sup> -24	VITLKNMASHPVS	24
FVIII <sup>102-119</sup> -25	VITLKNMASHPVSL	25
FVIII <sup>102-119</sup> -26	VITLKNMASHPVSLH	26
FVIII <sup>102-119</sup> -27	VITLKNMASHPVSLHA	27
FVIII <sup>102-119</sup> -28	ITLKNMASH	28
FVIII <sup>102-119</sup> -29	ITLKNMASHP	29
FVIII <sup>102-119</sup> -30	ITLKNMASHPV	30
FVIII <sup>102-119</sup> -31	ITLKNMASHPVS	31
FVIII <sup>102-119</sup> -32	ITLKNMASHPVSL	32
FVIII <sup>102-119</sup> -33	ITLKNMASHPVSLH	33
FVIII <sup>102-119</sup> -34	ITLKNMASHPVSLHA	34
FVIII <sup>102-119</sup> -35	TLKNMASHP	35
FVIII <sup>102-119</sup> -36	TLKNMASHPV	36
FVIII <sup>102-119</sup> -37	TLKNMASHPVS	37
FVIII <sup>102-119</sup> -38	TLKNMASHPVSL	38
FVIII <sup>102-119</sup> -39	TLKNMASHIPVSLH	39
FVIII <sup>102-119</sup> -40	TLKNMASHIPVSLHA	40
FVIII <sup>102-119</sup> -41	LKNMASHPV	41
FVIII <sup>102-119</sup> -42	LKNMASHPVS	42
FVIII <sup>102-119</sup> -43	LKNMASHPVSL	43
FVIII <sup>102-119</sup> -44	LKNMASHPVSLH	44
FVIII <sup>102-119</sup> -45	LKNMASHPVSLHA	45
FVIII <sup>102-119</sup> -46	KNMASHPVS	46
FVIII <sup>102-119</sup> -47	KNMASHPVSL	47
FVIII <sup>102-119</sup> -48	KNMASHPVSLH	48
FVIII <sup>102-119</sup> -49	KNMASHPVSLHA	49
FVIII <sup>102-119</sup> -50	NMASHPVSL	50
FVIII <sup>102-119</sup> -51	NMASHPVSLH	51
FVIII <sup>102-119</sup> -52	NMASHPVSLHA	52
FVIII <sup>102-119</sup> -53	MASHPVSLH	53
FVIII <sup>102-119</sup> -54	MASHPVSLHA	54
FVIII <sup>102-119</sup> -55	ASHPVSLHA	55

10

20

30

40

B. 第VIIII因子<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)

を有する第VIIII因子<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。

【0104】

一実施形態において、Pは、配列：

AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)

を有する第VIIII因子<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)

を有する第VIIII因子<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:56~146から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:56~146から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:56~146から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:56~146から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

【0105】

一実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個

10

20

30

40

50

のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【 0 1 0 6 】

一実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 1 5 0 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 1 0 0 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 5 0 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 2 5 個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 1 0 個、1 1 個、1 2 個、1 3 個、1 4 個、1 5 個、1 6 個、1 7 個、1 8 個、1 9 個、2 0 個、2 1 個、2 2 個、2 3 個、2 4 個、2 5 個、2 6 個、2 7 個、2 8 個、2 9 個、3 0 個、3 1 個、3 2 個、3 3 個、3 4 個、3 5 個、3 6 個、3 7 個、3 8 個、3 9 個、4 0 個、4 1 個、4 2 個、4 3 個、4 4 個、4 5 個、4 6 個、4 7 個、4 8 個、4 9 個、5 0 個、5 1 個、5 2 個、5 3 個、5 4 個、5 5 個、5 6 個、5 7 個、5 8 個、5 9 個、6 0 個、6 1 個、6 2 個、6 3 個、6 4 個、6 5 個、6 6 個、6 7 個、6 8 個、6 9 個、7 0 個、7 1 個、7 2 個、7 3 個、7 4 個、7 5 個、7 6 個、7 7 個、7 8 個、7 9 個、8 0 個、8 1 個、8 2 個、8 3 個、8 4 個、8 5 個、8 6 個、8 7 個、8 8 個、8 9 個、9 0 個、9 1 個、9 2 個、9 3 個、9 4 個、9 5 個、9 6 個、9 7 個、9 8 個、9 9 個、1 0 0 個、1 0 5 個、1 1 0 個、1 1 5 個、1 2 0 個、1 2 5 個、1 3 0 個、1 3 5 個、1 4 0 個、1 4 5 個、1 5 0 個、1 5 5 個、1 6 0 個、1 6 5 個、1 7 0 個、1 7 5 個、または1 8 0 個のアミノ酸からなる。

10

【 0 1 0 7 】

(表3) 例示的 F V I I I <sup>2 4 6</sup> - <sup>2 6 6</sup> ペプチド

20

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII <sup>246-266</sup> -1	AWPKMHTVN	56
FVIII <sup>246-266</sup> -2	AWPKMHTVNG	57
FVIII <sup>246-266</sup> -3	AWPKMHTVNGY	58
FVIII <sup>246-266</sup> -4	AWPKMHTVNGYV	59
FVIII <sup>246-266</sup> -5	AWPKMHTVNGYVN	60
FVIII <sup>246-266</sup> -6	AWPKMHTVNGYVNR	61
FVIII <sup>246-266</sup> -7	AWPKMHTVNGYVNRS	62
FVIII <sup>246-266</sup> -8	AWPKMHTVNGYVNRSL	63
FVIII <sup>246-266</sup> -9	AWPKMHTVNGYVNRSLP	64
FVIII <sup>246-266</sup> -10	AWPKMHTVNGYVNRSLPG	65
FVIII <sup>246-266</sup> -11	AWPKMHTVNGYVNRSLPGL	66
FVIII <sup>246-266</sup> -12	AWPKMHTVNGYVNRSLPLI	67

30

FVIII <sup>246-266</sup> -13	AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG	68
FVIII <sup>246-266</sup> -14	WPKMHTVNG	69
FVIII <sup>246-266</sup> -15	WPKMHTVNGY	70
FVIII <sup>246-266</sup> -16	WPKMHTVNGYV	71
FVIII <sup>246-266</sup> -17	WPKMHTVNGYVN	72
FVIII <sup>246-266</sup> -18	WPKMHTVNGYVNR	73
FVIII <sup>246-266</sup> -19	WPKMHTVNGYVNRS	74
FVIII <sup>246-266</sup> -20	WPKMHTVNGYVNRS	75
FVIII <sup>246-266</sup> -21	WPKMHTVNGYVNRS	76
FVIII <sup>246-266</sup> -22	WPKMHTVNGYVNRS	77
FVIII <sup>246-266</sup> -23	WPKMHTVNGYVNRS	78
FVIII <sup>246-266</sup> -24	WPKMHTVNGYVNRS	79
FVIII <sup>246-266</sup> -25	WPKMHTVNGYVNRS	80
FVIII <sup>246-266</sup> -26	PKMHTVNGY	81
FVIII <sup>246-266</sup> -27	PKMHTVNGYV	82
FVIII <sup>246-266</sup> -28	PKMHTVNGYVN	83
FVIII <sup>246-266</sup> -29	PKMHTVNGYVNR	84
FVIII <sup>246-266</sup> -30	PKMHTVNGYVNRS	85
FVIII <sup>246-266</sup> -31	PKMHTVNGYVNRS	86
FVIII <sup>246-266</sup> -32	PKMHTVNGYVNRS	87
FVIII <sup>246-266</sup> -33	PKMHTVNGYVNRS	88
FVIII <sup>246-266</sup> -34	PKMHTVNGYVNRS	89
FVIII <sup>246-266</sup> -35	PKMHTVNGYVNRS	90
FVIII <sup>246-266</sup> -36	PKMHTVNGYVNRS	91
FVIII <sup>246-266</sup> -37	KMHTVNGYV	92
FVIII <sup>246-266</sup> -38	KMHTVNGYVN	93
FVIII <sup>246-266</sup> -39	KMHTVNGYVNR	94
FVIII <sup>246-266</sup> -40	KMHTVNGYVNRS	95
FVIII <sup>246-266</sup> -41	KMHTVNGYVNRS	96
FVIII <sup>246-266</sup> -42	KMHTVNGYVNRS	97
FVIII <sup>246-266</sup> -43	KMHTVNGYVNRS	98
FVIII <sup>246-266</sup> -44	KMHTVNGYVNRS	99
FVIII <sup>246-266</sup> -45	KMHTVNGYVNRS	100
FVIII <sup>246-266</sup> -46	KMHTVNGYVNRS	101
FVIII <sup>246-266</sup> -47	MHTVNGYVN	102
FVIII <sup>246-266</sup> -48	MHTVNGYVNR	103
FVIII <sup>246-266</sup> -49	MHTVNGYVNRS	104
FVIII <sup>246-266</sup> -50	MHTVNGYVNRS	105
FVIII <sup>246-266</sup> -51	MHTVNGYVNRS	106
FVIII <sup>246-266</sup> -52	MHTVNGYVNRS	107
FVIII <sup>246-266</sup> -53	MHTVNGYVNRS	108
FVIII <sup>246-266</sup> -54	MHTVNGYVNRS	109
FVIII <sup>246-266</sup> -55	MHTVNGYVNRS	110
FVIII <sup>246-266</sup> -56	HTVNGYVNR	111
FVIII <sup>246-266</sup> -57	HTVNGYVNRS	112
FVIII <sup>246-266</sup> -58	HTVNGYVNRS	113
FVIII <sup>246-266</sup> -59	HTVNGYVNRS	114
FVIII <sup>246-266</sup> -60	HTVNGYVNRS	115
FVIII <sup>246-266</sup> -61	HTVNGYVNRS	116

10

20

30

40

FVIII <sup>246-266</sup> -62	HTVNGYVNRSLPGLI	117
FVIII <sup>246-266</sup> -63	HTVNGYVNRSLPGLIG	118
FVIII <sup>246-266</sup> -64	TVNGYVNRS	119
FVIII <sup>246-266</sup> -65	TVNGYVNRSL	120
FVIII <sup>246-266</sup> -66	TVNGYVNRSLP	121
FVIII <sup>246-266</sup> -67	TVNGYVNRSLPG	122
FVIII <sup>246-266</sup> -68	TVNGYVNRSLPGL	123
FVIII <sup>246-266</sup> -69	TVNGYVNRSLPGLI	124
FVIII <sup>246-266</sup> -70	TVNGYVNRSLPGLIG	125
FVIII <sup>246-266</sup> -71	VNGYVNRSL	126
FVIII <sup>246-266</sup> -72	VNGYVNRSLP	127
FVIII <sup>246-266</sup> -73	VNGYVNRSLPG	128
FVIII <sup>246-266</sup> -74	VNGYVNRSLPGL	129
FVIII <sup>246-266</sup> -75	VNGYVNRSLPGLI	130
FVIII <sup>246-266</sup> -76	VNGYVNRSLPGLIG	131
FVIII <sup>246-266</sup> -77	NGYVNRSLP	132
FVIII <sup>246-266</sup> -78	NGYVNRSLPG	133
FVIII <sup>246-266</sup> -79	NGYVNRSLPGL	134
FVIII <sup>246-266</sup> -80	NGYVNRSLPGLI	135
FVIII <sup>246-266</sup> -81	NGYVNRSLPGLIG	136
FVIII <sup>246-266</sup> -82	GYVNRSLPG	137
FVIII <sup>246-266</sup> -83	GYVNRSLPGL	138
FVIII <sup>246-266</sup> -84	GYVNRSLPGLI	139
FVIII <sup>246-266</sup> -85	GYVNRSLPGLIG	140
FVIII <sup>246-266</sup> -86	YVNRSLPGL	141
FVIII <sup>246-266</sup> -87	YVNRSLPGLI	142
FVIII <sup>246-266</sup> -88	YVNRSLPGLIG	143
FVIII <sup>246-266</sup> -89	VNRSLPGLI	144
FVIII <sup>246-266</sup> -90	VNRSLPGLIG	145
FVIII <sup>246-266</sup> -91	NRSLPGLIG	146

10

20

## 【 0 1 0 8 】

C . 第 V I I I 因子 <sup>4 7 4</sup> - <sup>4 9 4</sup> ペプチド

30

一実施形態において、本発明は、配列 ( R <sup>1</sup> ) <sub>x</sub> - P - ( R <sup>2</sup> ) <sub>y</sub> を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

GEVGD TLLIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)

を有する第 V I I I 因子 <sup>4 7 4</sup> - <sup>4 9 4</sup> ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R <sup>1</sup> が、1 ~ 80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R <sup>2</sup> が、1 ~ 80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。

## 【 0 1 0 9 】

一実施形態において、Pは、配列：

40

GEVGD TLLIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)

を有する第 V I I I 因子 <sup>4 7 4</sup> - <sup>4 9 4</sup> ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

GEVGD TLLIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)

を有する第 V I I I 因子 <sup>4 7 4</sup> - <sup>4 9 4</sup> ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 147 ~ 237から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 147 ~ 237から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有する

50

アミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 147~237から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 147~237から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

【0110】

特定の実施形態において、R<sup>1</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。一実施形態において、FVIIIPeptidは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0111】

(表4) 例示的FVIIIPeptid<sup>474-494</sup> - 494ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII <sup>474-494</sup> -1	GEVGDTLII	147
FVIII <sup>474-494</sup> -2	GEVGDTLII	148
FVIII <sup>474-494</sup> -3	GEVGDTLIIIF	149
FVIII <sup>474-494</sup> -4	GEVGDTLIIIFK	150
FVIII <sup>474-494</sup> -5	GEVGDTLIIIFKN	151
FVIII <sup>474-494</sup> -6	GEVGDTLIIIFKNQ	152
FVIII <sup>474-494</sup> -7	GEVGDTLIIIFKNQA	153
FVIII <sup>474-494</sup> -8	GEVGDTLIIIFKNQAS	154
FVIII <sup>474-494</sup> -9	GEVGDTLIIIFKNQASR	155
FVIII <sup>474-494</sup> -10	GEVGDTLIIIFKNQASRP	156
FVIII <sup>474-494</sup> -11	GEVGDTLIIIFKNQASRPY	157
FVIII <sup>474-494</sup> -12	GEVGDTLIIIFKNQASRPYN	158
FVIII <sup>474-494</sup> -13	GEVGDTLIIIFKNQASRPYNI	159
FVIII <sup>474-494</sup> -14	EVGDTLII	160
FVIII <sup>474-494</sup> -15	EVGDTLIIIF	161

FVIII <sup>474-494</sup> -16	EVGDTLLIIFK	162
FVIII <sup>474-494</sup> -17	EVGDTLLIIFKN	163
FVIII <sup>474-494</sup> -18	EVGDTLLIIFKNQ	164
FVIII <sup>474-494</sup> -19	EVGDTLLIIFKNQA	165
FVIII <sup>474-494</sup> -20	EVGDTLLIIFKNQAS	166
FVIII <sup>474-494</sup> -21	EVGDTLLIIFKNQASR	167
FVIII <sup>474-494</sup> -22	EVGDTLLIIFKNQASRP	168
FVIII <sup>474-494</sup> -23	EVGDTLLIIFKNQASRPY	169
FVIII <sup>474-494</sup> -24	EVGDTLLIIFKNQASRPYN	170
FVIII <sup>474-494</sup> -25	EVGDTLLIIFKNQASRPYNI	171
FVIII <sup>474-494</sup> -26	VGDTLLIIF	172
FVIII <sup>474-494</sup> -27	VGDTLLIIFK	173
FVIII <sup>474-494</sup> -28	VGDTLLIIFKN	174
FVIII <sup>474-494</sup> -29	VGDTLLIIFKNQ	175
FVIII <sup>474-494</sup> -30	VGDTLLIIFKNQA	176
FVIII <sup>474-494</sup> -31	VGDTLLIIFKNQAS	177
FVIII <sup>474-494</sup> -32	VGDTLLIIFKNQASR	178
FVIII <sup>474-494</sup> -33	VGDTLLIIFKNQASRP	179
FVIII <sup>474-494</sup> -34	VGDTLLIIFKNQASRPY	180
FVIII <sup>474-494</sup> -35	VGDTLLIIFKNQASRPYN	181
FVIII <sup>474-494</sup> -36	VGDTLLIIFKNQASRPYNI	182
FVIII <sup>474-494</sup> -37	GD <sup>474-494</sup> LLIIFK	183
FVIII <sup>474-494</sup> -38	GD <sup>474-494</sup> LLIIFKN	184
FVIII <sup>474-494</sup> -39	GD <sup>474-494</sup> LLIIFKNQ	185
FVIII <sup>474-494</sup> -40	GD <sup>474-494</sup> LLIIFKNQA	186
FVIII <sup>474-494</sup> -41	GD <sup>474-494</sup> LLIIFKNQAS	187
FVIII <sup>474-494</sup> -42	GD <sup>474-494</sup> LLIIFKNQASR	188
FVIII <sup>474-494</sup> -43	GD <sup>474-494</sup> LLIIFKNQASRP	189
FVIII <sup>474-494</sup> -44	GD <sup>474-494</sup> LLIIFKNQASRPY	190
FVIII <sup>474-494</sup> -45	GD <sup>474-494</sup> LLIIFKNQASRPYN	191
FVIII <sup>474-494</sup> -46	GD <sup>474-494</sup> LLIIFKNQASRPYNI	192
FVIII <sup>474-494</sup> -47	DTLLIIFKN	193
FVIII <sup>474-494</sup> -48	DTLLIIFKNQ	194
FVIII <sup>474-494</sup> -49	DTLLIIFKNQA	195
FVIII <sup>474-494</sup> -50	DTLLIIFKNQAS	196
FVIII <sup>474-494</sup> -51	DTLLIIFKNQASR	197
FVIII <sup>474-494</sup> -52	DTLLIIFKNQASRP	198
FVIII <sup>474-494</sup> -53	DTLLIIFKNQASRPY	199
FVIII <sup>474-494</sup> -54	DTLLIIFKNQASRPYN	200
FVIII <sup>474-494</sup> -55	DTLLIIFKNQASRPYNI	201
FVIII <sup>474-494</sup> -56	TLLIIFKNQ	202
FVIII <sup>474-494</sup> -57	TLLIIFKNQA	203
FVIII <sup>474-494</sup> -58	TLLIIFKNQAS	204
FVIII <sup>474-494</sup> -59	TLLIIFKNQASR	205
FVIII <sup>474-494</sup> -60	TLLIIFKNQASRP	206
FVIII <sup>474-494</sup> -61	TLLIIFKNQASRPY	207
FVIII <sup>474-494</sup> -62	TLLIIFKNQASRPYN	208
FVIII <sup>474-494</sup> -63	TLLIIFKNQASRPYNI	209
FVIII <sup>474-494</sup> -64	LLIIFKNQA	210
FVIII <sup>474-494</sup> -65	LLIIFKNQAS	211

10

20

30

40

FVIII <sup>474-494</sup> -66	LLIIFKNQASR	212
FVIII <sup>474-494</sup> -67	LLIIFKNQASRP	213
FVIII <sup>474-494</sup> -68	LLIIFKNQASRPY	214
FVIII <sup>474-494</sup> -69	LLIIFKNQASRPYN	215
FVIII <sup>474-494</sup> -70	LLIIFKNQASRPYNI	216
FVIII <sup>474-494</sup> -71	LIIFKNQAS	217
FVIII <sup>474-494</sup> -72	LIIFKNQASR	218
FVIII <sup>474-494</sup> -73	LIIFKNQASRP	219
FVIII <sup>474-494</sup> -74	LIIFKNQASRPY	220
FVIII <sup>474-494</sup> -75	LIIFKNQASRPYN	221
FVIII <sup>474-494</sup> -76	LIIFKNQASRPYNI	222
FVIII <sup>474-494</sup> -77	IIFKNQASR	223
FVIII <sup>474-494</sup> -78	IIFKNQASRP	224
FVIII <sup>474-494</sup> -79	IIFKNQASRPY	225
FVIII <sup>474-494</sup> -80	IIFKNQASRPYN	226
FVIII <sup>474-494</sup> -81	IIFKNQASRPYNI	227
FVIII <sup>474-494</sup> -82	IFKNQASRP	228
FVIII <sup>474-494</sup> -83	IFKNQASRPY	229
FVIII <sup>474-494</sup> -84	IFKNQASRPYN	230
FVIII <sup>474-494</sup> -85	IFKNQASRPYNI	231
FVIII <sup>474-494</sup> -86	FKNQASRPY	232
FVIII <sup>474-494</sup> -87	FKNQASRPYN	233
FVIII <sup>474-494</sup> -88	FKNQASRPYNI	234
FVIII <sup>474-494</sup> -89	KNQASRPYN	235
FVIII <sup>474-494</sup> -90	KNQASRPYNI	236
FVIII <sup>474-494</sup> -91	NQASRPYNI	237

10

20

## 【 0 1 1 2 】

D . 第 V I I I 因子<sup>5 4 0 - 5 6 0</sup> ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 ( R<sup>1</sup> )<sub>x</sub> - P - ( R<sup>2</sup> )<sub>y</sub> を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

PTKSDPRCLTRYSSFVNMER (SEQ ID NO:250)

を有する第 V I I I 因子<sup>5 4 0 - 5 6 0</sup> ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 8 5 % の同一性を有するアミノ酸配列であり、R<sup>1</sup> が、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup> が、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ポリペプチドを提供する。

30

## 【 0 1 1 3 】

一実施形態において、Pは、配列：

PTKSDPRCLTRYSSFVNMER (SEQ ID NO:250)

を有する第 V I I I 因子<sup>5 4 0 - 5 6 0</sup> ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

40

PTKSDPRCLTRYSSFVNMER (SEQ ID NO:250)

を有する第 V I I I 因子<sup>5 4 0 - 5 6 0</sup> ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO : 2 3 8 ~ 3 2 8 から選択される配列に対して少なくとも 8 5 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO : 2 3 8 ~ 3 2 8 から選択される配列に対して少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO : 2 3 8 ~ 3 2 8 から選択される配列に対して少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO : 2 3 8 ~ 3 2 8 から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、x および y はともに 0 であってよい。他の実施形

50

態において、 $x$  は 1 であってよく、 $y$  は 0 であってよい。他の実施形態において、 $x$  は 0 であってよく、 $y$  は 1 であってよい。さらに別の実施形態において、 $x$  および  $y$  はともに 1 であってよい。

【0114】

一実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1 ~ 70 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1 ~ 60 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1 ~ 50 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1 ~ 40 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1 ~ 30 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1 ~ 20 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1 ~ 10 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1 ~ 5 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1 ~ 2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個、25 個、26 個、27 個、28 個、29 個、30 個、31 個、32 個、33 個、34 個、35 個、36 個、37 個、38 個、39 個、40 個、41 個、42 個、43 個、44 個、45 個、46 個、47 個、48 個、49 個、50 個、51 個、52 個、53 個、54 個、55 個、56 個、57 個、58 個、59 個、60 個、61 個、62 個、63 個、64 個、65 個、66 個、67 個、68 個、69 個、70 個、71 個、72 個、73 個、74 個、75 個、76 個、77 個、78 個、79 個、または 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

20

【0115】

一実施形態において、FVIIII ペプチドは、9 ~ 150 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIII ペプチドは、9 ~ 100 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIII ペプチドは、9 ~ 50 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIII ペプチドは、9 ~ 25 個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIII ペプチドは、9 ~ 10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個、25 個、26 個、27 個、28 個、29 個、30 個、31 個、32 個、33 個、34 個、35 個、36 個、37 個、38 個、39 個、40 個、41 個、42 個、43 個、44 個、45 個、46 個、47 個、48 個、49 個、50 個、51 個、52 個、53 個、54 個、55 個、56 個、57 個、58 個、59 個、60 個、61 個、62 個、63 個、64 個、65 個、66 個、67 個、68 個、69 個、70 個、71 個、72 個、73 個、74 個、75 個、76 個、77 個、78 個、79 個、80 個、81 個、82 個、83 個、84 個、85 個、86 個、87 個、88 個、89 個、90 個、91 個、92 個、93 個、94 個、95 個、96 個、97 個、98 個、99 個、100 個、105 個、110 個、115 個、120 個、125 個、130 個、135 個、140 個、145 個、150 個、155 個、160 個、165 個、170 個、175 個、または 180 個のアミノ酸からなる。

30

40

【0116】

(表5) 例示的 FVIIII<sup>540</sup> - <sup>560</sup> ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII <sup>540-560</sup> -1	PTKSDPRCL	238
FVIII <sup>540-560</sup> -2	PTKSDPRCLT	239
FVIII <sup>540-560</sup> -3	PTKSDPRCLTR	240
FVIII <sup>540-560</sup> -4	PTKSDPRCLTRY	241
FVIII <sup>540-560</sup> -5	PTKSDPRCLTRY Y	242
FVIII <sup>540-560</sup> -6	PTKSDPRCLTRYYS	243
FVIII <sup>540-560</sup> -7	PTKSDPRCLTRY YSS	244
FVIII <sup>540-560</sup> -8	PTKSDPRCLTRY YSSF	245
FVIII <sup>540-560</sup> -9	PTKSDPRCLTRY YSSFV	246
FVIII <sup>540-560</sup> -10	PTKSDPRCLTRY YSSFVN	247
FVIII <sup>540-560</sup> -11	PTKSDPRCLTRY YSSFVNM	248
FVIII <sup>540-560</sup> -12	PTKSDPRCLTRY YSSFVNME	249
FVIII <sup>540-560</sup> -13	PTKSDPRCLTRY YSSFVNMER	250
FVIII <sup>540-560</sup> -14	TKSDPRCLT	251
FVIII <sup>540-560</sup> -15	TKSDPRCLTR	252
FVIII <sup>540-560</sup> -16	TKSDPRCLTRY	253
FVIII <sup>540-560</sup> -17	TKSDPRCLTRY Y	254
FVIII <sup>540-560</sup> -18	TKSDPRCLTRYYS	255
FVIII <sup>540-560</sup> -19	TKSDPRCLTRY YSS	256
FVIII <sup>540-560</sup> -20	TKSDPRCLTRY YSSF	257
FVIII <sup>540-560</sup> -21	TKSDPRCLTRY YSSFV	258
FVIII <sup>540-560</sup> -22	TKSDPRCLTRY YSSFVN	259
FVIII <sup>540-560</sup> -23	TKSDPRCLTRY YSSFVNM	260
FVIII <sup>540-560</sup> -24	TKSDPRCLTRY YSSFVNME	261
FVIII <sup>540-560</sup> -25	TKSDPRCLTRY YSSFVNMER	262
FVIII <sup>540-560</sup> -26	KSDPRCLTR	263
FVIII <sup>540-560</sup> -27	KSDPRCLTRY	264
FVIII <sup>540-560</sup> -28	KSDPRCLTRY Y	265
FVIII <sup>540-560</sup> -29	KSDPRCLTRYYS	266
FVIII <sup>540-560</sup> -30	KSDPRCLTRY YSS	267
FVIII <sup>540-560</sup> -31	KSDPRCLTRY YSSF	268
FVIII <sup>540-560</sup> -32	KSDPRCLTRY YSSFV	269
FVIII <sup>540-560</sup> -33	KSDPRCLTRY YSSFVN	270
FVIII <sup>540-560</sup> -34	KSDPRCLTRY YSSFVNM	271
FVIII <sup>540-560</sup> -35	KSDPRCLTRY YSSFVNME	272
FVIII <sup>540-560</sup> -36	KSDPRCLTRY YSSFVNMER	273
FVIII <sup>540-560</sup> -37	SDPRCLTRY	274
FVIII <sup>540-560</sup> -38	SDPRCLTRY Y	275
FVIII <sup>540-560</sup> -39	SDPRCLTRYYS	276
FVIII <sup>540-560</sup> -40	SDPRCLTRY YSS	277
FVIII <sup>540-560</sup> -41	SDPRCLTRY YSSF	278
FVIII <sup>540-560</sup> -42	SDPRCLTRY YSSFV	279
FVIII <sup>540-560</sup> -43	SDPRCLTRY YSSFVN	280
FVIII <sup>540-560</sup> -44	SDPRCLTRY YSSFVNM	281
FVIII <sup>540-560</sup> -45	SDPRCLTRY YSSFVNME	282
FVIII <sup>540-560</sup> -46	SDPRCLTRY YSSFVNMER	283
FVIII <sup>540-560</sup> -47	DPRCLTRY Y	284

10

20

30

40

FVIII <sup>540-560</sup> -48	DPRCLTRYYS	285
FVIII <sup>540-560</sup> -49	DPRCLTRYSS	286
FVIII <sup>540-560</sup> -50	DPRCLTRYSSSF	287
FVIII <sup>540-560</sup> -51	DPRCLTRYSSSFV	288
FVIII <sup>540-560</sup> -52	DPRCLTRYSSSFVN	289
FVIII <sup>540-560</sup> -53	DPRCLTRYSSSFVNM	290
FVIII <sup>540-560</sup> -54	DPRCLTRYSSSFVNME	291
FVIII <sup>540-560</sup> -55	DPRCLTRYSSSFVNMER	292
FVIII <sup>540-560</sup> -56	PRCLTRYYS	293
FVIII <sup>540-560</sup> -57	PRCLTRYSS	294
FVIII <sup>540-560</sup> -58	PRCLTRYSSSF	295
FVIII <sup>540-560</sup> -59	PRCLTRYSSSFV	296
FVIII <sup>540-560</sup> -60	PRCLTRYSSSFVN	297
FVIII <sup>540-560</sup> -61	PRCLTRYSSSFVNM	298
FVIII <sup>540-560</sup> -62	PRCLTRYSSSFVNME	299
FVIII <sup>540-560</sup> -63	PRCLTRYSSSFVNMER	300
FVIII <sup>540-560</sup> -64	RCLTRYYS	301
FVIII <sup>540-560</sup> -65	RCLTRYSSSF	302
FVIII <sup>540-560</sup> -66	RCLTRYSSSFV	303
FVIII <sup>540-560</sup> -67	RCLTRYSSSFVN	304
FVIII <sup>540-560</sup> -68	RCLTRYSSSFVNM	305
FVIII <sup>540-560</sup> -69	RCLTRYSSSFVNME	306
FVIII <sup>540-560</sup> -70	RCLTRYSSSFVNMER	307
FVIII <sup>540-560</sup> -71	CLTRYSSSF	308
FVIII <sup>540-560</sup> -72	CLTRYSSSFV	309
FVIII <sup>540-560</sup> -73	CLTRYSSSFVN	310
FVIII <sup>540-560</sup> -74	CLTRYSSSFVNM	311
FVIII <sup>540-560</sup> -75	CLTRYSSSFVNME	312
FVIII <sup>540-560</sup> -76	CLTRYSSSFVNMER	313
FVIII <sup>540-560</sup> -77	LTRYSSSFV	314
FVIII <sup>540-560</sup> -78	LTRYSSSFVN	315
FVIII <sup>540-560</sup> -79	LTRYSSSFVNM	316
FVIII <sup>540-560</sup> -80	LTRYSSSFVNME	317
FVIII <sup>540-560</sup> -81	LTRYSSSFVNMER	318
FVIII <sup>540-560</sup> -82	TRYSSSFVN	319
FVIII <sup>540-560</sup> -83	TRYSSSFVNM	320
FVIII <sup>540-560</sup> -84	TRYSSSFVNME	321
FVIII <sup>540-560</sup> -85	TRYSSSFVNMER	322
FVIII <sup>540-560</sup> -86	RYSSSFVNM	323
FVIII <sup>540-560</sup> -87	RYSSSFVNME	324
FVIII <sup>540-560</sup> -88	RYSSSFVNMER	325
FVIII <sup>540-560</sup> -89	YSSSFVNME	326
FVIII <sup>540-560</sup> -90	YSSSFVNMER	327
FVIII <sup>540-560</sup> -91	YSSSFVNMER	328

10

20

30

40

## 【 0 1 1 7 】

E . 第 V I I I 因子<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup> ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列  $(R^1)_x - P - (R^2)_y$  を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第 V I I I 因子<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup> ペプチドの少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$  が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$  が、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $x$  および  $y$  がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ポリペプチドを提供する。

50

## 【0118】

一実施形態において、Pは、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第V I I I因子<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第V I I I因子<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:329~464から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:329~464から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:329~464から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:329~464から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

10

20

## 【0119】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

30

40

## 【0120】

一実施形態において、F V I I Iペプチドは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I Iペプチドは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I Iペプチドは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I Iペプチドは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、F V I I Iペプチドは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個

50

、 3 6 個、 3 7 個、 3 8 個、 3 9 個、 4 0 個、 4 1 個、 4 2 個、 4 3 個、 4 4 個、 4 5 個  
 、 4 6 個、 4 7 個、 4 8 個、 4 9 個、 5 0 個、 5 1 個、 5 2 個、 5 3 個、 5 4 個、 5 5 個  
 、 5 6 個、 5 7 個、 5 8 個、 5 9 個、 6 0 個、 6 1 個、 6 2 個、 6 3 個、 6 4 個、 6 5 個  
 、 6 6 個、 6 7 個、 6 8 個、 6 9 個、 7 0 個、 7 1 個、 7 2 個、 7 3 個、 7 4 個、 7 5 個  
 、 7 6 個、 7 7 個、 7 8 個、 7 9 個、 8 0 個、 8 1 個、 8 2 個、 8 3 個、 8 4 個、 8 5 個  
 、 8 6 個、 8 7 個、 8 8 個、 8 9 個、 9 0 個、 9 1 個、 9 2 個、 9 3 個、 9 4 個、 9 5 個  
 、 9 6 個、 9 7 個、 9 8 個、 9 9 個、 1 0 0 個、 1 0 5 個、 1 1 0 個、 1 1 5 個、 1 2 0  
 個、 1 2 5 個、 1 3 0 個、 1 3 5 個、 1 4 0 個、 1 4 5 個、 1 5 0 個、 1 5 5 個、 1 6 0  
 個、 1 6 5 個、 1 7 0 個、 1 7 5 個、 または 1 8 0 個のアミノ酸からなる。

【 0 1 2 1 】

( 表 6 ) 例示的 F V I I I <sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup> ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII <sup>1401-1424</sup> -1	QANRSPLPI	329
FVIII <sup>1401-1424</sup> -2	QANRSPLPIA	330
FVIII <sup>1401-1424</sup> -3	QANRSPLPIAK	331
FVIII <sup>1401-1424</sup> -4	QANRSPLPIAKV	332
FVIII <sup>1401-1424</sup> -5	QANRSPLPIAKVS	333
FVIII <sup>1401-1424</sup> -6	QANRSPLPIAKVSS	334
FVIII <sup>1401-1424</sup> -7	QANRSPLPIAKVSSF	335
FVIII <sup>1401-1424</sup> -8	QANRSPLPIAKVSSFP	336
FVIII <sup>1401-1424</sup> -9	QANRSPLPIAKVSSFPS	337
FVIII <sup>1401-1424</sup> -10	QANRSPLPIAKVSSFPSI	338
FVIII <sup>1401-1424</sup> -11	QANRSPLPIAKVSSFPSIR	339
FVIII <sup>1401-1424</sup> -12	QANRSPLPIAKVSSFPSIRP	340
FVIII <sup>1401-1424</sup> -13	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPI	341
FVIII <sup>1401-1424</sup> -14	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIY	342
FVIII <sup>1401-1424</sup> -15	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYL	343
FVIII <sup>1401-1424</sup> -16	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT	344
FVIII <sup>1401-1424</sup> -17	ANRSPLPIA	345
FVIII <sup>1401-1424</sup> -18	ANRSPLPIAK	346
FVIII <sup>1401-1424</sup> -19	ANRSPLPIAKV	347
FVIII <sup>1401-1424</sup> -20	ANRSPLPIAKVS	348
FVIII <sup>1401-1424</sup> -21	ANRSPLPIAKVSS	349
FVIII <sup>1401-1424</sup> -22	ANRSPLPIAKVSSF	350
FVIII <sup>1401-1424</sup> -23	ANRSPLPIAKVSSFP	351
FVIII <sup>1401-1424</sup> -24	ANRSPLPIAKVSSFPS	352
FVIII <sup>1401-1424</sup> -25	ANRSPLPIAKVSSFPSI	353
FVIII <sup>1401-1424</sup> -26	ANRSPLPIAKVSSFPSIR	354
FVIII <sup>1401-1424</sup> -27	ANRSPLPIAKVSSFPSIRP	355
FVIII <sup>1401-1424</sup> -28	ANRSPLPIAKVSSFPSIRPI	356
FVIII <sup>1401-1424</sup> -29	ANRSPLPIAKVSSFPSIRPIY	357

10

20

30

FVIII <sup>1401-1424</sup> -30	ANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYL	358
FVIII <sup>1401-1424</sup> -31	ANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT	359
FVIII <sup>1401-1424</sup> -32	NRSPLPIAK	360
FVIII <sup>1401-1424</sup> -33	NRSPLPIAKV	361
FVIII <sup>1401-1424</sup> -34	NRSPLPIAKVS	362
FVIII <sup>1401-1424</sup> -35	NRSPLPIAKVSS	363
FVIII <sup>1401-1424</sup> -36	NRSPLPIAKVSSF	364
FVIII <sup>1401-1424</sup> -37	NRSPLPIAKVSSFP	365
FVIII <sup>1401-1424</sup> -38	NRSPLPIAKVSSFPS	366
FVIII <sup>1401-1424</sup> -39	NRSPLPIAKVSSFPSI	367
FVIII <sup>1401-1424</sup> -40	NRSPLPIAKVSSFPSIR	368
FVIII <sup>1401-1424</sup> -41	NRSPLPIAKVSSFPSIRP	369
FVIII <sup>1401-1424</sup> -42	NRSPLPIAKVSSFPSIRPI	370
FVIII <sup>1401-1424</sup> -43	NRSPLPIAKVSSFPSIRPIY	371
FVIII <sup>1401-1424</sup> -44	NRSPLPIAKVSSFPSIRPIYL	372
FVIII <sup>1401-1424</sup> -45	NRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT	373
FVIII <sup>1401-1424</sup> -46	RSPLPIAKV	374
FVIII <sup>1401-1424</sup> -47	RSPLPIAKVS	375
FVIII <sup>1401-1424</sup> -48	RSPLPIAKVSS	376
FVIII <sup>1401-1424</sup> -49	RSPLPIAKVSSF	377
FVIII <sup>1401-1424</sup> -50	RSPLPIAKVSSFP	378
FVIII <sup>1401-1424</sup> -51	RSPLPIAKVSSFPS	379
FVIII <sup>1401-1424</sup> -52	RSPLPIAKVSSFPSI	380
FVIII <sup>1401-1424</sup> -53	RSPLPIAKVSSFPSIR	381
FVIII <sup>1401-1424</sup> -54	RSPLPIAKVSSFPSIRP	382
FVIII <sup>1401-1424</sup> -55	RSPLPIAKVSSFPSIRPI	383
FVIII <sup>1401-1424</sup> -56	RSPLPIAKVSSFPSIRPIY	384
FVIII <sup>1401-1424</sup> -57	RSPLPIAKVSSFPSIRPIYL	385
FVIII <sup>1401-1424</sup> -58	RSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT	386
FVIII <sup>1401-1424</sup> -59	SPLPIAKVS	387
FVIII <sup>1401-1424</sup> -60	SPLPIAKVSS	388
FVIII <sup>1401-1424</sup> -61	SPLPIAKVSSF	389
FVIII <sup>1401-1424</sup> -62	SPLPIAKVSSFP	390
FVIII <sup>1401-1424</sup> -63	SPLPIAKVSSFPS	391
FVIII <sup>1401-1424</sup> -64	SPLPIAKVSSFPSI	392
FVIII <sup>1401-1424</sup> -65	SPLPIAKVSSFPSIR	393
FVIII <sup>1401-1424</sup> -66	SPLPIAKVSSFPSIRP	394
FVIII <sup>1401-1424</sup> -67	SPLPIAKVSSFPSIRPI	395
FVIII <sup>1401-1424</sup> -68	SPLPIAKVSSFPSIRPIY	396
FVIII <sup>1401-1424</sup> -69	SPLPIAKVSSFPSIRPIYL	397
FVIII <sup>1401-1424</sup> -70	SPLPIAKVSSFPSIRPIYLT	398
FVIII <sup>1401-1424</sup> -71	PLPIAKVSS	399
FVIII <sup>1401-1424</sup> -72	PLPIAKVSSF	400
FVIII <sup>1401-1424</sup> -73	PLPIAKVSSFP	401
FVIII <sup>1401-1424</sup> -74	PLPIAKVSSFPS	402
FVIII <sup>1401-1424</sup> -75	PLPIAKVSSFPSI	403
FVIII <sup>1401-1424</sup> -76	PLPIAKVSSFPSIR	404
FVIII <sup>1401-1424</sup> -77	PLPIAKVSSFPSIRP	405
FVIII <sup>1401-1424</sup> -78	PLPIAKVSSFPSIRPI	406
FVIII <sup>1401-1424</sup> -79	PLPIAKVSSFPSIRPIY	407

10

20

30

40

FVIII <sup>1401-1424</sup> -80	PLPIAKVSSFPSIRPIYL	408
FVIII <sup>1401-1424</sup> -81	PLPIAKVSSFPSIRPIYLT	409
FVIII <sup>1401-1424</sup> -82	LPIAKVSSF	410
FVIII <sup>1401-1424</sup> -83	LPIAKVSSFP	411
FVIII <sup>1401-1424</sup> -84	LPIAKVSSFPS	412
FVIII <sup>1401-1424</sup> -85	LPIAKVSSFPSI	413
FVIII <sup>1401-1424</sup> -86	LPIAKVSSFPSIR	414
FVIII <sup>1401-1424</sup> -87	LPIAKVSSFPSIRP	415
FVIII <sup>1401-1424</sup> -88	LPIAKVSSFPSIRPI	416
FVIII <sup>1401-1424</sup> -89	LPIAKVSSFPSIRPIY	417
FVIII <sup>1401-1424</sup> -90	LPIAKVSSFPSIRPIYL	418
FVIII <sup>1401-1424</sup> -91	LPIAKVSSFPSIRPIYLT	419
FVIII <sup>1401-1424</sup> -92	PIAKVSSFP	420
FVIII <sup>1401-1424</sup> -93	PIAKVSSFPS	421
FVIII <sup>1401-1424</sup> -94	PIAKVSSFPSI	422
FVIII <sup>1401-1424</sup> -95	PIAKVSSFPSIR	423
FVIII <sup>1401-1424</sup> -96	PIAKVSSFPSIRP	424
FVIII <sup>1401-1424</sup> -97	PIAKVSSFPSIRPI	425
FVIII <sup>1401-1424</sup> -98	PIAKVSSFPSIRPIY	426
FVIII <sup>1401-1424</sup> -99	PIAKVSSFPSIRPIYL	427
FVIII <sup>1401-1424</sup> -100	PIAKVSSFPSIRPIYLT	428
FVIII <sup>1401-1424</sup> -101	IAKVSSFPS	429
FVIII <sup>1401-1424</sup> -102	IAKVSSFPSI	430
FVIII <sup>1401-1424</sup> -103	IAKVSSFPSIR	431
FVIII <sup>1401-1424</sup> -104	IAKVSSFPSIRP	432
FVIII <sup>1401-1424</sup> -105	IAKVSSFPSIRPI	433
FVIII <sup>1401-1424</sup> -106	IAKVSSFPSIRPIY	434
FVIII <sup>1401-1424</sup> -107	IAKVSSFPSIRPIYL	435
FVIII <sup>1401-1424</sup> -108	IAKVSSFPSIRPIYLT	436
FVIII <sup>1401-1424</sup> -109	AKVSSFPSI	437
FVIII <sup>1401-1424</sup> -110	AKVSSFPSIR	438
FVIII <sup>1401-1424</sup> -111	AKVSSFPSIRP	439
FVIII <sup>1401-1424</sup> -112	AKVSSFPSIRPI	440
FVIII <sup>1401-1424</sup> -113	AKVSSFPSIRPIY	441
FVIII <sup>1401-1424</sup> -114	AKVSSFPSIRPIYL	442
FVIII <sup>1401-1424</sup> -115	AKVSSFPSIRPIYLT	443
FVIII <sup>1401-1424</sup> -116	KVSSFPSIR	444
FVIII <sup>1401-1424</sup> -117	KVSSFPSIRP	445
FVIII <sup>1401-1424</sup> -118	KVSSFPSIRPI	446
FVIII <sup>1401-1424</sup> -119	KVSSFPSIRPIY	447
FVIII <sup>1401-1424</sup> -120	KVSSFPSIRPIYL	448
FVIII <sup>1401-1424</sup> -121	KVSSFPSIRPIYLT	449
FVIII <sup>1401-1424</sup> -122	VSSFPSIRP	450
FVIII <sup>1401-1424</sup> -123	VSSFPSIRPI	451
FVIII <sup>1401-1424</sup> -124	VSSFPSIRPIY	452
FVIII <sup>1401-1424</sup> -125	VSSFPSIRPIYL	453
FVIII <sup>1401-1424</sup> -126	VSSFPSIRPIYLT	454
FVIII <sup>1401-1424</sup> -127	SSFPSIRPI	455
FVIII <sup>1401-1424</sup> -128	SSFPSIRPIY	456
FVIII <sup>1401-1424</sup> -129	SSFPSIRPIYL	457
FVIII <sup>1401-1424</sup> -130	SSFPSIRPIYLT	458
FVIII <sup>1401-1424</sup> -131	SFPSIRPIY	459
FVIII <sup>1401-1424</sup> -132	SFPSIRPIYL	460
FVIII <sup>1401-1424</sup> -133	SFPSIRPIYLT	461
FVIII <sup>1401-1424</sup> -134	FPSIRPIYL	462
FVIII <sup>1401-1424</sup> -135	FPSIRPIYLT	463
FVIII <sup>1401-1424</sup> -136	PSIRPIYLT	464

10

20

30

40

【 0 1 2 2 】

F . 第 V I I I 因子<sup>1 7 8 5</sup> - <sup>1 8 0 5</sup> ペプチド

50

一実施形態において、本発明は、配列  $(R^1)_x - P - (R^2)_y$  を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)

を有する第VII因子<sup>1785-1805</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。一実施形態において、Pは、配列：

EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)

を有する第VII因子<sup>1785-1805</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。

10

【0123】

一実施形態において、Pは、配列：

EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)

を有する第VII因子<sup>1785-1805</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:465~555から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:465~555から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:465~555から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:465~555から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

20

【0124】

一実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

30

40

【0125】

50

一実施形態において、FVIIペプチドは、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

10

## 【0126】

(表7) 例示的FVII<sup>1785-1805</sup>ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII <sup>1785-1805</sup> -1	EVEDNIMVT	465
FVIII <sup>1785-1805</sup> -2	EVEDNIMVTF	466
FVIII <sup>1785-1805</sup> -3	EVEDNIMVTFR	467
FVIII <sup>1785-1805</sup> -4	EVEDNIMVTFRN	468
FVIII <sup>1785-1805</sup> -5	EVEDNIMVTFRNQ	469
FVIII <sup>1785-1805</sup> -6	EVEDNIMVTFRNQA	470
FVIII <sup>1785-1805</sup> -7	EVEDNIMVTFRNQAS	471
FVIII <sup>1785-1805</sup> -8	EVEDNIMVTFRNQASR	472
FVIII <sup>1785-1805</sup> -9	EVEDNIMVTFRNQASRP	473
FVIII <sup>1785-1805</sup> -10	EVEDNIMVTFRNQASRPY	474
FVIII <sup>1785-1805</sup> -11	EVEDNIMVTFRNQASRPYS	475
FVIII <sup>1785-1805</sup> -12	EVEDNIMVTFRNQASRPYSF	476
FVIII <sup>1785-1805</sup> -13	EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY	477
FVIII <sup>1785-1805</sup> -14	VEDNIMVTF	478
FVIII <sup>1785-1805</sup> -15	VEDNIMVTFR	479

20

30

FVIII <sup>1785-1805</sup> -16	VEDNIMVTFRN	480
FVIII <sup>1785-1805</sup> -17	VEDNIMVTFRNQ	481
FVIII <sup>1785-1805</sup> -18	VEDNIMVTFRNQA	482
FVIII <sup>1785-1805</sup> -19	VEDNIMVTFRNQAS	483
FVIII <sup>1785-1805</sup> -20	VEDNIMVTFRNQASR	484
FVIII <sup>1785-1805</sup> -21	VEDNIMVTFRNQASRP	485
FVIII <sup>1785-1805</sup> -22	VEDNIMVTFRNQASRPY	486
FVIII <sup>1785-1805</sup> -23	VEDNIMVTFRNQASRPYS	487
FVIII <sup>1785-1805</sup> -24	VEDNIMVTFRNQASRPYSF	488
FVIII <sup>1785-1805</sup> -25	VEDNIMVTFRNQASRPYSFY	489
FVIII <sup>1785-1805</sup> -26	EDNIMVTFR	490
FVIII <sup>1785-1805</sup> -27	EDNIMVTFRN	491
FVIII <sup>1785-1805</sup> -28	EDNIMVTFRNQ	492
FVIII <sup>1785-1805</sup> -29	EDNIMVTFRNQA	493
FVIII <sup>1785-1805</sup> -30	EDNIMVTFRNQAS	494
FVIII <sup>1785-1805</sup> -31	EDNIMVTFRNQASR	495
FVIII <sup>1785-1805</sup> -32	EDNIMVTFRNQASRP	496
FVIII <sup>1785-1805</sup> -33	EDNIMVTFRNQASRPY	497
FVIII <sup>1785-1805</sup> -34	EDNIMVTFRNQASRPYS	498
FVIII <sup>1785-1805</sup> -35	EDNIMVTFRNQASRPYSF	499
FVIII <sup>1785-1805</sup> -36	EDNIMVTFRNQASRPYSFY	500
FVIII <sup>1785-1805</sup> -37	DNIMVTFRN	501
FVIII <sup>1785-1805</sup> -38	DNIMVTFRNQ	502
FVIII <sup>1785-1805</sup> -39	DNIMVTFRNQA	503
FVIII <sup>1785-1805</sup> -40	DNIMVTFRNQAS	504
FVIII <sup>1785-1805</sup> -41	DNIMVTFRNQASR	505
FVIII <sup>1785-1805</sup> -42	DNIMVTFRNQASRP	506
FVIII <sup>1785-1805</sup> -43	DNIMVTFRNQASRPY	507
FVIII <sup>1785-1805</sup> -44	DNIMVTFRNQASRPYS	508
FVIII <sup>1785-1805</sup> -45	DNIMVTFRNQASRPYSF	509
FVIII <sup>1785-1805</sup> -46	DNIMVTFRNQASRPYSFY	510
FVIII <sup>1785-1805</sup> -47	NIMVTFRNQ	511
FVIII <sup>1785-1805</sup> -48	NIMVTFRNQA	512
FVIII <sup>1785-1805</sup> -49	NIMVTFRNQAS	513
FVIII <sup>1785-1805</sup> -50	NIMVTFRNQASR	514
FVIII <sup>1785-1805</sup> -51	NIMVTFRNQASRP	515
FVIII <sup>1785-1805</sup> -52	NIMVTFRNQASRPY	516
FVIII <sup>1785-1805</sup> -53	NIMVTFRNQASRPYS	517
FVIII <sup>1785-1805</sup> -54	NIMVTFRNQASRPYSF	518
FVIII <sup>1785-1805</sup> -55	NIMVTFRNQASRPYSFY	519
FVIII <sup>1785-1805</sup> -56	IMVTFRNQA	520
FVIII <sup>1785-1805</sup> -57	IMVTFRNQAS	521
FVIII <sup>1785-1805</sup> -58	IMVTFRNQASR	522
FVIII <sup>1785-1805</sup> -59	IMVTFRNQASRP	523
FVIII <sup>1785-1805</sup> -60	IMVTFRNQASRPY	524
FVIII <sup>1785-1805</sup> -61	IMVTFRNQASRPYS	525
FVIII <sup>1785-1805</sup> -62	IMVTFRNQASRPYSF	526
FVIII <sup>1785-1805</sup> -63	IMVTFRNQASRPYSFY	527
FVIII <sup>1785-1805</sup> -64	MVTFRNQAS	528
FVIII <sup>1785-1805</sup> -65	MVTFRNQASR	529

10

20

30

40

FVIII <sup>1785-1805</sup> -66	MVTFRNQASRP	530
FVIII <sup>1785-1805</sup> -67	MVTFRNQASRPY	531
FVIII <sup>1785-1805</sup> -68	MVTFRNQASRPYS	532
FVIII <sup>1785-1805</sup> -69	MVTFRNQASRPYSF	533
FVIII <sup>1785-1805</sup> -70	MVTFRNQASRPYSFY	534
FVIII <sup>1785-1805</sup> -71	VTFRNQASR	535
FVIII <sup>1785-1805</sup> -72	VTFRNQASRP	536
FVIII <sup>1785-1805</sup> -73	VTFRNQASRPY	537
FVIII <sup>1785-1805</sup> -74	VTFRNQASRPYS	538
FVIII <sup>1785-1805</sup> -75	VTFRNQASRPYSF	539
FVIII <sup>1785-1805</sup> -76	VTFRNQASRPYSFY	540
FVIII <sup>1785-1805</sup> -77	TFRNQASRP	541
FVIII <sup>1785-1805</sup> -78	TFRNQASRPY	542
FVIII <sup>1785-1805</sup> -79	TFRNQASRPYS	543
FVIII <sup>1785-1805</sup> -80	TFRNQASRPYSF	544
FVIII <sup>1785-1805</sup> -81	TFRNQASRPYSFY	545
FVIII <sup>1785-1805</sup> -82	FRNQASRPY	546
FVIII <sup>1785-1805</sup> -83	FRNQASRPYS	547
FVIII <sup>1785-1805</sup> -84	FRNQASRPYSF	548
FVIII <sup>1785-1805</sup> -85	FRNQASRPYSFY	549
FVIII <sup>1785-1805</sup> -86	RNQASRPYS	550
FVIII <sup>1785-1805</sup> -87	RNQASRPYSF	551
FVIII <sup>1785-1805</sup> -88	RNQASRPYSFY	552
FVIII <sup>1785-1805</sup> -89	NQASRPYSF	553
FVIII <sup>1785-1805</sup> -90	NQASRPYSFY	554
FVIII <sup>1785-1805</sup> -91	QASRPYSFY	555

10

20

30

40

50

## 【 0 1 2 7 】

G . 第 V I I I 因子 <sup>2 0 2 5</sup> - <sup>2 0 4 5</sup> ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 ( R <sup>1</sup> ) <sub>x</sub> - P - ( R <sup>2</sup> ) <sub>y</sub> を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)

を有する第 V I I I 因子 <sup>2 0 2 5</sup> - <sup>2 0 4 5</sup> ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R <sup>1</sup> が、1 ~ 80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R <sup>2</sup> が、1 ~ 80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。

## 【 0 1 2 8 】

一実施形態において、Pは、配列：

LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)

を有する第 V I I I 因子 <sup>2 0 2 5</sup> - <sup>2 0 4 5</sup> ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)

を有する第 V I I I 因子 <sup>2 0 2 5</sup> - <sup>2 0 4 5</sup> ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 556 ~ 646から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 556 ~ 646から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 556 ~ 646から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO: 556 ~ 646から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実

施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

【0129】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

20

【0130】

一実施形態において、FVIIIIペプチドは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIIペプチドは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIIペプチドは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIIペプチドは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIIIペプチドは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

30

40

【0131】

(表8) 例示的FVIIII<sup>2025</sup>-<sup>2045</sup>ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII <sup>2025-2045</sup> -1	LHAGMSTLF	556
FVIII <sup>2025-2045</sup> -2	LHAGMSTLFL	557
FVIII <sup>2025-2045</sup> -3	LHAGMSTLFLV	558
FVIII <sup>2025-2045</sup> -4	LHAGMSTLFLVY	559
FVIII <sup>2025-2045</sup> -5	LHAGMSTLFLVYS	560
FVIII <sup>2025-2045</sup> -6	LHAGMSTLFLVYSN	561
FVIII <sup>2025-2045</sup> -7	LHAGMSTLFLVYSNK	562
FVIII <sup>2025-2045</sup> -8	LHAGMSTLFLVYSNKC	563
FVIII <sup>2025-2045</sup> -9	LHAGMSTLFLVYSNKCQ	564
FVIII <sup>2025-2045</sup> -10	LHAGMSTLFLVYSNKCQT	565
FVIII <sup>2025-2045</sup> -11	LHAGMSTLFLVYSNKCQTP	566
FVIII <sup>2025-2045</sup> -12	LHAGMSTLFLVYSNKCQTPL	567
FVIII <sup>2025-2045</sup> -13	LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG	568
FVIII <sup>2025-2045</sup> -14	HAGMSTLFL	569
FVIII <sup>2025-2045</sup> -15	HAGMSTLFLV	570
FVIII <sup>2025-2045</sup> -16	HAGMSTLFLVY	571
FVIII <sup>2025-2045</sup> -17	HAGMSTLFLVYS	572
FVIII <sup>2025-2045</sup> -18	HAGMSTLFLVYSN	573
FVIII <sup>2025-2045</sup> -19	HAGMSTLFLVYSNK	574
FVIII <sup>2025-2045</sup> -20	HAGMSTLFLVYSNKC	575
FVIII <sup>2025-2045</sup> -21	HAGMSTLFLVYSNKCQ	576
FVIII <sup>2025-2045</sup> -22	HAGMSTLFLVYSNKCQT	577
FVIII <sup>2025-2045</sup> -23	HAGMSTLFLVYSNKCQTP	578
FVIII <sup>2025-2045</sup> -24	HAGMSTLFLVYSNKCQTPL	579
FVIII <sup>2025-2045</sup> -25	HAGMSTLFLVYSNKCQTPLG	580
FVIII <sup>2025-2045</sup> -26	AGMSTLFLV	581
FVIII <sup>2025-2045</sup> -27	AGMSTLFLVY	582
FVIII <sup>2025-2045</sup> -28	AGMSTLFLVYS	583
FVIII <sup>2025-2045</sup> -29	AGMSTLFLVYSN	584
FVIII <sup>2025-2045</sup> -30	AGMSTLFLVYSNK	585
FVIII <sup>2025-2045</sup> -31	AGMSTLFLVYSNKC	586
FVIII <sup>2025-2045</sup> -32	AGMSTLFLVYSNKCQ	587
FVIII <sup>2025-2045</sup> -33	AGMSTLFLVYSNKCQT	588
FVIII <sup>2025-2045</sup> -34	AGMSTLFLVYSNKCQTP	589
FVIII <sup>2025-2045</sup> -35	AGMSTLFLVYSNKCQTPL	590
FVIII <sup>2025-2045</sup> -36	AGMSTLFLVYSNKCQTPLG	591
FVIII <sup>2025-2045</sup> -37	GMSTLFLVY	592
FVIII <sup>2025-2045</sup> -38	GMSTLFLVYS	593
FVIII <sup>2025-2045</sup> -39	GMSTLFLVYSN	594
FVIII <sup>2025-2045</sup> -40	GMSTLFLVYSNK	595
FVIII <sup>2025-2045</sup> -41	GMSTLFLVYSNKC	596
FVIII <sup>2025-2045</sup> -42	GMSTLFLVYSNKCQ	597
FVIII <sup>2025-2045</sup> -43	GMSTLFLVYSNKCQT	598
FVIII <sup>2025-2045</sup> -44	GMSTLFLVYSNKCQTP	599
FVIII <sup>2025-2045</sup> -45	GMSTLFLVYSNKCQTPL	600
FVIII <sup>2025-2045</sup> -46	GMSTLFLVYSNKCQTPLG	601
FVIII <sup>2025-2045</sup> -47	MSTLFLVYS	602

10

20

30

40

FVIII <sup>2025-2045</sup> -48	MSTLFLVYSN	603
FVIII <sup>2025-2045</sup> -49	MSTLFLVYSNK	604
FVIII <sup>2025-2045</sup> -50	MSTLFLVYSNKC	605
FVIII <sup>2025-2045</sup> -51	MSTLFLVYSNKCQ	606
FVIII <sup>2025-2045</sup> -52	MSTLFLVYSNKCQT	607
FVIII <sup>2025-2045</sup> -53	MSTLFLVYSNKCQTP	608
FVIII <sup>2025-2045</sup> -54	MSTLFLVYSNKCQTPL	609
FVIII <sup>2025-2045</sup> -55	MSTLFLVYSNKCQTPLG	610
FVIII <sup>2025-2045</sup> -56	STLFLVYSN	611
FVIII <sup>2025-2045</sup> -57	STLFLVYSNK	612
FVIII <sup>2025-2045</sup> -58	STLFLVYSNKC	613
FVIII <sup>2025-2045</sup> -59	STLFLVYSNKCQ	614
FVIII <sup>2025-2045</sup> -60	STLFLVYSNKCQT	615
FVIII <sup>2025-2045</sup> -61	STLFLVYSNKCQTP	616
FVIII <sup>2025-2045</sup> -62	STLFLVYSNKCQTPL	617
FVIII <sup>2025-2045</sup> -63	STLFLVYSNKCQTPLG	618
FVIII <sup>2025-2045</sup> -64	TLFLVYSNK	619
FVIII <sup>2025-2045</sup> -65	TLFLVYSNKC	620
FVIII <sup>2025-2045</sup> -66	TLFLVYSNKCQ	621
FVIII <sup>2025-2045</sup> -67	TLFLVYSNKCQT	622
FVIII <sup>2025-2045</sup> -68	TLFLVYSNKCQTP	623
FVIII <sup>2025-2045</sup> -69	TLFLVYSNKCQTPL	624
FVIII <sup>2025-2045</sup> -70	TLFLVYSNKCQTPLG	625
FVIII <sup>2025-2045</sup> -71	LFLVYSNKC	626
FVIII <sup>2025-2045</sup> -72	LFLVYSNKCQ	627
FVIII <sup>2025-2045</sup> -73	LFLVYSNKCQT	628
FVIII <sup>2025-2045</sup> -74	LFLVYSNKCQTP	629
FVIII <sup>2025-2045</sup> -75	LFLVYSNKCQTPL	630
FVIII <sup>2025-2045</sup> -76	LFLVYSNKCQTPLG	631
FVIII <sup>2025-2045</sup> -77	FLVYSNKCQ	632
FVIII <sup>2025-2045</sup> -78	FLVYSNKCQT	633
FVIII <sup>2025-2045</sup> -79	FLVYSNKCQTP	634
FVIII <sup>2025-2045</sup> -80	FLVYSNKCQTPL	635
FVIII <sup>2025-2045</sup> -81	FLVYSNKCQTPLG	636
FVIII <sup>2025-2045</sup> -82	LVYSNKCQT	637
FVIII <sup>2025-2045</sup> -83	LVYSNKCQTP	638
FVIII <sup>2025-2045</sup> -84	LVYSNKCQTPL	639
FVIII <sup>2025-2045</sup> -85	LVYSNKCQTPLG	640
FVIII <sup>2025-2045</sup> -86	VYSNKCQTP	641
FVIII <sup>2025-2045</sup> -87	VYSNKCQTPL	642
FVIII <sup>2025-2045</sup> -88	VYSNKCQTPLG	643
FVIII <sup>2025-2045</sup> -89	YSNKCQTPL	644
FVIII <sup>2025-2045</sup> -90	YSNKCQTPLG	645
FVIII <sup>2025-2045</sup> -91	SNKCQTPLG	646

10

20

30

40

## 【 0 1 3 2 】

H. 第 V I I I 因子<sup>2 1 6 0 - 2 1 8 0</sup> ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列  $(R^1)_x - P - (R^2)_y$  を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

NPPIARYIRLHPHYSIRST (SEQ ID NO:659)

を有する第 V I I I 因子<sup>2 1 6 0 - 2 1 8 0</sup> ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。

50

## 【0133】

一実施形態において、Pは、配列：

NPPIARYIRLHPHYSIRST (SEQ ID NO:659)

を有する第V I I I因子<sup>2160-2180</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

NPPIARYIRLHPHYSIRST (SEQ ID NO:659)

を有する第V I I I因子<sup>2160-2180</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:647~737から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:647~737から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:647~737から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:647~737から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

## 【0134】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

## 【0135】

一実施形態において、F V I I Iペプチドは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I Iペプチドは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I Iペプチドは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I Iペプチドは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、F V I I Iペプチドは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個

、 3 6 個、 3 7 個、 3 8 個、 3 9 個、 4 0 個、 4 1 個、 4 2 個、 4 3 個、 4 4 個、 4 5 個  
 、 4 6 個、 4 7 個、 4 8 個、 4 9 個、 5 0 個、 5 1 個、 5 2 個、 5 3 個、 5 4 個、 5 5 個  
 、 5 6 個、 5 7 個、 5 8 個、 5 9 個、 6 0 個、 6 1 個、 6 2 個、 6 3 個、 6 4 個、 6 5 個  
 、 6 6 個、 6 7 個、 6 8 個、 6 9 個、 7 0 個、 7 1 個、 7 2 個、 7 3 個、 7 4 個、 7 5 個  
 、 7 6 個、 7 7 個、 7 8 個、 7 9 個、 8 0 個、 8 1 個、 8 2 個、 8 3 個、 8 4 個、 8 5 個  
 、 8 6 個、 8 7 個、 8 8 個、 8 9 個、 9 0 個、 9 1 個、 9 2 個、 9 3 個、 9 4 個、 9 5 個  
 、 9 6 個、 9 7 個、 9 8 個、 9 9 個、 1 0 0 個、 1 0 5 個、 1 1 0 個、 1 1 5 個、 1 2 0  
 個、 1 2 5 個、 1 3 0 個、 1 3 5 個、 1 4 0 個、 1 4 5 個、 1 5 0 個、 1 5 5 個、 1 6 0  
 個、 1 6 5 個、 1 7 0 個、 1 7 5 個、 または 1 8 0 個のアミノ酸からなる。

【 0 1 3 6 】

( 表 9 ) 例示的 F V I I I <sup>2 1 6 0</sup> - 2 1 8 0 ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII <sup>2160-2180</sup> -1	NPPIARYI	647
FVIII <sup>2160-2180</sup> -2	NPPIARYIR	648
FVIII <sup>2160-2180</sup> -3	NPPIARYIRL	649
FVIII <sup>2160-2180</sup> -4	NPPIARYIRLH	650
FVIII <sup>2160-2180</sup> -5	NPPIARYIRLHP	651
FVIII <sup>2160-2180</sup> -6	NPPIARYIRLHPT	652
FVIII <sup>2160-2180</sup> -7	NPPIARYIRLHPTH	653
FVIII <sup>2160-2180</sup> -8	NPPIARYIRLHPHYS	654
FVIII <sup>2160-2180</sup> -9	NPPIARYIRLHPHYSI	655
FVIII <sup>2160-2180</sup> -10	NPPIARYIRLHPHYSIR	656
FVIII <sup>2160-2180</sup> -11	NPPIARYIRLHPHYSIRS	657
FVIII <sup>2160-2180</sup> -12	NPPIARYIRLHPHYSIRST	658
FVIII <sup>2160-2180</sup> -13	PPIARYIR	659
FVIII <sup>2160-2180</sup> -14	PPIARYIRL	660
FVIII <sup>2160-2180</sup> -15	PPIARYIRLH	661
FVIII <sup>2160-2180</sup> -16	PPIARYIRLHP	662
FVIII <sup>2160-2180</sup> -17	PPIARYIRLHPT	663
FVIII <sup>2160-2180</sup> -18	PPIARYIRLHPTH	664
FVIII <sup>2160-2180</sup> -19	PPIARYIRLHPHYS	665
FVIII <sup>2160-2180</sup> -20	PPIARYIRLHPHYSI	666
FVIII <sup>2160-2180</sup> -21	PPIARYIRLHPHYSIR	667
FVIII <sup>2160-2180</sup> -22	PPIARYIRLHPHYSIRS	668
FVIII <sup>2160-2180</sup> -23	PPIARYIRLHPHYSIRST	669
FVIII <sup>2160-2180</sup> -24	PIARYIRL	670
FVIII <sup>2160-2180</sup> -25	PIARYIRLH	671
FVIII <sup>2160-2180</sup> -26	PIARYIRLHP	672
FVIII <sup>2160-2180</sup> -27	PIARYIRLHPT	673
FVIII <sup>2160-2180</sup> -28	PIARYIRLHPHYS	674
FVIII <sup>2160-2180</sup> -29	PIARYIRLHPHYSI	675

10

20

30

FVIII <sup>2160-2180</sup> -30	PIIARYIRLHPTH	676
FVIII <sup>2160-2180</sup> -31	PIIARYIRLHPHTHY	677
FVIII <sup>2160-2180</sup> -32	PIIARYIRLHPHTHYS	678
FVIII <sup>2160-2180</sup> -33	PIIARYIRLHPHTHYSI	679
FVIII <sup>2160-2180</sup> -34	PIIARYIRLHPHTHYSIR	680
FVIII <sup>2160-2180</sup> -35	PIIARYIRLHPHTHYSIRS	681
FVIII <sup>2160-2180</sup> -36	PIIARYIRLHPHTHYSIRST	682
FVIII <sup>2160-2180</sup> -37	PIIARYIRLH	683
FVIII <sup>2160-2180</sup> -38	PIIARYIRLHP	684
FVIII <sup>2160-2180</sup> -39	PIIARYIRLHPT	685
FVIII <sup>2160-2180</sup> -40	PIIARYIRLHPTH	686
FVIII <sup>2160-2180</sup> -41	PIIARYIRLHPHTHY	687
FVIII <sup>2160-2180</sup> -42	PIIARYIRLHPHTHYS	688
FVIII <sup>2160-2180</sup> -43	PIIARYIRLHPHTHYSI	689
FVIII <sup>2160-2180</sup> -44	PIIARYIRLHPHTHYSIR	690
FVIII <sup>2160-2180</sup> -45	PIIARYIRLHPHTHYSIRS	691
FVIII <sup>2160-2180</sup> -46	PIIARYIRLHPHTHYSIRST	692
FVIII <sup>2160-2180</sup> -47	IARYIRLHP	693
FVIII <sup>2160-2180</sup> -48	IARYIRLHPT	694
FVIII <sup>2160-2180</sup> -49	IARYIRLHPTH	695
FVIII <sup>2160-2180</sup> -50	IARYIRLHPHTHY	696
FVIII <sup>2160-2180</sup> -51	IARYIRLHPHTHYS	697
FVIII <sup>2160-2180</sup> -52	IARYIRLHPHTHYSI	698
FVIII <sup>2160-2180</sup> -53	IARYIRLHPHTHYSIR	699
FVIII <sup>2160-2180</sup> -54	IARYIRLHPHTHYSIRS	700
FVIII <sup>2160-2180</sup> -55	IARYIRLHPHTHYSIRST	701
FVIII <sup>2160-2180</sup> -56	ARYIRLHPT	702
FVIII <sup>2160-2180</sup> -57	ARYIRLHPTH	703
FVIII <sup>2160-2180</sup> -58	ARYIRLHPHTHY	704
FVIII <sup>2160-2180</sup> -59	ARYIRLHPHTHYS	705
FVIII <sup>2160-2180</sup> -60	ARYIRLHPHTHYSI	706
FVIII <sup>2160-2180</sup> -61	ARYIRLHPHTHYSIR	707
FVIII <sup>2160-2180</sup> -62	ARYIRLHPHTHYSIRS	708
FVIII <sup>2160-2180</sup> -63	ARYIRLHPHTHYSIRST	709
FVIII <sup>2160-2180</sup> -64	RYIRLHPTH	710
FVIII <sup>2160-2180</sup> -65	RYIRLHPHTHY	711
FVIII <sup>2160-2180</sup> -66	RYIRLHPHTHYS	712
FVIII <sup>2160-2180</sup> -67	RYIRLHPHTHYSI	713
FVIII <sup>2160-2180</sup> -68	RYIRLHPHTHYSIR	714
FVIII <sup>2160-2180</sup> -69	RYIRLHPHTHYSIRS	715
FVIII <sup>2160-2180</sup> -70	RYIRLHPHTHYSIRST	716
FVIII <sup>2160-2180</sup> -71	YIRLHPHTHY	717
FVIII <sup>2160-2180</sup> -72	YIRLHPHTHYS	718
FVIII <sup>2160-2180</sup> -73	YIRLHPHTHYSI	719
FVIII <sup>2160-2180</sup> -74	YIRLHPHTHYSIR	720
FVIII <sup>2160-2180</sup> -75	YIRLHPHTHYSIRS	721
FVIII <sup>2160-2180</sup> -76	YIRLHPHTHYSIRST	722
FVIII <sup>2160-2180</sup> -77	IRLHPHTHYS	723
FVIII <sup>2160-2180</sup> -78	IRLHPHTHYSI	724
FVIII <sup>2160-2180</sup> -79	IRLHPHTHYSIR	725

10

20

30

40

FVIII <sup>2160-2180</sup> -80	IRLHPHYSIRS	726
FVIII <sup>2160-2180</sup> -81	IRLHPHYSIRST	727
FVIII <sup>2160-2180</sup> -82	RLHPHYSI	728
FVIII <sup>2160-2180</sup> -83	RLHPHYSIR	729
FVIII <sup>2160-2180</sup> -84	RLHPHYSIRS	730
FVIII <sup>2160-2180</sup> -85	RLHPHYSIRST	731
FVIII <sup>2160-2180</sup> -86	LHPHYSIR	732
FVIII <sup>2160-2180</sup> -87	LHPHYSIRS	733
FVIII <sup>2160-2180</sup> -88	LHPHYSIRST	734
FVIII <sup>2160-2180</sup> -89	HPTHYSIRS	735
FVIII <sup>2160-2180</sup> -90	HPTHYSIRST	736
FVIII <sup>2160-2180</sup> -91	PTHYSIRST	737

10

## 【0137】

I. 第VII因子<sup>102-122</sup>ペプチド

一実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有するポリペプチドであって、式中、Pが、配列：

TVVITLKNMASHPVS LHAVGV (SEQ ID NO:740)

を有する第VII因子<sup>102-122</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ポリペプチドを提供する。

20

## 【0138】

一実施形態において、Pは、配列：

TVVITLKNMASHPVS LHAVGV (SEQ ID NO:740)

を有する第VII因子<sup>102-122</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、配列：

TVVITLKNMASHPVS LHAVGV (SEQ ID NO:740)

を有する第VII因子<sup>102-122</sup>ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。

30

## 【0139】

本発明に関して、FVII<sup>102-122</sup>ペプチドは、FVII<sup>102-119</sup>ペプチドも含む。したがって、一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:1~55および738~773から選択される配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:1~55および738~773から選択される配列に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:1~55および738~773から選択される配列に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列である。一実施形態において、Pは、SEQ ID NO:1~55および738~773から選択されるアミノ酸配列である。一部の実施形態において、xおよびyはともに0であってよい。他の実施形態において、xは1であってよく、yは0であってよい。他の実施形態において、xは0であってよく、yは1であってよい。さらに別の実施形態において、xおよびyはともに1であってよい。

40

## 【0140】

一実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、

50

別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

## 【0141】

一実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FV I I I ペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

20

30

## 【0142】

(表10) 例示的 FV I I I<sup>102</sup> - I<sup>22</sup> ペプチド

ペプチド	配列	SEQ ID NO:
FVIII <sup>102-122</sup> -738	TVVITLKNMASHPVSLHAV	738
FVIII <sup>102-122</sup> -739	TVVITLKNMASHPVSLHAVG	739
FVIII <sup>102-122</sup> -740	TVVITLKNMASHPVSLHAVGV	740
FVIII <sup>102-122</sup> -741	VVITLKNMASHPVSLHAV	741
FVIII <sup>102-122</sup> -742	VVITLKNMASHPVSLHAVG	742
FVIII <sup>102-122</sup> -743	VVITLKNMASHPVSLHAVGV	743
FVIII <sup>102-122</sup> -744	VITLKNMASHPVSLHAV	744
FVIII <sup>102-122</sup> -745	VITLKNMASHPVSLHAVG	745
FVIII <sup>102-122</sup> -746	VITLKNMASHPVSLHAVGV	746
FVIII <sup>102-122</sup> -747	ITLKNMASHPVSLHAV	747
FVIII <sup>102-122</sup> -748	ITLKNMASHPVSLHAVG	748
FVIII <sup>102-122</sup> -749	ITLKNMASHPVSLHAVGV	749
FVIII <sup>102-122</sup> -750	TLKNMASHPVSLHAV	750
FVIII <sup>102-122</sup> -751	TLKNMASHPVSLHAVG	751
FVIII <sup>102-122</sup> -752	TLKNMASHPVSLHAVGV	752
FVIII <sup>102-122</sup> -753	LKNMASHPVSLHAV	753
FVIII <sup>102-122</sup> -754	LKNMASHPVSLHAVG	754
FVIII <sup>102-122</sup> -755	LKNMASHPVSLHAVGV	755
FVIII <sup>102-122</sup> -756	KNMASHPVSLHAV	756
FVIII <sup>102-122</sup> -757	KNMASHPVSLHAVG	757
FVIII <sup>102-122</sup> -758	KNMASHPVSLHAVGV	758
FVIII <sup>102-122</sup> -759	NMASHPVSLHAV	759
FVIII <sup>102-122</sup> -760	NMASHPVSLHAVG	760
FVIII <sup>102-122</sup> -761	NMASHPVSLHAVGV	761
FVIII <sup>102-122</sup> -762	MASHPVSLHAV	762
FVIII <sup>102-122</sup> -763	MASHPVSLHAVG	763
FVIII <sup>102-122</sup> -764	MASHPVSLHAVGV	764
FVIII <sup>102-122</sup> -765	ASHPVSLHAV	765
FVIII <sup>102-122</sup> -766	ASHPVSLHAVG	766
FVIII <sup>102-122</sup> -767	ASHPVSLHAVGV	767
FVIII <sup>102-122</sup> -768	SHPVSLHAV	768
FVIII <sup>102-122</sup> -769	SHPVSLHAVG	769
FVIII <sup>102-122</sup> -770	SHPVSLHAVGV	770
FVIII <sup>102-122</sup> -771	HPVSLHAVG	771
FVIII <sup>102-122</sup> -772	HPVSLHAVGV	772
FVIII <sup>102-122</sup> -773	PVSLHAVGV	773

10

20

30

## 【0143】

## IV. FVIIIPeptidを生成する方法

別の態様において、本発明は、さらにFVIIIPeptidを生成する方法に関する。一部の実施形態において、本発明のFVIIIPeptidは、当分野で一般に知られる固相（例えば、Fmocまたはt-Boc）あるいは液相合成技術を用いて生成することができる。例えば、Chan & White, Eds., Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach (Oxford University Press, 2000)、Benoiton, Chemistry of Peptide Synthesis (CRC Press, 2005)、Howl, Peptide Synthesis and Applications (Humana Press, 2010)を参照されたい。

40

## 【0144】

一実施形態において、本発明は、FVIIIPeptidを作成する方法を含み、この方法は、(a) 固相または液相合成技術を用いてペプチドを合成するステップを含み、このFVIIIPeptidは、配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pは、SEQ ID NO: 68、344、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続す

50

るアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R<sup>1</sup>は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyはそれぞれ独立して、0または1である。一実施形態において、R<sup>1</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。特定の実施形態において、このペプチドは、ヒトFVIIタンパク質のBドメイン全体を包含してもよい。

【0145】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【0146】

他の実施形態において、ペプチドは、組換え技術を用いて生成することができる。一実施形態において、本発明は、FVIIペプチドを作成する方法を含み、この方法は、(a) FVIIペプチドをコードするベクターを含む細胞の培養物を供給するステップであって、該FVIIペプチドが配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、SEQ ID NO: 68、344、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R<sup>1</sup>が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、ステップを含む。一実施形態において、R<sup>1</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。特定の実施形態において、このペプチドは、ヒトFVIIタンパク質のBドメイン全体を包含してもよい。

【0147】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形

態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

## 【0148】

一実施形態において、本発明は、FV I I I ペプチドを作成する方法を提供し、この方法は、(a) FV I I I ペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む細胞の培養物を供給するステップであって、該FV I I I ペプチドが配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$  を有し、式中、Pが、SEQ ID NO: 10、68、159、250、344、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$  が、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$  が、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $x$  および  $y$  がそれぞれ独立して、0または1である、ステップ、ならびに(b) 該細胞の培養物において該ペプチドを発現させるステップを含む。

20

## 【0149】

一実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

30

40

## 【0150】

FV I I I ペプチドを生成するための方法の一実施形態において、FV I I I ペプチド

50

は、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I Iペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I Iペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FV I I Iペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FV I I Iペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

10

#### 【0151】

本発明のFV I I Iペプチドは、好適な原核細胞または真核細胞の宿主システムにおける発現によって生成することができる。真核細胞の例には、限定するものではないが、哺乳動物細胞、例えばCHO、COS、HEK 293、BHK、SK-Hep、およびHepG2；昆虫細胞、例えばSF9細胞、SF21細胞、S2細胞、およびHigh Five細胞；ならびに酵母細胞、例えばサッカロミセス(Saccharomyces)細胞またはシゾサッカロミセス(Schizosaccharomyces)細胞がある。一実施形態において、FV I I Iペプチドは、細菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞、鳥類細胞、哺乳動物細胞などで発現させてもよい。一部の実施形態において、ペプチドは、ヒト細胞株、ハムスター細胞株、またはマウス細胞株で発現させてもよい。特定の一実施形態において、細胞株は、CHO、BHK、またはHEK細胞株である。

20

#### 【0152】

幅広い種類のベクターをFV I I Iペプチドの発現に使用することができ、また真核細胞および原核細胞発現ベクターから選択することができる。ベクターは、本明細書において開示されるFV I I Iペプチドのうちの少なくとも1つの発現に必要なヌクレオチド配列を含むことになる。原核細胞発現用のベクターの例には、プラスミド、例えばpRSET、pET、pBADなどがあり、原核細胞発現ベクターに使用されるプロモータには、lac、trc、trp、recA、araBADなどがある。真核細胞発現用のベクターの例には、(i)酵母における発現の場合、ベクター、例えばpAO、pPIC、pYES、pMETにプロモータ、例えばAOX1、GAP、GAL1、AUG1などを使用；(ii)昆虫細胞における発現の場合、ベクター、例えばpMT、pAc5、pIB、pMIB、pBACなどにプロモータ、例えばPH、p10、MT、Ac5、OpIE2、gp64、polhなどを使用、ならびに(iii)哺乳動物細胞における発現の場合、ベクター、例えばpSVL、pCMV、pRc/RSV、pcDNA3、pBPVなど、およびウイルス系、例えばワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、レトロウイルスなどに由来するベクターにプロモータ、例えばCMV、SV40、EF-1、UbC、RSV、ADV、BPV、および -アクチンを使用などがある。

30

40

#### 【0153】

本発明の一部の実施形態において、FV I I Iペプチドを生成するための核酸配列は、当業者に一般に知られている、タンパク質の制御された発現に好適な他の配列、例えばプロモータ配列、エンハンサ、TATAボックス、転写開始部位、ポリリンカー、制限部位、ポリA配列、タンパク質プロセッシング配列、選択マーカなどをさらに含む。

#### 【0154】

FV I I Iペプチドを生成する細胞に使用する培養培地は、当分野で周知の好適な基本

50

培地、例えばDMEM、Ham's F12、Medium 199、McCoy、またはRPMIに基づいてよい。基本培地は、アミノ酸、ビタミン、有機および無機塩、ならびに炭水化物源を含む、複数の成分を含んでもよい。各成分は、細胞の培養を援助する量、例えば当業者に一般に知られている量で存在してよい。培地は、補助物質、例えば緩衝物質、例えば、重炭酸ナトリウム、抗酸化剤、機械的応力の影響を軽減するための安定剤、またはプロテアーゼ阻害物質を含んでもよい。必要であれば、非イオン界面活性剤、例えばポリエチレングリコールとポリプロピレングリコールとのコポリマーおよび/または混合物を添加してもよい。

#### 【0155】

一部の実施形態において、培養培地は、外因的に添加されたタンパク質を含まない。「タンパク質非含有」および関連する用語は、成長中にタンパク質を自然に放出する培養中の細胞に対して外因的なタンパク質、またはそのような細胞以外に起源を持つタンパク質に関する。別の実施形態において、培養培地はポリペプチドを含まない。別の実施形態において、培養培地は血清を含まない。別の実施形態において、培養培地は動物性タンパク質を含まない。別の実施形態において、培養培地は動物性要素を含まない。別の実施形態において、培養培地は、タンパク質、例えば、ウシ胎仔血清などの血清由来の動物性タンパク質を含む。別の実施形態において、培養物は、外因的に添加された組換えタンパク質を有する。別の実施形態において、このタンパク質は、認定された病原体除去動物に由来する。

10

#### 【0156】

動物性タンパク質を含まない化学的に定義された培養培地を調製する方法は、当分野で既知であり、例えば、米国特許第2008/0009040号および米国特許第2007/0212770号に記載されており、これら両特許は、あらゆる目的で本明細書に援用される。一実施形態において、本明細書に記載の方法において使用する培養培地は、動物性タンパク質非含有培地またはオリゴペプチド非含有培地である。特定の実施形態において、培養培地は、化学的に定義されていてもよい。本明細書において使用するとき、「化学的に定義された」という用語は、培地がいかなる定義されていないサプリメント、例えば、動物性要素、器官、腺、植物、または酵母の抽出物も含まないことを意味するものである。したがって、化学的に定義された培地の各要素は正確に定義される。

20

#### 【0157】

特定の実施形態において、本発明の方法は、例えば、回分法、半回分法、流加回分法、または連続法で操作される細胞培養システムの使用を含んでもよい。回分培養は、タンクまたは発酵槽内で細胞接種材料を最大密度まで培養し、1回分として採取および処理する大規模細胞培養であってもよい。流加回分培養は、新鮮な栄養素（例えば、増殖制限基質）または添加物（例えば、生成物の前駆体）のいずれかが供給される回分培養であってもよい。連続培養は、培養物の体積が通常は一定である、新鮮培地の流入により栄養素が連続的に供給される懸濁培養であってもよい。同様に、連続発酵とは、新鮮培地の連続的添加によって、細胞または微生物が培養物中で対数増殖期に維持され、バイオリアクタから細胞懸濁液を除去することによって正確に均衡が保たれるプロセスを指し得る。さらに、攪拌タンク反応器システムは、懸濁培養、灌流培養、ケモスタット培養、および/またはマイクロキャリア培養に使用することができる。一般に、攪拌タンク反応器システムは、Rushton、水中翼、傾斜翼、またはマリンなどの任意のタイプの攪拌装置を備える、いかなる従来の攪拌タンク反応器として操作してもよい。

30

40

#### 【0158】

特定の実施形態において、本発明の細胞培養方法は、マイクロキャリアの使用を含んでもよい。一部の実施形態において、実施形態の細胞培養は、培養物の高い体積比表面積を提供するのに好適な条件下、大型バイオリアクタで実施して、高い細胞密度およびタンパク質発現を達成することができる。そのような成長条件を提供するための手段の1つは、攪拌タンクバイオリアクタ内での細胞培養にマイクロキャリアを使用することである。マイクロキャリア上での細胞成長の概念は、van Wezel (van Wezel, A

50

. L . , Nature 216 : 64 - 5 ( 1967 ) ) によって最初に記載されたが、これは成長倍地に懸濁した小さい固形粒子の表面への細胞接着を可能にする。これらの方法は、高い表面積対体積比を提供し、それにより効率的な栄養利用を可能にする。さらに、真核細胞株での分泌タンパク質の発現について、表面積対体積比の増加は、高レベルの分泌、ひいては培養上澄み中のより高いタンパク質収量を可能にする。最後に、これらの方法は、真核細胞発現培養の容易なスケールアップを可能にする。

【0159】

F V I I I ペプチドを発現する細胞は、細胞培養成長中に球状または多孔性のマイクロキャリアに結合させてもよい。マイクロキャリアは、デキストラン、コラーゲン、プラスチック、ゼラチン、およびセルロースなどに基づくマイクロキャリアの群から選択されるマイクロキャリアであってよい。細胞を球状マイクロキャリア上でバイオマスに成長させ、その細胞が最終的発酵槽バイオマスに達したときに、多孔性マイクロキャリア上の発現タンパク質を生成する前に、その細胞を継代培養すること、またはその逆も可能である。好適な球状マイクロキャリアは、滑面マイクロキャリア、例えば C y t o d e x ( 商標 )

1、C y t o d e x ( 商標 ) 2、および C y t o d e x ( 商標 ) 3 ( G E H e a l t h c a r e )、ならびにマクロ多孔性マイクロキャリア、例えば C y t o p o r e ( 商標 ) 1、C y t o p o r e ( 商標 ) 2、C y t o l i n e ( 商標 ) 1、および C y t o l i n e ( 商標 ) 2 ( G E H e a l t h c a r e ) を含み得る。

【0160】

当業者は、上述の合成法および/または組換え法によって生成された F V I I I ペプチドが、天然アミノ酸および/または非天然アミノ酸、例えばアミノ酸類似体および/またはアミノ酸模倣体を含んでもよいことを理解するであろう。

【0161】

V . 免疫寛容を誘導するための第 F V I I I 因子ペプチド組成物

別の態様において、本明細書において開示される F V I I I ペプチドは、薬学的組成物に含まれていてもよい。一実施形態において、本発明は、本明細書に記載される、第 V I I I 因子<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチド、第 V I I I 因子<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチド、または第 V I I I 因子<sup>1 0 2 - 1 2 2</sup>ペプチドを含む薬学的組成物を提供する。

【0162】

一実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、第 V I I I 因子<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチドを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I<sup>4 7 4 - 4 9 4</sup>ペプチド、F V I I I<sup>5 4 0 - 5 6 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 7 8 5 - 1 8 0 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 0 2 5 - 2 0 4 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 1 6 0 - 2 1 8 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 0 2 - 1 1 9</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 0 2 - 1 2 2</sup>ペプチド、または第2の F V I I I<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチドをさらに含む。

【0163】

別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、第 V I I I 因子<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチドを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I<sup>4 7 4 - 4 9 4</sup>ペプチド、F V I I I<sup>5 4 0 - 5 6 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 7 8 5 - 1 8 0 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 0 2 5 - 2 0 4 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 1 6 0 - 2 1 8 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 0 2 - 1 1 9</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 0 2 - 1 2 2</sup>ペプチド、または第2の F V I I I<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチドをさらに含む。

【0164】

別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される第 V I I I 因子<sup>1 0 2 - 1 2 2</sup>ペプチドを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I<sup>4 7 4 - 4 9 4</sup>ペプチド、F V I I I<sup>5 4 0 - 5 6 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 7 8 5 - 1 8 0 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 0 2 5 - 2 0 4 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 1 6 0 - 2 1 8 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 0 2 - 1 1 9</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 4 6 - 2</sup>

10

20

30

40

50

6<sup>6</sup> ペプチド、F V I I I<sup>1 4 0 1</sup> - 1<sup>4 2 4</sup> ペプチド、または第 2 の F V I I I<sup>1 0 2</sup> - 1<sup>2 2</sup> ペプチドをさらに含む。

【0165】

具体的な実施形態において、本発明は、配列：(R<sup>1</sup>)<sub>x</sub> - P - (R<sup>2</sup>)<sub>y</sub> を有し、式中、P が、S E Q I D N O : 6 8、3 4 4、および 7 4 0 から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 8 5 % の同一性を有するアミノ酸配列であり、R<sup>1</sup> が、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup> が、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ペプチドを含む薬学的組成物を提供する。一実施形態において、R<sup>1</sup> は、1 ~ 4 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup> は、1 ~ 4 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

【0166】

一実施形態において、R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は、別個に、またはともに、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は、別個に、またはともに、1 ~ 7 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は、別個に、またはともに、1 ~ 6 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は、別個に、またはともに、1 ~ 5 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は、別個に、またはともに、1 ~ 4 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は、別個に、またはともに、1 ~ 3 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は、別個に、またはともに、1 ~ 2 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は、別個に、またはともに、1 ~ 1 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は、別個に、またはともに、1 ~ 5 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は、別個に、またはともに、1 ~ 2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、1 0 個、1 1 個、1 2 個、1 3 個、1 4 個、1 5 個、1 6 個、1 7 個、1 8 個、1 9 個、2 0 個、2 1 個、2 2 個、2 3 個、2 4 個、2 5 個、2 6 個、2 7 個、2 8 個、2 9 個、3 0 個、3 1 個、3 2 個、3 3 個、3 4 個、3 5 個、3 6 個、3 7 個、3 8 個、3 9 個、4 0 個、4 1 個、4 2 個、4 3 個、4 4 個、4 5 個、4 6 個、4 7 個、4 8 個、4 9 個、5 0 個、5 1 個、5 2 個、5 3 個、5 4 個、5 5 個、5 6 個、5 7 個、5 8 個、5 9 個、6 0 個、6 1 個、6 2 個、6 3 個、6 4 個、6 5 個、6 6 個、6 7 個、6 8 個、6 9 個、7 0 個、7 1 個、7 2 個、7 3 個、7 4 個、7 5 個、7 6 個、7 7 個、7 8 個、7 9 個、または 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

【0167】

一実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 1 5 0 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 1 0 0 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 5 0 個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 2 5 個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、F V I I I ペプチドは、9 ~ 1 0 個、1 1 個、1 2 個、1 3 個、1 4 個、1 5 個、1 6 個、1 7 個、1 8 個、1 9 個、2 0 個、2 1 個、2 2 個、2 3 個、2 4 個、2 5 個、2 6 個、2 7 個、2 8 個、2 9 個、3 0 個、3 1 個、3 2 個、3 3 個、3 4 個、3 5 個、3 6 個、3 7 個、3 8 個、3 9 個、4 0 個、4 1 個、4 2 個、4 3 個、4 4 個、4 5 個、4 6 個、4 7 個、4 8 個、4 9 個、5 0 個、5 1 個、5 2 個、5 3 個、5 4 個、5 5 個、5 6 個、5 7 個、5 8 個、5 9 個、6 0 個、6 1 個、6 2 個、6 3 個、6 4 個、6 5 個、6 6 個、6 7 個、6 8 個、6 9 個、7 0 個、7 1 個、7 2 個、7 3 個、7 4 個、7 5 個、7 6 個、7 7 個、7 8 個、7 9 個、8 0 個、8 1 個、8 2 個、8 3 個、8 4 個、8 5 個、8 6 個、8 7 個、8 8 個、8 9 個、9 0 個、9 1 個、9 2 個、9 3 個、9 4 個、9 5 個、9 6 個、9 7 個、9 8 個、9 9 個、1 0 0 個、1 0 5 個、1 1 0 個、1 1 5 個、1 2 0 個、1 2 5 個、1 3 0 個、1 3 5 個、1 4 0 個、1 4 5 個、1 5 0 個、1 5 5 個、1 6 0

40

50

個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0168】

具体的な実施形態において、薬学的組成物は第2のポリペプチドをさらに含み、該第2のポリペプチドは、配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pは、SEQ ID NO: 10、68、159、250、344、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R<sup>1</sup>は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyはそれぞれ独立して、0または1である。一実施形態において、R<sup>1</sup>は、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

【0169】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

【0170】

一実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145

40

50

個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0171】

A. 投与

組成物をヒトまたは試験動物に投与するために、一態様において、組成物は1つまたは複数の薬学的に許容可能な担体を含んでもよい。「薬学的に」または「薬理的に」許容可能なという表現は、安定であり、タンパク質またはペプチド分解、例えば凝集および切断産物を抑制し、さらに後述のように当分野で周知の経路を用いて投与したときにアレルギー反応または他の有害反応を生じない、分子実体および組成物を指す。「薬学的に許容可能な担体」には、あらゆる臨床的に有用な溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などが含まれる。

10

【0172】

薬学的組成物は、経口的に、局所的に、経皮的に、非経口的に、吸入噴霧によって、経腔的に、直腸に、または頭蓋内注射によって投与することができる。本明細書において使用するとき、非経口という用語は、皮下注射、静脈内、筋肉内、大槽内注射または注入手法を含む。静脈内、皮内、筋肉内、乳房内、腹腔内、髄腔内、球後、肺内注射による投与、および/または特定の部位における外科的移植も想定されている。一般に、組成物は、発熱因子、およびレシipientに害を与え得る他の不純物を本質的に含まない。

【0173】

投薬量および投与頻度は、例えば、患者の血友病の重症度、および/またはより高用量またはより低用量を用いて免疫寛容がより有効に誘導されるかどうかを含む、当業者に一般に認識されている様々な因子に応じて異なる。通常の日用量は、約0.01~100mg/kgであってよい。1週間当たりFVIIIPeptid0.07~700mgの範囲の用量は、有効であり、かつ良好な耐容性を示すが、さらに高い1週間の用量も適切であり得、および/または良好な耐容性を示し得る。適切な用量を規定する際の主な決定要素は、特定の状況で治療上有効であるために必要な特定のFVIIIPeptidの量である。より長く持続する免疫寛容を達成するためには、反復投与が必要となり得る。この組成物の単回または複数回投与は、治療する医師によって選択された用量レベルおよびパターンで実施することができる。

20

【0174】

一態様において、本発明の組成物をボラス投与してもよい。別の例として、FVIIIPeptidを1回のみ用量として投与してもよい。当業者は、適正な医療行為および個々の患者の臨床症状によって決定された有効な投薬量および投与計画を容易に最適にするであろう。投与頻度は、投与経路により異なる。最適な薬学的組成物は、投与経路および所望の投薬量に応じて当業者が決定する。例えば、開示内容が参照により本明細書に援用される、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Remington the Science and Practice of Pharmacy), 21st Ed. (2005, Lippincott Williams & Wilkins)を参照されたい。このような組成物は、投与した薬剤の物理的状态、安定性、インピボ放出速度、およびインピボクリアランス速度に影響を与える。投与経路に応じて、好適な用量は、体重、体表面積、または器官の大きさによって算出される。適切な投薬量は、適切な用量反応データと併せて、投薬量の血中レベルを決定するための確立されたアッセイを使用することによって確定することができる。最終的な投薬計画は、薬物の作用を変化させる様々な要素、例えば薬物の比活性、損傷の重症度および患者の反応性、患者の年齢、状態、体重、性別、および食習慣、あらゆる感染症の重症度、投与時間、ならびに他の臨床的要素を考慮して、担当医師が決定する。

30

40

【0175】

一部の実施形態において、本明細書において開示されるFVIIIPeptidを含む組成物は、投与前に凍結乾燥される。凍結乾燥は、当分野で一般的な技術を用いて実施し、例

50

えば、Tang et al., Pharm Res. 21:191-200 (2004) および Chang et al., Pharm Res. 13:243-9 (1996) に記載されているように、作製する組成物に対して最適化すべきである。薬学的組成物を調製する方法は、凍結乾燥前に混合物に安定化剤を添加するステップ、増量剤、浸透圧調節剤、および界面活性剤のうち少なくとも1つの作用剤を凍結乾燥前に混合物に添加するステップ、のうち1つまたは複数のステップを含んでもよい。凍結乾燥製剤は、一態様において、緩衝剤、増量剤、および安定剤のうち1つまたは複数から少なくとも構成される。この態様において、凍結乾燥ステップ中または再構成中に凝集が問題になる場合には、界面活性剤の有用性を評価し、選択する。凍結乾燥中に、製剤を安定領域のpH内に維持するために、適切な緩衝剤が含まれる。

10

#### 【0176】

凍結乾燥材料の標準的再構成技法は、ある体積の注射用純水または滅菌水(WFI)(通常は凍結乾燥時に除去された体積と等しい)を追加して戻すものであるが、非経口投与用の医薬品の製造時には抗菌剤の希薄溶液を使用する場合もある。したがって、凍結乾燥FVIIIPeptid組成物に希釈剤を添加するステップを含む、再構成FVIIIPeptid組成物の調製のための方法が提供される。

#### 【0177】

一部の実施形態において、凍結乾燥材料を水溶液として再構成してもよい。様々な水性担体、例えば、注射用滅菌水、複数回投与用の場合の保存料を含む水、または適切な量の界面活性剤を含む水(例えば、水性懸濁液の製造に好適な賦形剤と混合された活性化化合物を含有する水性懸濁液)。種々の態様において、そのような賦形剤は、懸濁剤、例えば、限定するものではないが、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガントガム、およびアカシアガムであり;分散剤または湿潤剤は、天然に存在するリン脂質、例えば、限定するものではないが、レシチン、またはアルキレンオキシドと脂肪酸との縮合物、例えば、限定するものではないが、ポリオキシエチレンステアレート、またはエチレンオキシドと長鎖脂肪族アルコールとの縮合物、例えば、限定するものではないが、ヘプタデカエチル-エネオキシセタノール(eneoxy cetanol)、またはエチレンオキシドと、脂肪酸とヘキシトールとから得られる部分エステルとの縮合物、例えばポリオキシエチレンソルビトールモノオレエート、またはエチレンオキシドと、脂肪酸とヘキシトール無水物とから得られる部分エステルとの縮合物、例えば、限定するものではないが、ポリエチレンソルビタンモノオレエートである。種々の態様において、水性懸濁液は、1つまたは複数の保存料、例えば、限定するものではないが、エチル、またはn-プロピル、p-ヒドロキシ安息香酸を含有する。

20

30

#### 【0178】

##### VI. 治療方法

本発明は、さらに、FVIIITank質に関連する疾患、例えば、血友病Aまたは後天性血友病を有する患者を治療する方法に関する。このような方法は、本明細書において開示されるFVIIIPeptidのうち少なくとも1つの投与を含んでもよい。とりわけ、該FVIIIPeptidのうち少なくとも1つを含む薬学的組成物は、患者においてFVIIITank質に対する免疫寛容を誘導するために投与することができる。

40

#### 【0179】

一部の実施形態において、FVIIITank質に対する免疫寛容を誘導するための方法は、FVIIITank質投与後の、FVIIITank質阻害物質発生の防止を含んでもよい。「防止すること」という用語は、実質的に検出可能なFVIIITank質に対する免疫応答が生じないようにすることを指す。例えば、FVIIITank質投与前の患者は、いかなる検出可能な抗FVIIITank質抗体も有さないかもしれない。しかしながら、FVIIITank質による投与療法後、免疫寛容を誘導するためにFVIIIPeptidを投与しなかった場合、検出可能な抗FVIIITank質抗体のレベルが増加する可能性がある。本明細書において開示されるFVIIIPeptidの投与は、免疫寛容を誘導し、それによって血友病を有する患者を治療することが

50

できる。

【0180】

他の実施形態において、F V I I Iタンパク質に対する免疫寛容を誘導するための方法は、すでに確立されたF V I I I阻害物質を有する患者の治療を含んでもよい。これらの実施形態において、F V I I Iペプチドの投与により、抗F V I I I抗体を減少させる、またはその存在を排除することができる。「減少/低下させる」という用語は、F V I I Iタンパク質に対する免疫応答の部分的低下を意味する。特定の実施形態において、免疫応答を低下させることは、F V I I Iペプチドの投与前の患者における免疫応答のレベルと比較して、免疫応答の10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%の低下を含み得る。例えば、低下率は、F V I I Iペプチドの投与前後の血液中に存在する抗F V I I I抗体の量を、存在するF V I I I抗体の量を特定するための標準的方法を用いて測定することによって分析することができる。他の実施形態において、免疫応答の低下は、F V I I Iに対して特異的なCD4<sup>+</sup>T細胞、またはF V I I I抗体を分泌するF V I I I特異的B細胞、あるいはT細胞、B細胞、および抗F V I I I抗体の3つ全ての組み合わせのレベルの減少を測定することを含み得る。免疫細胞、例えばF V I I Iに対して特異的なT細胞およびB細胞は、当分野で一般に知られている方法を用いて単離することができる。

10

【0181】

一態様において、本発明は、対象においてF V I I Iに対する免疫寛容を誘導する方法を含み、この方法は、本明細書に記載されるF V I I Iペプチドを含む治療有効量の薬学的組成物を該対象に投与するステップを含む。具体的な実施形態において、本明細書に記載される、F V I I Iペプチドは、第V I I I因子<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチド、第V I I I因子<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチド、または第V I I I因子<sup>1 0 2 - 1 2 2</sup>ペプチドである。

20

【0182】

一実施形態において、方法は、本明細書に記載される、第V I I I因子<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチドを含む治療有効量の薬学的組成物を対象に投与するステップを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I<sup>4 7 4 - 4 9 4</sup>ペプチド、F V I I I<sup>5 4 0 - 5 6 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 7 8 5 - 1 8 0 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 0 2 5 - 2 0 4 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 1 6 0 - 2 1 8 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 0 2 - 1 1 9</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 0 2 - 1 2 2</sup>ペプチド、または第2のF V I I I<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチドをさらに含む。

30

【0183】

別の実施形態において、方法は、本明細書に記載される第V I I I因子<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチドを含む治療有効量の薬学的組成物を対象に投与するステップを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I<sup>4 7 4 - 4 9 4</sup>ペプチド、F V I I I<sup>5 4 0 - 5 6 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 7 8 5 - 1 8 0 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 0 2 5 - 2 0 4 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 1 6 0 - 2 1 8 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 0 2 - 1 1 9</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 0 2 - 1 2 2</sup>ペプチド、または第2のF V I I I<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチドをさらに含む。

40

【0184】

別の実施形態において、方法は、本明細書に記載される第V I I I因子<sup>1 0 2 - 1 2 2</sup>ペプチドを含む治療有効量の薬学的組成物を対象に投与するステップを含む。別の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に記載される、F V I I I<sup>4 7 4 - 4 9 4</sup>ペプチド、F V I I I<sup>5 4 0 - 5 6 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 7 8 5 - 1 8 0 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 0 2 5 - 2 0 4 5</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 1 6 0 - 2 1 8 0</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 0 2 - 1 1 9</sup>ペプチド、F V I I I<sup>2 4 6 - 2 6 6</sup>ペプチド、F V I I I<sup>1 4 0 1 - 1 4 2 4</sup>ペプチド、または第2のF V I I I<sup>1 0 2 - 1 2 2</sup>ペプチドをさらに含む。

【0185】

一実施形態において、本発明は、F V I I Iタンパク質に対する免疫寛容を誘導する方

50

法を提供し、この方法は、配列：(R<sup>1</sup>)<sub>x</sub> - P - (R<sup>2</sup>)<sub>y</sub>を有し、式中、Pが、SEQ ID NO: 68、344、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R<sup>1</sup>が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1であるペプチドを含む、治療有効量の薬学的組成物を対象に投与し、それによって該対象においてFVIIITタンパク質に対する免疫寛容を誘導するステップを含む。特定の実施形態において、R<sup>1</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【0186】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

【0187】

一実施形態において、FVIIIPeptidは、9~150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、FVIIIPeptidは、9~10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0188】

10

20

30

40

50

免疫寛容を誘導する方法は、免疫寛容を誘導するためにいくつかのペプチドを投与することができる併用療法をさらに含んでもよい。一実施形態において、免疫寛容を誘導する方法は、配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、SEQ ID NO：10、68、159、250、344、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R<sup>1</sup>が、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>が、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である少なくとも第2のペプチドの治療有効量を投与し、それによって対象においてFV I I Iタンパク質に対する免疫寛容を誘導するステップをさらに含んでもよい。特定の実施形態において、R<sup>1</sup>は、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R<sup>2</sup>は、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。特定の実施形態において、第2のペプチドは、9～80個のアミノ酸からなる。別の特定の実施形態において、第2のペプチド中のいかなる付加的なアミノ酸も天然アミノ酸である。別の特定の実施形態において、第2のペプチドは、9～40アミノ酸長からなる。具体的な実施形態において、第2のペプチドは、9～80アミノ酸長からなり、第2のペプチド中のいかなる付加的なアミノ酸も天然アミノ酸である。

10

## 【0189】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

## 【0190】

一実施形態において、第2のFV I I Iペプチドは、9～150個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、このFV I I Iペプチドは、9～100個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、このFV I I Iペプチドは、9～50個のアミノ酸からなる。別の実施形態において、このFV I I Iペプチドは、9～25個のアミノ酸からなる。さらに他の実施形態において、このFV I I Iペプチドは、9～10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、

40

50

63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、80個、81個、82個、83個、84個、85個、86個、87個、88個、89個、90個、91個、92個、93個、94個、95個、96個、97個、98個、99個、100個、105個、110個、115個、120個、125個、130個、135個、140個、145個、150個、155個、160個、165個、170個、175個、または180個のアミノ酸からなる。

【0191】

投与される薬学的組成物が、PがSEQ ID NO: 68、344、または740の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であるペプチドを含む、免疫寛容を誘導するための方法の具体的な実施形態において、この組成物は、第2のポリペプチドをさらに含み、該第2のポリペプチドは、配列： $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pは、SEQ ID NO: 10、68、159、250、344、477、568、659、および740から選択される配列の少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、R1は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R2は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyはそれぞれ独立して、0または1である。

10

【0192】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

20

30

40

【0193】

一態様において、本発明は、FVIIII補充療法に対して生じた免疫応答の治療用の薬剤を製造するための本明細書に記載されるFVIIIIの使用を提供する。具体的な実施形態において、FVIIIIペプチドはFVIIII<sup>1401-1424</sup>ペプチドである。関連する態様において、本発明は、FVIIII補充療法に対して生じた免疫応答の防止用の薬剤を製造するための本明細書に記載されるFVIIIIペプチドの使用を提供する。具体的な実施形態において、FVIIIIペプチドはFVIIII<sup>1401-1424</sup>ペプチドである。

【0194】

50

一態様において、本発明は、薬剤として使用するためのF V I I Iペプチドを提供する。具体的な実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第V I I I因子 $1^4 0^1 - 1^4 2^4$ ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、薬剤として使用するためのポリペプチドを提供する。

【0195】

一態様において、本発明は、F V I I I補充療法に対して生じた免疫応答の治療用のF V I I Iペプチドを提供する。具体的な実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第V I I I因子 $1^4 0^1 - 1^4 2^4$ ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、F V I I I補充療法に対して生じた免疫応答の治療用のポリペプチドを提供する。

【0196】

一態様において、本発明は、F V I I I補充療法に対して生じた免疫応答の防止用のF V I I Iペプチドを提供する。具体的な実施形態において、本発明は、配列 $(R^1)_x - P - (R^2)_y$ を有し、式中、Pが、配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

を有する第V I I I因子 $1^4 0^1 - 1^4 2^4$ ペプチドの少なくとも9個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列であり、 $R^1$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、xおよびyがそれぞれ独立して、0または1である、F V I I I補充療法に対して生じた免疫応答の防止用のポリペプチドを提供する。

【0197】

V I I . 免疫診断

一態様において、本発明は、対象から採取した生物試料におけるF V I I I阻害抗体またはF V I I Iに対して特異的なC D 4 + T細胞の存在またはレベルを特定することによって、F V I I I補充療法またはF V I I I免疫寛容誘導療法をそれを必要とする該対象においてモニターするための方法を提供する。

【0198】

一実施形態において、方法は、それを必要とする対象においてF V I I I補充療法をモニターするための方法を含み、この方法は、本明細書に記載される、F V I I I $^{2^4 6^6}$ ペプチド、F V I I I $^{1^4 0^1 - 1^4 2^4}$ ペプチド、またはF V I I I $^{1^0 2^1 - 1^2 2^2}$ ペプチドに、該対象からの生物試料を接触させるステップ、および、F V I I Iペプチドと試料中に存在するF V I I I阻害抗体との間で形成された複合体を検出するステップを含む。一実施形態において、方法は、試料中のF V I I I阻害抗体のレベルを測定するステップを含む。さらに別の実施形態において、方法は、異なる時期に対象から採取した少なくとも2つの試料中のF V I I I阻害抗体のレベルを測定するステップ、および、これら2つの試料間のF V I I I阻害抗体のレベルを比較するステップを含み、経時的な抗体レベルの増加は、F V I I I補充療法の過程で該対象に投与されたF V I I Iに対する免疫応答の成立を示す。

【0199】

別の実施形態において、方法は、それを必要とする対象においてF V I I I免疫寛容誘導療法をモニターするための方法を含み、この方法は、本明細書に記載される、F V I I

10

20

30

40

50

I<sup>246</sup>-2<sup>66</sup> ペプチド、F V I I I<sup>1401</sup>-1<sup>424</sup> ペプチド、または F V I I I<sup>102</sup>-1<sup>22</sup> ペプチドに、該対象からの生物試料を接触させるステップ、および、F V I I I ペプチドと試料中に存在する F V I I I 阻害抗体との間で形成された複合体を検出するステップを含む。一実施形態において、方法は、試料中の F V I I I 阻害抗体のレベルを測定するステップを含む。さらに別の実施形態において、方法は、異なる時期に対象から採取した少なくとも2つの試料中の F V I I I 阻害抗体のレベルを測定するステップ、および、これら2つの試料間の F V I I I 阻害抗体のレベルを比較するステップを含み、経時的な抗体レベルの減少は、該対象における F V I I I タンパク質に対する免疫寛容の成立を示す。

#### 【0200】

一実施形態において、方法は、それを必要とする対象において F V I I I 補充療法をモニターするための方法を含み、この方法は、本明細書に記載される、F V I I I<sup>246</sup>-2<sup>66</sup> ペプチド、F V I I I<sup>1401</sup>-1<sup>424</sup> ペプチド、または F V I I I<sup>102</sup>-1<sup>22</sup> ペプチドに、該対象からの生物試料を接触させるステップ、および、F V I I I ペプチドと試料中に存在する F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞との間で形成された複合体を検出するステップを含む。一実施形態において、方法は、試料中の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを測定するステップを含む。さらに別の実施形態において、方法は、異なる時期に対象から採取した少なくとも2つの試料中の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを測定するステップ、および、これら2つの試料間の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを比較するステップを含み、経時的な抗体レベルの増加は、F V I I I 補充療法の過程で該対象に投与された F V I I I に対する免疫応答の成立を示す。具体的な実施形態において、F V I I I ペプチドは、M H C クラス I I 多量体と複合体を形成している。

#### 【0201】

別の実施形態において、方法は、それを必要とする対象において F V I I I 免疫寛容誘導療法をモニターするための方法を含み、この方法は、本明細書に記載される、F V I I I<sup>246</sup>-2<sup>66</sup> ペプチド、F V I I I<sup>1401</sup>-1<sup>424</sup> ペプチド、または F V I I I<sup>102</sup>-1<sup>22</sup> ペプチドに、該対象からの生物試料を接触させるステップ、および、F V I I I ペプチドと試料中に存在する F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞との間で形成された複合体を検出するステップを含む。一実施形態において、方法は、試料中の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを測定するステップを含む。さらに別の実施形態において、方法は、異なる時期に対象から採取した少なくとも2つの試料中の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを測定するステップ、および、これら2つの試料間の F V I I I に対して特異的な C D 4 + T 細胞のレベルを比較するステップを含み、経時的な抗体レベルの減少は、該対象における F V I I I タンパク質に対する免疫寛容の成立を示す。具体的な実施形態において、この F V I I I ペプチドは、M H C クラス I I 多量体と複合体を形成している。

#### 【0202】

当業者に理解されるように、免疫モニタリングを用いて、例えば血友病患者の治療を促進できる。例えば、免疫モニタリングを用いて、本発明のペプチドおよび/または組成物が、F V I I I 製剤に対する免疫応答を予防しているかどうかまたは低下させているかどうかを特定することができる。投与量および/または投与間隔は、免疫モニタリングによって最適化することができる。一部の実施形態において、免疫モニタリングからの抗 F V I I I 抗体の阻止または減少の結果に基づいて、投与量を特別に適合させることができる。さらに、投与間隔は、投与量と同様に、個々の患者または患者群に対して決定することができる。

#### 【0203】

##### A. F V I I I 特異的 T 細胞を特定する方法

別の態様において、本発明は、抗原特異的 T 細胞、より具体的には、本明細書に記載される F V I I I タンパク質および F V I I I ペプチドに対して特異的な T 細胞を特定する

10

20

30

40

50

方法を含む。そのような方法は、例えば、患者の免疫モニタリングなどの免疫診断に使用することができる。一実施形態において、本発明は、F V I I I ペプチド特異的 T 細胞を特定する方法を含み、この方法は、( a ) M H C クラス I I 多量体と複合体を形成した F V I I I ペプチドと複数の C D 4 + T 細胞を混合するステップであって、該 F V I I I ペプチドが配列：( R <sup>1</sup> )<sub>x</sub> - P - ( R <sup>2</sup> )<sub>y</sub> を有し、式中、P が、S E Q I D N O : 6 8、3 4 4、および 7 4 0 から選択される配列の少なくとも 9 個の連続するアミノ酸の配列に対して少なくとも 8 5 % の同一性を有するアミノ酸配列であり、R 1 が、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R 2 が、1 ~ 8 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、x および y がそれぞれ独立して、0 または 1 である、ステップ、ならびに ( b ) 該 M H C クラス I I 多量体と複合体を形成した該ペプチドに対して特異的な該複数の C D 4 + T 細胞のメンバーのうち少なくとも 1 つを特定するステップを含む。一部の実施形態において、R <sup>1</sup> は、1 ~ 4 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R <sup>2</sup> は、1 ~ 4 0 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

#### 【 0 2 0 4 】

特定の実施形態において、本明細書において開示される F V I I I ペプチドは、F V I I I 特異的 T 細胞の直接染色に好適な試薬を作製するために使用することができる。例えば、本発明の F V I I I ペプチド中に存在する M H C クラス I I 多量体は、M H C クラス I I 四量体などの様々な形態を含み得る。これらの M H C クラス I I 分子をさらに改変して、診断用薬を含めてもよい。あるいは、M H C クラス I I 多量体と複合体を形成する F V I I I ペプチドが、診断用薬を含んでもよい。本発明において使用される診断用薬（すなわち、検出可能部分）は、当分野で一般に知られる免疫モニタリング用のものを含み得る。例えば、F V I I I 特異的 T 細胞は、M H C クラス I I 四量体によって提示される、本明細書に記載される F V I I I ペプチドと関連した診断用薬の検出に基づいて、特定および / または単離することができる。好適な診断用薬には、蛍光剤、化学発光剤、放射性物質、造影剤などを含み得る。好適な蛍光剤には、通常フローサイトメトリーに使用されるものが含まれ、フルオレセインイソチオシアネート、R - フィコエリトリン、テキサスレッド、C y 3、C y 5、C y 5 . 5、C y 7、およびそれらの誘導体を含み得るが、これらに限定されない。

#### 【 0 2 0 5 】

特定の実施形態において、この F V I I I ペプチドを用いて、インビトロで C D 4 + F V I I I 特異的 T 細胞を再刺激することができる。これらの実施形態において、T 細胞の再刺激は、増殖、サイトカインもしくはケモカインの分泌、当業者に既知の特定の活性化マーカーの上方もしくは下方制御の検出によってモニターできるであろう。

#### 【 0 2 0 6 】

一部の実施形態において、診断用薬の検出を用いて、本明細書に記載される F V I I I ペプチドに対して特異的な T 細胞を特定および / または単離することができる。例えば、上記の試薬（例えば、ペプチド、M H C クラス I I 四量体、および診断用薬）を用いて、インビトロまたはエクスピボで F V I I I 特異的 T 細胞を追跡することができる。特定の実施形態において、当分野で一般に知られる様々な手法、例えば、フローサイトメトリー、例えば蛍光標識細胞分取（F A C S）、および / または P C R、例えば単一細胞 P C R を用いて、T 細胞をさらに単離し、特徴付けることができる。

#### 【 0 2 0 7 】

免疫モニタリング分析を実施する目的で、F V I I I ペプチド - M H C クラス I I 多量体複合体に結合する T 細胞は C D 4 + T 細胞を含み、これは当分野で一般に知られる種々の方法を用いて患者から単離することができる。例えば、T 細胞は、患者の血液、器官、または他の組織から単離し、精製することができる。F V I I I 特異的 T 細胞の単離および特定は、種々の免疫診断用途で使用可能である。特定の実施形態において、F V I I I ペプチドまたは関連する試薬は、新しい F V I I I 製剤の臨床開発時に、F V I I I 特異的 T 細胞の免疫モニタリングに使用することができる。他の実施形態において、この F V I I I ペプチドは、免疫寛容誘導療法中に、F V I I I 特異的 T 細胞の免疫モニタリング

10

20

30

40

50

に使用することができる。また他の実施形態において、このF V I I Iペプチドは、F V I I I治療中に、F V I I I特異的T細胞の免疫モニタリングに使用することができる。

【0208】

V I I I . 本発明のキット

また、本発明は、本発明によって提供される組成物の使用を容易にするため、および/または標準化するため、また本発明の方法を容易にするためのキットも提供する。これらの様々な方法を実施するための材料および試薬をキットとして提供し、方法の実行を容易にすることができる。本明細書において使用するとき、「キット」という用語は、プロセス、アッセイ、分析、または操作を容易にする物品の組み合わせに関して用いられる。

【0209】

キットは、化学試薬（例えば、F V I I IペプチドまたはF V I I Iペプチドをコードするポリヌクレオチド）、ならびに他の要素を含んでもよい。さらに、本発明のキットは、例えば、試料の回収および/または精製のための器具および試薬、生成物の回収および/または精製のための器具および試薬、細菌細胞形質転換のための試薬、真核細胞トランスフェクションのための試薬、すでに形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞、試料管、ホルダー、トレイ、ラック、ディッシュ、プレート、キット使用者に対する使用説明、溶液、緩衝剤、または他の化学試薬、標準化、正規化、および/または対照試料に使用するのに好適な試料も含んでもよいが、これらに限定されない。本発明のキットは、便利に保管し、安全に輸送するために、例えば蓋付きの箱に包装してもよい。

【0210】

一部の実施形態において、例えば、本発明のキットは、本発明のF V I I Iペプチド、本発明のF V I I Iペプチドをコードするポリヌクレオチドベクター（例えば、プラスミド）、ベクターの増殖に好適な細菌細胞株、および発現した融合タンパク質の精製のための試薬を提供してもよい。あるいは、本発明のキットは、F V I I Iペプチドの突然変異誘発を実施して、F V I I Iペプチドの保存的に改変された変異体を作製するために必要な試薬を提供してもよい。

【0211】

キットは、本発明の1つまたは複数の組成物、例えば、1つまたは複数のF V I I Iペプチド、あるいはF V I I Iペプチドをコードする1つまたは複数のポリヌクレオチドを含んでもよい。あるいは、キットは、患者の免疫モニタリングを実施するための試薬（例えば、ペプチド、MHCクラスII四量体、および診断用薬）を含んでもよい。

【0212】

また、本発明のキットは、同じでも異なってもよいF V I I Iペプチドをコードする1つまたは複数の組換え核酸分子を含んでもよく、また例えば、制限エンドヌクレアーゼ認識部位またはリコンビナーゼ認識部位を含むまたはコードする、作用可能に連結した第2のポリヌクレオチド、または任意の対象ポリペプチドをさらに含んでもよい。さらに、キットの構成要素、特にキットに含まれる本発明の組成物を使用するための使用説明を含んでもよい。

【0213】

I X . 具体的な実施形態

一実施形態において、本発明は、アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

中の9個の連続するアミノ酸と少なくとも85%同一である連続する9個のアミノ酸の配列からなるF V I I Iペプチドを提供し、このペプチドは、式：(R1)<sub>x</sub>-ペプチド-(R2)<sub>y</sub>を有し、式中、R1は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R2は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字xおよびyはそれぞれ独立して、0または1である。

【0214】

一実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、またはともに、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、別個に、ま

10

20

30

40

50

たはともに、1～70個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1～60個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1～50個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1～40個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1～30個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1～20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1～10個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。別の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1～5個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。さらに他の実施形態において、 $R^1$ および $R^2$ は、別個に、またはともに、1～2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個、60個、61個、62個、63個、64個、65個、66個、67個、68個、69個、70個、71個、72個、73個、74個、75個、76個、77個、78個、79個、または80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列である。

10

20

【0215】

上述のペプチドの具体的な実施形態において、 $x$ および $y$ はともに0である。

【0216】

上述のペプチドの具体的な実施形態において、 $x$ は1であり、 $y$ は0である。

【0217】

上述のペプチドの具体的な実施形態において、 $x$ は0であり、 $y$ は1である。

【0218】

上述のペプチドの具体的な実施形態において、 $x$ および $y$ はともに1である。

【0219】

上述のペプチドの具体的な実施形態において、9個のアミノ酸の連続する配列は、アミノ酸配列：

30

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

中の9個の連続するアミノ酸と同一である。

【0220】

一実施形態において、本発明は、アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)

中の9個の連続するアミノ酸と少なくとも85%同一である連続する9個のアミノ酸の配列からなるFV I I Iペプチドを含む薬学的組成物を提供し、このペプチドは、式： $(R^1)_x$ -ペプチド- $(R^2)_y$ を有し、式中、 $R^1$ は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R^2$ は、1～80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字 $x$ および $y$ はそれぞれ独立して、0または1である。

40

【0221】

上述の組成物の具体的な実施形態において、 $x$ および $y$ はともに0である。

【0222】

上述の組成物の具体的な実施形態において、 $x$ は1であり、 $y$ は0である。

【0223】

上述の組成物の具体的な実施形態において、 $x$ は0であり、 $y$ は1である。

【0224】

上述の組成物の具体的な実施形態において、 $x$ および $y$ はともに1である。

【0225】

50

上述の組成物の具体的な実施形態において、組成物は、  
 GEVGDTHLLIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159),  
 PTKSDPRCLTRYSSSFVNMER (SEQ ID NO:250), EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ  
 ID NO:477), LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568),  
 NPPIIARYIRLHPHTHSIRST (SEQ ID NO:659), TVVITLKNMASHPVSLSHA (SEQ ID  
 NO:10), AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68), および  
 TVVITLKNMASHPVSLSHAVGV (SEQ ID NO:740)

からなる群から独立して選択されたアミノ酸配列中の 9 個の連続するアミノ酸と少なくとも 85% 同一である連続する 9 個のアミノ酸の配列からなる少なくとも 1 つのペプチドをさらに含み、この少なくとも 1 つのペプチドは、最大 80 アミノ酸長であり、この少なくとも 1 つのペプチド中のいかなる付加的なアミノ酸も天然アミノ酸である。

【0226】

一実施形態において、本発明は、対象において F V I I I に対する免疫寛容を誘導する方法を提供し、この方法は、アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO: 344)

中の 9 個の連続するアミノ酸と少なくとも 85% 同一である連続する 9 個のアミノ酸の配列からなり、かつ式：(R1) x - ペプチド - (R2) y を有し、式中、R1 は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、R2 は、1 ~ 80 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字 x および y はそれぞれ独立して、0 または 1 である F V I I I ペプチドを含む治療有効量の薬学的組成物を該対象に投与し、それによって、該対象における F V I I I タンパク質に対する免疫寛容を誘導するステップを含む。

【0227】

上述の方法の具体的な実施形態において、薬学的組成物は、  
 GEVGDTHLLIFKNQASRPYNI

(SEQ ID NO:159), PTKSDPRCLTRYSSSFVNMER (SEQ ID NO:250),

EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477), LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ

ID NO:568), NPPIIARYIRLHPHTHSIRST (SEQ ID NO:659), TVVITLKNMASHPVSLSHA

(SEQ ID NO:10), AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68), および

TVVITLKNMASHPVSLSHAVGV (SEQ ID NO:740)

からなる群から独立して選択されたアミノ酸配列中の 9 個の連続するアミノ酸と少なくとも 85% 同一である連続する 9 個のアミノ酸の配列からなる少なくとも 1 つのペプチドをさらに含み、この少なくとも 1 つのペプチドは、最大 80 アミノ酸長であり、この少なくとも 1 つのペプチド中のいかなる付加的なアミノ酸も天然アミノ酸である。

【0228】

上述の方法の具体的な実施形態において、薬学的組成物の投与は、対象における抗 F V I I I 抗体の発生を防止する。

【0229】

上述の方法の具体的な実施形態において、薬学的組成物の投与は、対象中に存在する抗 F V I I I 抗体の量を減少させる。

【0230】

上述の方法の具体的な実施形態において、x および y はともに 0 である。

【0231】

上述の方法の具体的な実施形態において、x は 1 であり、y は 0 である。

【0232】

上述の方法の具体的な実施形態において、x は 0 であり、y は 1 である。

【0233】

10

20

30

40

50

上述の方法の具体的な実施形態において、 $x$ および $y$ はともに1である。

【0234】

一実施形態において、本発明は、F V I I I ペプチドを作成する方法を提供し、この方法は、(a) アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO: 344)

中の9個の連続するアミノ酸と少なくとも85%同一である連続する9個のアミノ酸の配列からなるF V I I I ペプチドをコードするベクターを含む細胞の培養物を供給するステップであって、該ペプチドが、式： $(R1)_x$  - ペプチド -  $(R2)_y$ を有し、式中、 $R1$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R2$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字 $x$ および $y$ がそれぞれ独立して、0または1である、ステップ、ならびに(b) 該細胞の培養物において該ペプチドを発現させるステップを含む。

10

【0235】

上述の方法の具体的な実施形態において、 $x$ および $y$ はともに0である。

【0236】

上述の方法の具体的な実施形態において、 $x$ は1であり、 $y$ は0である。

【0237】

上述の方法の具体的な実施形態において、 $x$ は0であり、 $y$ は1である。

【0238】

上述の方法の具体的な実施形態において、 $x$ および $y$ はともに1である。

20

【0239】

一実施形態において、本発明は、F V I I I ペプチドを作成する方法を提供し、この方法は、(a) 固相または液相合成技術を用いてペプチドを合成するステップを含み、このペプチドは、アミノ酸配列：

QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO: 344)

中の9個の連続するアミノ酸と少なくとも85%同一である連続する9個のアミノ酸の配列からなり、このペプチドは、式： $(R1)_x$  - ペプチド -  $(R2)_y$ を有し、式中、 $R1$ は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R2$ は、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字 $x$ および $y$ はそれぞれ独立して、0または1である。

30

【0240】

上述の方法の具体的な実施形態において、 $x$ および $y$ はともに0である。

【0241】

上述の方法の具体的な実施形態において、 $x$ は1であり、 $y$ は0である。

【0242】

上述の方法の具体的な実施形態において、 $x$ は0であり、 $y$ は1である。

【0243】

上述の方法の具体的な実施形態において、 $x$ および $y$ はともに1である。

【0244】

一実施形態において、F V I I I ペプチド特異的T細胞を特定する方法を提供し、この方法は、(a) MHCクラスII多量体と複合体を形成したF V I I I ペプチドと複数のCD4+T細胞を混合するステップであって、該F V I I I ペプチドが、アミノ酸配列：QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO: 344)

40

中の9個の連続するアミノ酸と少なくとも85%同一である連続する9個のアミノ酸の配列からなり、該ペプチドが、式： $(R1)_x$  - ペプチド -  $(R2)_y$ を有し、式中、 $R1$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、 $R2$ が、1~80個のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり、添字 $x$ および $y$ がそれぞれ独立して、0または1である、ステップ、ならびに(b) MHCクラスII多量体と複合体を形成した該ペプチドに対して特異的な複数のCD4+T細胞のメンバーのうち少なくとも1つを特定するステップを含む。

50

## 【0245】

上述の方法の具体的な実施形態において、MHCクラスII多量体はMHCクラスII四量体である。

## 【0246】

上述の方法の具体的な実施形態において、ペプチドまたはMHCクラスII多量体は、診断用薬をさらに含む。

## 【0247】

上述の方法の具体的な実施形態において、診断用薬は、当該ペプチドに対して特異的な複数のCD4+T細胞のうち少なくとも1つのメンバーを特定する。

## 【0248】

上述の方法の具体的な実施形態において、方法は、診断用薬の検出に基づいて、複数のCD4+T細胞のうち少なくとも1つのメンバーが当該ペプチドに対して特異的である、該少なくとも1つのメンバーを単離するステップをさらに含む。

10

## 【0249】

上述の方法の具体的な実施形態において、複数のCD4+T細胞のうち少なくとも1つのメンバーは、フローサイトメトリーにより単離される。

## 【0250】

上述の方法の具体的な実施形態において、xおよびyはともに0である。

## 【0251】

上述の方法の具体的な実施形態において、xは1であり、yは0である。

20

## 【0252】

上述の方法の具体的な実施形態において、xは0であり、yは1である。

## 【0253】

上述の方法の具体的な実施形態において、xおよびyはともに1である。

## 【0254】

次に、以下の実施例において、それらに限定することなく、本発明をさらに説明する。

## 【実施例】

## 【0255】

## X. 実施例

## 実施例 1

30

FVIIIPeptidを特定するためにヒトMHCクラスII分子をより適切に模倣する目的で、ヒトHLA-DRB1\*1501特異的結合部位を含むキメラMHCクラスII分子を用いて血友病Aのマウスモデルが開発された。このマウスを全てのマウスMHCクラスII遺伝子が完全に欠損したマウスに戻し交配した(Reipert et al., J. Thromb. Haemost. 7 Suppl. 1: 92-97 (2009))。この新規のトランスジェニックマウスモデルでは、全てのCD4+T細胞応答がヒトMHCクラスII分子によって引き起こされる。このマウスモデルを用いて、これらのマウスにおいて抗FVIIII免疫応答を引き起こす、HLA-DRB1\*1501によって提示されるFVIIIIペプチドを特定した。

40

## 【0256】

## 材料および方法

## FVIIII:

組換えヒトFVIIII(rFVIIII)は、アルブミンを含まないバルク製剤(Baxter Neuchatel)、および臨床用スクロース配合FVIIII製剤(Advate, Baxter, Westlake Village, CA)として製造された。

## 【0257】

## 血友病HLA-DRB15 E17マウス:

Reipert et al., J. Thromb. Haemost. 7 Suppl. 1: 92-97 (2009)に記載されているようなHLA-DRB1\*1501+/E17+/マウス。マウスは、全て雄で、実験開始時に生後8~12週間であった。

50

## 【0258】

ヒト組換えFV I I Iによる免疫化：

H L A - D R B 1 \* 1 5 0 1 + / - E 1 7 - / - マウスに、0.2 μg または 1 μg のヒト r F V I I I を 1 週間間隔で 4 ~ 8 回 静脈内または皮下投与した。r F V I I I は、元の製剤緩衝液またはカルシウムおよびマグネシウムを含有するダルベッコリン酸緩衝食塩水 ( D P B S ; S i g m a A l d r i c h , S t . L o u i s , M i s s o u r i , U S A ) で希釈した。

## 【0259】

細胞調製：

r F V I I I による最後の免疫化の 3 ~ 7 日後に、脾臓を摘出した。脾臓細胞を細分化して、70 μm の細胞ストレーナー ( B e c t o n D i c k i n s o n , F r a n k l i n L a k e s , N J ) に通した。培養培地：10% 事前選択したウシ胎仔血清 ( F C S ; H y c l o n e , L o g a n , U T ) と、2 m M L - グルタミン ( G i b c o ) と、100 U / m L ペニシリン/ストレプトマイシン ( G i b c o ) と、 $5 \times 10^{-5}$  M メルカプトエタノール ( S i g m a - A l d r i c h ) とを補充した R P M I 1 6 4 0 培地 ( G i b c o , I n v i t r o g e n , L i f e T e c h n o l o g i e s , C a r l s b a d , C A ) で単細胞を回収した。0.15 M 塩化アンモニウム ( M e r c k , D a r m s t a d t , G e r m a n y ) と、10 m M 重炭酸カリウム ( M e r c k , D a r m s t a d t , G e r m a n y ) と、0.1 m M エチレン - ジアミンテトラ酢酸 ( S i g m a - A l d r i c h ) とから構成される低張緩衝液 ( p H 7 . 2 ) を用いて、赤血球を溶解した。細胞を洗浄し、C o u l t e r C o u n t e r Z 1 を用いて計数した。

10

20

## 【0260】

F V I I I ペプチドを特定するための T 細胞ハイブリドーマの作製

ヒト r F V I I I による脾臓細胞のインビトロ再刺激：

濃度  $1.5 \times 10^6$  細胞 / m L で、培養培地中 20 μg / m L のヒト F V I I I の存在下、脾臓細胞を 3 日間または 10 日間再刺激した。10 日間培養のための培養培地を 6 日後に取り替えた。

## 【0261】

マウス T 細胞の B W 細胞との融合：

インビトロで再刺激した脾臓細胞培養物と B W 細胞 ( - - ) とを無血清培地で 2 回洗浄し、その後 1 : 3 ~ 1 : 10 ( T 細胞 : B W 細胞 ) の比率で混合した。B W 細胞株は、マウス A K R / J T 細胞リンパ腫由来であった。これらの細胞は、T 細胞受容体をその表面に有さず ( - - )、そのためマウス脾臓細胞との融合後のあらゆる T 細胞受容体は、融合パートナーに由来する。3 回目の洗浄ステップ後、上澄みを除去した。1 m L のポリエチレングリコール ( P E G ; 50% H y b i M a x , S i g m a - A l d r i c h ) を 45 秒以内に添加することによって、融合条件を達成した。さらに 45 秒間のインキュベーション後、続いて P E G の毒性作用を防止するために無血清培地 50 m L を添加した。細胞を 1300 r p m で 5 分間連続的に遠心分離して、非常に堅いペレットを形成した。上澄みを廃棄し、新しい無血清培地 50 m L をペレットが移動しないように極めてゆっくり添加した。細胞が再懸濁するまで試験管をゆっくりと逆さにし、前回同様に遠心分離した。これを 2 回行って残留 P E G を除去した。培養培地での最後の洗浄ステップを行った。次に細胞を希釈し、96 ウェルプレートで培養した。48 時間に培養培地を選択培地 ( H A T 培地サプリメント , S i g m a A l d r i c h ) に交換し、成長しているクローンを選択した。選択培地を 2 週間維持した後、続いて培地を交換して通常の培養培地に戻した。

30

40

## 【0262】

F V I I I 特異的 T 細胞ハイブリドーマのペプチド特異性：

T 細胞ハイブリドーマをその抗原特異性について試験した。この目的で、 $1 \times 10^5$  の細胞を抗原提示細胞と共培養した。 $5 \times 10^4$  の M g a r 細胞 ( H L A - D R B 1 \* 1 5

50

01を発現)または未感作HLA-DRB1\*1501-E17マウス由来の $1 \times 10^5$ の全脾臓細胞のいずれかを使用した。10 $\mu$ g/mLのヒトFVIIIIまたは1 $\mu$ g/mLのペプチド/ペプチドプールとともに、細胞を37°C、5%CO<sub>2</sub>で24時間インキュベートした。上澄みを回収し、製造者の指示に従ってIL-2 ELISA (BioLegend, San Diego, CA)またはIL-2 Bio-Plex (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)を用い、培養上澄み中へのIL-2放出を測定した。FVIIII(またはペプチド)の存在下で20pg/mL以上でありFVIIII不在下ではそうではないIL-2放出を陽性とみなすが、あるいはFVIIII不在下と比較してFVIIII存在下でのIL-2放出の10倍増加を陽性とみなした。

10

## 【0263】

T細胞ハイブリドーマのサブクローニング:

各クローンが1種類のみT細胞を示すことを確実にするために、全てのハイブリドーマクローンをサブクローニングした。ハイブリドーマクローンを0.3細胞/ウェルの限界希釈まで希釈し、200フィーダー細胞/ウェルと共培養した。フィーダー細胞は、融合パートナー細胞であるBW細胞のマイトマイシンC処理によって生成した。2 $\times 10^8$ のBW細胞をストレプトミセス・カエスピトサス(*Streptomyces caespitosus*, Sigma Aldrich)由来のマイトマイシンCを0.1mg用いて、室温で10分間、およびインキュベーター中、37°C、5%CO<sub>2</sub>で25分間処理した。クローン1個当たり5個の成長しているサブクローンを選択し、そのFVIIII特異性について試験した。

20

## 【0264】

T細胞ハイブリドーマの特異性を特定するために使用したFVIIIIペプチドプール:

FVIIIIペプチドプールをAy et al. (Biopolymers 88:64-75 (2007))によって記載されるSPOT合成法を用いて作製した。簡潔に述べると、15量体ペプチドを2つの同一のセルロース膜上で合成した。膜を縦および横の条片に切断した。ペプチドをその膜条片から放出させ、上述のような特異性試験においてペプチドプールとして使用した。ペプチドをDMSO (Hybrimax, Sigma Aldrich)に溶解し、PBSでさらに希釈した。

30

## 【0265】

結果

181個のFVIIII特異的ハイブリドーマクローンが生成された。これらのクローンをヒトFVIIII全体にわたるペプチドライブラリーに対してスクリーニングした。3個のアミノ酸が異なる15量体ペプチドを使用した。この手法を用いて、HLA-DRB1\*1501に結合したペプチドを含む6つの異なるFVIIII領域を特定した。ヒトFVIIIIのA1ドメイン内に2つのペプチドドメイン、A2ドメイン内に2つのペプチド、Bドメイン内に1つ、A3ドメイン内に2つ、C1ドメイン内に1つのペプチドドメインを発見した。FVIIIIペプチド<sup>1401-1424</sup>は、これまでに記載されていない(表11)。ペプチドFVIIII<sup>474-494</sup>、FVIIII<sup>545-559</sup>、FVIIII<sup>1788-1802</sup>、およびFVIIII<sup>2161-2175</sup>は、コンピュータ予測プログラムに続いてT細胞ハイブリドーマ技術を用いるWO09/071886において、すでに特定されている。ペプチドFVIIII<sup>2030-2044</sup>は、WO03/087161に開示されている。ペプチドFVIIII<sup>2161-2180</sup>は、Jacquemin et al., Blood 101(4):1351-8 (2003)によってすでに公表されている。

40

## 【0266】

(表11) T細胞エピトープを含むFVIIIIの領域

T細胞エピトープを含む領域	アミノ酸配列	開示
FVIII <sup>102-122</sup>	TVVITLKNMASHPVSLHAVGV (SEQ ID NO:740)	WO2003/087161に開示されている FVIII <sup>107-121</sup> WO/2009/095646に開示されている FVIII <sup>100-118</sup>
FVIII <sup>246-266</sup>	AWPKMHTVNGYVNRSLPGLIG (SEQ ID NO:68)	WO/2009/095646に開示されている FVIII <sup>253-268</sup>
FVIII <sup>474-494</sup>	GEVGDLLIIFKNQASRPYNI (SEQ ID NO:159)	WO 2009/071886に開示されている FVIII <sup>475-495</sup> WO/2009/095646に開示されている FVIII <sup>477-495</sup>
FVIII <sup>540-560</sup>	PTKSDPRCLTRYYSFVNMER (SEQ ID NO:250)	WO 2009/071886に開示されている FVIII <sup>542-562</sup> WO/2009/095646に開示されている FVIII <sup>545-569</sup>
FVIII <sup>1401-1424</sup>	QANRSPLPIAKVSSFPSIRPIYLT (SEQ ID NO:344)	本発明のペプチド
FVIII <sup>1785-1805</sup>	EVEDNIMVTFRNQASRPYSFY (SEQ ID NO:477)	WO 2009/071886に開示されている FVIII <sup>1785-1805</sup> WO/2009/095646に開示されている FVIII <sup>1787-1805</sup>
FVIII <sup>2025-2045</sup>	LHAGMSTLFLVYSNKCQTPLG (SEQ ID NO:568)	WO 2003/087161に開示されている FVIII <sup>2030-2044</sup>
FVIII <sup>2160-2180</sup>	NPPIIARYIRLHPHYSIRST (SEQ ID NO:659)	WO 2009/071886に開示されている FVIII <sup>2158-2178</sup> Jacquemin et al. (上記) のFVIII <sup>2161-2180</sup> WO 2003/087161号に 開示されているFVIII <sup>2164-2183</sup> WO/2009/095646号に 開示されているFVIII <sup>2164-2188</sup>

10

20

30

40

## 【 0 2 6 7 】

本明細書に記載される実施例および実施形態が例示目的に過ぎないこと、ならびにこれらを踏まえて様々な修正または変更が当業者に示唆され、それらは本出願の精神および範囲、ならびに添付される「特許請求の範囲」の範囲に含まれるものであることは理解される。本明細書において引用する全ての刊行物、特許、および特許出願は、参照により全体があらゆる目的で本明細書に援用される。

## 【 手続補正書 】

【 提出日 】平成25年10月21日(2013.10.21)

## 【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】明細書

【 補正対象項目名 】配列表

【 補正方法 】追加

【 補正の内容 】

【 配列表 】

2014505014000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2011/058165
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K38/37 C07K14/755 A61P7/04 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, FSTA, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/087161 A1 (MERCK PATENT GMBH [DE]; JONES TIM [GB]; BAKER MATTHEW [GB]; CARR FRANC) 23 October 2003 (2003-10-23) page 23, lines 14-21 page 29, line 11-page 30, line 2claims 12-14, 16; figure 1; example 1; sequences 640, 641	1-40
A	WO 2009/095646 A2 (CIRCASSIA LTD [GB]; HAFNER RODERICK PETER [GB]) 6 August 2009 (2009-08-06) claim 1	1-40
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
5 March 2012		09/03/2012
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Habedanck, Robert

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/058165

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03087161	A1	23-10-2003	AT 412671 T 15-11-2008
			AU 2003232482 A1 27-10-2003
			BR 0308860 A 04-01-2005
			CA 2482926 A1 23-10-2003
			CN 1646564 A 27-07-2005
			EP 1495052 A1 12-01-2005
			ES 2319758 T3 12-05-2009
			JP 2005538694 A 22-12-2005
			MX PA04010061 A 13-12-2004
			US 2005256304 A1 17-11-2005
			WO 03087161 A1 23-10-2003
-----			
WO 2009095646	A2	06-08-2009	NONE
-----			

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)  
**G 0 1 N 33/53 (2006.01)** G 0 1 N 33/53 K  
**G 0 1 N 33/566 (2006.01)** G 0 1 N 33/566

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

(74)代理人 100119507  
 弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929  
 弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699  
 弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048  
 弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506  
 弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100130845  
 弁理士 渡邊 伸一

(74)代理人 100114340  
 弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889  
 弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072  
 弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ステイニッツ キャサリーナ ノラ  
 オーストリア共和国 シーゲンフェルド カーウエグ 1 4

(72)発明者 ウィルヘルミナ ヴァン ヘルデン ポーラ マリア  
 オランダ王国 デン ボッシュ アイメレン 5 4

(72)発明者 レイパート バージット マリア  
 オーストリア共和国 ドイチェ - ワグラム ハイネガッセ 2

(72)発明者 シュバルツ ハンス - ペーター  
 オーストリア共和国 ウィーン ワイマラー シュトラーセ 7 6

(72)発明者 エーリッヒ ハートムット  
 オーストリア共和国 ウィーン ピエネンウエグ 1

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA80 CA07 DA02 DA05 DA11 DA12 EA02 EA04 FA02  
 FA06 GA11 HA03  
 4B063 QA01 QQ08 QR48 QR66 QS36 QX02  
 4C084 AA01 AA02 AA03 BA04 BA44 DC20 NA06 ZA541 ZA542  
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA15 BA16 BA17 BA18 BA41 CA40 DA66  
 EA20 EA50 FA20 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JP2014505014A5</a>	公开(公告)日	2014-12-11
申请号	JP2013536845	申请日	2011-10-27
[标]申请(专利权)人(译)	巴克斯特国际公司 巴克斯特医疗保健股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	巴克斯特国际公司 百特医疗上课.二.		
[标]发明人	ステイニッツ キャサリーナ ノラ ウィルヘルミナ ヴァン ヘルデン ポーラ マリア レイパート バージット マリア シュバルツ ハンス ペーター エーリッヒ ハートムット		
发明人	ステイニッツ キャサリーナ ノラ ウィルヘルミナ ヴァン ヘルデン ポーラ マリア レイパート バージット マリア シュバルツ ハンス ペーター エーリッヒ ハートムット		
IPC分类号	C07K14/755 C07K19/00 C12N15/09 C12Q1/02 A61K38/36 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/37 C07K14/755 C07K2319/00 C12P21/00 G01N33/505 G01N33/56977 A61P7/00 A61P7/04 A61P37/02 A61P37/06		
FI分类号	C07K14/755.ZNA C07K19/00 C12N15/00.A C12Q1/02 A61K37/46 G01N33/53.K G01N33/566		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA80 4B024/CA07 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/DA12 4B024 /EA02 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/FA06 4B024/GA11 4B024/HA03 4B063/QA01 4B063/QQ08 4B063/QR48 4B063/QR66 4B063/QS36 4B063/QX02 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084 /BA04 4C084/BA44 4C084/DC20 4C084/NA06 4C084/ZA541 4C084/ZA542 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/BA17 4H045/BA18 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045 /DA66 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA20 4H045/FA74		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 渡边真一 正人大关 五十嵐弘		
优先权	61/407402 2010-10-27 US 61/502476 2011-06-29 US 61/467894 2011-03-25 US		
其他公开文献	JP6122780B2 JP2014505014A		

#### 摘要(译)

本发明涉及可用于降低针对FVIII的免疫应答或在例如血友病A的患者中诱导对人FVIII的耐受性的肽。此外，所述肽可用于免疫诊断目的以检测FVIII特异性CD4<sup>+</sup> T细胞用于在替代治疗期间和免疫耐受诱导治疗期间监测血友病A患者。

