

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公表特許公報** (A) (11)特許出願公表番号

特表2002 - 543091

(P2002 - 543091A)

(43)公表日 平成14年12月17日(2002.12.17)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 0 7 K 14/54		C 0 7 K 14/54	4 B 0 6 4
A 6 1 K 38/00		A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/00		37/00	4 H 0 4 5
37/00		C 0 7 K 1/04	
C 0 7 K 1/04		16/24	

審査請求 未請求 予備審査請求 (全 29数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 614287(P2000 - 614287)

(86)(22)出願日 平成12年4月20日(2000.4.20)

(85)翻訳文提出日 平成13年10月29日(2001.10.29)

(86)国際出願番号 PCT/DE00/01260

(87)国際公開番号 W000/64938

(87)国際公開日 平成12年11月2日(2000.11.2)

(31)優先権主張番号 199 19 148.4

(32)優先日 平成11年4月27日(1999.4.27)

(33)優先権主張国 ドイツ(DE)

(71)出願人 ヴィーザー, ライムント, ヨット.
ドイツ連邦共和国 アーヘン - コルネーリ
ミュンスター デー - 52076 コルネーリウ
スシュトラーセ 21

(72)発明者 ヴィーザー, ライムント, ヨット.
ドイツ連邦共和国 アーヘン - コルネーリ
ミュンスター デー - 52076 コルネーリウ
スシュトラーセ 21

(74)代理人 弁理士 細田 芳徳

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 インターロイキン 1 2 に由来するペプチドホモダイマーおよびペプチドヘテロダイマー

(57)【要約】

本発明は、アミノ酸配列KHYSCTAEDID(モノマーI)、PPVGEADPYRVKMQ(モノマーII)、AALQNHNHQQIILDK(モノマーIII)、IRDIIKPDPPKN(モノマーIV)、SLTFCVQVQGKSKR(モノマーV)もしくはRFTCWWLTTISTDLTF(モノマーVI)またはそのバリエーションを有し、それによりインターロイキン12(IL12)レセプターに結合し得、任意に細胞シグナルを誘発し得る、ペプチドモノマーのホモダイマーまたはヘテロダイマーに関する。これらのダイマーは、免疫系疾患、増大もしくは減少した細胞増殖に関連する疾患、感染または炎症過程を治療するのに適しており、修飾されたIL12レセプターまたは過剰にもしくは不十分に発現したIL12レセプターに関連する疾患を検出するのに適している。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アミノ酸配列KHYSCTAEDID(モノマーI)、PPVGEADPYRVKMQ(モノマーII)、AALQNHNHQQIILDK(モノマーIII)、IRDIIKPDPPKN(モノマーIV)、SLTF CVQVQGKSKR(モノマーV)またはRFTCWWLTTISTDLTF(モノマーVI)またはそれらのバリエーションを有してなり、インターロイキン12(IL12)レセプターに結合する、ペプチドモノマーの合成のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項2】 モノマーがそれらのC末端もしくはN末端を介して結合してなるか、または一方のモノマーのN末端が他方のモノマーのC末端と結合してなる、請求項1記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項3】 モノマーIのC末端がモノマーIIのN末端もしくはC末端と結合してなるか、またはモノマーIのN末端がモノマーIIのN末端もしくはC末端と結合してなることを特徴とする、請求項2記載のヘテロダイマー。

【請求項4】 モノマーが、ポリエチレングリコール、ペプチド、活性化ベンゾジアゼピン、オキサゾロン、アザラクトン、アミンイミド、ジケトピペラジン、または単糖を介して互いに共有結合してなることを特徴とする、請求項1～3いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項5】 モノマーが、1つまたはそれ以上のアミノ酸の欠失、付加もしくは置換および/または修飾アミノ酸を有してなり、ホモダイマーまたはヘテロダイマーが本来の形態と比較して同様のまたはより良好な様式で(a)インターロイキン12(IL12)レセプターに結合し、および/または(b)細胞シグナルを誘発することを特徴とする、請求項1～4いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項6】 ホモダイマー〔AALQNHNHQQIILDK〕₂または〔AALQNHNKQQIILDK〕₂である請求項5記載のホモダイマー。

【請求項7】 モノマーが、1つまたはそれ以上のアミノ酸の欠失、付加もしくは置換および/または修飾アミノ酸を有してなり、ホモダイマーまたはヘテロダイマーがインターロイキン12(IL12)レセプターに結合し得、アンタ

ゴニスト効果を有しうることを特徴とする、請求項1～4いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項8】 1つまたはそれ以上のアミノ酸が、脂肪酸、単糖および/またはオリゴ糖により共有結合的に修飾されてなることを特徴とする、請求項1～7いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項9】 請求項1～8いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマーに特異的に結合する抗体またはそのフラグメント。

【請求項10】 モノクローナル抗体またはそのフラグメントである請求項9記載の抗体。

【請求項11】 モノマーの固相合成およびそれに続く二量体化を含む、請求項1～8記載のホモダイマーまたはヘテロダイマーの製造方法。

【請求項12】 免疫系疾患、減少した細胞増殖に関連する疾患、感染または炎症過程を治療するためのまたはIL2を用いて行なう治療においてIL2副作用を低減するための、請求項1～6および8いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項11記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーの使用。

【請求項13】 免疫系疾患または増大した細胞増殖に関連する疾患を治療するための、請求項1～4、7および8いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項11記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーの使用。

【請求項14】 疾患が癌疾患である請求項13記載の使用。

【請求項15】 修飾されたインターロイキン12(IL12)レセプターまたは過剰にもしくは不十分に発現したインターロイキン12(IL12)レセプターまたは過剰に高いもしくは過剰に低いインターロイキン12濃度に関連する疾患の診断のための、請求項1～8いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項11記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項9もしくは10記載の抗体またはそのフラグメントの使用。

【請求項16】 請求項1～8いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロ

ダイマー、請求項11記載の方法により製造されたホモダイマーまたはヘテロダイマー、または請求項9もしくは10記載の抗体またはそのフラグメントを含んでなる、請求項15記載の診断方法を行なうためのキット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、KHYSCTAEDID(モノマーI)、PPVGEADPYRVKMQ(モノマーII)、AAVQNHNHQQIILDK(モノマーIII)、IRDIIKPDPPKN(モノマーIV)、SLTFCVQVQGKSKR(モノマーV)またはRFTCWWLTTISTDLTF(モノマーVI)のアミノ酸配列、もしくはそれらのバリエーションをもつペプチドモノマーのホモダイマーまたはヘテロダイマーであって、インターロイキン12(IL12)レセプターに結合するとともに、任意に、細胞シグナル(zellulaeres Signal)を誘発(ausloesen)することができるホモダイマーまたはヘテロダイマーに関する。また、本発明は、これらのホモダイマーまたはヘテロダイマーを含む薬剤にも関する。さらに、本発明は、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマー、もしくはこれらに対する抗体を用いる診断用組成物および診断方法に関する。

【0002】

腫瘍の治療は、いまだに、手術、化学療法および放射線治療という三本柱に実質的に基づいている。しかしながら、過去数年の間に、サイトカインを用いる一次的な(すなわち、独占的な)または補助的(支援的)な治療が、頻りに平均余命を延長し、しばしば完全な治癒をもたらすという洞察が、一般的に認められるようになった。サイトカインは、さまざまな細胞によって合成された後分泌される内因的なメッセンジャー物質である。これらサイトカインが果たす生物学的な役割は多様で、今のところ一部しか分かっていない。いずれの場合にも、サイトカインは、主に基礎的免疫調節作用を有する。これらのサイトカインの1つ、すなわち、インターロイキン12(IL12)は、種々の腫瘍の治療にますます使われる傾向にある。IL12は、主にB細胞でインビボ産生され、T細胞では頻繁には産生されず(D'Andreaら、J. Exp. Med. 176 (1992)、1387-1398)、多数の生物学的効果を有する。特に注目すべきは、以下の効果である。なぜなら、それらは治療的效果に直接的かつ重要な役割を演ずるからである：ヒトリンパ芽球の増殖の刺激(Gateleyら、J. Immunol. 147 (1991)、874)、NK細胞の活性化(Manet

tiら、J. Exp. Med. 177 (1999)、1199)ならびにIFN
、IL2およびTNFの合成の誘導(Chanら、J. Exp. Med. 1
73 (1991)、869)。IL2との相乗的な効果により、IL2の用量は
、リンホカイン活性化キラー細胞を産生するための養子免疫療法において、IL
12の存在下で劇的に低下され得、IL2の重篤な副作用が顕著に減少されうる
。

【0003】

IL12は、p40鎖およびp35鎖からなるヘテロダイマーである(Ste
rnら、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87 (1990
)、6808)。p40は、IL6レセプターの細胞外ドメインに所定のホモロ
ジーを有し(GearingおよびCosman、Cell 66 (1991
)、9)、一方、p35は、IL6のホモログであるようである(Mersber
gら、Immunol. Today 13 (1992)、77)。p35鎖は、
IL12レセプターでのシグナル誘発を明らかに担い、一方、p40サブユニッ
トは種特異性を決定するようである。しかし、p40鎖単独により刺激されうる
レセプターイソ型も明かに存在する(Preskyら、Proc. Natl. A
cad. Sci. U.S.A. 93 (1996)、14002)。IL12サブ
ユニットのどちらもX線構造解析はこれまで存在しないので、IL12三次構造
については、推測がなされうるだけである。

【0004】

他のサイトカインまたは成長因子に関して、IL12サブユニットはまた、レ
セプターと相互作用する所定の短鎖ドメインを有する。レセプターと相互作用す
る短鎖IL12ドメインの投与は、所望の細胞性効果(例えば、免疫刺激効果)
を達成するのに十分であるかもしれない。しかし、例えば、適切なIL12ドメ
インに情報を与える合成ペプチドを用いて行われるようなIL12の研究はこれ
まで存在しない。

【0005】

サイトカインは、一般的には、血清中に極めて少量しか存在しないため、この
媒体から治療上有効な量を単離することはできない。その結果、今までのところ

、治療に使用されるサイトカインは、細菌や酵母の中で遺伝子組換えによって産生されている。しかしながら、この方法には、数多くの重大な欠点が伴う。

【0006】

準備の段階で、サイトカイン組換え体の製造は時間がかかる上に手間もかかる。例えば、次のことを明確にしなければならない。宿主細胞は正確に、すなわち、正確に元通りの立体構造をもつようにタンパク質を発現するか、実際のところ、最適な宿主細胞または発現ベクターはどれか、また、どのような条件下でなら、タンパク質がタンパク質分解を受けないのか。一般的に、組換えによって産生されたタンパク質は本来のタンパク質とは異なった三次元構造をもつため、ヒトの免疫系によって「異物」とであると認識されることに留意すべきである。これによって誘導される抗体は、サイトカインなどのタンパク質を中和するため、その有効性が失われる結果になる。

【0007】

どのようにすれば、タンパク質の分解および/または単離後の沈殿を防止できるかという、原則として、全ての新しい産物に特有の同一の問題が常に生じるため、組換えタンパク質を分離し、精製するのは困難である。概して、組換えによって産生されたタンパク質は、プロテアーゼに対して顕著に不安定である。このことは、頻繁かつ/または大量の投与を必要とし、患者に深刻な負担をかける一方で、治療費用を非常に高くしている。

【0008】

治療においては、通常、一定期間においてサイトカインを投与しなければならないため、宿主細胞の成分からの、コンタミネーションが絶対にならないことが保証されていなければならない。このような理由で、費用に好ましくない影響を与える複雑な方法が用いられなければならない。

【0009】

一方では、メッセンジャー物質（例えばサイトカイン）が、レセプター結合部位をもつだけでなく、さらに、現在のところまだ十分には理解されていないが、実際に対象となっているシグナル経路以外のシグナル経路を誘導する可能性のあるドメインが存在するという推察が広く採用されている。この推察は、とりわけ

、これまでに使用されてきたサイトカインで頻繁に副作用が生じ、その結果、時によってはそれを用いた治療が不可能になることの説明となる。

【0010】

従って、本発明の技術的課題は、主に、インターロイキン12 (IL12) の生物活性を持つ化合物を提供して、先行技術がもつ前者の欠点を回避すること、すなわち、薬剤として投与したときに、より少ない副作用、より長い半減期、および強い生物活性を得ることである。

【0011】

この技術的課題は、本特許請求の範囲において特徴づけられている実施態様を提供することによって解決された。

【0012】

本発明の実施態様は、KHYSCTAEDID (モノマーI)、PPVGEADPYRVKMQ (モノマーII)、AALQNHNHQQIILDK (モノマーIII)、IRDIIKPDPPKN (モノマーIV)、SLTFCVQVQGKSKR (モノマーV) またはRFTCWWLTTISTDLTF (モノマーVI) のアミノ酸配列を有するペプチドモノマーの合成ホモダイマーまたは合成ヘテロダイマーであって、インターロイキン12 (IL12) レセプターに結合でき、任意に、細胞シグナルを開始させることができる合成ホモダイマーまたは合成ヘテロダイマーに関する。本発明のこれらのペプチドは、IL12 サブユニットp40およびp35の結合領域を表し、レセプターが細胞内シグナルを誘発させるには2つが一緒になる必要があることから、ペプチドが生物学的効果をもつためには、二量体化した形で使用される必要があるという洞察を利用している。モノマーI~IIIは、p35およびインターロイキン12レセプターが接触するポイントにある3つのループを含み、類似的に、モノマーIV~VIは、レセプターとのp40に関する接触ポイントを示す。これらのダイマーには、常法によって簡単に合成したり精製することができ、必要な試験(例えば、構造研究、生物学的研究、前臨床研究および臨床研究)に直接用いることができるという長所がある。これらのペプチドは、それぞれのサイトカインが生物学的な有効性を有するために必要とされる最小の構造を表わしている。これによって、副作用

を最小にしつつ、最大限の特異性と高い生物活性が保証される。ペプチドは非常に小さいため、マイクロカプセル化して、カプセルの各々の孔径に応じて、さまざまに長期間にわたる効果をもつ持効性形態 (depot form) を得ることができる。持効性形態は、局所的に適用され、長期間にわたって所望の部位で、活性物質の濃度が最大になるのを確実にすることができる。

【0013】

本発明により、モノマー I ~ V I からの全ての組み合わせがダイマーを形成し得、形成するダイマーが課題を解決する。

【0014】

本発明のペプチドは、通常、例えば下記の実施例 1 に記載するように、既知の固相合成法にしたがって合成される。生物活性 (レセプターへの結合、細胞シグナルの誘発、および増殖刺激作用) は、当業者に親しまれている方法、例えば、Lewis、J. Immunol. Methods 185 (1995)、9-17; Grander ら、Eur. J: Cancer 28A (1992)、815-818) などに記載されている方法、または下記の実施例に記載されている方法によって調査される。

【0015】

本発明の好ましい実施態様において、上記ペプチドは、モノマーが C 末端または N 末端を介して結合してなるか、または一方のモノマーの N 末端が他方のモノマーの C 末端と結合してなるホモダイマーまたはヘテロダイマーである。好ましくは、モノマー I の C 末端がモノマー II の N 末端もしくは C 末端と結合してなるか、またはモノマー I の N 末端がモノマー II の N 末端もしくは C 末端と結合してなる。一例として、所望の N 末端側ペプチドは、例えばピペリジン処理によって保護基 (好ましくは Fmoc) を除去した後の側鎖官能基保護形態において架橋剤によって活性化され、その生成物は HPLC で精製される。別の以前に合成されたモノマーも、結合しているペプチドの N 末端基とだけ反応する基をもつ側鎖官能基保護形態で (所望のダイマーに応じて、C 末端または N 末端で) 提供される。このモノマーを、活性化されたモノマーに添加した後、側鎖保護基を除去してから、溶出挙動に関してモノマーとは顕著に異なるダイマーを常法に従って逆相 HPLC によって精製単離する。アミノ酸組成によって可能であるならば

、賦活基および架橋剤も、遊離したモノマーによる二量体化を、側鎖保護基を除去した後に溶液の中で直接行なうことができるように選択することができる。あるいは、側鎖保護基を維持し、水溶液中で二量体化を行なうために、実施例に記載されているようにHYCHRONアンカーで合成ストラテジーを行なうことができる。

【0016】

レセプター対への有効な結合が依然として効率的に可能であるように二量体化が起きるという事実には注意を払いつつ、この架橋を、例えば下記の実施例に記載されている方法によって、または別の常法によって行なうことができる。例えば、枝分かれ部位としてリジン残基を用いて二量体化を行なうことができる (Wrightonら、Nature Biotechnology 15 (1997)、1261-1265)。本発明のダイマーのホモマーは、好ましくは、ポリエチレングリコール、ペプチド、活性化ビンゾジアゼピン、オキサゾロン、アザラクトン、アミンイミド (aminimides)、ジケトピペラジン、または単糖などのリンカーを介して、互いに共有結合的に連結している。同様に行なうことができる化学反応は当業者に知られており、本分野において実施されている (例えば、サンディエゴにあるアカデミックプレス社刊 (Academic Press、San Diego)、Hermannson、生体分子結合技術 (Bioconjugate Techniques) (1996) ; Peeters ら、J. Immunol. Methods 120、(1989)、133-144 ; Imman ら、Bioconjugate Chem. 2 (1991)、458-463)。

【0017】

本発明はまた、モノマーが、対応する出発物質のモノマーI ~ IVに1つまたはそれ以上のアミノ酸の欠失、付加、または置換および/または修飾アミノ酸を有する点に特徴があるホモダイマーまたはヘテロダイマーに関する。これに関連して、(a) 本来の形態と比較すると、同様またはより良好な様式でIL12レセプターに結合し、および/または細胞内シグナルを誘発することができるホモダイマーまたはヘテロダイマー、または(b) IL12レセプターに結合することはできるが、投与された際に、生物学的活性形態が、レセプターへの結合後に細胞シグナルを誘発させないこの形態により置き換えられるというアンタゴニスト作用を有するホモダイマーまたはヘテロダイマーが得られる。下記の実施例に

記載されている方法、または上記の方法によって、どの程度まで、これらの改変ホモダイマーまたはヘテロダイマーが所望の生物学的特性をもつのかを調べることができる。アミノ酸置換または付加においては、修飾アミノ酸を除外することはないが、天然のアミノ酸を導入するのが好適である。好適な修飾には、セリン、スレオニン、およびアスパラギンの単糖または二糖によるグリコシル化、システインのファルネシル化およびパルミトイル化、スレオニン、セリン、およびチロシンのリン酸化、中心アミノ酸に関する修飾で、通常、アンタゴニスト形態をもたらすものなどが含まれる。本発明により修飾された上記ホモダイマーまたはヘテロダイマーの欠失、付加、置換、および/または修飾は、モノマー当たり、多くとも10個、好ましくは、多くとも7個、さらに好ましくは、多くとも3個、もっとも好ましくは、多くとも1個のアミノ酸である。改変モノマーからなる、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーは、レセプター結合に参与するドメイン以外には、天然のサイトカインに特徴的なドメインを含まない。

【0018】

本発明によるダイマーおよび/または改変モノマーからなるダイマーは、好ましくは以下のホモダイマー： $[AALQNHNHQQIILDK]_2$ 。または $[AALQNHNKQQIILDK]_2$ 。であり、これらは、IL12を超える顕著により高い特異的活性を有する。これらの2つのモノマーはC-CおよびC-N結合の両方を有する。

【0019】

本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーは、それだけで利用することもできるが、例えば(ポリ)ペプチドなど、別の化合物と結合させることもできる。例えば、身体によって異物と認識されないトランスフェリンやアルブミンなどのキャリアタンパク質が、そのような(ポリ)ペプチドに含まれる。また、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーは、例えば、本発明のペプチドが細胞の中に貫入するのを可能にするかまたは支持するリーダーペプチドなどの他の(ポリ)ペプチドと融合させることもできる。このようなリーダーペプチドの例は、シヨウジョウバエのペネトラトリン (penetratrin) である。

【0020】

さらに別の実施態様において、本発明は、1つまたはそれ以上のアミノ酸が、脂肪酸、単糖、および/またはオリゴ糖によって共有結合的に修飾されているという特徴をさらにもつ上記のホモダイマーまたはヘテロダイマーに関する。これは、例えば、上記の修飾が既になされているアミノ酸を用いたモノマー合成など、公知の方法によって行なうことができる。修飾は、後で行なうこともできる。これらの修飾によって、例えば、タンパク質分解に対する抵抗性を高めたり、それによって、さらに生物学的半減期を長くしたりすることができる。

【0021】

本発明は、また、本発明の上記ダイマーに対する抗体またはその断片にも関する。これらの抗体は、例えば、診断アッセイ法に用いることもできる。

【0022】

抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、または合成抗体、もしくは、それらの断片でもよい。これに関して、「断片」という用語は、完全な抗体のエピトープ特異性と同一の特異性をもつモノクローナル抗体のすべての部分（例えば、Fab、Fv、または単鎖Fv断片）を意味する。当業者は、このような断片の製造には精通している。本発明の抗体は、好ましくは、モノクローナル抗体である。本発明の抗体は、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーを抗原として使用し、常法にしたがって製造することができる。モノクローナル抗体を取得する方法は、当業者に知られている。

【0023】

特に好適な実施態様において、本発明のモノクローナル抗体は、動物（例えばマウス）由来の抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体、もしくはそれらの断片である。キメラヒト抗体またはヒト化抗体に類似した抗体は、潜在的な抗原性が低下している。しかし、標的に対するそれらの親和性は低下していない。キメラ抗体およびヒト化抗体の製造、またはヒト抗体に類似した抗体の製造については、詳述されている（例えば、Queenら、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 86 (1989)、10029、およびVerhoeyanら、Science 239 (1988)、1534）。ヒト化免疫グロブリンには、実質的にヒト免疫グロブリンに由来する可変性のフレームワーク領域（アクセプター免疫グロブリンと呼ばれる）、および非ヒト（例えばマウ

ス)免疫グロブリンに実質的に由来する相補性決定領域(ドナー免疫グロブリンと呼ばれる)がある。定常領域が存在する場合には、実質的にヒト免疫グロブリンにも由来する。人間の患者に投与する場合には、ヒト化(およびヒト)抗体は、マウスや他の動物種の抗体に対して、次のようないくつかの長所がある。(a)ヒトの免疫系は、ヒト化抗体のフレームワークまたは定常領域を異物であるとは認識しないので、注射されたこのような抗体に対する抗体反応は、全くの外来マウス抗体、または部分的な外来キメラ抗体に対する抗体反応よりも小さいはずである。(b)ヒト化抗体のエフェクター領域はヒト由来であるため、ヒト免疫系の他の部分と良好な相互作用をする。(c)注射されたヒト化抗体は、天然のヒト抗体と実質的に等しい半減期を有するため、他の生物種に由来する抗体に比べて、少量かつ少ない頻度で投与することが可能になる。本発明は、また、上記モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマに関する。

【0024】

また、本発明は、本発明のホモダイマーおよび/またはヘテロダイマーを含む薬剤、および免疫系の疾患、例えば、癌疾患などの細胞増殖の増加に関連する疾患または感染もしくは炎症過程(例えば、HIV、リーシュマニア症: Mountfordら、J. Immunol. 156(996)、pp. 4739-4745)を治療するためのそれらの使用に関する。本発明による所定の修飾された形態のダイマーはまた、アンタゴニスト効果を有する。従って、本発明はまた、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーを含有する薬剤、および腫瘍などの増大した細胞増殖に関連する疾患、関節炎過程、アレルギー反応または乾癬などの所定の形態の皮膚疾患の治療のためのそれらの使用に関する(Wiggintonら、J. Natl. Cancer Inst. 88(1996)、38-43; Brundaら、J. Exp. Med. 178(1993)、1223-1230)。最後に、本発明はまた、本発明のダイマーを含有する薬剤および免疫療法などにおけるIL2を用いる治療のIL2副作用を低減するためのそれらの使用に関する。

【0025】

本発明の薬剤は、任意に、適切な薬学的担体とともに利用することができる。

適切な担体、およびかかる薬剤の処方は当業者に知られている。適切な担体は、例えば、リン酸によって緩衝された通常の塩溶液、水、例えば、油/水エマルジョンなどのエマルジョン、湿潤剤、滅菌溶液などである。本発明の薬剤は、注射用溶液、錠剤、軟膏、懸濁剤、エマルジョン、坐薬などの形で利用することができる。また、持効性形態（マイクロカプセル、亜鉛塩、リポソームなど）で投与することもできる。薬剤の投与法は、とりわけ、含まれている活性物質の形態がどのようなものであるかにより、経口または非経口で投与することができる。非経口投与する方法には、局所的、動脈内（例えば、直接腫瘍に対して）、筋肉内、髄内、髄腔内（intrathekale）、脳室内、静脈内、腹腔内、経皮的、または経粘膜（鼻、膣、直腸、舌下からの）投与が含まれる。適当な投薬量は主治医が決定するが、例えば、患者の年齢、性別、および体重、病気の種類および段階、投薬方法など、さまざまな要因に依存する。

【0026】

本発明はまた、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーもしくは本発明の抗体を含み、修飾された(veraenderten) IL12レセプター、過剰または不十分に発現したIL12レセプターおよび過度に高い濃度か低い濃度のIL12に関連する疾患を診断するために使用することができる診断用組成物に関する。これに関連して、本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーは、普通一般的なアッセイ方式において（抗体と同じように）、診断検出を行なうために利用することができる。この検出法は、例えば、(a)患者から細胞試料を採集すること、(b)集めた細胞試料を本発明のホモダイマーまたはヘテロダイマーまたは抗体をプローブとして、標的に特異的に結合できる条件下で接触させること、および(c)標的への結合を検出することを含む。この検出法は、当業者に既知の標準的な技術を用いて実施することができる。これに関連して、本発明の化合物は、例えば、液相内で、または固形担体に結合し得、さまざまな方法で標識することができる。適当なマーカーおよび標識方法は当業者に知られている。当業者は、IL12またはそのレセプターが、本発明の抗体またはホモダイマーまたはヘテロダイマーと特異的に接触することができるような細胞破碎法にも精通している。

【0027】

最後に、本発明は、上記診断法を実施するための診断用キットで、本発明のダイマー、または本発明の抗体もしくはその断片を含むものに関する。診断用キットの開発に応じて、ダイマー、または抗体もしくはその断片を固定化することができる。

【0028】

以下、実施例によって本発明を説明する。

【0029】

実施例1：KHYSCTAEDID（モノマーI）、PPVGEADPYRVKMQ（モノマーII）、AALQNHNHQQIILDK（モノマーIII）、IRDIIKPDPPKN（モノマーIV）、SLTFCVQVQGKSKR（モノマーV）およびRFTCWLLTTISTDLTF（モノマーVI）の固相合成

標準的な固相合成法にしたがってモノマーI～VIを作製した（Seitz ら、Angew. Chem. 107 (1995)、901）。この合成は、HYCHRONアンカーにおいて、Fmoc保護されたアミノ酸を用いて行われ、C末端を経由して出発した。グルタミン酸およびアスパラギン酸のカルボキシキル基は、第三ブチルエステルの形で保護されていた。Tyrの側鎖の保護基は、テトラヒドロピラニル基、第三ブチル基（Boc）、およびトリチル基を含んでいた。セリンおよびスレオニンの側鎖保護基は、アセチル基、ベンゾイル基、およびベンジルオキシカルボニル（=Cbz）基を含んでいた。アルギニンの側鎖保護基は、Cbz、メシチレン-2-スルホニル（=Mts）、または第三ブチルオキシカルボニル（=Boc）を含んでいた。リジンの側鎖は、トシル（=Tos）またはBocで保護されていた。 - アミノ保護基を除去して、関連する洗浄工程を終えた後、次のアミノ酸のカルボキシキル基の活性化を行ってから、後者を前のアミノ酸に連結させた。この順序で完全なモノマーを合成した。パラジウム（0）触媒によるアリル基転移によって、側鎖の保護基を維持しつつ、調製したモノマーをカラムから取り出した。その後、Fmoc基をモルホリンによって除去し、残りの保護基をTFAで処理して切断した。

【0030】

実施例2：モノマーIのポリエチレングリコールによる二量体化

25 mgの活性化二機能性ポリエチレングリコール(PEGスクシンイミジルプロピオン酸、分子量約3,400;ドイツのトーフキルヒェン(Taufkirchen, Germany)にあるシグマ社(Sigma)製)を4 mlのPBS、pH値7.5に溶解し、それから、3倍モル濃度過剰のモノマーを1 mlの0.1%トリフルオロ酢酸に溶解して加え、モノマーIを二量体化した。氷上で3時間インキュベートした後、凍結乾燥したモノマーを再び加え、1モルのPEGに対して3.5 molのモノマーという最終比率にした。混合液を氷上でさらに17時間インキュベートした。1 Mのトリス/HCl、pH値7.5を加えて(最終濃度:50 mMトリス)(インキュベーション:氷上1時間)PEGを不活性化させた。この混合液に分析用HPLCと調製用HPLCを行なった(実施例5を参照)。

【0031】

実施例3：モノマーIIのポリエチレングリコールによる二量体化

25 mgの活性化二機能性ポリエチレングリコール(PEGスクシンイミジルプロピオン酸、分子量約3,400;トーフキルヒェン(Taufkirchen)にあるシグマ社(Sigma)製)を4 mlのPBS、pH値7.5に溶解し、それから、3倍モル濃度過剰のモノマーを1 mlの0.1%トリフルオロ酢酸に溶解して加え、モノマーIIを二量体化した。氷上で3時間インキュベートした後、凍結乾燥したモノマーを再び加え、1モルのPEGに対して3.5 molのモノマーという最終比率にした。混合液を氷上でさらに17時間インキュベートした。1 Mのトリス/HCl、pH値7.5を加えて(最終濃度:50 mMトリス)(インキュベーション:氷上1時間)PEGを不活性化させた。この混合液に分析用HPLCと調製用HPLCを行なった(実施例5を参照)。

【0032】

実施例4：モノマーIとモノマーIIのポリエチレングリコールによる二量体化

25 mgの活性化二機能性ポリエチレングリコール(PEG-スクシンイミジルプロピオン酸、分子量約3,400;トーフキルヒェン(Taufkirchen)にあるシグマ社(Sigma)製)を4 mlのPBS、pH値7.5に溶解し、その後、3倍モル濃度過剰のモノマーを1 mlの0.1%トリフルオロ酢酸に溶解して加

え、モノマーを二量体化した。氷上で3時間インキュベートした後、凍結乾燥したモノマーを再び加え、1モルのPEGに対して3.5molのモノマーという最終比率にした。混合液を氷上でさらに17時間インキュベートした。1Mのトリス/HCl、pH値7.5を加えて(最終濃度:50mMトリス)(インキュベーション:氷上1時間)PEGを不活性化させた。この混合液に分析用HPLCと調製用HPLCとを行なった(実施例5を参照)。

【0033】

これらのモノマーは、1:1の比率で使用し、逆相HPLCによって分離した。なぜなら、両方のダイマーは、それらの溶出の振る舞いに関して顕著に異なり(組成により、溶出ピークで4分と9分の差がある)、従って互いに分離されるからである。

【0034】

実施例5:分析用および調製用HPLC

上記実施例で説明したダイマー形成を分析用逆相HPLCによってチェックした。Vydac-c18タンパク質ペプチドカラム(0.46×25cm)(米国、セパレーショングループ(Separation Group、U.S.A.))、バイオラド(BioRad)HPLC装置、およびパーキン-エルマー社(Perkin-Elmer)製の二波長検出装置によって分析を行なった。蒸留水中0.1%TFAを用いてカラムを平衡し、10分後に試料(原則として6ml)を注入し、0.1%TFAを含むアセトニトリルの45分の直線勾配(0~100)にした。流速を1ml/分に連続的に保った。これらの条件下で、架橋剤が流下液の中に現れた。反応生成物は、37分後に溶出されたが、未結合のモノマーは既に32分後に溶出されていたので、これによって、ダイマーから明確に分離することができた。このダイマーを、同じHPLC装置によって、調製用逆相HPLCカラム(2.2×25cm)上でさらに精製した。80:20の蒸留水:アセトニトリル(どちらも0.1%TFAを含む)を用い、8ml/分の一定流速でカラムを平衡させた。20分後に試料(6ml)を注入し、100%アセトニトリル/0.1%TFAの60分の直線勾配にした。主要ピークを回収して、凍結乾燥させた。モノマーIIには、よりなだらかな勾配(60%を超える、20~80%アセトニトリル

/ 0 . 1 % T F A) を用いて、より良好な分離を得た。単離されたダイマーと本来のモノマーを結合実験 (実施例 7 参照) 、 および増殖テスト (実施例 8 参照) に用いた。

【 0 0 3 5 】

実施例 6 : ダイマーの放射活性標識

以下に記載したように、ダイマーをヨード化した。20 μ l のクロラミン T (0 . 5 m g / m l) を 20 μ l の $N a^{125} I$ (2 m C i 、 ドイツのブラウンシュバイク (Braunschweig 、 Germany) にあるアマーシャム・ブハラー (Amersham Buchler)) に加え、2分後、この混合液を 50 μ l のダイマー (P B S 中 5 μ g) に加えて、15秒間インキュベートした。反応を完了させるために、30 μ l のメタ重亜硫酸ナトリウム (P B S 中 1 m g / m l) と、30秒後に 50 μ l の K I (P B S 中 10 m g / m l) を加えた。ゼラチン (50 μ l 、 蒸留水中 1 m g / m l) を担体として加え、該溶液を、P B S 中 0 . 2 5 % ゼラチン / 0 . 0 2 % アジ化ナトリウムによって平衡化した B i o S i l S E C 1 2 5 - 5 カラム (BioRad 、 10 m l) 上に直ちに注入した。放射性生成物を含む画分を合わせて、実施例 5 で説明したようにして、逆相 H P L C カラム上でさらに精製・単離した。精製したダイマーは、50 ~ 100 μ C i / μ g の特異的放射活性を有し、トリシン - S D S - P A G E で単一のバンドを回収し、95 ~ 100 % の放射活性をクロロホルム / メタノール法で沈殿させることができた (Wessel ら、An al . Biochem . 138 (1984) 、 141-143) 。これらの結果は、放射性標識生成物が純粋なダイマーからなり、放射活性が専らダイマーだけに帰属しうることを示している。

【 0 0 3 6 】

実施例 7 : 細胞結合実験

これらの実験は、本発明のダイマーが I L 1 2 レセプターを発現する細胞に特異的に結合するか否かを明らかにするものである。本実施例では、モノマー I I I からなるホモダイマーを使用する。実験を、P H A 刺激したヒトリンパ芽球を用いて、Chizzonite ら、J . Immunol . 148、(1992) 、 3117 - 3124 の改変プロトコルに従って行った。

【0037】

刺激化細胞 (7.5×10^5 細胞/ml RPMI 培地) を、変化する濃度 ($0.01 \sim 1$ ng) で放射標識したダイマーで90分間インキュベートし、その後、3つの遠心分離工程によりPBSで洗浄し、細胞結合放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。100倍濃度のIL12存在下で、標識ホモダイマーとIL12を同時に細胞に加えて、非特異的結合の程度を測定した。結果を表1に示す。

【0038】

【表1】

試験物質	結合 (最大結合%)
インターロイキン12	100
AALQNHNHQQIILDK	9
{AALQNHNHQQIILDK} 2	66

【0039】

実施例8：増殖実験

これらの研究は、ネイティブIL12に類似する本発明のダイマーが増殖刺激効果を有するかどうかを示す。それらを、GatelyおよびChizzonite、Curr. Protocols in Immunology Vol 1 (1992)、6.16~6.16.8頁による48時間アッセイにおいて、モノマーIIIを用いて、PHA刺激ヒトリンパ芽球で再び行った。これに関連して、細胞を、 5×10^4 の細胞数で200 μ l 培養培地に播種し、種々のダイマー濃度 ($0.01 \sim 1$ ng) の存在下で48時間培養した。トリチウム化チミジン (0.25μ Ci/ml) を添加し、細胞をさらに4時間培養し、次いで細胞収集機により単離した。導入された放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。測定値を、ユニット $\times 10^{-7}$ /mg IL12の比活性として表2に示す。

【0040】

【表2】

試験物質	比活性
インターロイキン 12	5.3
AALQNHNHQQIILDK	0.03
[AALQNHNHQQIILDK] 2	2.4
[AALQNHNKQQIILDK] 2	10.5

【0041】

実施例9：本発明の抗体の製造と検出

実施例4で製造されたヘテロダイマーに対して18% SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動を行なった。4Mの酢酸ナトリウムを用いてゲルを染色した後、約6.5k Bのバンドをゲルから切り出して、リン酸緩衝した通常の塩溶液の中でインキュベートした。このダイマーを電気溶出装置 (Electroelutors) (BioRad) によって、ゲルから溶出し、一晚k B透析してから凍結乾燥する。濃度5mg/mlのPBSの中にペプチドを取り出し、全部で2mlのPBSにおいて、担体タンパク質であるアルブミンと1molペプチド/0.02mol担体という比率になるよう混合した。混合液を攪拌しつつながら、2mlのグルタルジアルデヒド (PBS中0.2%) を一滴ずつ添加し、室温で1時間インキュベートした。そして、混合物を20k B透析ホースに入れて、PBSに対して12時間のバッファーサイクルで48時間透析してから凍結乾燥した。100µg (ウサギとニワトリ) または30µg (マウス) のダイマーとBSAの複合体、BSA-BSA複合体、およびダイマー複合体からなる混合液で動物を免疫する。

【0042】

ウサギにおけるポリクローナル抗体のための免疫プロトコル

0.7mlのPBS中100µgのゲル精製したヘテロダイマー、および0.7mlの完全または不完全なフロイントアジュバントを各免疫毎に用いた：

0日目： 初回免疫 (フロイント完全アジュバント)

14日目： 第2回目免疫 (フロイント不完全アジュバント； i c F A)

28日目： 第3回目免疫 (i c F A)

56日目： 第4回目免疫 (i c F A)

80日目：失血死

【0043】

免疫ロットでウサギ血清を試験した。この目的のため、本発明の実施例4のヘテロダイマーについて、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動を行ない、ニトロセルロース膜に移した(Khyse-Andersen, J., J. Biochem. Biophys. Meth. 10 (1984)、203-209)。Bock, C.-T.ら、Virus Genes 8、(1994)、215-229に記載されているとおりにウエスタンブロット解析を行なった。この目的のため、37℃で1時間、一次抗体とともにニトロセルロース膜をインキュベートした。この抗体はウサギ血清であった(PBS中1:10000)。PBSを用いて数回洗浄工程を繰り返した後、二次抗体とともにニトロセルロース膜をインキュベートした。この抗体は、PBS中でアルカリホスファターゼを結合したヤギの抗ウサギIgGモノクローナル抗体(ダイアナバ(Dianova)社)(1:5000)であった。37℃で30分間インキュベートした後、PBSで何度か洗浄工程を繰り返し、その後、バンドが見えるまで室温で展開液(36μMの5'-ブromo-4-クロロ-3-インドリルリン酸、400μMのニトロブルーテトラゾリウム、100mMのTris-HCl、pH9.5、100mM NaCl、5mM MgCl₂)を用いてアルカリホスファターゼ検出反応を行なった。

【0044】

本発明のポリクローナル抗体が調製できることが明らかになった。

【0045】

ニワトリにおけるポリクローナル抗体のための免疫プロトコル
0.8mlのPBS中100μgのゲル精製したヘテロダイマー、および0.8mlの完全または不完全なフロイントアジュバントを各免疫毎に用いた。

【0046】

0日目：初回免疫(フロイント完全アジュバント)

28日目：第2回目免疫(フロイント不完全アジュバント；icFA)

50日目：第3回目免疫(icFA)

【0047】

抗体は、卵黄から抽出し、ウエスタンブロットで試験した。本発明のポリクローナル抗体が検出された。

【0048】

マウスにおけるモノクローナル抗体のための免疫プロトコル
0.25 ml の PBS 中 30 μ g のゲル精製した融合タンパク質、および 0.25 ml の完全または不完全なフロイントのアジュバントを各免疫毎に用いた。4 回目に免疫するときに、融合タンパク質を 0.5 ml に (アジュバントなしで) 溶解した。

【0049】

0 日目： 初回免疫 (フロイント完全アジュバント)
28 日目： 第 2 回目免疫 (フロイント不完全アジュバント ; i c F A)
56 日目： 第 3 回目免疫 (i c F A)
84 日目： 第 4 回目免疫 (P B S)
87 日目： 融合

【0050】

ハイブリドーマの上清をウエスタンブロットで試験した。本発明のモノクローナル抗体を同定した。

【手続補正書】特許協力条約第34条補正の翻訳文提出書

【提出日】平成13年7月25日(2001.7.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アミノ酸配列KHYSCTAEDID(モノマーI)、PVG EADPYRVKMQ(モノマーII)、AALQNHNHQQIILDK(モノマーIII)、IRDIIKPDPPKN(モノマーIV)、SLTFCVQVQGKSKR(モノマーV)またはRFTCWWLTTISTDLTF(モノマーVI)を有してなり、インターロイキン12(IL12)レセプターに結合する、ペプチドモノマーの合成のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項2】 モノマーがそれらのC末端もしくはN末端を介して結合してなるか、または一方のモノマーのN末端が他方のモノマーのC末端と結合してなる、請求項1記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項3】 モノマーIのC末端がモノマーIIのN末端もしくはC末端と結合してなるか、またはモノマーIのN末端がモノマーIIのN末端もしくはC末端と結合してなることを特徴とする、請求項2記載のヘテロダイマー。

【請求項4】 モノマーが、ポリエチレングリコール、ペプチド、活性化ベンゾジアゼピン、オキサゾロン、アザラクトン、アミンイミド、ジケトピペラジン、または単糖を介して互いに共有結合してなることを特徴とする、請求項1～3いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項5】 モノマーが、モノマー当たり多くとも3つのアミノ酸の欠失、付加もしくは置換および/またはモノマー当たり多くとも3つの修飾アミノ酸を有してなり、ホモダイマーまたはヘテロダイマーが本来の形態と比較して同様のまたはより良好な様式で(a)インターロイキン12(IL12)レセプターに結合し、および/または(b)細胞シグナルを誘発することを特徴とする、

請求項1～4いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項6】 ホモダイマー〔AALQNHNHQQIILDK〕₂ または〔AALQNHNKQQIILDK〕₂ である請求項5記載のホモダイマー。

【請求項7】 モノマーが、モノマー当たり多くとも3つのアミノ酸の欠失、付加もしくは置換および/またはモノマー当たり多くとも3つの修飾アミノ酸を有してなり、ホモダイマーまたはヘテロダイマーがインターロイキン12 (IL12) レセプターに結合し得、アンタゴニスト効果を有しうることを特徴とする、請求項1～4いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項8】 モノマー当たり多くとも3つのアミノ酸が、脂肪酸、単糖および/またはオリゴ糖により共有結合的に修飾されてなることを特徴とする、請求項5、6または7記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー。

【請求項9】 モノマーの固相合成およびそれに続く二量体化を含む、請求項1～8記載のホモダイマーまたはヘテロダイマーの製造方法。

【請求項10】 免疫系疾患、減少した細胞増殖に関連する疾患、感染または炎症過程を治療するための、またはIL2を用いて行なう治療においてIL2副作用を低減するための、請求項1～6および8いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項9記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーの使用。

【請求項11】 免疫系疾患または増大した細胞増殖に関連する疾患を治療するための、請求項1～4、7および8いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項9記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーの使用。

【請求項12】 疾患が癌疾患である請求項11記載の使用。

【請求項13】 修飾されたインターロイキン12 (IL12) レセプターまたは過剰にもしくは不十分に発現したインターロイキン12 (IL12) レセプターまたは過剰に高いもしくは過剰に低いインターロイキン12濃度に関連する疾患の診断のための、請求項1～8いずれかに記載のホモダイマーもしくはヘテロダイマーまたは請求項9記載の方法により製造されたホモダイマーもしくはヘテロダイマーの使用。

【請求項14】 請求項1～8いずれかに記載のホモダイマーまたはヘテロダイマー、請求項9記載の方法により製造されたホモダイマーまたはヘテロダイマーを含んでなる、請求項13記載の診断方法を行なうためのキット。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No. PCT/DE 00/01260
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07K14/54 A61K38/20 A61P35/00 A61P37/02		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K A61K		
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, STRAND, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 640 689 A (HOFFMANN LA ROCHE) 1 March 1995 (1995-03-01) page 2, line 15 - line 20 page 3, line 35 - line 56 page 4, line 2 - line 5; claims; examples	1, 12
A	US 5 891 680 A (LIESCHKE GRAHAM J ET AL) 6 April 1999 (1999-04-06) column 4, line 1 - line 18	1, 12
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 November 2000		Date of mailing of the international search report 20/11/2000
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Fuhr, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

international application No.

PCT/DE00/01260

Continuation of Box I.1

Although claims 12-14 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the cited effects of the compound/composition.

Although claim 15 relates to a diagnostic method performed on the human or animal body, the search was carried out and was based on the cited effects of the compound/composition.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 00/01260

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0640689 A	01-03-1995	AU 675532 B	06-02-1997
		AU 6607294 A	12-01-1995
		CA 2125763 A	03-01-1995
		JP 7053594 A	28-02-1995
		NZ 260843 A	27-02-1996
		RU 2135584 C	27-08-1999
		US 5650492 A	22-07-1997
		ZA 9404567 A	27-12-1995
US 5891680 A	06-04-1999	AU 2803499 A	08-07-1999
		AU 701918 B	11-02-1999
		AU 4919896 A	27-08-1996
		EP 0815245 A	07-01-1998
		JP 10513362 T	22-12-1998
		WO 9624676 A	15-08-1996

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ト(参考)
C 0 7 K 16/24		G 0 1 N 33/53	P
G 0 1 N 33/53		33/531	A
		C 1 2 P 21/08	
// C 1 2 P 21/08		A 6 1 K 37/02	
Fターム(参考)	4B064 AG27 DA14		
	4C084 AA01 AA02 AA07 BA18 BA19		
	CA59 DA12 MA52 MA55 NA14		
	ZB071 ZB261		
	4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 CA40		
	DA02 DA76 EA28 EA51 FA33		

专利名称(译)	肽同源二聚体和肽异二聚体衍生自白细胞介素12		
公开(公告)号	JP2002543091A	公开(公告)日	2002-12-17
申请号	JP2000614287	申请日	2000-04-20
[标]申请(专利权)人(译)	V型希瑟石灰水泥游艇		
申请(专利权)人(译)	Viza , 莱蒙德 , 游艇.		
[标]发明人	ヴィーザーライムントヨット		
发明人	ヴィーザー, ライムント, ヨット.		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 C07K1/04 C07K14/54 C07K16/24 C12P21/08 G01N33/531		
CPC分类号	C07K14/5434 A61K38/00		
FI分类号	C07K14/54 A61P35/00 A61P37/00 C07K1/04 C07K16/24 G01N33/53.P G01N33/531.A C12P21/08 A61K37/02		
F-TERM分类号	4B064/AG27 4B064/DA14 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA18 4C084/BA19 4C084/CA59 4C084/DA12 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/NA14 4C084/ZB071 4C084/ZB261 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/DA02 4H045/DA76 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA33		
优先权	19919148 1999-04-27 DE		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明具有氨基酸序列KHYSCTAEDID (单体I) , PPVGEADPYRVKMQ (单体II) , AALQNHNHQQIILDK (单体III) , IRDIKPDPPKN (单体IV) , SLTFCVQVQGKSKR (单体V) 或 RFTCWLLTTISTDLTF或其变体, 本发明涉及能够结合白介素12 (IL12) 受体并任选触发细胞信号的肽单体的同二聚体或异二聚体。这些二聚体适用于治疗免疫系统疾病, 与修饰或过表达或表达不足的IL12受体相关的疾病, 与细胞增殖增加或减少, 感染或炎性过程相关的疾病。适用于检测相关疾病。

試験物質	結合率 (最大結合率)
インターロイキン12	100
AALQNHNHQQIILDK	9
(AALQNHNHQQIILDK) ₂	66