

(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2003 - 516729

(P2003 - 516729A)

(43)公表日 平成15年5月20日(2003.5.20)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テームト [*] (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 39/395	D 4 B 0 2 4
A 6 1 K 38/00			S 4 B 0 6 3
39/395		45/00	4 B 0 6 4
45/00		A 6 1 P 7/00	4 B 0 6 5
		9/14	4 C 0 8 4

審査請求 未請求 予備審査請求 (全 35数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 537351(P2001 - 537351)

(86)(22)出願日 平成12年11月8日(2000.11.8)

(85)翻訳文提出日 平成14年5月1日(2002.5.1)

(86)国際出願番号 PCT/EP00/11020

(87)国際公開番号 W001/034640

(87)国際公開日 平成13年5月17日(2001.5.17)

(31)優先権主張番号 199 53 732.1

(32)優先日 平成11年11月8日(1999.11.8)

(33)優先権主張国 ドイツ(DE)

(31)優先権主張番号 100 23 665.0

(32)優先日 平成12年5月16日(2000.5.16)

(33)優先権主張国 ドイツ(DE)

(71)出願人 イーペーエフ ファルマシューティカルス
ゲゼルシャフト ミット ベシュレンク
テル ハフツング
ドイツ連邦共和国 30625 ハノーファー
フェオドル リーネン シュトラッセ
31

(71)出願人 キルヒホッフ フランク
ドイツ連邦共和国 91054 エルランゲン
シュロツガルテン 4

(72)発明者 キルヒホッフ フランク
ドイツ連邦共和国 91054 エルランゲン
シュロツガルテン 4

(74)代理人 特許業務法人特許事務所サイクス

最終頁に続く

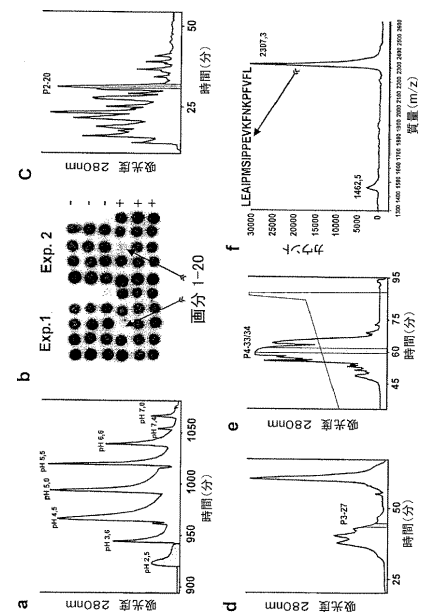
(54)【発明の名称】 ヒト循環ウイルス阻害ペプチド (V I R I P) 及びその使用

(57)【要約】

以下のアミノ酸配列:

【化1】

Z₁-LEAIPMSIPPEVKFNKPFVF-Z₂ (VIRIP)



【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下のアミノ酸配列：

【化1】

Z₁-LEAIPMSIPPEVKFNKPFVF-Z₂ (VIRIP)

を有するペプチド及びその生物学的に活性なフラグメント及び/又は変異体及び/又は誘導体、特にアミド化、アセチル化、硫酸塩化、ポリエチレングリコール(PEG)変性、リン酸化、及び/又はグリコシル化誘導体、及びVIRIPの生物学的活性を有する、多数の合成によって得られ得るペプチド；

但し、Z₁及びZ₂は、独立に0～10個のアミノ酸残基の配列であり、Z₁又はZ₂がゼロ個のアミノ酸残基の場合、Z₁ = H及び/又はZ₂ = COOHである。

【請求項2】 配列中の単一又は複数のアミノ酸残基が、交換、削除若しくは付加され、又はVIRIPの単一のアミノ酸に化学変性が導入され、それによりVIRIPの生物学的活性が向上する、請求項1に記載のVIRIPペプチド。

【請求項3】 請求項1又は2に記載のペプチドをコードするポリヌクレオチド、及び/又はそのフラグメント、変異体、誘導体、及び類似体。

【請求項4】 DNA、RNA、ゲノムDNA又はPNAからなることを特徴とする請求項3に記載のポリヌクレオチド。

【請求項5】 請求項3に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項6】 請求項5に記載のベクターを含む遺伝子工学により作製されたホスト細胞。

【請求項7】 請求項3に記載のポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド。

【請求項8】 請求項1又は2に記載のペプチドに対する抗体。

【請求項9】 請求項1又は2に記載のペプチドに対するアンタゴニスト/インヒビター。

【請求項10】 ウイルス感染し得る細胞内への取り込みを確保するアダプタータンパク質と結合した請求項1又は2に記載のペプチド。

【請求項11】 請求項1、2又は10に記載のペプチド及び適合性キャリアーからなる本草薬剤。

【請求項12】 カチオン交換抽出による血液濾過物からの抽出、次いで吸着物質の溶出、ペプチドを含む抽出物の再度のカチオン交換クロマトグラフィー、及び分画逆相クロマトグラフィーによる請求項1に記載のペプチドの調製方法。

【請求項13】 メリフィールド合成型の固相合成、又は保護されたアミノ酸を用いる当業者に既知の方法による液相合成、及びその精製による請求項1又は2に記載のペプチドの調製方法。

【請求項14】 一般的な生物工学的ベクターを用いる当業者に既知の非相同発現法による請求項1又は2に記載のペプチドの調製方法。

【請求項15】 請求項8に記載の抗体を含むか、又は請求項3、4若しくは7に記載のポリヌクレオチドを含む診断薬。

【請求項16】 組織、血漿、尿及び脳脊髄液レベルの前記物質を試験するための試験システムのための請求項15に記載の診断薬の使用。

【請求項17】 ウイルス性疾患、細菌及び真菌感染、炎症性及び腫瘍性プロセスのためのマーカーとして、並びに炎症性プロセス、妨害された炎症反応、腫瘍疾患、成長障害、免疫系の疾病におけるマーカーとして、並びに骨の疾患のマーカーとしての、請求項15に記載の診断薬の使用。

【請求項18】 経口、静脈内、筋肉内、皮内、皮下、クモ膜下投与のための本草薬物型の活性成分として、及び肺内投与のためのエアロゾルとして、請求項1、2及び10に記載のペプチド、請求項3、4若しくは7に記載のポリヌクレオチド、請求項8に記載の抗体、又は請求項9に記載のアンタゴニスト/インヒビターを含む薬剤。

【請求項19】 ウイルス性疾患、特にHIV-1、HIV-2、ヘルペス単式ウイルス、帯状疱疹ウイルス、肝炎A、肝炎B及び肝炎Cウイルス、サイトメガロウイルス、インフルエンザウイルス、ポリオウイルス、ライノウイルス、風疹ウイルス、麻疹ウイルス、狂犬病ウイルス、ラウス肉腫ウイルス、エプスタインバーウイルスの治療のための、並びに細菌及び真菌感染、炎症性プロセス、妨害された炎症反応、腫瘍疾患、成長障害、ニューロン疾患、血液凝固及び血液生成

の疾患、血管の疾患、免疫系の疾患の治療のための、並びに外傷及び骨の治療のための、請求項18に記載の薬剤の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、細胞のウイルス感染を阻害する性質を有するポリペプチド（タンパク質）：ヒトウイルス阻害(virus-inhibiting)ペプチド（VIRIP）、並びにその治療的及び診断的使用に関する。本発明は、自然発生型VIRIP及びそれから誘導されたフラグメント及び/若しくは類似体、又は誘導体、並びに最終的には、医学的処置に使用されるべきであり、かつ診断薬として使用されるべきである、天然の組換え体、及び合成ペプチドを含む薬剤に関する。また、本発明は、特に良好な治療効果を有する変性型VIRIPに関し、更に、VIRIP又はそのフラグメント及び/若しくは誘導体の1つ、並びに診断的又は治療的使用のための、特にウイルス性疾患における、並びにHIV-1及びHIV-2感染の治療のための、VIRIP又はそのフラグメント及び/若しくは誘導体に対向する抗体及びアンタゴニストに関する。

【0002】

驚くべくことに、VIRIPは、クロマトグラフィー法により、かつ生物学的アッセイを用いて、ヒトの血液濾過物(hemofiltrate)から単離され得る。本発明によるペプチドの生物学的な特徴付けは、マススペクトロメトリー及び全てのアミノ酸の完全な配列決定によって行われる。

【0003】

ペプチドは、以下のアミノ酸配列を有する：

【化2】



但し、 Z_1 及び Z_2 は、独立に0～10個のアミノ酸残基の配列であり、 Z_1 又は Z_2 がゼロ個のアミノ酸残基の場合、 $Z_1 = \text{H}$ 及び/又は $Z_2 = \text{COOH}$ である。

【0004】

Z_1 及び Z_2 がゼロ個のアミノ酸残基の場合、本発明によるVIRIPペプチドの分子量は、2303Daである。

【0005】

VIRIPの誘導体としては、特に、アミド化、アセチル化、硫酸塩化、ポリエチレングリコール(PEG)変性、リン酸化、及び/又はグリコシル化誘導体、並びにVIRIPの生物学的活性を有する、多数の合成から得られ得るペプチドを挙げることができる。

【0006】

本発明によるペプチドは、その処理型(processed form)が、394個のアミノ酸からなる、既知のヒトタンパク質アルファ-1-アンチトリプシン(登録番号P01009)の20個のアミノ酸のフラグメントを含む。アルファ-1-アンチトリプシンの機能は、酵素エラスターゼ、並びにトロンビン及びプラスミンのインヒビター(inhibitor)として、主に説明されている。本発明によるVIRIPのペプチド配列は、アルファ-1-アンチトリプシンのアミノ酸352の後から始まるので、アルファ-1-アンチトリプシンのアミノ酸353~372を含む。

【0007】

驚くべきことに、本発明によるペプチドは、ヒト血液細胞のHIV-1感染及び/若しくは複製の、又はヒト血液細胞における抑制(suppression)を引き起こす。

【0008】

本発明によるペプチドは、ヒトの血液濾過物から始まる精製法によって得ることができる。この血液濾過物は、腎臓病を患う患者の血液の限外濾過において、多量に得られる。

【0009】

本発明はまた、本発明によるペプチドをコードするポリヌクレオチドにも関する。そのようなポリヌクレオチドは、DNA、RNA、ゲノムDNA又はPNAからなることが好ましい。本発明の他の態様は、本発明によるポリヌクレオチドを含むベクター、及び本発明によるベクターを含む遺伝子工学により作製された(genetically engineered)宿主細胞に関する。本発明はまた、本発明によるポリヌクレオチドとハイブリダイズするであろうポリヌクレオチド(アンチセンスヌクレオチド

）にも関する。本発明の更なる態様は、本発明によるペプチドに対する抗体、並びに本発明によるペプチドの活性を阻害するアンタゴニスト及びインヒビターに関する。

【0010】

本発明によるペプチドは、ウイルス感染し得る細胞内への取り込みを確保するアダプタータンパク質と結合し得る。

【0011】

本発明はまた、本発明によるポリヌクレオチドを治療に効果的な量で投与することによる、VIRIPを必要とする患者の治療のための方法、及びアンタゴニスト/インヒビターを治療に効果的な量で投与することによる、VIRIP阻害を必要とする患者の治療のための方法にも関する。

【0012】

又は、本発明によるポリペプチドの治療効果は、VIRIPをコードするポリヌクレオチドを投与した後に患者においてインビボ(in vivo)発現することにより得ることができる。

【0013】

ヒトの血液濾過物は、任意に、水によって希釈され、酸性化される。pH値は、1.5～3.5、特に2.5～3.0であることが好ましい。その後、血液濾過物は、カチオン交換体、例えば、スルホン酸基によって修飾された支持体材料(フラクトゲル(Fractogel)SP-650(M)、メルク(Merck)、ダルムシュタット(Darmstadt))に通される。カチオン交換体に結合したペプチドは、比較的高濃度の塩溶液によって溶出される。溶離液のイオン強度は、0.5～1Mの酢酸アンモニウム溶液の場合とほぼ同じである。

【0014】

回収された溶出液は、別のカチオン交換クロマトグラフィーに付される。このクロマトグラフィーは、pH値がしだいに高くなるバッファーによる分画(fractional)溶出であることが好ましい。

【0015】

本発明によるペプチドを含む画分は、分取用(preparative)逆相クロマトグラ

フィー、及びその後の半分取用(semipreparative)逆相クロマトグラフィーによって、例えばC18-変性支持体材料上で、更に精製される。分析用逆相クロマトグラフィーを用いて、例えば、C18-変性支持体材料上で、精製度を観察することが好ましい。

【0016】

クロマトグラフィーによる精製によって得られた物質の構造解明(structural elucidation)が行われた。精製されたペプチドの分子量の決定は、エレクトロスプレー・マススペクトロメーター(electrospray mass spectrometer)(ESI-MS)によって行われた。天然の(native)ペプチドの配列分析は、ABI 473 Aシーケンサーを用いて、エドマン分解によって行われた。本発明によるペプチド配列は、化学的に合成され、かつ合成によって得られた(synthetically prepared)ペプチドの構成も、解明された。この合成によって得られたVIRIPも、ヒトの血液細胞のHIV-1感染及び/若しくは複製の、又はヒトの血液細胞における、投与量に依存する抑制を引き起こす。

【0017】

本発明のペプチド、及びそのcDNA、その遺伝子及び類似体、そのペプチド、cDNA、及び遺伝子のフラグメント及び誘導體、並びにVIRIPの活性を失わせる(neutralize)抗体は、薬剤として使用され得る。その生物学的活性は、ウイルス阻害物質のものに相当する。VIRIPは、その疎水性配列が短いため、血液細胞へ取り込まれ、そこでウイルス性酵素のインヒビターとして、又は血液細胞の酵素のインヒビターとして働き、かつVIRIPは、ウイルス侵入(entry)において役割を果たすレセプターと結合すると考えられる。それ故、VIRIPは、ウイルスによる細胞の感染を妨げる。

【0018】

本発明のペプチドは、非経口的、静脈内、筋肉内、鼻腔内、局部的(local-topical)、皮下、又は口辺(buccal)経路において、ペプチドに一般的な方法で投与される。投与されるべきペプチドの量は、一日当たりで、単位投与量当たり1mg~1gである。本発明によるペプチドの活性は、適当なインヒビター/アンタゴニストの投与によって阻害され得る。

【0019】

それ自体既知のE L I S A又はR I Aで用いられるべき本発明による診断薬は、本発明によるペプチドに対するポリ - 又はモノクローナル抗体を、任意に蛍光ラベル化又は放射性ラベル化した形で含む。本発明のペプチドに対する抗体は、哺乳動物の免疫法によって得ることができる。P C Rやフィンガープリンティング(fingerprinting)のような、当業者に既知の試験システムにおいて使用するための本発明による診断薬は、DNA、RNA、及び/又はPNAを、任意に変性及び/又はラベル化された形で含む。

【0020】

図1：VIRIPの精製。精製段階は、本明細書において説明されている。(b)画分1-20による、ヒト血液のリンパ細胞におけるH I V - 1 N L 4 3の複製の阻害。細胞を、P H Aによって2日間刺激し、10 ngのp 2 4を含むウイルスストック(virus stocks)によって感染させ、感染9日後、培養液の上清中の逆転写酵素活性を決定した。感染実験の結果を示す。

【0021】

図2：C E M x 1 7 4 - S E A Pインジケーター(indicator)細胞の感染(左)及びヒトP E M C類における複製(右)への合成V I R I Pの影響。記載の量のV I R I Pの存在下で細胞の感染及び培養を行った。ウイルスの侵入を決定するために、感染3日後、C E M x 1 7 4 - S E A Pの培養液の上清中の分泌されたアルカリホスファターゼの活性を決定した。

【0022】

図3：X 4 屈性(X4-tropic)N L 4 3クローンのV 3ループ(loop)を、示したH I V - 1単離物の対応する配列と交換した。それにより、V 3ループにおいて組換え型ウイルスのみが区別される。右側のパネルに、観察されたインヒビターの効果(%)、V 3領域の全変化及び共存レセプター屈性(co-receptor-tropism)を示す。

【0023】

図4：X 4 屈性P 5 9 S及びR 5 屈性9 2 T H H I V - 1 N L 4 - 3組み換え体のV I R I Pによる投与量に依存した阻害。示した濃度のV I R I Pの存在

下で、P4R5インジケータ細胞を感染させ、感染2日後、細胞抽出物中の
- ガラクトシダーゼ活性を測定した。

【0024】

図5：VIRIPは、ヒトPBMC中で、異なる細胞屈性および共存レセプター屈性を有する様々なHIV単離物の複製を阻害する。示した濃度のVIRIPの存在下で、予め刺激したPBMCを、様々なHIV-1単離物(10ngのp27抗原)、又はキメラ(chimeric)オンコ-レンチウイルス(Mu-HIV)によって処理した。細胞培養液の上清中の逆転写酵素活性を測定することにより、ウイルス複製を決定した。

【0025】

【実施例】

ここで、以下の実施例により、本発明を更に説明する。

実施例1

抗ウイルス効果を有する(antivirally effective)VIRIPの単離

第一段階：血液濾過物バッチ抽出

800~1000リットルの血液濾過物を、HClによってpH値2.7に調整し、水で希釈して伝導度を5.5mS/cmとし、流速3リットル/分で強カチオン交換体に充填する。

【0026】

クロマトグラフィー条件

カラム：バンテージ(Vantage)VA250(アミコン(Amicon)、ウィッテン(Witt en)、ドイツ)

カラム材：フラクトゲル(Fracrogel)TSK SP 650(M)、25cm×20cm

流速：3リットル/分

検出：280nm、pH、伝導度

バッファーA：血液濾過物 pH2.7、伝導度5.5mS/cm

バッファーB：0.5M酢酸アンモニウム

装置：オートパイロットクロマトグラフィーシステム(Autopilot Chromatograph)

ic System) (パーセプティブ・バイオシステムズ(PerSeptive Biosystems)、
イスバーデン (Wiesbaden)、ドイツ)

【0027】

全部で1,000リットルの液体を一晩充填した後、数カラム容量の5 mM
HClですすぎ洗いする。結合したペプチドの溶出を、0.5 Mの酢酸アンモニ
ウムによるバッチ溶出として行う。約5リットルの溶離液中で、pH値に勾配を
かけ(6.8~7.2)、かつ伝導度に勾配をかけ(56 mS/cm)、ペプチ
ドを完全に溶出した。

【0028】

第二段階：最初の分取分離 (チャージ(Charge) 01 / 1998)

バッチ抽出の酢酸アンモニウム溶離液を、10,000リットルの量の血液濾
過物と混合する。pHを2.7に調整した後、5.5 mS/cmの伝導度を有す
る完全に脱塩した水を加えながら、ペプチド抽出物を、分取用カチオン交換体に
充填する。

【0029】

クロマトグラフィー条件：

カラム：バンテージ(Vantage) 250 VA

カラム材：フラクトゲル(Fractogel) TSK SP 650 (M)、25 cm × 2
0 cm

流速：充填中は3リットル/分まで、溶出中は0.5~1リットル/分

検出：280 nm、pH、伝導度

試料：血液濾過物 pH 2.7、伝導度 5.5 mS/cm

装置：オートパイロットクロマトグラフィーシステム(Autopilot Chromatograph
ic System) (パーセプティブ・バイオシステムズ(PerSeptive Biosystems)、バ
イスバーデン (Wiesbaden)、ドイツ)

【0030】

未精製の抽出物を240分にわたり充填した後、伝導度が1 mS/cm以下に
なるまで、0.01 MのHClでカラムをすすぎ洗いする。下記のバッファーを
用いて、数段階で溶出を行った。

【0031】

【表1】

バッファー	pH値	バッファー物質	伝導度 (mS/cm)
洗浄バッファー	2.0	0.01 M HCl	
溶出バッファー1	3.6	0.1 M クエン酸一水和物	
溶出バッファー2	4.5	0.1 M 酢酸 + 0.1 M 酢酸ナトリウム	
溶出バッファー3	5.0	0.1 M リンゴ酸	
溶出バッファー4	5.6	0.1 M 琥珀酸	
溶出バッファー5	6.6	0.1 M NaH_2PO_4	
溶出バッファー6	7.4	0.1 M NaH_2PO_4	
溶出バッファー7	9.0	0.1 M 炭酸アンモニウム	

【0032】

溶出液1-7を、pHプールI-VIIと呼ぶ。それらを分取し、完全に脱塩された水で最後にすすぎ洗いする。新たなベースラインに達するまで溶出を行うと、pHプールI-VIIそれぞれに対し、10~25リットルの溶出液が得られる。

【0033】

第三段階：2番目の分取分離

分画し、同時に脱塩するために、逆相クロマトグラフィーにより、それぞれのpHプールを分離する。

【0034】

カラム条件：

カラム：ファインライン(FineLine) 100 (ファルマシア(Pharmacia)、フライブルグ(Freiburg)、ドイツ)

カラム材：ソース(Source) RPC、15 μm

10 x 12.5 cm (ファインライン(FineLine) 100)

流速：150 ml/min (ファインライン(FineLine) 100)

バッファーA：10mM HCl

バッファーB：80%アセトニトリル含有10mM HCl

勾配：5カラム容量中、0 - 60%バッファーB

【0035】

各pHプールを充填した後、バッファーAでカラムを洗浄する。溶出中、200mlの画分を回収する。画分を凍結乾燥して-20℃で保存する。形成した画分のアリコート(Aliquots)を、バイオアッセイで試験する。pHプールIからの画分20は、本発明によるペプチドを含んでいた(図1b、c参照)。

【0036】

第四段階：半分取用逆相C18クロマトグラフィー

アッセイにおいて生物活性であったpHプールIからの画分20全500mgを、半分取用逆相カラムを通して分離した。画分27は、本発明による物質を含んでいた(図1d参照)。

【0037】

クロマトグラフィー条件：

カラム：4.7cm×30cmスチールカラム

充填材：バイダック(Vydac)RP-C18 15-20µm、300X)

バッファーA：30%メタノール、70%水、0.1%TF A

バッファーB：100%メタノール、0.1%TF A

勾配：2100ml中でBが0 - 60%

流速：40ml/min

検出：214nm及び280nm

クロマトグラフィー装置：バイオキャド(BioCad)250、パーセプティブ・バイオシステムズ(Perceptive Biosystems)

分画：勾配開始から50ml毎

【0038】

第五段階：分析用逆相クロマトグラフィー：

先のクロマトグラフィーからの生物活性画分27を、分析用逆相カラムを通して分離した。バイオアッセイにおいて、アリコートを試験した。画分33及び3

4は、精製された形で、本発明による物質を含んでいた。

【0039】

クロマトグラフィー条件：5 μ m、100 X、20 \times 250 mm

カラム：2 cm \times 25 cm スチールカラム

充填材：RP-C4、5 μ m、100 X、バイオテクシリカ(Biotek Silica)、
オーストリンゲン(Oestringen)、ドイツ)

バッファーA：水、0.1% TFA

バッファーB：80% アセトニトリル、20% 水、0.1% TFA

勾配：80分間でBは20 - 60%、2分間でBは60 - 100%

流速：8 ml / min

検出：214 nm 及び 280 nm

クロマトグラフィー装置：コントロン(Konttron)

分画：勾配開始から1.5分毎

【0040】

その後すぐに、投与量に依存した方法で、バイオアッセイにおいて本発明による純粋な物質が試験され、ペプチド化学によって特徴付けられた。

【0041】

実施例2

質量決定

(実施例1の第五段階の画分33及び34からの)血液濾過物から単離されたペプチド、及び化学的に合成されたペプチド(実施例3)における質量決定を、ESIマスマスペクトロメトリーにおいて行った(図1f参照)。ペプチドの分子量を決定し、以下の質量(MW)を得た：

VIRIP、ヒトの血液濾過物から単離：2303 Da

VIRIP、化学的に合成したペプチド：2303 Da

【0042】

配列決定

精製された天然又は化学的に合成されたペプチドを、ABI 473 Aシーケンサーにおいて、標準的なプログラムを用いて、エドマン分解によって分析した

。ポリブレン(polybrene)膜上に、100～400 pmolの間の量の試料を載せた。(実施例1の第五段階の画分33及び34からの)血液濾過物から単離されたペプチド及び化学的に合成されたペプチドの両方において、以下の完全なアミノ酸配列が全く一致して得られた:

【化3】

LEAIPMSIPPEVKFNKPFVF

【0043】

データベース比較

スイスプロット(SwissProt)及びEMBLデータベースにおいて、HUSARプログラムパッケージを用いて、データベース比較を行った。ペプチド配列は、そのcDNAから得られるような、ヒトタンパク質アルファ-1-アンチトリプシン(登録番号P01009)のアミノ酸配列353-372と100%一致する。

【0044】

実施例3

VIRIPの化学的合成

既知のFmoc化学を用いて、ペプチドシンセサイザー9050において、通常の固相合成によって、VIRIPの化学的合成を行った。逆相クロマトグラフィーによって、得られたペプチドを精製し、分析用RP-HPLCによって、並びに実施例2において説明したような質量及び配列決定によって、その同定及び精製を行った。

【0045】

実施例4

VIRIPの抗ウイルス活性の決定

VIRIPの単離を、ヒトの末梢血液リンパ細胞(PBMC類)におけるHIV-1の複製を測定するアッセイにおける、HIV-1の複製におけるその阻害作用に基づいて行った。従って、実施例1において説明した、個々のクロマトグラフィー画分のそれぞれのアリコートを凍結乾燥し、その後10mlから1ml

までの血液濾過物当量で、生物学的アッセイに付した。プラスのシグナルを示した各画分を、更に精製した。

【0046】

フィコール(Ficoll)における密度勾配遠心分離を用いて、全血液から、ヒトの末梢血液リンパ細胞(PBMC類)が得られた。細胞を、予め2日間刺激した(RPMI培地、20%FKS、100U/ml IL-2、5µg/ml フィトヘマグルチニン[PHA])。その後、PBMC類を、5分間にわたり1200rpmの遠心分離によって沈殿させ、PHAを含まないRPMI培地(20%FKS、100U/ml IL-2)に取り出し、ウェル当たり約150,000細胞の濃度の80µl容量を、96ウェル平底プレートに載せた。

【0047】

翌日に、実施例1で説明した個々のクロマトグラフィー段階のアリコートを、10mlから1リットルまでの血液濾過物当量で供給した。従って、凍結乾燥したクロマトグラフィー画分を水中に取り出し、様々な濃度でPBMC類にピペットで移し、合計量10µlとした。37℃でのインキュベーションの2時間後、0.1~10ngのp24抗原を含むHIV-1ウイルスストック10µlを加えることにより、細胞を感染させた。その後、50µlの培養培地を、2時間毎に、対応するペプチド画分を更に含む新しい培地に置き換えた。細胞の感染から異なる時間での(9、12及び18日後)HIV粒子の生成を、逆転写酵素(RT)試験において定量した。RT試験は、細胞を含まない培養液上清における逆転写酵素の活性を測定し、それによりPBMC培養液におけるウイルス粒子の生成及びウイルス複製を測定する。又は、ウイルス生成は、p24抗原ELISAにおいて決定された。刺激又は阻害ペプチドを潜在的に含まない混合物と比べて、少なくとも90%のRT生成の減少を引き起こし(例えば、図1b参照)、それによりヒトPBMCにおけるHIV-1の複製を効果的に阻害した画分を、更に精製した。

【0048】

血液濾過物から精製されたVIRIP(実施例1)及び化学的に合成されたVIRIP(実施例3)は、いずれも、CEMx174-SEAPインジケーター

細胞のH I V - 1感染及びP B M C類における複製(図2)の、投与量に依存した阻害を示した。それに対し、本発明によるV I R I Pは、血液細胞において、何ら細胞に有毒な作用を示さない。

【0049】

実施例5

V I R I P特異的阻害の効率は、H I V - 1エンベロープ(envelop)タンパク質におけるV3ループの配列に依存する。

これら結果から、血液濾過物からのV I R I P及び合成によって得られた(synthetically prepared)ペプチドのいずれもが、H I V - 1 N L 4 3の複製を効果的に妨害することが示された。V I R I PがX4屈性変異体に特異的であるか、又は共存レセプターC C R 5を利用する他の形も阻害するか、又は二重屈性(dual-tropic)(X4/R5)であるかを立証するために、分子N L 4 - 3クローンの多数のV3変異体を試験した(図3)。X4屈性N L 4 - 3クローンのV3ループは、多数の初期H I V - 1単離物の対応する領域に置換された。異なるインジケータ細胞系による機能試験によって、これらV3組み換え体が、異なる細胞及び共存レセプターの屈性を有することが示された。これら変異体へのV I R I Pの阻害作用を決定するために、P4R5インジケータ細胞を試験した。H I V - 1 L T Rの制御下で、P4R5細胞は、C C R 5及びC X C R 4の両方を発現し、かつルシフェラーゼ遺伝子を含む。V I R I Pの存在下又は不存在下で、この細胞系は、様々な組換え型ウイルス(50ngのp24)によって感染させられ、その感染は、ルシフェラーゼ試験を用いて定量された。図3に示すように、V I R I PはX4屈性並びにR5屈性及びX4/R5屈性変異体を阻害した。しかし、概して、強くプラスに帯電したV3ループを有するX4屈性変異体は、R5屈性又は二重屈性単離物と比べてより効率的に阻害された。

【0050】

本発明による物質の阻害効果をより正確に定量するために、P4R5インジケータ細胞を、異なる量のV I R I Pの存在下で、X4屈性H I V - 1 P59S単離物及びR5屈性92TH単離物に感染させた。図4に示すように、V I R I Pは、40µg/mlの濃度において、H I V - 1のH I V - 1 P59S単

離物を約50%阻害し、180 µg/mlの濃度において、約90%阻害した。
X屈性92TH単離物の阻害のためには、約2倍高い濃度のVIRIPが必要と
される(図4)。

【0051】

更なる実験において、VIRIPが、ヒトPBMCにおいて、X4屈性及び二
重屈性HIV変異体の複製を、1000 µg/mlの濃度で完全に抑制し、かつ
100 µg/mlの濃度で少なくとも部分的に抑制することが示された(図5、
上段)。R5屈性型への阻害効果は、さらに少なかった。MLVタンパク質を運
ぶキメラオンコ-レンチウイルス(Mu-HIV)は、阻害されなかった(図5
、下段)。

【配列表】

SEQUENZPROTOKOLL

```

<110> Forssmann, Wolf-Georg
        Kirchhoff, Frank

<120> Humanes zirkulierendes Virus inhibierendes Peptid
        (VIRIP) und seine Verwendung

<130> VIRIP

<140>
<141>

<160> 1

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1
Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
  1           5           10           15
Pro Phe Val Phe
                20

```

【図面の簡単な説明】

【図1】VIRIPの精製段階を示す。

【図2】CEM×174-SEAPインジケーター細胞の感染(左)及びヒトPEMC類における複製(右)への合成VIRIPの影響を示す。

【図3】X4屈性NL43クローンのV3ループを、示したHIV-1単離物の

対応する配列と交換した結果である。

【図4】X4屈性P59S及びR5屈性92TH HIV-1 NL4-3組み換え体のVIRIPによる投与量に依存した阻害結果を示す。

【図5】VIRIPが、ヒトPBMC中での、異なる細胞屈性および共存レセプター屈性を有する様々なHIV単離物の複製の阻害結果を示す。

【図 1】

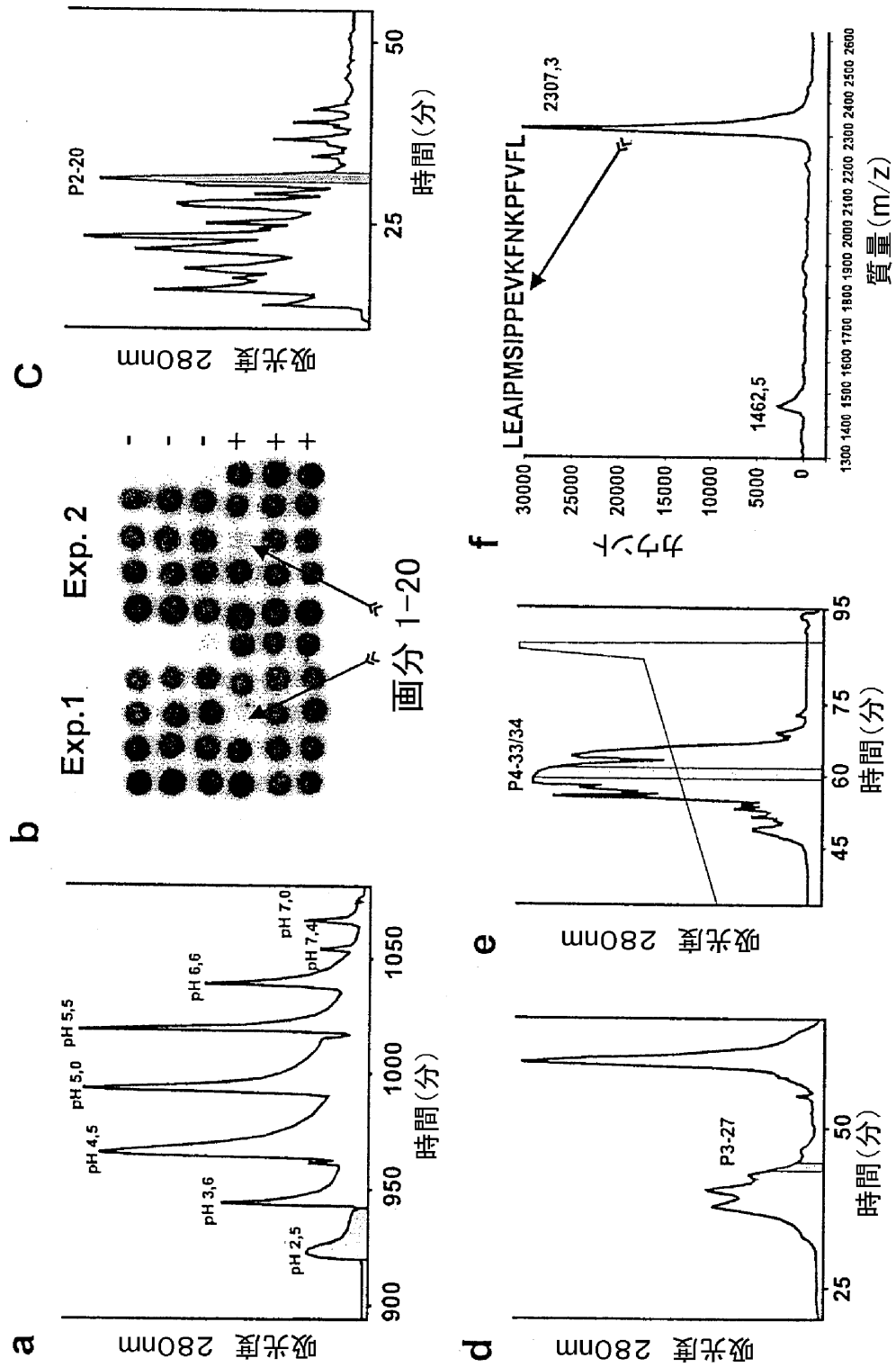


図 1

【図2】

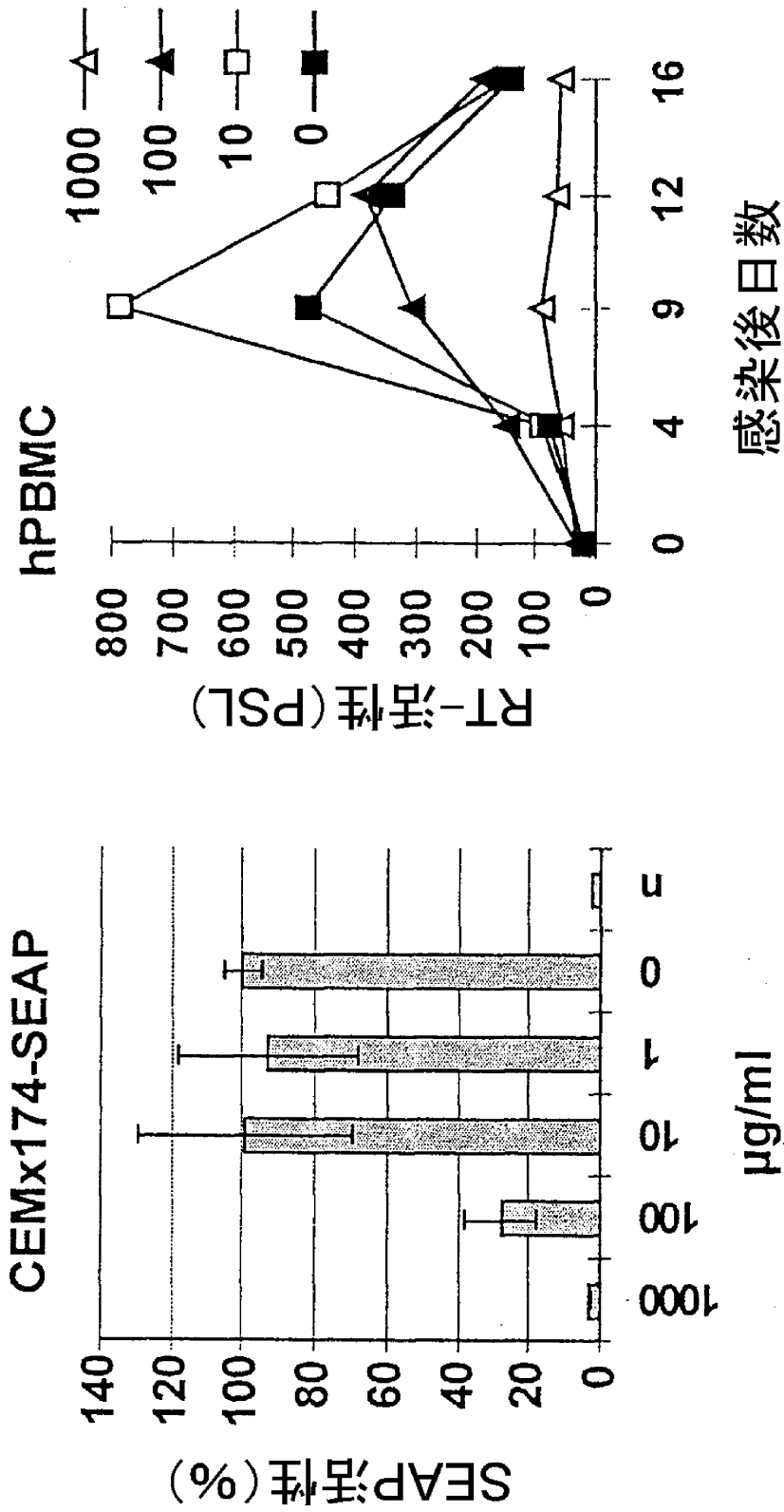


図2

【図3】

単離物	V3配列	% 阻害	充填	屈性
P59-S/27	---- gspq-r--r- ..-----wlv yargng----- ---	98	+7	X4
P34-S	---- --his-r-s- ..-----ra -er-..-----k ---	91	+8	X4
92ht593-1	---- ----s-r-s- ..-----ra -.k-..-n--- ---90	+7	X4/R5	
HXB2	---- -----r-r- -----v- i-k-...-nm-- ---	90	+9	X4
93br020-17	---- -----r-sl ..----v--- a----..-----k --- 88	+7	X4/R5	
P51-S	---- g-k--r-ms- ..-----ia -rq-..-----k ---	85	+7	X4/R5
92rw020-5	---- -----gvr- ..----q---a --g-..----- ---	78	+5	R5
011jr103	---- -----p- ..----- ..----- --- 75	+6	R5	
LAI	---- -----r- ----- i-k-...-nm-- ---	70	+8	X4
NL43	---- -----r- -----v- i-k-...-nm-- ---	70	+8	X4
93br025-9	---- -----r- ..----q---a ----..----- --- 58	+5	R5	
YU2	---- -----n- ..-----l- ----..----- --- 50	+5	R5	
005pf135	---- -----g- ..----- ..----- --- 28	+5	R5	
SG3.1	---- -kk---r-tt ..----vy-- ----..v----- ---	30	+8	X4/BOB
92th014-12	---- -----l ..-----w-- --q-..----- --- 22	+5	R5	
コンセンス	CTRP NNNTRKSIHI QRGPGRAFYT TGEI..IGDIRQ AHC			

【図4】

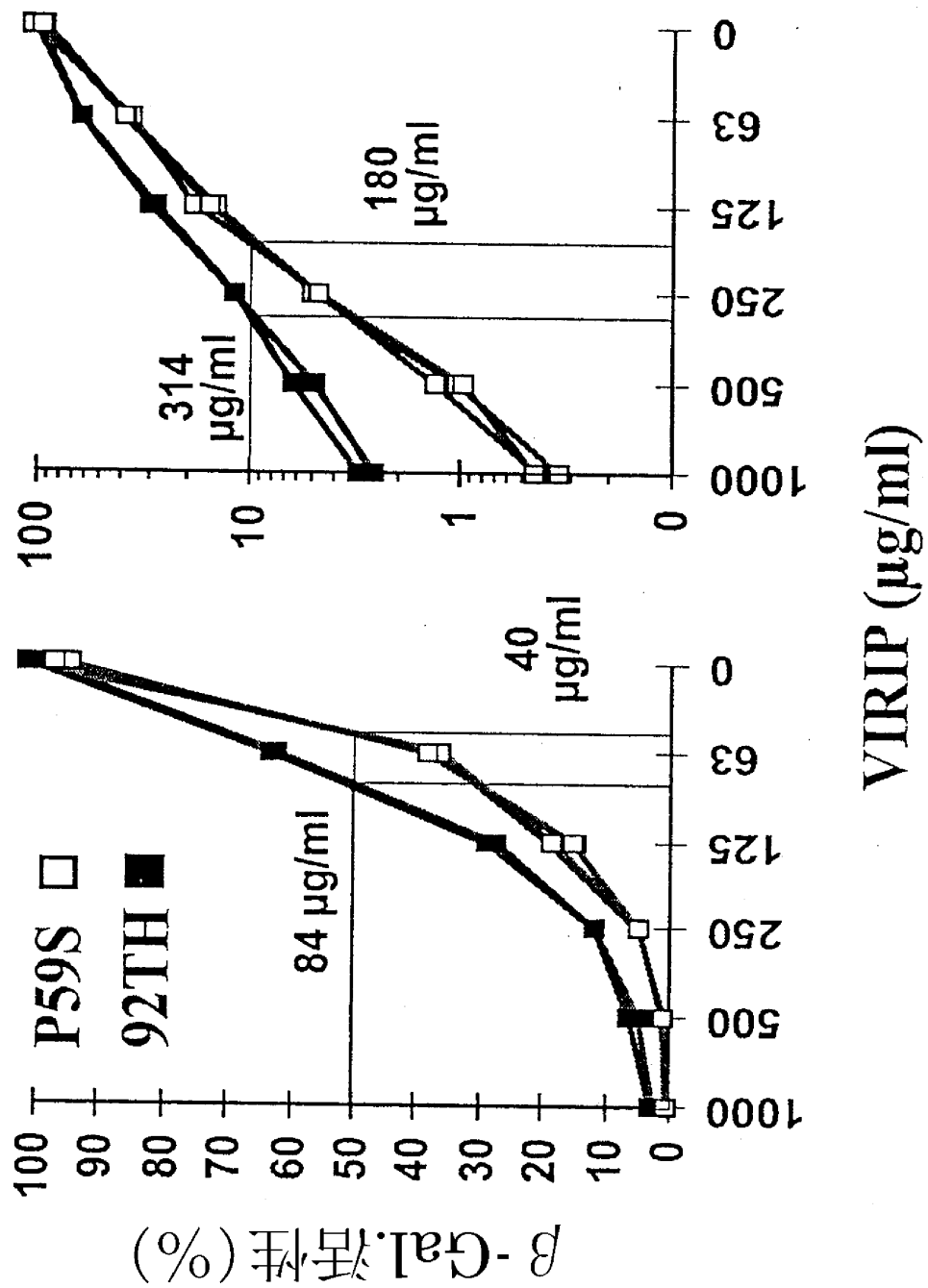


図4

【図5】

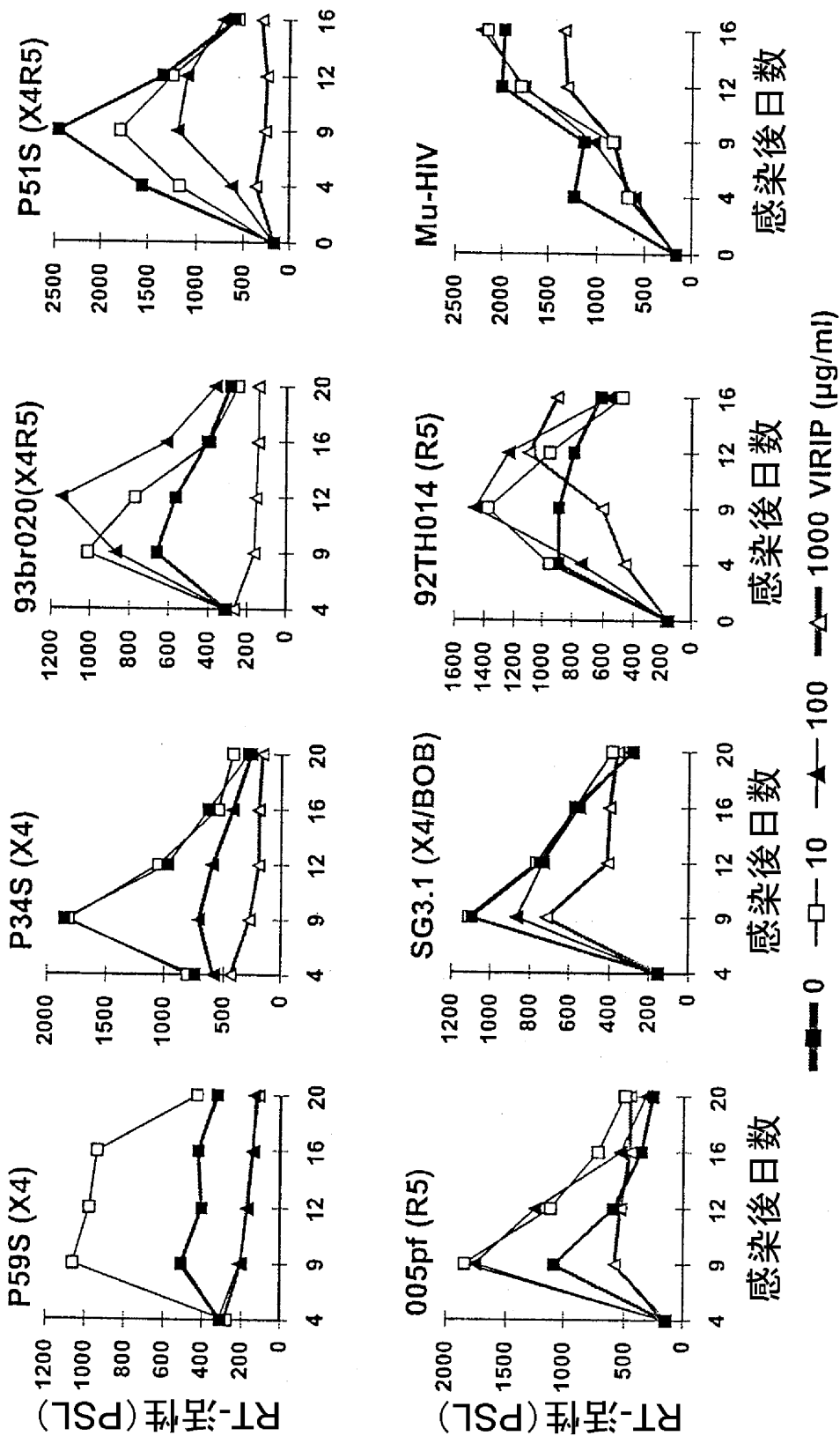


図5

【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12月18日(2001.12.18)

【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】 以下のアミノ酸配列：

【化1】

LEAIPMSIPPEVKFNKPFVF

を有するペプチド(VIRIP)及びそのフラグメント、並びに/又は変異体、並びに/又は誘導体、特にアミド化、アセチル化、硫酸塩化、ポリエチレングリコール(PEG)変性、リン酸化、及び/若しくはグリコシル化誘導体、並びにHIV-1及び/若しくはHIV-2に対する生物学的活性を有する、複数の合成から得られ得るペプチド。

【請求項2】 以下のアミノ酸配列

【化4】

Z₁-LEAIPMSIPPEVKFNKPFVF-Z₂ (VIRIP)

を有するペプチド、並びにそのフラグメント、並びに/又は変異体、並びに/又は誘導体、特にアミド化、アセチル化、硫酸塩化、ポリエチレングリコール(PEG)変性、リン酸化、及び/若しくはグリコシル化誘導体、並びにHIV-1及び/若しくはHIV-2に対する生物学的活性を有する、複数の合成から得られ得るペプチドを含む薬剤；

但し、Z₁及びZ₂は、独立に0~10個のアミノ酸残基の配列であり、Z₁又はZ₂がゼロ個のアミノ酸残基の場合、Z₁=H及び/又はZ₂=COOHである。

。

【請求項3】 配列中の単一又は複数のアミノ酸残基が、交換、削除若しくは付加され、又はVIRIPの単一のアミノ酸に化学変性が導入され、それによりVIRIPの生物学的活性が向上する、請求項1又は2に記載のVIRIPペプチド。

【請求項4】 請求項1に記載のペプチドをコードするポリヌクレオチド、及び/又はそのフラグメント、変異体、誘導體、及び類似体。

【請求項5】 DNA、RNA、ゲノムDNA又はPNAからなることを特徴とする請求項4に記載のポリヌクレオチド。

【請求項6】 請求項4に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項7】 請求項6に記載のベクターを含む遺伝子工学により作製されたホスト細胞。

【請求項8】 請求項4に記載のポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド。

【請求項9】 請求項1又は2に記載のペプチドに対する抗体。

【請求項10】 ウイルス感染し得る細胞内への取り込みを確保するアダプタータンパク質と結合した請求項1又は2に記載のペプチド。

【請求項11】 請求項1、2又は10に記載のペプチド及び適合性キャリアーからなる本草薬剤。

【請求項12】 カチオン交換抽出によるヘモ濾過物からの抽出、次いで吸着物質の溶出、ペプチドを含む抽出物の再度のカチオン交換クロマトグラフィー、及び分画逆相クロマトグラフィーによる請求項1に記載のペプチドの調製方法。

【請求項13】 メリフィールド合成型の固相合成、又は保護されたアミノ酸を用いる当業者に既知の方法による液相合成、及びその精製による請求項1又は2に記載のペプチドの調製方法。

【請求項14】 一般的な生物工学的ベクターを用いる当業者に既知の非相同発現法による請求項1に記載のペプチドの調製方法。

【請求項15】 請求項9に記載の抗体を含むか、又は請求項4、5又は8に記載のポリヌクレオチドを含む診断薬。

【請求項16】 組織、血漿、尿及び脳脊髄液レベルの前記物質を試験するため

の試験システムのための請求項15に記載の診断薬の使用。

【請求項17】 HIV-1又はHIV-2による感染のためのマーカーとしての、請求項15に記載の診断薬の使用。

【請求項18】 経口、静脈内、筋肉内、皮内、皮下、クモ膜下投与のための本草薬物型の活性成分として、及び肺内投与のためのエアロゾルとして、請求項1、2若しくは10に記載のペプチド、請求項4、5若しくは8に記載のポリヌクレオチド、又は請求項9に記載の抗体を含む薬剤。

【請求項19】 HIV-1又はHIV-2による感染の治療のための、請求項2又は18に記載の薬剤の使用。

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No PCT/EP 00/11020
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/11 C12N15/12 C07K7/08 C07K14/435 C12N15/62 C12N15/63 C07K16/40 C07K1/14 C07K1/04 A61K38/10 A61K31/7088 A61K39/395 A61P31/18	
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 C12N C07K A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, BIOSIS, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category ^a	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97 46100 A (UNIV CASE WESTERN RESERVE) 11 December 1997 (1997-12-11) SEQ ID NO: 31	1-8
A	---	10-19
X	WO 84 02918 A (TRANSGENE SA) 2 August 1984 (1984-08-02) page 36, line 6	3-8
X	-& DATABASE GENBANK 'Online! Accession No. A35541, 13 December 1996 (1996-12-13) "H. sapiens alpha-A11 partial cDNA clone" XP002164956 the whole document	3
A	US 5 420 110 A (MILLER EDWARD J) 30 May 1995 (1995-05-30) column 2, line 20,21 ---	1-8, 10-19
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
^a Special categories of cited documents:		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
E earlier document but published on or after the international filing date		*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 9 April 2001		Date of mailing of the international search report 18.05.01
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Herrmann, K

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 00/11020

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category ^c	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	SHAPIRO LELAND ET AL: "Alpha-1-antitrypsin inhibits human immunodeficiency virus type 1." FASEB JOURNAL, vol. 15, no. 1, January 2001 (2001-01), pages 115-122, XP002164955 ISSN: 0892-6638 the whole document -----	1-8, 10-19

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 00/11020

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)	
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:	
1. <input checked="" type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: See supplemental sheet FURTHER INFORMATION PCT/ISA/210
2. <input checked="" type="checkbox"/>	Claims Nos.: Claims nos: 9 and in part 18 because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically: See supplemental sheet FURTHER INFORMATION PCT/ISA/210
3. <input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)	
This international Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows: See next page	
1. <input type="checkbox"/>	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. <input type="checkbox"/>	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. <input type="checkbox"/>	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. <input type="checkbox"/>	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Remark on Protest	<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. <input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION PCT/ISA/210

Continuation of field I.1

Although the claims nos. 16, 17 and 19 relate to a diagnostic method carried out on the human/animal body, or relate to a method for the treatment of the human/animal body, a search was carried out and was based on the indicated effects of the compound/composition.

In the broadest sense, claim no. 6 also covers transgenic human beings (and is not restricted to 'non-human' host cell or 'in vitro'). This contravenes the ethics in certain PCT Member States e.g. Article 53(a) of the European Patent Agreement).

Continuation of field I.2

Claims nos: 9 and in part 18

Compounds as such are not sufficiently defined by the details of their effects. A search was not therefore carried out for the subject matter of claims 9 and in part 18 (antagonists/inhibitors), as an antagonist/inhibitor is neither disclosed nor supported by the description according to the terms of PCT Articles 5 and 6.

The applicant is therefore advised that patent claims, or sections of patent claims relating to inventions for which no international search report was drafted, cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). EPO policy, when acting as an International Preliminary Examining Authority, is normally not to carry out a preliminary examination of subject matter, for which no search has been conducted. This is also the case, irrespective of whether the claims are amended following receipt of the international search report (PCT Article 19) or during any PCT Chapter II procedure whereby the applicant submits new patent claims.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No
 PCT/EP 00/11020

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9746100 A	11-12-1997	US 5972901 A	26-10-1999
		AU 720223 B	25-05-2000
		AU 3304497 A	05-01-1998
		EP 1006797 A	14-06-2000
		JP 2000512140 T	19-09-2000
		US 6200801 B	13-03-2001
		US 6072041 A	06-06-2000
WO 8402918 A	02-08-1984	FR 2539758 A	27-07-1984
		FR 2549082 A	18-01-1985
		AT 55150 T	15-08-1990
		CA 1303530 A	16-06-1992
		DE 3482840 D	06-09-1990
		DK 450584 A	20-09-1984
		EP 0114777 A	01-08-1984
		JP 60500648 T	09-05-1985
US 5420110 A	30-05-1995	US 5668107 A	16-09-1997
		CA 2108689 A	19-10-1992
		EP 0616614 A	28-09-1994
		JP 6509327 T	20-10-1994
		WO 9218141 A	29-10-1992

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)	
A 6 1 P	7/00	A 6 1 P	17/02	4 C 0 8 5
	9/14		19/00	4 H 0 4 5
	17/02		25/00	
	19/00		29/00	
	25/00		31/04	
	29/00		31/10	
	31/04		31/12	
	31/10		31/16	
	31/12		31/18	
	31/16		31/22	
	31/18		35/00	
	31/22		37/00	
	35/00		43/00	
	37/00	C 0 7 K	7/08	
	43/00		16/18	
C 0 7 K	7/08	C 1 2 N	1/15	
	16/18		1/19	
C 1 2 N	1/15		1/21	
	1/19	C 1 2 P	21/02	A
	1/21			C
	5/10	C 1 2 Q	1/68	A
C 1 2 P	21/02	G 0 1 N	30/88	J
			30/96	D
C 1 2 Q	1/68		33/53	D
G 0 1 N	30/88			M
	30/96		33/566	
	33/53	C 1 2 N	15/00	Z N A A
			5/00	A
	33/566	A 6 1 K	37/02	

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

- (72)発明者 ミュンヒ ヤン
 ドイツ連邦共和国 91054 エルランゲン
 シュロツスガルテン 4
- (72)発明者 シュテントカー ルートガー
 ドイツ連邦共和国 30625 ハノーファー
 ドーマイヤース ヴェーク 25
- (72)発明者 フォルスマン ヴォルフ ゲオルク
 ドイツ連邦共和国 30625 ハノーファー
 フェオドール リーネン シュトラーセ
 31 イーペーエフ ファルマシューティ
 カルス ゲゼルシャフト ミット ベシュ
 レンクテル ハフツング
- (72)発明者 アーデルマン クヌート
 ドイツ連邦共和国 30625 ハノーファー
 フェオドール リーネン シュトラーセ
 31 イーペーエフ ファルマシューティ
 カルス ゲゼルシャフト ミット ベシュ
 レンクテル ハフツング

Fターム(参考) 4B024 AA14 BA44 BA80 CA01 GA11
HA12
4B063 QA06 QA07 QA19 QQ02 QQ42
QQ79 QQ96 QR32 QR48 QR55
QS33 QS34 QX01
4B064 AG01 AG27 CA19 CC24 CE11
CE12 DA01
4B065 AA93Y AB01 AC14 BA02
CA24 CA25 CA44 CA46
4C084 AA01 AA02 AA03 AA06 AA07
BA01 BA18 CA53 DC50 ZA012
ZA362 ZA512 ZA542 ZA892
ZA962 ZB072 ZB112 ZB262
ZB332 ZB352 ZC032 ZC552
4C085 AA13 AA14 BB11 DD61 DD88
4H045 AA10 AA11 BA10 BA17 CA40
DA76 EA29 EA53 FA30 FA74
GA23 GA25

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2003516729A5	公开(公告)日	2007-12-20
申请号	JP2001537351	申请日	2000-11-08
[标]申请(专利权)人(译)	弗兰克·基尔霍夫		
申请(专利权)人(译)	Ipeefu法呢制药扫描GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru有限公司 弗兰克·基尔霍夫		
当前申请(专利权)人(译)	Ipeefu法呢制药扫描GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru有限公司 弗兰克·基尔霍夫		
[标]发明人	キルヒホッフフランク ミュンヒヤン シュテントカールートガー フォルスマンヴォルフゲオルク アーデルマンクヌート		
发明人	キルヒホッフ フランク ミュンヒ ヤン シュテントカー ルートガー フォルスマン ヴォルフ ゲオルク アーデルマン クヌート		
IPC分类号	C12N15/09 A61K39/395 A61K45/00 A61P7/00 A61P9/14 A61P17/02 A61P19/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/16 A61P31/18 A61P31/22 A61P35/00 A61P37/00 A61P43/00 C07K7/08 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02 C12Q1/68 G01N30/88 G01N30/96 G01N33/53 G01N33/566 C12N5/10 A61K38/00		
CPC分类号	A61K38/00 C07K7/08 A61P17/02 A61P19/00 A61P25/00 A61P29/00		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K39/395.D A61K39/395.S A61K45/00 A61P7/00 A61P9/14 A61P17/02 A61P19/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/16 A61P31/18 A61P31/22 A61P35/00 A61P37/00 A61P43/00 C07K7/08 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.A C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N30/88.J G01N30/96.D G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	4B024/AA14 4B024/BA44 4B024/BA80 4B024/CA01 4B024/GA11 4B024/HA12 4B063/QA06 4B063/QA07 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QQ79 4B063/QQ96 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX01 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/CE11 4B064/CE12 4B064/DA01 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA18 4C084/CA53 4C084/DC50 4C084/ZA012 4C084/ZA362 4C084/ZA512 4C084/ZA542 4C084/ZA892 4C084/ZA962 4C084/ZB072 4C084/ZB112 4C084/ZB262 4C084/ZB332 4C084/ZB352 4C084/ZC032 4C084/ZC552 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/DD61 4C085/DD88 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/BA17 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA29 4H045/EA53 4H045/FA30 4H045/FA74 4H045/GA23 4H045/GA25		
优先权	19953732 1999-11-08 DE 10023665 2000-05-16 DE		
其他公开文献	JP4813720B2 JP2003516729A		
摘要(译)			

以下氨基酸序列：以及生物活性片段和/或其变体和/或衍生物，特别是酰胺化，乙酰化，硫酸化，聚乙二醇（PEG）修饰，磷酸化和/或糖基化衍生物，和具有VIRIP生物学活性的许多可合成获得的肽；前提是Z1和Z2独立为0至10个氨基酸残基和Z1的序列 或者，当Z2为零个氨基酸残基时，Z1= H和/或Z2= COOH。