明　細　書

発明の名称 ：

ペプチド、ペプチド複合体、医薬組成物、細胞培養用組成物、及び医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物

技術分野

[0001] 本発明は、ペプチド、ペプチド複合体、医薬組成物、細胞培養用組成物、及び医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物に関する。

背景技術

[0002] Ｔｈｒｏｍｂｏｐｏｉｅｔｉｎ（ＴＰＯ）は、主に肝臓や腎臓で作られるサイトカインであり、ＴＰＯ受容体（ＴＰＯＲ又はｃ－ＭＰＬ）を介したＴＰＯによるシグナル伝達は、巨核球形成や血小板産生の調整、造血幹細胞の維持や自己複製において、重要な役割を果たしている。このため、巨核球形成や血小板産生が関与する血液疾患の治療を目的として、ＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル伝達経路を活性化するＴＰＯ代替又はＴＰＯＲアゴニストの探索研究が行われている。

リコンビナントＴＰＯは、血小板減少症の治療に有効であることが証明されたが、ＴＰＯに対する中和抗体の産生による血小板減少症や汎血球減少等の副作用が報告された。近年、主に低分子化合物からなるＴＰＯＲアゴニストが血小板減少症の治療に有効であることが報告されている（非特許文献１、非特許文献２）。これらの中には、免疫性血小板減少症、C型肝炎に起因する血小板減少症、骨髄機能不全等の治療薬として承認されたものもあるが、血小板増加症、血栓症、骨髄細網線維化、血小板減少症の再発等の副作用も報告されている（非特許文献３）。

一方、ＴＰＯＲアゴニストを直接的に患者に投与する治療方法の他に、生体外でｉＰＳ細胞から効率的に巨核球及び血小板を分化誘導し、血小板を安定的に供給する治療方法が検討されている。この際、ＴＰＯ代替となる低分子化合物の使用が有効であることが報告されている（特許文献１）。

ＴＰＯは、ＴＰＯＲに結合すると、ＴＰＯＲを二量化し、細胞内にシグナルを伝達し、生理作用を発現することが報告されている（非特許文献４、非特許文献５）。近年、このようなＴＰＯＲの性質を利用した、ＴＰＯアゴニスト抗体が報告されている（非特許文献６、特許文献２、特許文献３）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：ＷＯ２０１３／０５１６２５号パンフレット

特許文献2：ＷＯ２００２／０３３０７２号パンフレット

特許文献3：特許第４７０８１９０号公報

非特許文献

[0004] 非特許文献1：Ｂｌｏｏｄ　２００６，　１０７，　４３００．

非特許文献2：Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ　Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ　２００５，　３３，　８５．

非特許文献3：Ｄｒｕｇ　２０２１，　８１，　１２８５．

非特許文献4：Ｓｃｉｅｎｃｅ　２０２０，　３６７，　６４３．

非特許文献5：ＥＭＢＯ　Ｊ．　２０１１，　３０，　４３９８．

非特許文献6：ＰＮＡＳ　２０２１，　１１８，　ｅ２０１７８４９１１８．

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明は、ＴＰＯ受容体結合能を有するペプチド、細胞内シグナル活性化能を有するペプチド複合体、又はＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能を有するペプチド複合体を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意検討を重ねた結果、特定のペプチドがＴＰＯ受容体結合能を有すること、特定のペプチドを含むペプチド複合体が細胞内シグナル活性化能を有すること、及び特定のペプチドを含むペプチド複合体がＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能を有することを知得し、

本発明を完成させた。

すなわち、本発明の態様は以下のとおりである。

[0007] ［１］

式Ａ１で示されるアミノ酸配列、又は式Ａ１で示されるアミノ酸配列において複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

Ａ１：Ｘ^{1}－Ｘ^{2}－Ｘ^{3}－ＭｅＧ－Ｘ^{4}－Ｘ^{5}－Ｘ^{6}－Ｘ^{7}－ｄｆ－Ｘ^{8}－Ｘ^{9}－Ｘ^{10}－Ｘ^{11}－Ｘ^{12}－ＭｅＣ

但し、

Ｘ^{1}は、任意のアミノ酸残基であり、

Ｘ^{2}は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{3}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{4}は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{5}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{6}は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{7}は、任意のＮ－アルキル化アミノ酸残基、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

Ｘ^{8}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{9}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基、又は置換されていてもよい４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

Ｘ^{10}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{11}は、任意のアミノ酸残基であり、

X^{12}は、任意のアミノ酸残基であり、

式Ａ１において、アミノ酸配列はＮ末端側からＣ末端側に記述されている。

［２］

式Ａ１において、

X^{1}は、Ｆ、Ａ、Ｑ、Ｅ、Ｆ４ＣＯＯ、Ｆ３Ｍｅ、Ｆ３Ｃ、Ｆ４Ｍｅ、Ｆ４Ｃ、Ｆ４ＯＭｅ、３Ｐｙ、Ｃｈａ、又はＦ４ａａｏであり、

X^{2}は、Ｗ、Ｗ７Ｎ、Ｗ１Ｍｅ７Ｎ、又はＷ１ａａであり、

X^{3}は、Ｖ、Ｒ、Ｃｉｔ、Ｔ、ａｌＴ、又はＳであり、

X^{4}は、Ｗ、Ｗ１Ｍｅ、又はＮａｌ１であり、

X^{5}は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴ、又はｄＭｅＳであり、

X^{6}は、Ｖ、Ｉ、ａｌｌ、Ｅｖａ、Ｔｂｇ、又はＧｃｐｅであり、

X^{7}は、ＭｅＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ＭｅＫＣＯｐｉｐｚａａ、ｄｐ、ＥｔＧ、又はＥｔＡであり、

X^{8}は、Ｒ、Ｑ、又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり、

X^{9}は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴ、Ｐ、Ｈｐｒ、Ｈｙｐ、又はＭｏｒであり、

X^{10}は、Ｉ、Ｖ、Ｇｔｈｐ、又はＧ４ｐｉｐａａであり、

X^{11}は、Ｓ、Ｅ、Ｉ、Ｆ、Ｗ、Ｙ、Ｒ、Ｃｉｔ、Ａｔｐ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、又はＨｇｌであり、

X^{12}は、Ｄ、Ｈ、Ｒ、Ｓ、Ｑ、ＳＭｅ、Ｃｉｔ、Ｅ、又はＨｇｌである、

［１］に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［３］

式Ａ２で示されるアミノ酸配列、又は式Ａ２で示されるアミノ酸配列において１番目、２番目、３番目、５番目、６番目、７番目、８番目、１０番目、１１番目、１２番目、１３番目及び１４番目のアミノ酸残基からなる群から選択される１～１２個のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列において少な

くとも１個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

Ａ２：Ｆ－Ｗ－Ｖ－ＭｅＧ－Ｗ－Ｖ－Ｖ－ＭｅＧ－ｄｆ－Ｒ－Ｖ－Ｉ－Ｓ－Ｄ－ＭｅＣ（配列番号１）

［４］

式Ａ１において、

X^1は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^2は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^3は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^4は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^5は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^6は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^7は、任意のＮ－アルキル化アミノ酸残基、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

X^8は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^9は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

X^{10}は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{11}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{12}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基である、

［１］に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［５］

式Ａ１において、

X^1は、Ｆ又はＦ４Ｍｅであり、

X^2は、Ｗ又はＷ７Ｎであり、

X^3は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴであり、

X^4は、Ｗ又はＮａｌ１であり、

X^5は、Ｖであり、

X^6は、Ｖ、Ｉ、ａｌｌ、又はＧｃｐｅであり、

X^7は、ＭｅＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ＭｅＫＣＯｐｉｐｚａａ、又はｄｐであり、

X^8は、Ｒであり、

X^9は、Ｖ又はＰであり、

X^{10}は、Ｉ又はＶであり、

X^{11}は、Ｓ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、又はＨｇｌであり、

X^{12}は、Ｄである、

［４］に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［６］

環状ペプチドである、［１］～［５］のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［７］

クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれる式Ａ１又は式Ａ２における１５番目のアミノ酸残基であるＭｅＣとが結合された環状構造を有する、［１］～［５］のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［８］

さらに、付加的なアミノ酸残基を含む、［１］～［５］のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［９］

ＴＰＯ受容体結合能を有する、［４］又は［５］に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［１０］

式Ｂ１で示されるアミノ酸配列、又は式Ｂ１で示されるアミノ酸配列において複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

Ｂ１：Y^{1}－Y^{2}－Y^{3}－ＭｅＧ－Y^{4}－Y^{5}－Y^{6}－Y^{7}－ｄｆ－Ｒ－Y^{8}－Y^{9}－Y^{10}－Ｄ－ＭｅＣ

但し、

Y^{1}は、任意のアミノ酸残基であり、

Y^{2}は、任意のアミノ酸残基であり、

Y^{3}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Y^{4}は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Y^{5}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Y^{6}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Y^{7}は、任意のＮ－アルキル化アミノ酸残基、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

Y^{8}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基

、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

Y^9は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Y^{10}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

式Ｂ１において、アミノ酸配列はＮ末端側からＣ末端側に記述されている。

［１１］

式Ｂ１において、

Y^1は、Ｆ、Ｆ４ａａｏ、Ｆ３ＣＯＯ、Ｆ３ａａｏ、４Ｐｙ、３Ｐｙ、又はＣｈａであり、

Y^2は、Ａｈｐ、Ｗ１Ｍｅ７Ｎ、Ｗ、又はＷ７Ｎであり、

Y^3は、Ｖ、Ｉ、ａｌｌ、Ｑ、Ｔ、ＴＭｅ、又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり、

Y^4は、Ｗ、Ｗ１Ｍｅ、Ｎａｌ１、又はＮａｌ２であり、

Y^5は、Ｖ、Ｔｂｇ、ＴＭｅ、ａｌＴＭｅ、ｄＭｅＳ、Ｇｔｈｐ、Ｇ４ｐｉｐａａ、又はＣｉｔであり、

Y^6は、Ｖ、Ａｈｐ、Ｎｌｅ、Ｉ、Ｌ、Ｔｂｇ、ＩＭｅ、Ｃｂｇ、Ｇｃｐｅ、Ｃｈｇ、又はａｌＴＭｅであり、

Y^7は、ＭｅＧ、ＥｔＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ｄｐ、ＭｅＱ、又はＭｅｄｑであり、

Y^8は、Ｖ、Ｐ、Ｈｐｒ、Ｔｉｃ、ＴＭｅ、又はａｌＴＭｅであり、

Y^9は、Ｉ、ａｌｌ、ａｌＴＭｅ、ｄＭｅＳ、Ｇｔｈｐ、又はＧ４ｐｉｐａａであり、

Y^{10}は、Ｓ又はＨｇｌである、

［１０］に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［１２］

式Ｂ２で示されるアミノ酸配列、又は式Ｂ２で示されるアミノ酸配列にお

いて１番目、２番目、３番目、５番目、６番目、７番目、８番目、１１番目、１２番目及び１３番目のアミノ酸残基からなる群から選択される１～１０個のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列において少なくとも１個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含む［１０］に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

Ｂ２：Ｆ－Ａｈｐ－Ｖ－ＭｅＧ－Ｗ－Ｖ－Ｖ－ＭｅＧ－ｄｆ－Ｒ－Ｖ－Ｉ－Ｓ－Ｄ－ＭｅＣ（配列番号９７）

［１３］

環状ペプチドである、［１０］～［１２］のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［１４］

クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれる式Ｂ１又は式Ｂ２における１５番目のアミノ酸残基であるＭｅＣとが結合された環状構造を有する、［１０］～［１２］のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［１５］

さらに、付加的なアミノ酸残基を含む、［１０］～［１２］のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［１６］

ＴＰＯ受容体結合能を有する、［１０］～［１２］のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［１７］

第１のペプチド及び第２のペプチドを含むペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物であって、

前記第１のペプチド及び前記第２のペプチドは、同一でも異なってもよく、［１］又は［１０］に記載のペプチドである、
ペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［１８］

前記ペプチド複合体は、前記第１のペプチドと、前記第２のペプチドと、前記第１のペプチド及び前記第２のペプチドを接続するリンカーとからなり、
前記第２のペプチドは、前記第１のペプチドと同一でも異なっていてもよく、
式Ａ１で示されるアミノ酸配列を有するか、又は、
式Ａ１で示されるアミノ酸配列において複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列からなる、
［１７］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［１９］

前記第１のペプチドと前記第２のペプチドの相同性が９０％以上１００％以下である、
［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［２０］

前記第１のペプチドと前記第２のペプチドが実質的に同じペプチドである、［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［２１］

前記第１のペプチドと前記第２のペプチドが、それぞれ環状ペプチドである、［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［２２］

前記第１のペプチドと前記第２のペプチドが、それぞれクロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記第１のペプチド又は前記第２のペプチドに含まれるＭｅＣとが結合された環状構造を有する、［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［２３］

さらに、前記第１のペプチドと前記第２のペプチドが付加的なアミノ酸残基を含む、［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［２４］

前記第１のペプチドのＣ末端と前記第２のペプチドのＣ末端とがリンカーを介して結合している、［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［２５］

前記リンカーがＰＥＧリンカー、又はＰＥＧとアミノ酸残基からなるリンカーである、［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［２６］

細胞内シグナル活性化能を有する、［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

［２７］

［１］～［５］及び［１０］～［１２］のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含む、医薬組成物。

［２８］

［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含む、医薬組成物。

［２９］

［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含み、細胞培養に用いられる細胞培養用組成物。

［３０］

［１８］に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含み、医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物。

［３１］

［１］～［５］及び［１０］～［１２］のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含み、医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物。

発明の効果

[0008] 本発明は、ＴＰＯ受容体結合能を有するペプチド、細胞内シグナル活性化能を有するペプチド複合体、又はＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能を有するペプチド複合体を提供する。

発明を実施するための形態

[0009] 以下では本発明のペプチド、ペプチド複合体、医薬組成物、細胞培養用組成物、及び医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物の実施形態について詳細に説明する。ただし、本発明は後述する実施形態に限定されるものではなく、本発明の要旨を逸脱しない限り種々の改変が可能である。

[0010] ［略語（一般）］

オングストローム（単位）としてＡ；

酢酸としてＡｃＯＨ；

ウシ血清アルブミンとしてＢＳＡ；

ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル基としてＢｏｃ；

クロロアセチルとしてＣｌＡｃ；

（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）２－クロロアセテートとしてＣ

ＩＡｃＯＳｕ（ＣＡＳ番号：２７２４３－１５－８）；

３，３’－オキシジプロパン酸としてｃＰＥＧ１ｃ（ＣＡＳ番号：５９６１－８３－１）；

カラムボリュームとしてＣＶ；

ジクロロメタン又は塩化メチレンとしてＤＣＭ；

Ｎ，Ｎ’－ジイソプロピルカルボジイミドとしてＤＩＰＣＩ又はＤＩＣ；

Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンとしてＤＩＰＥＡ又はＤＩＥＡ；

Ｎ，Ｎ－ジメチルアセトアミドとしてＤＭＡ

ジメトキシベンジル基としてＤｍｂ；

ダルベッコ改変イーグル培地としてＤＭＥＭ；

Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミドとしてＤＭＦ；

ジメチルスルホキシドとしてＤＭＳＯ；

３，６－ジオキサー１，８－オクタンジチオールとしてＤＯＤＴ；

５０％効果濃度としてＥＣ５０；

ウシ胎児血清としてＦＢＳ；

９－フルオレニルメチルオキシカルボニルとしてＦｍｏｃ；

N^2，N^6－ビス（（（９Ｈ－フルオレン－９－イル）メトキシ）カルボニル）－Ｌ－リシンとしてＦｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）－ＯＨ；

グラム（単位）としてｇ；

Ｏ－（７－アザベンゾトリアゾール－１－イル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロりん酸塩としてＨＡＴＵ；

高速液体クロマトグラフィーとしてＨＰＬＣ；

液体クロマトグラフィー質量分析計としてＬＣ－ＭＳもしくはＬＣ／ＭＳ；

モーラー（単位）としてＭ；

アセトニトリルとしてＭｅＣＮ；

ミリグラム（単位）としてｍｇ；

分（単位）としてｍｉｎ：

ミリリットル（単位）としてｍＬ；

ミリモーラー（単位）としてｍＭ；
ミリメートル（単位）としてｍｍ；
Ｏ－３－メチル－ペント－３－イル基としてＭｐｅ基
Ｎ－ヒドロキシコハク酸イミドとしてＮＨＳ；
ビス（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）３，３’－オキシジプロピオネートとしてＮＨＳ－ｃＰＥＧ１ｃ－ＮＨＳ（ＣＡＳ番号：６５８６９－６４－９）；
ナノメートル（単位）としてｎｍ；
マイクロリットル（単位）としてμＬ；
スクシンイミドとしてＯＳｕ；
２，２，４，６，７－ペンタメチルジヒドロベンゾフラン－５－スルホニル基としてＰｂｆ；
ポリエチレングリコールとしてＰＥＧ；
回転毎分（単位）としてｒｐｍ；
ジベンゾスベリル基としてＳｕｂ
ｔｅｒｔ－ブチル基としてｔＢｕ；
酢酸トリエチルアミンとしてＴＥＡＡ；
トリフルオロ酢酸としてＴＦＡ；
トリイソプロピルシランとしてＴＩＳ；
トリチル基としてＴｒｔまたはＴｒ；
［略語（非天然アミノ酸）］
３Ｐｙ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（ピリジン－３－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：６４０９０－９８－８）
４Ｐｙ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（ピリジン－４－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：３７５３５－４９－２）
Ａｈｐ　（Ｓ）－２－アミノヘプタン酸（ＣＡＳ番号：４４９０２－０２－５）
ａｌｌ　Ｌ－アロイソロイシン（ＣＡＳ番号：１５０９－３４－８）

ａｌＴ　Ｌ－アロスレオニン（ＣＡＳ番号：２８９５４－１２－３）

ａｌＴＭｅ　Ｏ－メチル－Ｌ－アロスレオニン（ＣＡＳ番号：１０４１９５－８０－４）

Ａｔｐ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１３４４９１０－９１－３）

Ｃｂｇ　（Ｓ）－２－アミノ－２－シクロブチル酢酸（ＣＡＳ番号：４９６０７－０８－１）

Ｃｈａ　（Ｓ）－２－アミノ－３－シクロヘキシルプロパン酸（ＣＡＳ番号：２７５２７－０５－５）

Ｃｈｇ　（Ｓ）－２－アミノ－２－シクロヘキシル酢酸（ＣＡＳ番号：１４３２８－５１－９）

Ｃｉｔ　（Ｓ）－２－アミノ－５－ウレイドペンタン酸（ＣＡＳ番号：３７２－７５－８）

ｄｅ　Ｄ－グルタミン酸（ＣＡＳ番号：６８９３－２６－１）

ｄｆ　Ｄ－フェニルアラニン（ＣＡＳ番号：６７３－０６－３）

ｄＭｅＳ　（Ｓ）－２－アミノ－３－ヒドロキシ－３－メチルブタン酸（ＣＡＳ番号：２２８０－２７－５）

ｄｐ　Ｄ－プロリン（ＣＡＳ番号：３４４－２５－２）

ＥｔＡ　エチル－Ｌ－アラニン（ＣＡＳ番号：６５２７８－０３－７）

ＥｔＧ　エチルグリシン（ＣＡＳ番号：６２７－０１－０）

Ｅｖａ　（Ｓ）－２－アミノ－３－エチルペンタン酸（ＣＡＳ番号：１４３２８－４９－５）

Ｆ３ａａｏ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（３－（カルボキシメトキシ）フェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：２９７３７５１－６２－９）

Ｆ３Ｃ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（３－クロロフェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：８０１２６－５１－８）

Ｆ３ＣＯＯ　（Ｓ）－３－（２－アミノ－２－カルボキシエチル）安息香酸（ＣＡＳ番号：１３８６１－０２－４）

Ｆ３Ｍｅ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（ｍ－トリル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１１４９２６－３７－３）

Ｆ４ａａｏ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－（カルボキシメトキシ）フェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：２４５５８－６３－２）

Ｆ４Ｃ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－クロロフェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１４１７３－３９－８）

Ｆ４ＣＯＯ　（Ｓ）－４－（２－アミノ－２－カルボキシエチル）安息香酸（ＣＡＳ番号：１２６１０９－４２－０）

Ｆ４Ｍｅ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（ｐ－トリル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１９９１－８７－３）

Ｆ４ＯＭｅ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－メトキシフェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：（６２３０－１１－１）

Ｇ４ｐｉｐａａ　（Ｓ）－２－アミノ－２－（１－（カルボキシメチル）ピペリジン－４－イル）酢酸（ＣＡＳ番号：Ｎ／Ａ）

Ｇｃｐｅ　（Ｓ）－２－アミノ－２－シクロペンチル酢酸（ＣＡＳ番号：２５２１－８４－８）

Ｇｔｈｐ　（Ｓ）－２－アミノ－２－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）酢酸（ＣＡＳ番号：８１１８４２－２５－８）

Ｈｇｌ　（Ｓ）－２－アミノアジピン酸（ＣＡＳ番号：１１１８－９０－７）

Ｈｐｒ　（Ｓ）－ピペリジン－２－カルボン酸（ＣＡＳ番号：３１０５－９５－１）

Ｈｙｐ　（２Ｓ，４Ｒ）－４－ヒドロキシピロリジン－２－カルボン酸（ＣＡＳ番号：５１－３５－４）

ＩＭｅ　（Ｓ）－２－アミノ－３，３－ジメチルペンタン酸（ＣＡＳ番号：１７３８３１－８４－０）

ＫＣＯｐｉｐｚａａ　Ｎ６－（４－（カルボキシメチル）ピペラジン－１－カルボニル）－Ｌ－リシン（ＣＡＳ番号：Ｎ／Ａ）

ＭｅＡ　メチル－Ｌ－アラニン（ＣＡＳ番号：３９１３－６７－５）

ＭｅＣ　メチル－Ｌ－システイン（ＣＡＳ番号：４０２６－４８－６）

Ｍｅｄａ　メチル－Ｄ－アラニン（ＣＡＳ番号：２９４７５－６４－７）

Ｍｅｄｑ　メチル－Ｄ－グルタミン（ＣＡＳ番号：８６２５０４－０１－６）

ＭｅＧ　メチルグリシン（ＣＡＳ番号：１０７－９７－１）

ＭｅＫＣＯｐｉｐｚａａ　Ｎ６－（４－（カルボキシメチル）ピペラジン－１－カルボニル）－Ｎ２－メチル－Ｌ－リシン（ＣＡＳ番号：Ｎ／Ａ）

ＭｅＱ　メチル－Ｌ－グルタミン（ＣＡＳ番号：３００５６０－５６－９）

Ｍｏｒ　（Ｓ）－モルホリン－３－カルボン酸（ＣＡＳ番号：１０６８２５－７９－０）

Ｎａｌ１　（Ｓ）－２－アミノ－３－（ナフタレン－１－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：５５５１６－５４－６）

Ｎａｌ２　（Ｓ）－２－アミノ－３－（ナフタレン－２－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：５８４３８－０３－２）

Ｎｌｅ　（Ｓ）－２－アミノヘキサン酸（ＣＡＳ番号：３２７－５７－１）

ＰＥＧ１０ｃ　１－アミノ－３，６，９，１２，１５，１８，２１，２４，２７，３０－デカオキサトリトリアコンタン－３３－オイック酸（ＣＡＳ番号：２１７０９８７－８５－４）

ＰＥＧ１２ｃ　１－アミノ－３，６，９，１２，１５，１８，２１，２４，２７，３０，３３，３６－ドデカオキサノナトリアコンタン－３９－オイック酸（ＣＡＳ番号：１４１５４０８－６９－３）

ＰＥＧ４ｃ　１－アミノ－３，６，９，１２－テトラオキサペンタデカン－１５－オイック酸（ＣＡＳ番号：６６３９２１－１５－１）

ＰＥＧ８ｃ　１－アミノ－３，６，９，１２，１５，１８，２１，２４－オクタオキサヘプタコサン－２７－オイック酸（ＣＡＳ番号：７５６５２６－０４－２）

ＳＭｅ　Ｏ－メチル－Ｌ－セリン（ＣＡＳ番号：３２６２０－１１－４）

Ｔｂｇ　（Ｓ）－２－アミノ－３，３－ジメチルブタン酸（ＣＡＳ番号：２０８５９－０２－３）

Ｔｉｃ　（Ｓ）－１，２，３，４－テトラヒドロイソキノリン－３－カルボン酸（ＣＡＳ番号：７４１６３－８１－８）

ＴＭｅ　Ｏ－メチル－Ｌ－スレオニン（ＣＡＳ番号：４１４４－２－９）

Ｗ１ａａ　１－（カルボキシメチル）－Ｌ－トリプトファン（ＣＡＳ番号：７７３８２３－５０－０）

Ｗ１Ｍｅ　１－メチル－Ｌ－トリプトファン（ＣＡＳ番号：２１３３９－５５－９）

Ｗ１Ｍｅ７Ｎ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（１－メチル－１Ｈ－ピロロ［２，３－ｂ］ピリジン－３－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１６３２９７１－１８－６　）

Ｗ７Ｎ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（１Ｈ－ピロロ［２，３－ｂ］ピリジン－３－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：４９７５８－３５－２）

[0011] ［ＴＰＯ］

Ｔｈｒｏｍｂｏｐｏｉｅｔｉｎ（ＴＰＯ）は、ｃ－ＭＰＬのリガンドであり、恒常的に肝臓等で作られ、血流により循環し、骨髄に運ばれ、巨核球形成等の初期の発達を刺激する。血液中のＴＰＯの濃度は、血小板や巨核球上のｃ－ＭＰＬの量により調節される。骨髄中でのＴＰＯ　ｍＲＮＡの欠損の調整を含めたＴＰＯ分子の数による調整に加えて、巨核球形成や血小板産生は、分子の切断型を生成するタンパク質分解のプロセスによるＴＰＯの活性を調整した結果として、調整される可能性がある（Ｓｔｅｍ　Ｃｅｌｌｓ　１９９８，　１６，　３２２．）。

一態様として、本発明のペプチド複合体は、好ましくは、細胞内シグナル活性化能を有し、さらに好ましくは、ＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能を有するため、天然に存在するＴＰＯの代替として使用できる。

[0012] ［ＴＰＯ受容体］

ＴＰＯ受容体は、ｃ－ＭＰＬとしても知られており、ｃ－ＭＰＬ遺伝子によ

りエンコードされた６３５アミノ酸タンパク質である。ＴＰＯ受容体は、細胞外サイトカイン結合領域、膜貫通領域、ヤヌスキナーゼ（ＪＡＫｓ）やシグナル伝達兼転写活性化因子（ＳＴＡＴｓ）を含むシグナル分子に結合する細胞質領域を含む、３つの機能的領域を有する。

[0013] ［ＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能］

ＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能とは、天然に存在するＴＰＯによってもたらされる効果に類似する効果をもたらす能力をいう。また、特異的にＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル伝達経路を活性化する能力をいう。

ＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能は、公知の方法で評価することができ、例えばＴＰＯ受容体への結合能とＴＰＯ受容体からシグナルを受け取る細胞内シグナル分子の活性化能により評価することができる。

[0014] ［ＴＰＯ受容体結合能］

ＴＰＯ受容体結合能とは、ＴＰＯ受容体に特異的に結合する能力を意味する。ＴＰＯ受容体への結合能は公知の方法で評価することができ、例えば、非限定的に、ＴＰＯ受容体のリコンビナントタンパク質を用いたＳＰＲ法やＥＬＩＳＡ法により評価することができる。いずれの評価系であっても、標準の手順に従い、最適条件において最適濃度のペプチド又はペプチド複合体を使用した場合にＴＰＯ受容体への結合を検出できるときに、ＴＰＯ受容体結合能（又はＴＰＯＲへの結合活性）を有するという。

[0015] ［細胞内シグナル活性化能］

細胞内シグナルの活性化能は、細胞内シグナル伝達分子であるＥＲＫやＡＫＴやＳＴＡＴ等のリン酸化や、さらにその下流のレポーター遺伝子の発現により評価することができる。非限定的に、例えば、AlphaLISA SureFire Ultra p-Erk1/2 (Thr202/Tyr204) Assay キット (PerkinElmer)、AlphaLISA SureFire Ultra phosho-STAT5 (Tyr694/699) kit(PerkinElmer)、HEK-Blue™ TPO Cells (InvivoGen)などを用いた評価があげられる。いずれの評価系であっても、標準の手順に従い、最適条件において最適濃度のペプチド又はペプチド複合体を使用した場合に細胞内シグナルの活性化を検出できるときに、細胞

内シグナル活性化能を有するという。

[0016] ［ＥＲＫ活性化］

ＥＲＫ活性化とは、細胞内シグナル活性化のひとつであり、細胞内シグナル伝達分子であるＥＲＫ（細胞外シグナル調節キナーゼ）をリン酸化する能力を意味する。ＥＲＫはＭＡＰＫシグナル伝達経路に含まれる因子で、細胞表面の受容体からのシグナルによりMEKを介してリン酸化され活性化される。例えば、本発明のペプチド複合体は、ＥＲＫをリン酸化する。

[0017] ［ＳＴＡＴ５依存的転写活性化］

ＳＴＡＴ５依存的転写活性化とは、細胞内シグナル活性化のひとつであり、細胞内シグナル伝達因子兼転写活性化因子であるＳＴＡＴ５（ｓｉｇｎａｌ ｔｒａｎｓｄｕｃｅｒ ａｎｄ ａｃｔｉｖａｔｏｒ ｏｆ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ）が標的遺伝子の転写を活性化する能力を意味する。ＳＴＡＴ５はＪＡＫ－ＳＴＡＴシグナル伝達経路に含まれる因子で、細胞表面の受容体からのシグナルによりＪＡＫを介して活性化された後、核内に移行し転写活性化因子として機能する。例えば、本発明のペプチド複合体は、ＳＴＡＴ５依存的なレポーター遺伝子の転写を活性化する。

[0018] ［ＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル伝達経路］

シグナル伝達経路は、一般的にタンパク質－タンパク質相互作用、例えば受容体への成長因子の結合によって開始され、細胞のある部分から細胞の別の部分へのシグナルの伝達をもたらす生化学的因果関係をいう。ＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル伝達経路は、上記成長因子がＴＰＯである場合に生じる生化学的因果関係をいう。

ＴＰＯ受容体は、ｃ－ＭＰＬとしても知られており、ｃ－ＭＰＬは１型サイトカイン受容体ファミリーに属し、エリスロポエチン（ＥＰＯ）や顆粒球コロニー刺激因子（ＧＣＳＦ）受容体のように、ＴＰＯの結合により、ホモ二量体受容体の構造変化が起こる。続いて、ｃ－ＭＰＬの細胞内領域や様々な２次的シグナル分子のリン酸化が起こる。

ＴＰＯにより活性化されるシグナル分子として、ヤヌスキナーゼ（Ｊａｋｓ

）やシグナル伝達兼転写活性化因子（ＳＴＡＴｓ）、ホスファチジルイノシトール－３－キナーゼ（ＰＩ３Ｋ）／Ａｋｔ、Ｒａｓ／分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ（ＭＡＰＫ）があげられる。これらのシグナル伝達経路の活性化は、造血幹細胞からの巨核球形成や血小板新生の誘導をもたらす。

[0019] ［保存的アミノ酸置換］

本発明のペプチド及びペプチド複合体においては、特定のアミノ酸配列から、１個、２個又は３個のアミノ酸残基が置換、欠失、付加又は挿入される場合、保存的アミノ酸置換がなされることが好ましい

[0020] 「保存的アミノ酸置換（ｃｏｎｓｅｒｖａｔｉｖｅ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄ ｓｕｂｓｔｉｔｕｔｉｏｎ）」とは、機能的に等価又は類似のアミノ酸との置換を意味する。

[0021] ペプチドにおける保存的アミノ酸置換は、当該ペプチドのアミノ酸配列に静的変化をもたらす。例えば、同様の極性を有する一つ又は二つ以上のアミノ酸は機能的に等価に作用し、かかるペプチドのアミノ酸配列に静的変化をもたらす。一般に、あるグループ内の置換は構造および機能について保存的であると考えることができる。

[0022] しかしながら、当業者には自明であるように、特定のアミノ酸残基が果たす役割は当該アミノ酸を含む分子の三次元構造における意味合いにおいて決定され得る。

[0023] システイン残基は、還元型の（チオール）フォームと比較してより極性の低い、酸化型の（ジスルフィド）フォームをとることができる。

[0024] アルギニン側鎖の長い脂肪族の部分は構造的および機能的に重要な特徴を構成し得る。

[0025] また、芳香環を含む側鎖（トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン）はイオン－芳香族相互作用又は陽イオン－ｐｉ相互作用に寄与し得る。かかる場合において、これらの側鎖を有するアミノ酸を、酸性又は非極性グループに属するアミノ酸と置換しても、構造的および機能的には保存的であり得る。

[0026] プロリン、グリシン、システイン（ジスルフィド・フォーム）等の残基は主鎖の立体構造に直接的な効果を与える可能性があり、しばしば構造的ゆがみなしに置換することはできない。

[0027] 保存的アミノ酸置換は、以下に示すとおり、側鎖の類似性に基づく特異的置換（レーニンジャ，生化学，改訂第２版，１９７５年刊行，７３乃至７５頁：Ｌ．Ｌｅｈｎｉｎｇｅｒ，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，２ｎｄ ｅｄｉｔｉｏｎ，ｐｐ７３～７５，Ｗｏｒｔｈ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９７５））および典型的置換を含む。

[0028] また、保存的アミノ酸置換は、例えば、以下のように天然のアミノ酸をその共通する側鎖の性質に基づいて分けたグループにおいて、あるアミノ酸が属するグループと同じグループに属するアミノ酸への置換が好ましい。

[0029] 疎水性（非極性ともいう）アミノ酸：疎水性（非極性）を示すアミノ酸であり、例えばＬ－アラニン（Ａ）、グリシン（Ｇ）、Ｌ－バリン（Ｖ）、Ｌ－ロイシン（Ｌ）、Ｌ－イソロイシン（Ｉ）、Ｌ－プロリン（Ｐ）、Ｌ－フェニルアラニン（Ｆ）、Ｌ－トリプトファン（Ｗ）、Ｌ－チロシン（Ｙ）、Ｌ－メチオニン（Ｍ）を含む。

なお、疎水性アミノ酸はさらに以下のグループに分けることもできる。

[0030] 脂肪族アミノ酸：側鎖に脂肪族炭化水素基又は水素原子を有するアミノ酸であり、例えばＬ－アラニン（Ａ又はＡｌａ）、グリシン（Ｇ又はＧｌｙ）、Ｌ－バリン（Ｖ又はＶａｌ）、Ｌ－イソロイシン（Ｉ又はＩｌｅ）、及びＬ－ロイシン（Ｌ又はＬｅｕ）を含む。

[0031] 脂肪族・分岐鎖アミノ酸：側鎖に分岐型脂肪酸を有するアミノ酸であり、例えばＬ－バリン（Ｖ）、Ｌ－イソロイシン（Ｉ）、及びＬ－ロイシン（Ｌ）を含む。

[0032] 芳香族アミノ酸：側鎖に芳香環を有するアミノ酸であり、例えばＬ－トリプトファン（Ｗ）、Ｌ－チロシン（Ｙ）、及びＬ－フェニルアラニン（Ｆ）を含む。

[0033] 親水性（極性ともいう）アミノ酸：親水性（極性）を示すアミノ酸であり

、例えばＬ－セリン（Ｓ）、Ｌ－スレオニン（Ｔ）、Ｌ－システイン（Ｃ）、Ｌ－アスパラギン（Ｎ）、Ｌ－グルタミン（Ｑ）、Ｌ－アスパラギン酸（Ｄ）、Ｌ－グルタミン酸（Ｅ）、Ｌ－リシン（Ｋ）、Ｌ－アルギニン（Ｒ）、Ｌ－ヒスチジン（Ｈ）を含む。

[0034] なお、親水性アミノ酸はさらに以下のグループに分けることもできる。

[0035] 酸性アミノ酸：側鎖が酸性を示すアミノ酸であり、例えばＬ－アスパラギン酸（Ｄ）及びＬ－グルタミン酸（Ｅ）を含む。

[0036] 塩基性アミノ酸：側鎖が塩基性を示すアミノ酸であり、例えばＬ－リシン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）、及びＬ－ヒスチジン（Ｈ）を含む。

[0037] 中性アミノ酸：側鎖が中性を示すアミノ酸であり、例えばＬ－セリン（Ｓ）、Ｌ－スレオニン（Ｔ）、Ｌ－アスパラギン（Ｎ）、Ｌ－グルタミン（Ｑ）、及びＬ－システイン（Ｃ）を含む。

[0038] グリシン（Ｇ）及びＬ－プロリン（Ｐ）は、「主鎖の方角に影響を与えるアミノ酸」に分けることもできる。

[0039] 側鎖に硫黄分子を含むＬ－システイン（Ｃ）及びＬ－メチオニン（Ｍ）は、「含硫アミノ酸」に分けることもできる。

[0040] 本明細書において、「アミノ酸」は、天然のアミノ酸のみならず、非天然のアミノ酸も含む。非天然のアミノ酸には、例えば、上記記載した天然のアミノ酸がＮ－アルキル化されたＮ－アルキルアミノ酸、ペプチド結合を形成する窒素が分岐した若しくは分岐しない低級（例えば、C_1－C_5の、好ましくは、C_1－C_3、より好ましくはC_1）のアルキル基で修飾されたもの、が含まれる。Ｎ－アルキルアミノ酸においては、好ましくはＮ－エチルアミノ酸、Ｎ－ブチルアミノ酸又はＮ－メチルアミノ酸であり、さらに好ましくはＮ－メチルアミノ酸である。

[0041] また、非天然のアミノ酸には、Ｄ型アミノ酸（Ｄ－アミノ酸とも記する）、β－アミノ酸、γ－アミノ酸、アミノ酸変異体、アミノ酸誘導体等の化学修飾されたアミノ酸、ノルロイシンやオルニチン等の生体内でタンパク質の構成材料とならないアミノ酸などが含まれる。

[0042] さらに、天然のアミノ酸の側鎖に官能基がさらに付加された又は別の官能基に置換されたアミノ酸（例えば、側鎖のアリーレン基、アルキレン基等の部分に置換や付加を有するアミノ酸、側鎖のアリーレン基、アルキレン基やアルキル基のＣ数が増加したアミノ酸、側鎖の芳香環に置換を有するアミノ酸や、複素環化や縮合環化したアミノ酸など）が含まれる。

[0043] なお、天然のアミノ酸の側鎖に官能基等の構造が付加又は置換等されることで、天然のアミノ酸とは異なる性質を付与することができる。例えば、（Ｓ）－２－アミノ－３－（ピリジン－４－イル）プロパン酸（４Ｐｙ）は側鎖にピリジル基（ピリジン環）が付加されたアラニンであるが、ピリジル基が付加されたことで、非極性アミノ酸グループに属するアラニンとは異なり、塩基性という極性を示す。

[0044] すなわち、天然のアミノ酸をその共通する側鎖の性質に基づいて分けた、前述のグループに、同様の側鎖の性質を有する非天然アミノ酸を含めることが出来る。例えば、塩基性アミノ酸に属するアルギニンのＮ－メチル化アミノ酸であるメチル－Ｌ－アルギニン（ＭｅＲ）は、非天然アミノ酸であるが、塩基性を示すため、塩基性アミノ酸に分類することができる。このように、あるアミノ酸と同様の側鎖の性質を示す非天然アミノ酸についても、保存的アミノ酸置換の対象として含むことができる。

[0045] 非限定的に、非天然のアミノ酸には、Ｎ－メチルアミノ酸、（Ｓ）－２－アミノ－３－（ピリジン－４－イル）プロパン酸（４Ｐｙ）、アロースレオニン（ａｌＴ）、Ｌ－シトルリン（Ｃｉｔ）、Ｏ－メチル－Ｌ－セリン（ＳＭｅ）、（２Ｓ）－２－アミノ－３－（オキサン－４－イル）プロパン酸（Ａｔｐ）、Ｌ－２－アミノアジピン酸（Ｈｇｌ）、（Ｓ）－２－アミノ－３－（ナフタレン－１－イル）プロパン酸（Ｎａｌ１）、（Ｓ）－２－アミノ－３－（１Ｈ－ピロロ［２，３－ｃ］ピリジン－３－イル）プロパン酸（Ｗ６Ｎ）、及び（Ｓ）－２－アミノ－３－（１Ｈ－ピロロ［２，３－ｂ］ピリジン－３－イル）プロパン酸（Ｗ７Ｎ）等を含む。なお、Ｎ－メチルアミノ酸については、Ｎ－アルキルアミノ酸として分類することもでき、Ｎ－メチ

ル化されていない元のアミノ酸の側鎖の性質に従い分類することもできる。

[0046] ［ペプチド及びその薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物］

薬学的に許容される塩の例は、無機酸塩、有機酸塩、無機塩基塩、有機塩基塩、酸性及び塩基性アミノ酸塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0047] 無機酸塩の例は、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、及びリン酸塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0048] 有機酸塩の例は、酢酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、ステアリン酸塩、安息香酸塩、メタンスルホン酸塩、及びｐ－トルエンスルホン酸塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0049] 前記無機塩基塩の例は、ナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、及びマグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、及びアンモニウム塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0050] 前記有機塩基塩の例は、ジエチルアミン塩、ジエタノールアミン塩、メグルミン塩、及びＮ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0051] 前記酸性アミノ酸塩の例は、アスパラギン酸塩、及びグルタミン酸塩である。塩基性アミノ酸塩の例は、アルギニン塩、リジン塩、及びオルニチン塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0052] 薬学的に許容されるエステルの例は、酢酸エスエル及び硫酸エステルである。ただしこれらに限定されるものではない。

[0053] 薬学的に許容される溶媒和物の例は、水和物である。ただしこれに限定されるものではない。

[0054] ［ペプチド］

本発明のペプチドは、薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物であってもよい。溶媒和物の例は、水和物である。

〈第一の実施形態〉

本発明のペプチドの第一の実施形態は、式Ａ１で示されるアミノ酸配列、又は式Ａ１で示されるアミノ酸配列において複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチドである。なお、式Ａ１において、アミノ酸配列はＮ末端側からＣ末端側に記述されている。複数個の例は、１個、２個、又は３個である。アミノ酸残基が置換される場合、４番目のＭｅＧ、９番目のｄｆ、及び１５番目のＭｅＣ以外のアミノ酸残基が置換されるものが好ましい。このペプチドは、例えば、ホモダイマーであるペプチド複合体が、細胞内シグナル活性化能を示すものが好ましい。

[0055] Ａ１：X^{1}－X^{2}－X^{3}－ＭｅＧ－X^{4}－X^{5}－X^{6}－X^{7}－ｄｆ－X^{8}－X^{9}－X^{10}－X^{11}－X^{12}－ＭｅＣ

[0056] 但し、

X^{1}は、任意のアミノ酸残基であり、

X^{2}は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{3}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{4}は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{5}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{6}は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{7}は、任意のN-アルキル化アミノ酸残基、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

X^{8}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{9}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基、又は置換されていてもよい４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

X^{10}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{11}は、任意のアミノ酸残基であり、

X^{12}は、任意のアミノ酸残基である。

[0057] X^{1}は、Ｆ、Ａ、Ｑ、Ｅ、Ｆ４ＣＯＯ、Ｆ３Ｍｅ、Ｆ３Ｃ、Ｆ４Ｍｅ、Ｆ４Ｃ、Ｆ４ＯＭｅ、３Ｐｙ、Ｃｈａ、又はＦ４ａａｏであることが好ましい。

X^{2}は、Ｗ、Ｗ７Ｎ、Ｗ１Ｍｅ７Ｎ、又はＷ１ａａであることが好ましい。

X^{3}は、Ｖ、Ｒ、Ｃｉｔ、Ｔ、ａｌＴ、又はＳであることが好ましい。

X^{4}は、Ｗ、Ｗ１Ｍｅ、又はＮａｌ１であることが好ましい。

X^{5}は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴ、又はｄＭｅＳであることが好ましい。

X^{6}は、Ｖ、Ｉ、ａｌｌ、Ｅｖａ、Ｔｂｇ、又はＧｃｐｅであることが好ましい。

X^{7}は、ＭｅＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ＭｅＫＣＯｐｉｐｚａａ、ｄｐ、ＥｔＧ、又はＥｔＡであることが好ましい。

X^{8}は、Ｒ、Ｑ、又はＫＣＯｐｉｐｚａａであることが好ましい。

X^{9}は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴ、Ｐ、Ｈｐｒ、Ｈｙｐ、又はＭｏｒであることが好ましい。

X^{10}は、Ｉ、Ｖ、Ｇｔｈｐ、又はＧ４ｐｉｐａａであることが好ましい。

X^{11}は、Ｓ、Ｅ、Ｉ、Ｆ、Ｗ、Ｙ、Ｒ、Ｃｉｔ、Ａｔｐ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、又はＨｇｌであることが好ましい。

X^{12}は、Ｄ、Ｈ、Ｒ、Ｓ、Ｑ、ＳＭｅ、Ｃｉｔ、Ｅ、又はＨｇｌであることが好ましい。

[0058] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、式Ａ２で示されるアミノ酸配列、又は式Ａ２で示されるアミノ酸配列において１番目、２番目、３番目、５番目、６番目、７番目、８番目、１０番目、１１番目、１２番目、１３番目及び１４番目のアミノ酸残基からなる群から選択される１～１２個のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列において少なくとも１個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチドであることが

好ましい。なお、式Ａ２において、アミノ酸配列はＮ末端側からＣ末端側に記述されている。少なくとも１個の例は、１個、２個、又は３個である。アミノ酸残基が置換される場合、４番目のＭｅＧ、９番目のｄｆ、及び１５番目のＭｅＣ以外のアミノ酸残基が置換されるものが好ましい。

[0059] Ａ２：Ｆ－Ｗ－Ｖ－ＭｅＧ－Ｗ－Ｖ－Ｖ－ＭｅＧ－ｄｆ－Ｒ－Ｖ－Ｉ－Ｓ－Ｄ－ＭｅＣ（配列番号１）

[0060] 式Ａ１で示されるアミノ酸配列、又は式Ａ１で示されるアミノ酸配列において複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチドにおいて、好ましいアミノ酸残基は、以下のものである。このペプチドは、例えば、ＴＰＯ受容体結合活性を有するものが好ましい。また、このペプチドは、例えば、ホモダイマーであるペプチド複合体が、細胞内シグナル活性化能を示すものが好ましい。

[0061] X^1は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であることが好ましい。

X^2は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であることが好ましい。

X^3は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であることが好ましい。

X^4は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であることが好ましい。

X^5は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であることが好ましい。

X^6は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であることが好ましい。

X^7は、任意のN-アルキル化アミノ酸残基、又は4-6員の環状の2級アミノ酸残基であることが好ましい。

X^8は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であることが好ましい。

X^9は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基、又は4-6員の環状の2級アミノ酸残基であることが好ましい。

X^{10}は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であることが好ましい。

X^{11}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であることが好ましい。

X^{12}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であることが好ましい。

[0062] X^1は、Ｆ又はＦ４Ｍｅであることが好ましい。

X^2は、W又はＷ７Ｎであることが好ましい。

X^3は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴであることが好ましい。

X^4は、W又はＮａｌ１であることが好ましい。

X^5は、Ｖであることが好ましい。

X^6は、Ｖ、Ｉ、ａｌｌ、又はＧｃｐｅであることが好ましい。

X^7は、ＭｅＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ＭｅＫＣＯｐｉｐｚａａ、又はｄｐであることが好ましい。

X^8は、Ｒであることが好ましい。

X^9は、Ｖ又はＰであることが好ましい。

X^{10}は、Ｉ又はＶであることが好ましい。

X^{11}は、Ｓ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、又はＨｇｌであることが好ましい。

X^{12}は、Ｄであることが好ましい。

[0063] 上記したいずれかのペプチドは、環状ペプチドであることが好ましい。

[0064] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、環状ペプチドである場合は、クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれる式Ａ１又は式Ａ２における１５番目のアミノ酸残基であるＭｅＣとが結合された環状構造を有することが好ましい。クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基は、Ｎ末端のアミノ酸残基であることが好ましい。環状構造を有するペプチドは、クロロアセチル基が取り除かれたものが好

ましい。

[0065] 環状ペプチドとは、ペプチド中の２つのアミノ酸が結合し、その全部又は一部が環状になっているものをいう。なお、本明細書においては、ペプチド中のアミノ酸が架橋構造を形成したもの、ラクタム環形成又はマクロ環化反応により環状構造を形成したものや、ラッソペプチド状構造を有するもの等をも包含される。すなわち、本明細書において環状ペプチドは、その一部が環状構造を形成するものであればよく、直鎖部を有していてもよい。

[0066] 本実施形態のペプチドの環化のためにアミノ酸の一部を改変する場合がある。本実施形態のペプチドは、そのような一部の改変がなされたアミノ酸を含むペプチドも包含する。環化のための改変の例として、Ｎ末端に位置するアミノ酸にクロロアセチル基を付加し、ペプチド中のシステイン残基と結合し環化するような場合がある。クロロアセチル基が付加された各種（天然／非天然）アミノ酸を含むペプチドも本明細書におけるペプチドに包含される。

[0067] ペプチドは、一般的に生体内において代謝安定性が悪く、またサイズが大きいので細胞膜を透過しづらいという問題がある。そのような課題に対し、ペプチドを環化させるという方法がとられてきた。ペプチドを環化すると、プロテアーゼ耐性が向上し代謝安定性が向上し、またコンフォメーション変化にも制限が加わるため、剛直性が増して膜透過性や標的タンパク質との親和性が向上することが示唆されてきた。

[0068] ペプチドの環化については、公知の方法に従って行うことができる。これに限られるものではないが、例えば、ペプチドに２個以上のシステイン残基を含むよう設計することで、翻訳された後、ジスルフィド結合により環状構造を形成できる。また、Ｇｏｔｏらの方法（Ｇｏｔｏ，Ｙ．他、ＡＣＳ　Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．、２００８年、第３巻、ｐ．１２０－１２９）に従い、遺伝暗号のリプログラミング技術により、Ｎ末端にクロロアセチル基を有するペプチドを合成し、ペプチド中にシステイン残基を配置しておくことによっても環化できる。これにより、翻訳後に自発的にメルカプト基がクロロア

セチル基に求核攻撃し、ペプチドがチオエーテル結合により環化する。遺伝暗号のリプログラミング技術により、結合して環状構造を形成するその他のアミノ酸の組合せをペプチド内に配置して環化してもよい。あるいは、Ｎ末端にシクロアミドを有するペプチドを合成し、ペプチド中にＬ－２－アミノアジピン酸残基を配置し、それらの間で結合することによって、環化してもよい。このように、公知の環化方法であれば、特に制限されず用いることができる。

[0069] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、さらに、付加的なアミノ酸残基を含むことが好ましい。この場合の付加的なアミノ酸残基は特に限定されない。

[0070] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、付加的なアミノ酸残基は、環状構造を成すペプチドに含まれてもよいし、当該環状ペプチドからさらにアミノ酸残基がリンカー状に付加されていてもよい。ペプチド、ペプチド部位のアミド結合の数（アミノ酸の数・長さ）は特に限定されないが、総アミノ酸残基（環状構造を成すペプチドに含まれるアミノ酸残基数をいい、当該環状ペプチドからさらにアミノ酸残基がリンカー状に付加されている場合は、それらのアミノ酸は含めない）が、２０残基以内であることが好ましい。好ましいペプチド長は、アミノ酸残基が６以上、７以上、８以上、９以上、１０以上、１１以上であり、好ましくはアミノ酸残基が１９以下、１８以下、である。更に好ましいペプチド長は、アミノ酸残基が１３以上１６以下であり、最も好ましくはアミノ酸残基が１４又は１５である。

[0071] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、ＴＰＯ受容体結合能を有することが好ましい。

[0072] 〈第二の実施形態〉

本発明のペプチドの第二の実施形態は、式Ｂ１で示されるアミノ酸配列、又は式Ｂ１で示されるアミノ酸配列において複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチドである。なお、式Ｂ１において、アミノ酸配列はＮ末端側からＣ末端側に記述されている。

複数個の例は、１個、２個、又は３個である。アミノ酸残基が置換される場合、４番目のＭｅＧ、９番目のｄｆ、及び１５番目のＭｅＣ以外のアミノ酸残基が置換されるものが好ましい。

[0073] Ｂ１：Y^1－Y^2－Y^3－ＭｅＧ－Y^4－Y^5－Y^6－Y^7－ｄｆ－Ｒ－Y^8－Y^9－Y^{10}－Ｄ－ＭｅＣ

[0074] 但し、

Y^1は、任意のアミノ酸残基であり、

Y^2は、任意のアミノ酸残基であり、

Y^3は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Y^4は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Y^5は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Y^6は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Y^7は、任意のN-アルキル化アミノ酸残基、又は4-6員の環状の2級アミノ酸残基であり、

Y^8は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基、又は4-6員の環状の2級アミノ酸残基であり、

Y^9は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Y^{10}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基である。

[0075] Y^1は、Ｆ、Ｆ４ａａｏ、Ｆ３ＣＯＯ、Ｆ３ａａｏ、４Ｐｙ、３Ｐｙ、又はＣｈａであることが好ましい。

Y^2は、Ａｈｐ、Ｗ１Ｍｅ７Ｎ、Ｗ、又はＷ７Ｎであることが好ましい。

Y^3は、Ｖ、Ｉ、ａｌｌ、Ｑ、Ｔ、ＴＭｅ、又はＫＣＯｐｉｐｚａａである

ことが好ましい。

Y^4は、W、Ｗ１Ｍｅ、Ｎａｌ１、又はＮａｌ２であることが好ましい。

Y^5は、Ｖ、Ｔｂｇ、ＴＭｅ、ａｌＴＭｅ、ｄＭｅＳ、Ｇｔｈｐ、Ｇ４ｐｉｐａａ、又はＣｉｔであることが好ましい。

Y^6は、Ｖ、Ａｈｐ、Ｎｌｅ、ｌ、Ｌ、Ｔｂｇ、ｌＭｅ、Ｃｂｇ、Ｇｃｐｅ、Ｃｈｇ、又はａｌＴＭｅであることが好ましい。

Y^7は、ＭｅＧ、ＥｔＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ｄｐ、ＭｅＱ、又はＭｅｄｑであることが好ましい。

Y^8は、Ｖ、Ｐ、Ｈｐｒ、Ｔｉｃ、ＴＭｅ、又はａｌＴＭｅであることが好ましい。

Y^9は、ｌ、ａｌｌ、ａｌＴＭｅ、ｄＭｅＳ、Ｇｔｈｐ、又はＧ４ｐｉｐａであることが好ましい。

Y^{10}は、Ｓ又はＨｇｌであることが好ましい。

[0076] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、式Ｂ２で示されるアミノ酸配列、又は式Ｂ２で示されるアミノ酸配列において１番目、２番目、３番目、５番目、６番目、７番目、８番目、１１番目、１２番目及び１３番目のアミノ酸残基からなる群から選択される１～１０個のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列において少なくとも１個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列を含む、ペプチドであることが好ましい。なお、式Ｂ２において、アミノ酸配列はＮ末端側からＣ末端側に記述されている。少なくとも１個の例は、１個、２個、又は３個である。アミノ酸残基が置換される場合、４番目のＭｅＧ、９番目のｄｆ、及び１５番目のＭｅＣ以外のアミノ酸残基が置換されるものが好ましい。

[0077] Ｂ２：Ｆ－Ａｈｐ－Ｖ－ＭｅＧ－Ｗ－Ｖ－Ｖ－ＭｅＧ－ｄｆ－Ｒ－Ｖ－ｌ－Ｓ－Ｄ－ＭｅＣ（配列番号９７）

[0078] 前記第二の実施形態のペプチドは、環状ペプチドであることが好ましい。

前記第二の実施形態のペプチドが、環状ペプチドである場合、クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれる式

Ｂ１又は式Ｂ２における１５番目のアミノ酸残基であるＭｅＣとが結合された環状構造を有することが好ましい。クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基は、Ｎ末端のアミノ酸残基であることが好ましい。環状構造を有するペプチドは、クロロアセチル基が取り除かれたものが好ましい。

[0079] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、さらに、付加的なアミノ酸残基を含むことが好ましい。この場合の付加的なアミノ酸残基は特に限定されない。

[0080] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、付加的なアミノ酸残基は、環状構造を成すペプチドに含まれてもよいし、当該環状ペプチドからさらにアミノ酸残基がリンカー状に付加されていてもよい。ペプチド、ペプチド部位のアミド結合の数（アミノ酸の数・長さ）は特に限定されないが、総アミノ酸残基（環状構造を成すペプチドに含まれるアミノ酸残基数をいい、当該環状ペプチドからさらにアミノ酸残基がリンカー状に付加されている場合は、それらのアミノ酸は含めない）が、２０残基以内であることが好ましい。好ましいペプチド長は、アミノ酸残基が６以上、７以上、８以上、９以上、１０以上、１１以上であり、好ましくはアミノ酸残基が１９以下、１８以下、である。更に好ましいペプチド長は、アミノ酸残基が１３以上１６以下であり、最も好ましくはアミノ酸残基が１４又は１５である。

[0081] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、ＴＰＯ受容体結合能を有することが好ましい。

[0082] ［ペプチド複合体］

本発明のペプチド複合体は、第一のペプチドを含み、ＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能を有する。また、本発明のペプチド複合体は、ＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能に由来する細胞増殖能を有してもよい。

[0083] 前記ペプチド複合体は、第一のペプチドとその他のペプチドや化合物を含むペプチド、ペプチド含有化合物、又はその薬学的に許容される塩である。前記ペプチド複合体は、第一のペプチドを１つ又は２つ以上（３つ以上又は４つ以上）含んでもよい。

[0084] 前記ペプチド複合体は、さらに第一のペプチドとは異なる部分ペプチドを１又は２つ以上含んでもよい。前記ペプチド複合体は、第一のペプチドや部分ペプチドがリンカーを介して結合していることが好ましい。前記ペプチド複合体は、同一のアミノ酸配列を有するペプチドのみを含むホモマルチマーが好ましい。前記ペプチド複合体は、異なるアミノ酸配列を有するペプチドを含むヘテロマルチマーであってもよい。前記ペプチド複合体は、同一のアミノ酸配列を有する第一のペプチド及び第二のペプチドを有し、第一のペプチドと第二のペプチドがリンカーを介して結合するホモダイマーが好ましい。実施例に示された通り、第一のペプチドと第二のペプチドはリンカーを介したペプチド複合体構造をとることで、細胞内シグナル活性化能を示す。

[0085] 本発明のペプチド複合体は、第一のペプチドと、第二のペプチドと、第一のペプチドと第二のペプチドを接続するリンカーとからなるものであってもよい。この場合、第二のペプチドは、第一のペプチドと同一であってもよいし、異なっていてもよい。

[0086] 本発明のペプチド複合体の一実施形態は、第一のペプチド及び第二のペプチドを含むペプチド複合体であって、前記第一のペプチドは、前記第一の実施形態のペプチドであり、前記第二のペプチドは、前記第一の実施形態のペプチド又は前記第二の実施形態のペプチドであり、好ましくは前記第一の実施形態のペプチドである。

[0087] 本発明のペプチド複合体の一実施形態は、第一のペプチド及び第二のペプチドを含むペプチド複合体であって、前記第一のペプチドと前記第二のペプチドの相同性が９０％以上１００％以下であることが好ましい。

[0088] 本発明のペプチド複合体の一実施形態は、第一のペプチド及び第二のペプチドを含むペプチド複合体であって、前記第一のペプチドと前記第二のペプチドが実質的に同じペプチドであることが好ましい。

[0089] 本発明のペプチド複合体の一実施形態は、第一のペプチド及び第二のペプチドを含むペプチド複合体であって、前記第一のペプチドと前記第二のペプチドが、それぞれ環状ペプチドであることが好ましい。

[0090] 本発明のペプチド複合体の一実施形態は、第一のペプチド及び第二のペプチドを含むペプチド複合体であって、前記第一のペプチドと前記第二のペプチドが、それぞれクロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記第一のペプチド又は前記第二のペプチドに含まれるＭｅＣとが結合された環状構造を有することが好ましい。クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基は、Ｎ末端のアミノ酸残基であることが好ましい。環状構造を有するペプチドは、クロロアセチル基が取り除かれたものが好ましい。

[0091] 本発明のペプチド複合体の一実施形態は、第一のペプチド及び第二のペプチドを含むペプチド複合体であって、さらに、前記第一のペプチドと前記第二のペプチドが付加的なアミノ酸残基を含んでいてもよい。この場合の付加的なアミノ酸残基は、環状構造を成すペプチドに含まれていることが好ましい。

[0092] 前記ペプチド複合体は、前記第一のペプチドと、前記第二のペプチドと、前記第一のペプチド及び前記第二のペプチドを接続するリンカーとからなることが好ましい。

[0093] 前記リンカーは、前記ペプチド複合体において複数のペプチドを互いにつなぐ構造体であってもよい。前記リンカーとしては、例えば、アミノ酸リンカー（ペプチドリンカー）、化学リンカー、脂肪酸リンカー、核酸リンカー、及び糖鎖リンカーが挙げられ、また、例えば化学リンカーとペプチドリンカーなどの複合体であってもよい。

[0094] 化学リンカーの例は、ＰＥＧ（Ｐｏｌｙｅｔｈｙｌｅｎｅｇｌｙｃｏｌ）リンカーである。

ＰＥＧリンカーは、１～３６個のエチレングリコール単位からなるリンカーであってよい。

[0095] また、前記リンカーは、脂肪酸から誘導される二価化学部分を含む脂肪酸リンカーでもよい。アミノ酸（ペプチド）リンカーは、少なくとも１個のアミノ酸を含むリンカーであり、例えば、米国特許第７，２７１，１４９号に

記載のような、配列［Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｓ］$_n$（式中，ｎは１、２、３、４、５又は６である。）を有するペプチドなどのグリシン－リッチペプチドや、米国特許第５，５２５，４９１号明細書に記載のセリン－リッチペプチドリンカーを用いることができる。

[0096] 非限定的に、リンカーの付加によりペプチドの物性（例えば溶解度）が変化する場合がある。さらに、前記リンカーは、上記のリンカーの組合せであってよい。例えば、アミノ酸リンカーとしてグリシン（Ｇ）－Ｌ－リシン（Ｋ）が結合し、さらに当該Ｌｙｓの側鎖末端にＰＥＧリンカーが結合した形であってよい。また、リンカーは、ＰＥＧ－アミノ酸－ＰＥＧのように、アミノ酸とＰＥＧが交互に結合する構造をとっていてもよい。ここで、ＰＥＧはＰＥＧリンカーを意味する。

[0097] リンカーの別の例は、ＰＥＧリンカー部分に１～６個のアミノ酸が付加したリンカーである。このリンカーは、ＰＥＧリンカー部分の片方の端部にアミノ酸が付加した構造を有するものでもよいし、ＰＥＧリンカー部分の両端にアミノ酸が付加した構造を有するものであってもよい。ＰＥＧ部分に付加するアミノ酸の好ましい例は、Ｌ－リシン（Ｋ）であるものの、Ｌ－リシン（Ｋ）に限定されず、他のアミノ酸であってもよい。

[0098] リンカーの付加位置については、ペプチドのどこに付加されていてもよい。例えば、ペプチドのＣ末端に位置しており、１番目のアミノ酸と結合し環状構造を形成するＬ－システイン（Ｃ）又はメチル－Ｌ－システイン（ＭｅＣ）に結合していてもよく、環状ペプチドに含まれるアミノ酸に結合していてもよい。限定するものではないが、前記リンカーは、Ｃ末端に位置するＬ－システイン（Ｃ）又はメチル－Ｌ－システイン（ＭｅＣ）に結合しているか、環状ペプチドに含まれるアミノ酸の側鎖に結合していることが好ましい。

[0099] なお、例えば、配列番号１～１４５で示されるアミノ酸配列の１番目のアミノ酸が１５番目のアミノ酸であるメチル－Ｌ－システイン（ＭｅＣ）と結合した環状ペプチド構造体が２つ、メチル－Ｌ－システイン（ＭｅＣ）から

表３に示される構造を介してダイマー構造を取っている場合においては、リンカー構造は、表３に示される構造ということができる。ダイマーは、第１のペプチドのＣ末端と第２のペプチドのＣ末端がリンカーを介して結合しているものが好ましい。

[0100] 本実施形態のペプチド複合体において、前記第１のペプチド及び前記第２のペプチドが式Ａ１で示されるアミノ酸配列又は式Ｂ１で示されるアミノ酸配列からなるペプチドであり、好ましくは式Ａ１で示されるアミノ酸配列からなるペプチドである。

[0101] Ａ１：X^{1}－X^{2}－X^{3}－ＭｅＧ－X^{4}－X^{5}－X^{6}－X^{7}－ｄｆ－X^{8}－X^{9}－X^{10}－X^{11}－X^{12}－ＭｅＣ

[0102] 但し、式Ａ１において、

X^{1}は、Ｆ、Ａ、Ｑ、Ｅ、Ｆ４ＣＯＯ、Ｆ３Ｍｅ、Ｆ３Ｃ、Ｆ４Ｍｅ、Ｆ４Ｃ、Ｆ４ＯＭｅ、３Ｐｙ、Ｃｈａ、又はＦ４ａａｏであり、

X^{2}は、Ｗ、Ｗ７Ｎ、Ｗ１Ｍｅ７Ｎ、又はＷ１ａａであり、

X^{3}は、Ｖ、Ｒ、Ｃｉｔ、Ｔ、ａｌＴ、又はＳであり、

X^{4}は、Ｗ、Ｗ１Ｍｅ、又はＮａｌ１であり、

X^{5}は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴ、又はｄＭｅＳであり、

X^{6}は、Ｖ、Ｉ、ａｌｌ、Ｅｖａ、Ｔｂｇ、又はＧｃｐｅであり、

X^{7}は、ＭｅＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ＭｅＫＣＯｐｉｐｚａａ、ｄｐ、ＥｔＧ、又はＥｔＡであり、

X^{8}は、Ｒ、Ｑ、又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり、

X^{9}は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴ、Ｐ、Ｈｐｒ、Ｈｙｐ、又はＭｏｒであり、

X^{10}は、Ｉ、Ｖ、Ｇｔｈｐ、又はＧ４ｐｉｐａａであり、

X^{11}は、Ｓ、Ｅ、Ｉ、Ｆ、Ｗ、Ｙ、Ｒ、Ｃｉｔ、Ａｔｐ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、又はＨｇｌであり、

X^{12}は、Ｄ、Ｈ、Ｒ、Ｓ、Ｑ、ＳＭｅ、Ｃｉｔ、Ｅ、又はＨｇｌである。

[0103] Ｂ１：Y^{1}－Y^{2}－Y^{3}－ＭｅＧ－Y^{4}－Y^{5}－Y^{6}－Y^{7}－ｄｆ－Ｒ－Y^{8}－Y^{9}－Y^{10}－Ｄ－ＭｅＣ

[0104] 但し、式Ｂ１において、

Y^1は、Ｆ、Ｆ４ａａｏ、Ｆ３ＣＯＯ、Ｆ３ａａｏ、４Ｐｙ、３Ｐｙ、又はＣｈａであり、

Y^2は、Ａｈｐ、Ｗ１Ｍｅ７Ｎ、Ｗ、又はＷ７Ｎであり、

Y^3は、Ｖ、Ｉ、ａｌｌ、Ｑ、Ｔ、ＴＭｅ、又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり、

Y^4は、Ｗ、Ｗ１Ｍｅ、Ｎａｌ１、又はＮａｌ２であり、

Y^5は、Ｖ、Ｔｂｇ、ＴＭｅ、ａｌＴＭｅ、ｄＭｅＳ、Ｇｔｈｐ、Ｇ４ｐｉｐａａ、又はＣｉｔであり、

Y^6は、Ｖ、Ａｈｐ、ＮＩｅ、Ｉ、Ｌ、Ｔｂｇ、ＩＭｅ、Ｃｂｇ、Ｇｃｐｅ、Ｃｈｇ、又はａｌＴＭｅであり、

Y^7は、ＭｅＧ、ＥｔＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ｄｐ、ＭｅＱ、又はＭｅｄｑであり、

Y^8は、Ｖ、Ｐ、Ｈｐｒ、Ｔｉｃ、ＴＭｅ、又はａｌＴＭｅであり、

Y^9は、Ｉ、ａｌｌ、ａｌＴＭｅ、ｄＭｅＳ、Ｇｔｈｐ、又はＧ４ｐｉｐａであり、

Y^{10}は、Ｓ又はＨｇＩである。

[0105] 本実施形態のペプチド複合体は、細胞内シグナル活性化能を有し、好ましくは、ＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能を有する。

[0106] ［医薬組成物］

本発明のまた別の実施形態は、医薬組成物である。

本実施形態の医薬組成物の一態様は、上述したペプチド及びその薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物からなる群から選択される少なくとも１種（以下、簡単のため単に「本発明のペプチド」ともいう。）を含む医薬組成物であり、別の一態様は、上述したペプチド複合体及びその薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物からなる群から選択される少なくとも１種（以下、簡単のため単に「本発明のペプチド複合体」ともいう。）を

含む医薬組成物であり、また別の一態様は、上述したペプチド及びペプチド複合体並びにそれらの薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物からなる群から選択される少なくとも１種を含む医薬組成物である。

[0107] 前記医薬組成物は、本発明のペプチド又は本発明のペプチド複合体を有効成分として有効量含むものが好ましい。

前記医薬組成物の対象となる疾患は、ＴＰＯ受容体の発現又は活性の増加又は減少によって引き起こされる、それによって悪化する、又はそれ以外でそれに関連するあらゆる疾患、又はＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル伝達、若しくは前記ＴＰＯ受容体を介して活性化される他のあらゆる細胞内シグナル伝達カスケードの増加又は減少によって引き起こされる、それによって悪化する、又はそれ以外でそれに関連するあらゆる疾患を指す。例えば、血小板減少症候群、再生不良性貧血等を指すが、これに限定されるものではない。

[0108] 前記医薬組成物の投与形態は特に限定されず、経口的投与でも非経口的投与でもよい。非経口的投与としては、例えば、筋肉内注射、静脈内注射、皮下注射等の注射投与、経皮投与、経粘膜投与（経鼻、経口腔、経眼、経肺、経膣、経直腸）投与等が挙げられる。

[0109] 前記医薬組成物中のペプチドは、代謝及び排泄されやすい性質に鑑みて、各種の修飾を行うことができる。例えば、ポリペプチドにポリエチレングリコール（ＰＥＧ）や糖鎖を付加して血中滞留時間を長くし、抗原性を低下させることができる。また、ポリ乳酸・グリコール（ＰＬＧＡ）などの生体内分解性の高分子化合物、多孔性ヒドロキシアパタイト、リポソーム、表面修飾リポソーム、不飽和脂肪酸で調製したエマルジョン、ナノパーティクル、ナノスフェア等を徐放化基剤として用い、これにポリペプチドを内包させてもよい。経皮投与する場合，弱い電流を皮膚表面に流して角質層を透過させることもできる（イオントフォレシス法）。

[0110] 前記医薬組成物は、有効成分をそのまま用いてもよいし、薬学的に許容できる担体、賦形剤、添加剤等を加えて製剤化してもよい。剤形としては、例えば、液剤（例えば注射剤）、分散剤、懸濁剤、錠剤、丸剤、粉末剤、坐剤

、散剤、細粒剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、トローチ剤、吸入剤、軟膏剤、点眼剤、点鼻剤、点耳剤、パップ剤等が挙げられる。

[0111] 前記製剤化は、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、溶解剤、溶解補助剤、着色剤、矯味矯臭剤、安定化剤、乳化剤、吸収促進剤、界面活性剤、ｐＨ調整剤、防腐剤、抗酸化剤などを適宜使用し、常法により行うことができる。

[0112] 前記製剤化に用いられる成分の例としては、精製水、食塩水、リン酸緩衝液、デキストロース、グリセロール、エタノール等薬学的に許容される有機溶剤、動植物油、乳糖、マンニトール、ブドウ糖、ソルビトール、結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、デンプン、コーンスターチ、無水ケイ酸、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサンタンガム、アラビアゴム、トラガント、カゼイン、寒天、ポリエチレングリコール、ジグリセリン、グリセリン、プロピレングリコール、ワセリン、パラフィン、ミリスチン酸オクチルドデシル、ミリスチン酸イソプロピル、高級アルコール、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン、トレハロース、ポリソルベート等が挙げられるがこれらに限定されない。

[0113] 前記吸収促進剤は、難吸収性薬物の吸収を改善するために使用することができる。前記吸収促進剤として、ポリオキシエチレンラウリルエーテル類、ラウリル硫酸ナトリウム、サポニン等の界面活性剤；グリココール酸、デオキシコール酸、タウロコール酸等の胆汁酸塩；ＥＤＴＡ、サリチル酸類等のキレート剤；カプロン酸、カプリン酸、ラウリン酸、オレイン酸、リノール酸、混合ミセル等の脂肪酸類；エナミン誘導体、Ｎ－アシルコラーゲンペプチド、Ｎ－アシルアミノ酸、シクロデキストリン類、キトサン類、一酸化窒素供与体等を用いてもよい。

[0114] 前記丸剤又は錠剤は、糖衣、胃溶性、腸溶性物質で被覆することもできる。前記注射剤は、注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、アルコール類等を含むことができる。さらに、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤、溶解剤、溶解補助剤、防腐剤等を加えることができる。

[0115] 本発明の医薬組成物は、前記疾患に有用な他の医薬や治療法と併用投与してもよい。

[0116] 本発明の医薬組成物を哺乳類（例えば、ヒト、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ、ウマ、サル、ブタ、ヒツジ等）、特にヒトに投与する場合の投与量は、症状、患者の年齢、性別、体重、感受性差、投与方法、投与間隔、有効成分の種類、製剤の種類によって異なり、特に限定されないが、例えば、３０μｇ～１０００ｍｇ、１００μｇ～５００ｍｇ、１００μｇ～１００ｍｇを１回又は数回に分けて投与することができる。注射投与の場合、患者の体重により、１μｇ／ｋｇ～３０００μｇ／ｋｇ、３μｇ／ｋｇ～１０００μｇ／ｋｇを１回又は数回に分けて投与してもよい。

[0117] ［細胞培養用組成物］

本発明のまた別の実施形態は、上述したペプチド複合体を含む、細胞培養に用いられる細胞培養用組成物である。

[0118] 一態様として、前記ペプチド複合体は、細胞内シグナル活性化能を有し、好ましくはＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル活性化能を有するため、細胞培養のための培地用試薬又は添加剤、好ましくは哺乳類細胞、さらに好ましくはヒト細胞の培養のための培地用試薬又は添加剤としても利用され得る。

[0119] 前記培地は、細胞又は組織を培養するための培地であれば特に限定はされない。前記培地は、血清培地であってよく、好ましくは無血清培地や低血清培地である。

[0120] 前記培養用培地添加物は、溶液の形態であっても、乾燥した固体（例えば、固形状、粉末状等）の形態であってもよい。溶液の形態である場合には、そのまま培養用の培地として用いてもよいし、溶媒で希釈し、必要に応じて

上述した添加剤を加えたものを、培養用の培地として用いてもよい。希釈する際に用いる溶媒としては、例えば、水、緩衝液、生理食塩水、各種細胞や組織培養に用いられる培地等が挙げられ、これらは単独で用いても、２種以上を組み合わせて用いてもよい。

[0121] 前記培養用培地添加物が乾燥した固体の形態である場合には、例えば、水、緩衝液、生理食塩水、各種細胞や組織培養に用いられる培地等の溶媒に溶解し、必要に応じて上述した添加剤を加えたものを、培養用の培地として用いてもよい。

[0122] 前記細胞又は組織を培養するための培地中、又はこれから得られた細胞用の培地中の本発明のペプチド複合体の含有量は、例えば、組成物全量又は培地全量に対して、最終濃度として、約０．０１～約１００００ｎｍｏｌ／Ｌ、好ましくは約０．１～約１０００ｎｍｏｌ／Ｌ、より好ましくは約０．５～約１０００ｎｍｏｌ／Ｌ、更に好ましくは約１～約１００ｎｍｏｌ／Ｌであり得る。

[0123] ［医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物］

本発明のまた別の実施形態は、医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物である。

本実施形態の医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物は、上述したペプチド及びその薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物からなる群から選択される少なくとも１種（以下、簡単のため単に「本発明のペプチド」ともいう。）を含む医薬組成物であり、別の一態様は、上述したペプチド複合体及びその薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物からなる群から選択される少なくとも１種（以下、簡単のため単に「本発明のペプチド複合体」ともいう。）を含む組成物である。

[0124] 〈医療用に用いられる組成物〉

本実施形態の医療用に用いられる組成物（以下、単に「医療用組成物」ともいう。）は、本発明のペプチド及びペプチド複合体からなる群から選択される少なくとも１種を含む。

[0125] 前記医療用組成物は、本発明のペプチド又は本発明のペプチド複合体を有効成分として有効量含むものが好ましい。

前記医療用組成物の対象となる疾患は、ＴＰＯ受容体の発現又は活性の増加又は減少によって引き起こされる、それによって悪化する、又はそれ以外でそれに関連するあらゆる疾患、又はＴＰＯ／ＴＰＯＲシグナル伝達、若しくは前記ＴＰＯ受容体を介して活性化される他のあらゆる細胞内シグナル伝達カスケードの増加又は減少によって引き起こされる、それによって悪化する、又はそれ以外でそれに関連するあらゆる疾患を指す。例えば、血小板減少症候群、再生不良性貧血等を指すが、これに限定されるものではない。

[0126] 前記医療用組成物の投与形態は特に限定されず、経口的投与でも非経口的投与でもよい。非経口的投与としては、例えば、筋肉内注射、静脈内注射、皮下注射等の注射投与、経皮投与、経粘膜投与（経鼻、経口腔、経眼、経肺、経膣、経直腸）投与等が挙げられる。

[0127] 前記医療用組成物中のペプチドは、代謝及び排泄されやすい性質に鑑みて、各種の修飾を行うことができる。例えば、ポリペプチドにポリエチレングリコール（ＰＥＧ）や糖鎖を付加して血中滞留時間を長くし、抗原性を低下させることができる。また、ポリ乳酸・グリコール（ＰＬＧＡ）などの生体内分解性の高分子化合物、多孔性ヒドロキシアパタイト、リポソーム、表面修飾リポソーム、不飽和脂肪酸で調製したエマルジョン、ナノパーティクル、ナノスフェア等を徐放化基剤として用い、これにポリペプチドを内包させてもよい。経皮投与する場合，弱い電流を皮膚表面に流して角質層を透過させることもできる（イオントフォレシス法）。

[0128] 前記医療用組成物は、有効成分をそのまま用いてもよいし、薬学的に許容できる担体、賦形剤、添加剤等を加えて製剤化してもよい。剤形としては、例えば、液剤（例えば注射剤）、分散剤、懸濁剤、錠剤、丸剤、粉末剤、坐剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、トローチ剤、吸入剤、軟膏剤、点眼剤、点鼻剤、点耳剤、パップ剤等が挙げられる。

[0129] 前記製剤化は、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、溶解剤、溶解

補助剤、着色剤、矯味矯臭剤、安定化剤、乳化剤、吸収促進剤、界面活性剤、ｐＨ調整剤、防腐剤、抗酸化剤などを適宜使用し、常法により行うことができる。

[0130] 前記製剤化に用いられる成分の例としては、精製水、食塩水、リン酸緩衝液、デキストロース、グリセロール、エタノール等薬学的に許容される有機溶剤、動植物油、乳糖、マンニトール、ブドウ糖、ソルビトール、結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、デンプン、コーンスターチ、無水ケイ酸、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサンタンガム、アラビアゴム、トラガント、カゼイン、寒天、ポリエチレングリコール、ジグリセリン、グリセリン、プロピレングリコール、ワセリン、パラフィン、ミリスチン酸オクチルドデシル、ミリスチン酸イソプロピル、高級アルコール、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン、トレハロース、ポリソルベート等が挙げられるがこれらに限定されない。

[0131] 前記吸収促進剤は、難吸収性薬物の吸収を改善するために使用することができる。前記吸収促進剤として、ポリオキシエチレンラウリルエーテル類、ラウリル硫酸ナトリウム、サポニン等の界面活性剤；グリココール酸、デオキシコール酸、タウロコール酸等の胆汁酸塩；ＥＤＴＡ、サリチル酸類等のキレート剤；カプロン酸、カプリン酸、ラウリン酸、オレイン酸、リノール酸、混合ミセル等の脂肪酸類；エナミン誘導体、Ｎ－アシルコラーゲンペプチド、Ｎ－アシルアミノ酸、シクロデキストリン類、キトサン類、一酸化窒素供与体等を用いてもよい。

[0132] 前記丸剤又は錠剤は、糖衣、胃溶性、腸溶性物質で被覆することもできる。前記注射剤は、注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、アルコール類等を含むことができる。さらに

、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤、溶解剤、溶解補助剤、防腐剤等を加えることができる。

[0133] 本発明の医療用組成物は、前記疾患に有用な他の医薬や治療法と併用投与してもよい。

[0134] 本発明の医療用組成物を哺乳類（例えば、ヒト、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ、ウマ、サル、ブタ、ヒツジ等）、特にヒトに投与する場合の投与量は、症状、患者の年齢、性別、体重、感受性差、投与方法、投与間隔、有効成分の種類、製剤の種類によって異なり、特に限定されないが、例えば、３０μｇ～１０００ｍｇ、１００μｇ～５００ｍｇ、１００μｇ～１００ｍｇを１回又は数回に分けて投与することができる。注射投与の場合、患者の体重により、１μｇ／ｋｇ～３０００μｇ／ｋｇ、３μｇ／ｋｇ～１０００μｇ／ｋｇを１回又は数回に分けて投与してもよい。

[0135] 〈診断用に用いられる組成物〉

本実施形態の診断用に用いられる組成物（以下、単に「診断用組成物」ともいう。）は、本発明のペプチド及びペプチド複合体からなる群から選択される少なくとも１種を含む。

[0136] 前記ペプチドは、ＴＰＯ受容体に結合する。従って、前記ＴＰＯ受容体を検出する診断薬としても使用し得る。前記診断薬としては、前記ＴＰＯ受容体の発現量を検出する検出薬であってよく、検出薬として用いる場合は、本発明のペプチドは、検出可能に標識してもよい。このようにして、前記ペプチド又はそれらを含む組成物は、前記ＴＰＯ受容体を検出する診断薬として利用できる。

[0137] 〈研究用に用いられる組成物〉

本実施形態の研究用に用いられる組成物（以下、単に「研究用組成物」ともいう。）は、本発明のペプチド及びペプチド複合体からなる群から選択される少なくとも１種を含む。

[0138] 一態様として、前記ペプチド及び/又は前記ペプチド複合体は、ＴＰＯ受容体に結合する。従って、前記ＴＰＯ受容体が関与する研究に好ましく用いる

ことができる。

[0139] 本実施形態の研究用組成物は、前記ペプチド、前記ペプチド複合体、前記ペプチド又は前記ペプチド複合体にリンカーを介してさらに結合した物質を含む複合体について、以下の少なくとも１つを試験する試験方法において使用することが好ましい。

ａ）溶媒への溶解度。

ｂ）ＴＰＯ受容体との結合能。

ｃ）細胞及び／又は組織への毒性。

ｄ）実験動物への毒性。

[0140] 前記試験方法について、前記ペプチド、前記ペプチド複合体、前記ペプチド又は前記ペプチド複合体にリンカーを介してさらに結合した物質を含む複合体の、溶媒への溶解度の試験は、溶解度の測定であってよい。溶解度の測定にあたっては、溶媒は限定されるものではなく、目的に応じて自由に選択してよい。また、溶解度の測定方法に関しては、溶媒の種類に応じて、公知の方法を適切に選択することができる。

[0141] 前記ＴＰＯ受容体との結合能の試験は、前記ＴＰＯ受容体との結合能の測定であってよく、限定されるものではないが、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）アッセイ、スキャチャード解析ならびに／又は放射免疫アッセイ（ＲＩＡ）、酵素免疫アッセイ（ＥＩＡ）及びサンドイッチ競合アッセイなどの競合結合アッセイ法など、公知の方法を好ましく使用することができる。

[0142] 細胞及び／又は組織への毒性の試験は、細胞及び／又は組織を用いた公知の毒性評価試験であってよく、例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで実施する方法であってよい。細胞や組織は、医薬品について通常、毒性評価試験を行う細胞及び／又は組織であってよく、限定されるものではない。

[0143] 実験動物の毒性の試験方法は、実験動物を使用した公知の毒性評価試験であってよい。実験動物について、通常使用されているものであれば特に限定されないが、例として、マウス、ラット、モルモット、スナネズミ、ハムスター、フェレット、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ヤギ、ウマ、ウシ、鳥類（

例えば、ニワトリ、ウズラなど）、サル、ヒトを除く霊長類（例えば、カニクイザル、マーモセット、アカゲザルなど）などが挙げられる。上記の毒性評価試験は、限定されるものではないが、医薬品の非臨床試験において通常行われる安全性に関する試験であってよく、例として、一般毒性試験（単回投与毒性試験／反復投与毒性試験）、遺伝毒性試験（Ａｍｅｓ試験／染色体異常試験／Ｉｎ　ｖｉｔｒｏ小核試験）、がん原性試験、生殖発生毒性試験（ＩＣＨ－Ｉ，ＩＩ，ＩＩＩ）、局所刺激性試験（眼刺激性試験、皮膚刺激性試験等）、その他の毒性試験（皮膚感作性試験、光毒性試験、抗原性試験）、化学分析・生体分析（ＴＫ／ＰＫ）などが挙げられる。

[0144] ［核酸］

本発明のさらに別の実施形態は、上述したペプチド又はペプチドをコードする核酸である。

本実施形態の核酸は、天然であってもよいし、非天然であってもよい。また、核酸は、ＤＮＡ、ＲＮＡ、及びこれらのキメラを含むが、これらに限定されない。本実施形態の核酸は、上述したペプチド又はペプチド複合体のアミノ酸配列を基に公知の方法で設計し、製造することができる。

[0145] ［ペプチドドラッグコンジュゲート（ＰＤＣ）］

本発明のさらに別の実施形態は、上述したペプチド又はペプチド複合体と、ＴＰＯ受容体に送達したい所望の物質と、前記ペプチド又はペプチド複合体と前記物質を結合するためのリンカーとを含む複合体（ペプチドドラッグコンジュゲート、ＰＤＣ）である。

前記ペプチド又は前記ペプチド複合体は、前記ＴＰＯ受容体に結合する。従って、前記ペプチド又はペプチド複合体は、物質を前記ＴＰＯ受容体に送達することが可能である。

前記物質は前記ＴＰＯ受容体に送達することを希望する物質であれば、当業者の希望する何らの物質であってよい。

前記物質は特に限定されないが、例えば、化合物、ペプチド、ＲＩ（放射性同位体）、タンパク質、核酸、及びＤＤＳ（ドラッグデリバリーシステム

）が挙げられる。

前記化合物は、特に限定されないが、低分子化合物又は中分子化合物が好ましく、例えば公知の低分子薬剤が挙げられる。

前記ペプチドは、特に限定されないが、体内の標的に結合して何らかの効果を示すペプチドが好ましく、例えば環状ペプチドが挙げられる。

前記ＲＩは、特に限定されないが、放射性同位元素でラベルした低分子化合物、中分子化合物又は抗体等の放射性同位元素でラベルした化合物であればよく、例えばＰＥＴ（陽電子放射断層撮影法）検査用の化合物が挙げられる。

前記タンパク質は、特に限定されないが、抗体又は酵素等の、体内にて有用な機能を示すタンパク質であれば何でもよい。例えば、酵素補充療法に用いられる酵素が挙げられる。

核酸：ＤＮＡ、ＲＮＡ、これらのキメラであってよく、特に限定されない。例えば、核酸医薬品が挙げられる。

前記ＤＤＳに用いる分子は、特に限定されないが、リポソーム又はミセル等のＤＤＳに使われる公知の分子が好ましい。前記ＤＤＳ分子には内部にさらに医薬品等の化合物が含まれていてもよい。

また、前記ＴＰＯ受容体に送達することを希望する物質は、上記に挙げた物質の複合体であってよい。

［実施例］

[0146] 以下，実施例に基づいて本発明を詳細に説明するが，本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。当業者は本明細書の記載に基づいて容易に本発明に修飾・変更を加えることができ，それらは本発明の技術的範囲に含まれる。

[0147] 化学合成

以下の実施例における化学合成において使用された全ての原料，ビルディングブロック，試薬，酸，塩基，固相樹脂，溶媒は，市販品をそのまま用いたか，もしくは当業者にて有機化学的手法を用いて合成できるものである。

なお，保護基を含むアミノ酸は特記が無い限り市販品をそのまま用いた。

固相樹脂におけるペプチド鎖の伸長は，それぞれの実施例に記載された樹脂を出発原料とし，通常用いられるペプチドカップリング反応条件とＦｍｏｃ除去反応条件を用いて行った。反応はペプチド自動合成機であるＢｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ　Ｉ，Ｂｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ　ＩＩ，ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ　Ｂｌｕｅ，ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ　Ｂｌｕｅ　ＨＴ１２，又はＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ　Ｐｒｉｍｅを使用し，製造元のマニュアルに従い行った。

使用した樹脂は，ＮｏｖａＰＥＧ　Ｒｉｎｋ　Ａｍｉｄｅ　ｒｅｓｉｎ，又はＳｅｉｂｅｒ　Ａｍｉｄｅ　ｒｅｓｉｎを用い，使用した量は各ペプチドに応じて５ｍｇ－２ｇの範囲であった。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しに用いる反応剤カクテルは，各ペプチドに応じて４ｍＬ－５０ｍＬであり，以下の組成の溶液を用いた。

Ａ：ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴ（９２．５／２．５／２．５／２．５）

Ｂ：ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴ（９０／２．５／２．５／５）

使用した一般的なＦｍｏｃアミノ酸を下記に列挙し，側鎖保護基はカッコ内に示した。

[0148]

[表1-1]

Ｆｍｏｃアミノ酸	ＣＡＳ番号
Ｆｍｏｃ－３Ｐｙ－ＯＨ	１７５４５３－０７－３
Ｆｍｏｃ－４Ｐｙ－ＯＨ	１６９５５５－９５－７
Ｆｍｏｃ－Ａｈｐ－ＯＨ	１１９７０２０－２２－６
Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ＯＨ	３５６６１－３９－３
Ｆｍｏｃ－ａｌＩ－ＯＨ	２５１３１６－９８－０
Ｆｍｏｃ－ａｌＴ（ｔＢｕ）－ＯＨ	２０１４８１－３７－０
Ｆｍｏｃ－ａｌＴＭｅ－ＯＨ	１２７９０２９－７０－７
Ｆｍｏｃ－Ａｒｇ（Ｐｂｆ）－ＯＨ	１５４４４５－７７－９
Ｆｍｏｃ－Ａｓｐ（Ｍｐｅ）－ＯＨ	１８０６７５－０８－５
Ｆｍｏｃ－Ａｔｐ－ＯＨ	３６８８６６－３４－６
Ｆｍｏｃ－Ｃｂｇ－ＯＨ	１３９１６３０－３１－１
Ｆｍｏｃ－Ｃｈａ－ＯＨ	１３５６７３－９７－１
Ｆｍｏｃ－Ｃｈｇ－ＯＨ	１６１３２１－３６－４
Ｆｍｏｃ－Ｃｉｔ－ＯＨ	１３３１７４－１５－９
Ｆｍｏｃ－ｄｅ（ｔＢｕ）－ＯＨ	１０４０９１－０８－９
Ｆｍｏｃ－ｄｆ－ＯＨ	８６１２３－１０－６
Ｆｍｏｃ－ｄＭｅＳ－ＯＨ	１２１７６０３－４１－２
Ｆｍｏｃ－ｄｐ－ＯＨ	１０１５５５－６２－８
Ｆｍｏｃ－ＥｔＡ－ＯＨ	８４０００－０９－９
Ｆｍｏｃ－ＥｔＧ－ＯＨ	１６２５４５－２９－１
Ｆｍｏｃ－Ｅｖａ－ＯＨ	１３１０６８０－４７－７
Ｆｍｏｃ－Ｆ３ａａｏ（ｔＢｕ）－ＯＨ	２９７３７５３－９５－４
Ｆｍｏｃ－Ｆ３Ｃ－ＯＨ	１９８５６０－４４－０
Ｆｍｏｃ－Ｆ３ＣＯＯ（ｔＢｕ）－ＯＨ	２１０２８２－３３－０
Ｆｍｏｃ－Ｆ３Ｍｅ－ＯＨ	２１１６３７－７４－０
Ｆｍｏｃ－Ｆ４ａａｏ（ｔＢｕ）－ＯＨ	１８１９５１－９２－８

[表1-2]

Ｆｍｏｃアミノ酸	ＣＡＳ番号
Ｆｍｏｃ－Ｆ４Ｃ－ＯＨ	１７５４５３－０８－４
Ｆｍｏｃ－Ｆ４ＣＯＯ（ｔＢｕ）－ＯＨ	１８３０７０－４４－２
Ｆｍｏｃ－Ｆ４Ｍｅ－ＯＨ	１９９００６－５４－７
Ｆｍｏｃ－Ｆ４ＯＭｅ－ＯＨ	７７１２８－７２－４
Ｆｍｏｃ－Ｇ４ｐｉｐａａ（ｔＢｕ）－ＯＨ	２９７３７５３－１４－７
Ｆｍｏｃ－Ｇｃｐｅ－ＯＨ	２２０４９７－６１－０
Ｆｍｏｃ－Ｇｌｎ（Ｔｒｔ）－ＯＨ	１３２３２７－８０－１
Ｆｍｏｃ－Ｇｌｕ（ｔＢｕ）－ＯＨ	７１９８９－１８－９
Ｆｍｏｃ－Ｇｌｙ－ＯＨ	２９０２２－１１－５
Ｆｍｏｃ－Ｇｌｙ（ＤＭＢ）－ＯＨ	１６６８８１－４２－１
Ｆｍｏｃ－Ｇｔｈｐ－ＯＨ	３６８８６６－３１－３
Ｆｍｏｃ－Ｈｇｌ（ｔＢｕ）－ＯＨ	１５９７５１－４７－０
Ｆｍｏｃ－Ｈｉｓ（Ｔｒｔ）－ＯＨ	１０９４２５－５１－６
Ｆｍｏｃ－Ｈｉｓ（Ｂｏｃ）－ＯＨ	８１３７９－５２－４
Ｆｍｏｃ－Ｈｐｒ－ＯＨ	８６０６９－８６－５
Ｆｍｏｃ－Ｈｙｐ（ｔＢｕ）－ＯＨ	１２２９９６－４７－８
Ｆｍｏｃ－Ｉｌｃ－ＯＨ	７１９８９－２３－６
Ｆｍｏｃ－ＩＭｅ－ＯＨ	１２２７７５０－７３－３
Ｆｍｏｃ－ＫＣＯｐｉｐｚａａ（ｔＢｕ）－ＯＨ	２６８０６０７－３４－３
Ｆｍｏｃ－ＫＣＯｐｉｐｚａａ（Ｍｐｅ）－ＯＨ	２９７３７５３－３８－５
Ｆｍｏｃ－Ｌｅｕ－ＯＨ	３５６６１－６０－０
Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）－ＯＨ	７１９８９－２６－９
Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）－ＯＨ	７８０８１－８７－５
Ｆｍｏｃ－ＭｅＡ－ＯＨ	８４０００－０７－７
Ｆｍｏｃ－ＭｅＣ（Ｔｒｔ）－ＯＨ	９４４７９７－５１－７
Ｆｍｏｃ－Ｍｅｄａ－ＯＨ	１３８７７４－９２－２
Ｆｍｏｃ－Ｍｅｄｑ（Ｔｒｔ）－ＯＨ	２０４４７１０－８９－４
Ｆｍｏｃ－ＭｅＧ－ＯＨ	７７１２８－７０－２
Ｆｍｏｃ－ＭｅＫＣＯｐｉｐｚａａ（ｔＢｕ）－ＯＨ	２９７３７５２－８４－８

[表1-3]

Ｆｍｏｃアミノ酸	ＣＡＳ番号
Ｆｍｏｃ－ＭｅＱ（Ｔｒｔ）－ＯＨ	１６３２０７５－１３－８
Ｆｍｏｃ－Ｍｏｒ－ＯＨ	２８１６５５－３７－６
Ｆｍｏｃ－Ｎａｌ１－ＯＨ	９６４０２－４９－２
Ｆｍｏｃ－Ｎａｌ２－ＯＨ	１１２８８３－４３－９
Ｆｍｏｃ－Ｎｌｅ－ＯＨ	７７２８４－３２－３
Ｆｍｏｃ－Ｐｒｏ－ＯＨ	７１９８９－３１－６
Ｆｍｏｃ－ＰＥＧ１０ｃ－ＯＨ	２１０１５６３－４５－３
Ｆｍｏｃ－ＰＥＧ１２ｃ－ＯＨ	１９５２３６０－９１－６
Ｆｍｏｃ－ＰＥＧ４ｃ－ＯＨ	５５７７５６－８５－１
Ｆｍｏｃ－ＰＥＧ８ｃ－ＯＨ	７５６５２６－０２－０
Ｆｍｏｃ－Ｐｈｅ－ＯＨ	３５６６１－４０－６
Ｆｍｏｃ－Ｓｅｒ（ｔＢｕ）－ＯＨ	７１９８９－３３－８
Ｆｍｏｃ－Ｓｅｒ（Ｔｒｔ）－ＯＨ	１１１０６１－５６－４
Ｆｍｏｃ－ＳＭｃ－ＯＨ	１５９６１０－９３－２
Ｆｍｏｃ－Ｔｂｇ－ＯＨ	１３２６８４－６０－７
Ｆｍｏｃ－Ｔｈｒ（ｔＢｕ）－ＯＨ	７１９８９－３５－０
Ｆｍｏｃ－Ｔｈｒ（Ｔｒｔ）－ＯＨ	１３３１８０－０１－５
Ｆｍｏｃ－Ｔｉｃ－ＯＨ	１３６０３０－３３－６
Ｆｍｏｃ－ＴＭｅ－ＯＨ	９２８０６３－８１－４
Ｆｍｏｃ－Ｔｒｐ（Ｂｏｃ）－ＯＨ	１４３８２４－７８－６
Ｆｍｏｃ－Ｔｙｒ（ｔＢｕ）－ＯＨ	７１９８９－３８－３
Ｆｍｏｃ－Ｖａｌ－ＯＨ	６８８５８－２０－８
Ｆｍｏｃ－Ｗ１ａａ（ｔＢｕ）－ＯＨ	１６２９６５８－３３－８
Ｆｍｏｃ－Ｗ１Ｍｅ－ＯＨ	１３３４５０９－８６－２
Ｆｍｏｃ－Ｗ１Ｍｃ７Ｎ－ＯＨ	１８１３５２８－１０－７
Ｆｍｏｃ－Ｗ７Ｎ－ＯＨ	７３７００７－４５－３

[0149] 得られた粗精製ペプチドの精製方法としては，特に記載がない限り，以下Ａ）／Ｂ）／Ｃ）／Ｄ）／Ｅ）のいずれかの逆相分取精製装置を用いた。

Ａ）：Ｓｈｉｍａｄｚｕ ｐｒｅｐ－ＨＰＬＣ ｓｙｓｔｅｍ （ＬＣ－２０ＡＰ，ＳＰＤ－Ｍ２０Ａ，ＣＴＯ－２０ＡＣ，ａｎｄ ＣＢＭ－２０Ａ）；

Ｂ）：Ｗａｔｅｒｓ ＡｕｔｏＰｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ Ｓｙｓｔｅｍ；

Ｃ）：Ｗａｔｅｒｓ ＡｕｔｏＰｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ Ｓｙｓｔｅｍ

ｗｉｔｈ　ＳＱＤ；

Ｄ）：Ｗａｔｅｒｓ　Ｐｒｅｐａｒａｔｉｖｅ　ＨＰＬＣ　Ｓｙｓｔｅｍ；

Ｅ）：ＹＭＣ　Ｃｏｎｔｉｃｈｒｏｍ　ＣＵＢＥ

[0150] 使用したカラムは特に記載がない限り，以下ａ）－ｋ）のいずれかを用いた。

ａ）　Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　３０ｘ１５０ｍｍ

ｂ）　ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｃ１８　５μｍ　１９ｘ１５０ｍｍ

ｃ）　ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｃ１８　５μｍ　３０ｘ１５０ｍｍ

ｄ）　ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｃ１８　５μｍ　５０ｘ１５０ｍｍ

ｅ）　ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｃ１８　５μｍ　５０ｘ２５０ｍｍ

ｆ）　ＸＳｅｌｅｃｔ　Ｃ１８　５μｍ　１９ｘ１５０ｍｍ

ｇ）　ＸＳｅｌｅｃｔ　Ｃ１８　５μｍ　３０ｘ１５０ｍｍ

ｈ）　ＸＳｅｌｅｃｔ　ＣＳＨ　ＰｒｅｐＣ１８　５μｍ　ＯＢＤ　５０ｘ２５０ｍｍ

ｉ）　ＸＳｅｌｅｃｔ　Ｆｌｕｏｒｏ－Ｐｈｅｎｙｌ　５μｍ　１０ｘ１５０ｍｍ

ｊ）　ＹＭＣ－Ａｃｔｕｓ　Ｔｒｉａｒｔ　Ｐｒｅｐ　Ｃ１８－Ｓ　１０μｍ　２０ｘ２５０ｍｍ

ｋ）　ＹＭＣ－Ｔｒｉａｒｔ　Ｐｒｅｐ　Ｃ１８－Ｓ　１０μｍ　１０ｘ２５０ｍｍ

[0151] 化学合成されたペプチドの構造決定は，目的配列に従って用いたアミノ酸と必要に応じて用いたビルディングブロックを考慮し計算された分子量を，質量スペクトル分析法におけるＥＳＩ－ＭＳ（＋）により確認した。なお，“ＥＳＩ－ＭＳ（＋）”とは，正イオンモードで実施したエレクトロスプレーイオン化質量スペクトル分析法を示す。検出された質量は“ｍ／ｚ”単位表記によって報告された。なお，分子量がおおよそ１０００より大きい化合物は，多価イオンとして高頻度で検出された。

[0152] 基本分析装置および基本条件

以下の実施例において合成されたペプチドの質量スペクトル分析には，特に記載がない限り，以下の基本分析装置および基本条件を用いた。勾配Ｂ（％）はｘ／ｙ／ｚのいずれかの条件を用いて分析を行った。

[0153] 装置：Ｗａｔｅｒｓ社ＡｕｔｏＰｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ Ｓｙｓｔｅｍ－ＳＱＤ２ ｓｉｎｇｌｅ ｑｕａｄｒｕｐｌｅ ｍａｓｓ ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｅｒ
カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ ＥＶＯ Ｃ１８ １．７μｍ ２．１ｘ５０ｍｍ，１００Å
カラム温度：６０℃
移動相Ａ：０．０２５％ ＴＦＡ ｉｎ H_2O
移動相Ｂ：０．０２５％ ＴＦＡ ｉｎ ＭｅＣＮ
流速：０．６ｍＬ／分
波長：２２０ｎｍ
勾配Ｂ（％）：
ｘ：５－９５％／２．１０ｍｉｎ，９５－９５％／０．７５ｍｉｎ；

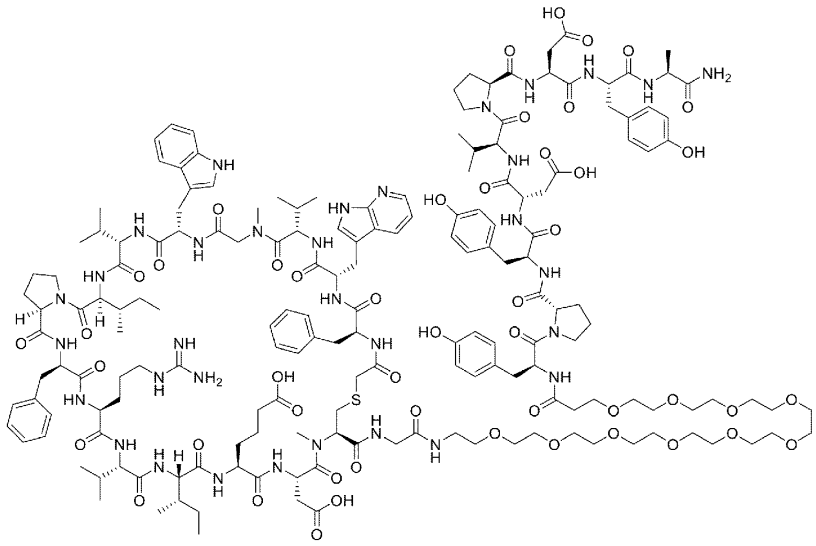
[0154] 装置：Ｓｈｉｍａｄｚｕ ＬＣ／ＭＳ ｓｙｓｔｅｍ （ＬＣ－２０ＡＤＸＲ，ＣＴＯ－２０ＡＣ，ＳＰＤ－Ｍ２０Ａ，ＳＩＬ－２０ＡＸＲ，ＣＢＭ－２０Ａ ａｎｄ ＬＣＭＳ－２０２０）
カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ ＥＶＯ Ｃ１８ ２．６μｍ ２．１ｘ１５０ｍｍ，１００Å
カラム温度：６０℃
移動相Ａ：０．０２５％ ＴＦＡ ｉｎ H_2O
移動相Ｂ：０．０２５％ ＴＦＡ ｉｎ ＭｅＣＮ
流速：０．５ｍＬ／分
波長：２２５ｎｍ ＰＤＡ
勾配Ｂ（％）：
ｙ：２０－６０％／７．１５ｍｉｎ，６０－９５％／０．３ｍｉｎ，９５－９５％／１．５５ｍｉｎ；

ｚ：４０－８０％／７．１５ｍｉｎ，８０－９５％／０．３ｍｉｎ，９５－９５％／１．５５ｍｉｎ；

実施例 1

[0155] モノマー構造番号５８－２の合成（構成は、以下の表を参照。以下同様。）

[化1]



[0156] Ｓｉｅｂｅｒ ａｍｉｄｅ ｒｅｓｉｎを用い，前述の一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し，目的のペプチドを合成した。その際，Ｂｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ ＩＩを固相合成機として使用し，製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し，Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＨＡＴＵ／ＤＩＥＡ（８．４当量／８当量／１６．８当量）を用いＤＭＦ中７５℃下，２０分間２回反応を行った。ただし３残基目、６残基目、７残基目、１１残基目、１２残基目は７５℃下，３０分間２回反応を行った。１０残基目，１５残基目は５０℃下，３０分間２回反応を行った。１７残基目のＦｍｏｃ－ＰＥＧ１０ｃの導入は２５℃下，６０分間１回反応を行った。またＦｍｏｃ－Ｗ７Ｎ－ＯＨ，Ｆｍｏｃ－Ｈｇｌ（ｔＢｕ）－ＯＨを導入

する際は、それらアミノ酸をＮＭＰに溶解させたものを用いた。

Ｆｍｏｃ基の除去は，室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と５分間反応させた後、溶液を除去後、再度室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と５分間反応させた。

クロロアセチル基の導入は，前工程で得られたＦｍｏｃ保護されたペプチドが保持された固相樹脂に対し，前述した方法でα－アミノ基のＦｍｏｃ基を除去した後，ＣｌＡｃＯＳｕ（２０当量）のＤＭＦ溶液を固相樹脂に加え室温にて６０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは，固相樹脂の入った反応容器に，反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加えよく振盪した後，室温で６０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。この濾液を冷やした過剰のジイソプロピルエーテルに加えると白濁沈殿が生じ，この混合物を遠心分離し，溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度冷やしたジエチルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒にて洗浄後，６０分間乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は，ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に１．２５ｍＭとなるようにＤＭＳＯ／H_2O（９／１）に溶解後，トリエチルアミン（２１当量）を加えて，室温で３時間静置した。得られた反応溶液をＧｅｎｅｖａｃ　ＥＺ－２　ＥｌｉｔｅＨＴを用いて減圧濃縮した後、ペプチド濃度が１２．５ｍＭになるようにＤＭＳＯを加えた。

得られた粗生成物はギルソン社のカラムを用い固相抽出した（カラム：Ｇｉｌｓｏｎ　ＡＳＰＥＣ　Ｃ１８　５０ｍｇ　１ｍＬ）：（１）カラムを抽出液Ａ（０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　９５％ＭｅＣＮ／H_2O、０．３ｍＬ）で洗浄した。（２）抽出液Ｂ（０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　５％ＭｅＣＮ／H_2O、０．３ｍＬ）でカラムを平衡化した。（３）上記溶液０．０２ｍＬをカラムにローディングした。（４）抽出液Ｂ（０．４ｍＬ）でカラムを洗浄した。（５）抽出液Ａ（０．４ｍＬ）で抽出した。得られた抽出液をＥＺ－２　Ｅ

ｌｉｔｅを用いて減圧濃縮した。

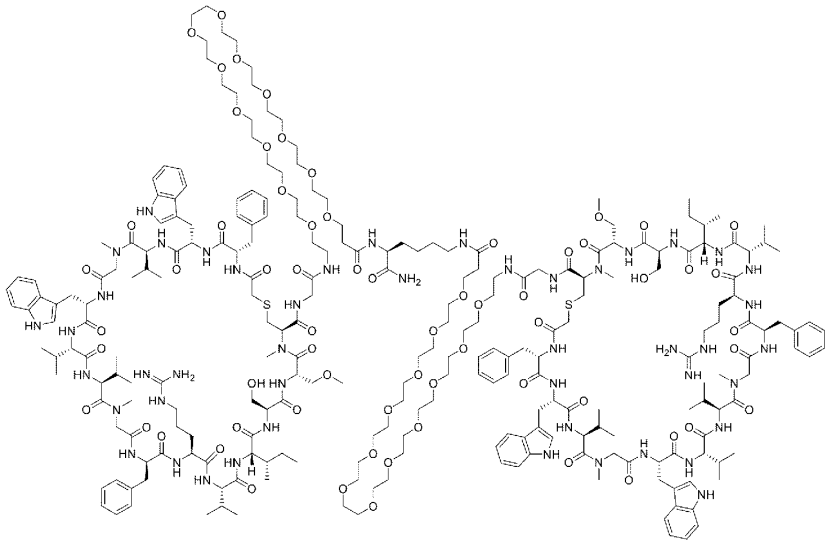
目的物の主たるピークの一つの純度は、以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２０ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し、６５％であった。

分析条件：保持時間＝１．４７分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　１．７μｍ　２．１ｘ５０ｍｍ，　１００Å；移動相：Ａ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O、Ｂ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０℃；グラジエント（％　Ｂ　ｃｏｎｃ）：２．１０分間かけて５－９５％、その後０．７５分間かけて９５－９５％；流量：０．６ｍＬ／分　ＥＳＩ－ＭＳ（＋）　観測値ｍ／ｚ＝１２０２（Ｍ＋３Ｈ）３＋．

実施例 2

[0157] ダイマー構造番号１８の合成

[化2]



[0158] ＮｏｖａＰＥＧ　Ｒｉｎｋ　Ａｍｉｄｅ　ｒｅｓｉｎを用い，前述の一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し，目的のペプチドを合成した。その際，Ｂｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ　ＩＩを固相合成機として使用し，製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し，

Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＨＡＴＵ／ＤＩＥＡ（１２．６当量／１１．２２当量／２５．２当量）を用いＤＭＦ中７５℃下，２０分間２回反応を行った。ただし３残基目，８残基目，１０残基目，１２残基目，１３残基目，１４残基目，１５残基目は５０℃下，３０分間２回反応を行った。１７残基目のＦｍｏｃ－ＰＥＧ１０ｃの導入は２５℃下，６０分間１回反応を行った。またＦｍｏｃ－ＳＭｅ－ＯＨを導入する際は、アミノ酸をＮＭＰに溶解させたものを用いた。

Ｆｍｏｃ基の除去は，室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と５分間反応させた後、溶液を除去後、再度室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と１５分間反応させた。

クロロアセチル基の導入は，前工程で得られたＦｍｏｃ保護されたペプチドが保持された固相樹脂に対し，前述した方法でα－アミノ基のＦｍｏｃ基を除去した後，クロロ酢酸（０．３Ｍ　ＤＭＦ溶液，１２．６当量），ＨＣＴＵ（０．２８Ｍ　ＤＭＦ溶液，１２当量）とＤＩＥＡ（１．０５Ｍ　ＤＭＦ溶液，２５当量）を固相樹脂に加え室温にて３０分間振盪することを２回連続で実施する条件を用いた。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは，固相樹脂の入った反応容器に，反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加えよく振盪した後，室温で６０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。この濾液を冷やした過剰のジイソプロピルエーテルに加えると白濁沈殿が生じ，この混合物を遠心分離し，溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度冷やしたジイソプロピルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒にて洗浄後，６０分間乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は，ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に２．５ｍＭとなるようにＤＭＳＯに溶解後，トリエチルアミン（１０当量）を加えて攪拌した後，室温で終夜静置した。得られた反応溶液をＧｅｎｅｖａｃ　ＥＺ－２　Ｅｌｉｔｅを用いて１２．５ｍＭになるように減圧濃縮した。

得られた粗生成物はギルソン社のカラムを用い固相抽出した（カラム：Ｇｉｌｓｏｎ　ＡＳＰＥＣ　Ｃ１８　５００ｍｇ　３ｍＬ）：（１）カラムを抽出液Ａ（０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　９５％ＭｅＣＮ／H_2O、３ｍＬ）で洗浄した。（２）抽出液Ｂ（０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　５％ＭｅＣＮ／H_2O、３ｍＬ）でカラムを平衡化した。（３）上記溶液０．２ｍＬをカラムにローディングした。（４）抽出液Ｂ（４ｍＬ）でカラムを洗浄した。（５）抽出液Ａ（４ｍＬ）で抽出した。得られた抽出液をＥＺ－２　Ｅｌｉｔｅを用いて減圧濃縮した。

目的物の主たるピークの一つの純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２０ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し６０％であった。

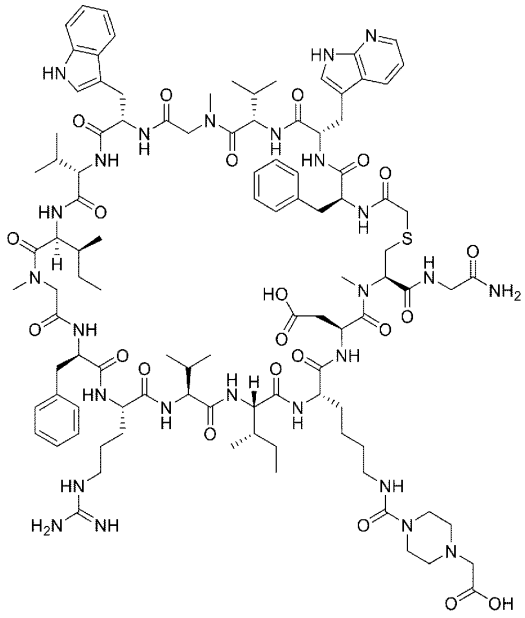
分析条件：保持時間＝１．７７分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　１．７μｍ　２．１ｘ５０ｍｍ，　１００Å；移動相：Ａ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O、Ｂ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０℃；グラジエント（％　Ｂ　ｃｏｎｃ）：２．１０分間かけて５－９５％、その後０．７５分間かけて９５－９５％；流量：０．６ｍＬ／分

ＥＳＩ－ＭＳ（＋）　観測値ｍ／ｚ＝１２７６（Ｍ＋４Ｈ）４＋．

実施例 3

[0159] モノマー構造番号５３－１の合成

[化3]



[0160] Ｓｉｅｂｅｒ ａｍｉｄｅ ｒｅｓｉｎ（渡辺化学，０．５４ｍｍｏｌ／ｇ）を用い，前述の一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し，目的のペプチドを合成した。その際，ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ Ｂｌｕｅを固相合成機として使用し，製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し，Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＤＩＰＣＩ／Ｏｘｙｍａ ｐｕｒｅ（４．２当量／８当量／４当量）を用いＤＭＦ中９０℃下，３分間１回反応を行った。ただし３残基目，７残基目は７５℃下，３０分間２回反応を行った。１０残基目は５０℃下，１５分間２回反応を行った。１４残基目は９０℃下，１０分間２回反応を行った。１５残基目は５０℃下，１５分間１回反応を行った。またＦｍｏｃ－Ｗ７Ｎ－ＯＨを導入する際は、アミノ酸をＮＭＰに溶解させたものを用いた。

Ｆｍｏｃ除去は，１０％ピロリジンのＤＭＦ溶液と９０℃下，１分間反応させる条件，又は室温下，１分間反応させることを２回連続で実施する条件を用いた。

クロロアセチル基の導入は，ＣＩＡｃＯＳｕ（１０当量）のＤＭＦ溶液を固

相樹脂に加え室温にて６０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは，まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦに続いて塩化メチレン，さらにジエチルエーテルで洗浄した後，減圧下乾燥し、固相樹脂の入った反応容器に，反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え，室温で９０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。この濾液を冷やした過剰のジイソプロピルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒に加えると白濁沈殿が生じ，この混合物を遠心分離し，溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度冷やしたジエチルエーテルにて洗浄後，減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は，ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に５ｍＭとなるようにＭｅＣＮ／H_2O（１／１）に溶解後，トリエチルアミン（１０当量）を加えて，室温で３時間振盪した後、酢酸を加えた。得られた反応溶液をＥＺ－２　Ｅｌｉｔｅを用いて濃縮した。得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。

カラム：ＹＭＣ－Ｔｒｉａｒｔ　Ｐｒｅｐ　Ｃ１８－Ｓ　２０μｍ　２０ｘ２５０ｍｍ；

移動相：Ａ＝０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ＝０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：５０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：６ＣＶかけて３３－３８％，その後１ＣＶかけて３８％；流速：１７ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し９３．５１％であった。

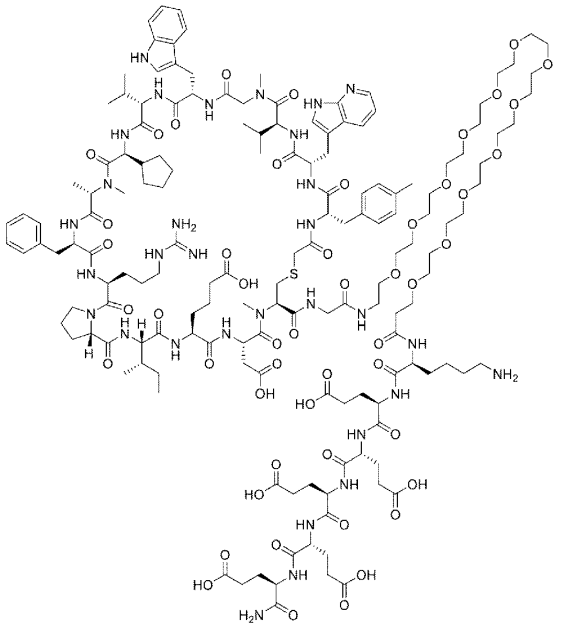
分析条件：保持時間＝４．０２分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　２．６μｍ　２．１ｘ１５０ｍｍ，１００Å；移動相：Ａ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて２０－６０％，その後０．３０分間かけて６０－９５％，その後１．５５分間かけ

て９５－９５％；流速：０．５ｍＬ／分；ＥＳＩ－ＭＳ（＋）観測値ｍ／ｚ＝１０６８（Ｍ＋２Ｈ）２＋．

実施例 4

[0161] モノマー構造番号８８－７の合成

[化4]



[0162] Ｓｉｅｂｅｒ ａｍｉｄｅ ｒｅｓｉｎ（渡辺化学，０．６ｍｍｏｌ／ｇ）を用い，前述の一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し，目的のペプチドを合成した。その際，ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ Ｂｌｕｅ ＨＴを固相合成機として使用し，製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し，Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＤＩＰＣＩ／Ｏｘｙｍａｐｕｒｅ（４．２当量／４当量／４当量）を用いＤＭＦ中５０℃下，２０分間１回反応を行った。ただし３残基目，７残基目は７５℃下，３０分間２回反応を行った。１０残基目，１１残基目，１４残基目は５０℃下，２０分間２回反応を行った。１９残基目，２０残基目は７５℃下，１０分間１回反応を行った。またＦｍｏｃ－Ｗ７Ｎ－ＯＨを導入する際は、アミノ酸をＮＭＰ

に溶解させたものを用いた。

Ｆｍｏｃ除去は，１０％ピロリジンのＤＭＦ溶液と２５℃下，１分間反応させることを２回連続で実施する条件を用いた。

クロロアセチル基の導入は，ＣｌＡｃＯＳｕ（５当量）のＤＭＦ溶液を固相樹脂に加え室温にて６０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは，まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦに続いて塩化メチレン，さらにジエチルエーテルで洗浄した後，減圧下乾燥し、固相樹脂の入った反応容器に，反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え，室温で７０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。この濾液を冷やした過剰のジイソプロピルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒に加えると白濁沈殿が生じ，この混合物を遠心分離し，溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度冷やしたジエチルエーテルにて洗浄後，減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は，ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に３．８ｍＭとなるようにＤＭＳＯ／H_2O（９／１）に溶解後，トリエチルアミン（２０当量）を加えて，室温で３時間振盪した後、酢酸を加えた。得られた反応溶液をＧｅｎｅｖａｃ　ＨＴ－１２を用いて濃縮した。得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。

カラム：Ｗａｔｅｒｓ　ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｃ１８　５μｍ　５０ｘ１５０ｍｍ；

移動相：Ａ＝０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ＝０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：４０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：２分間かけて８％，１分間かけて８－３３％，その後８分間かけて３３－３８％，その後１分間かけて３８－６０％；流速：１分間かけて２０ｍＬ／分，その後１分間かけて（２０ｍＬ／分－１２０ｍＬ／分），その後１２０ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマ

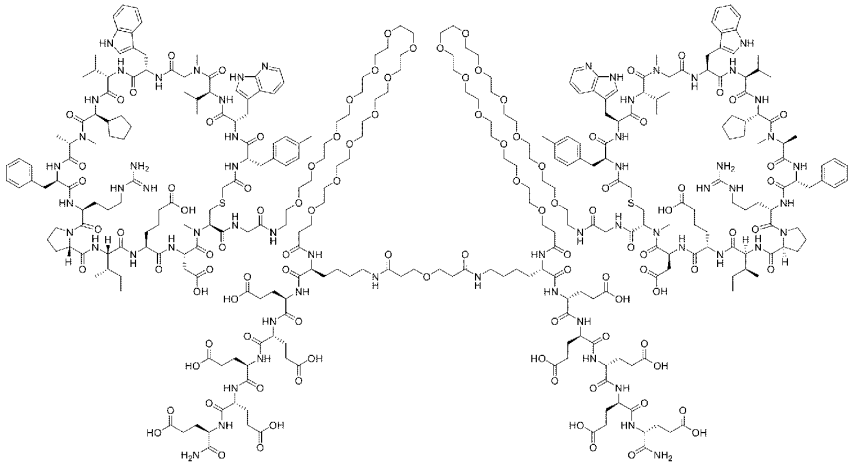
トグラムの面積比から算出し９４．２１％であった。

分析条件：保持時間＝４．２８分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　２．６　μｍ　２．１ｘ１５０ｍｍ，１００Å；移動相：Ａ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて２０－６０％，その後０．３０分間かけて６０－９５％，その後１．５５分間かけて９５－９５％；流速：０．５ｍＬ／分；ＥＳＩ－ＭＳ（＋）観測値ｍ／ｚ＝１１３１（Ｍ＋３Ｈ）３＋．

実施例 5

[0163] ペプチド複合体（ダイマー構造番号１０８）の合成

[化5]



[0164] ペプチド複合体の合成は，モノマー構造番号８８－７（４９ｍｇ）をＤＭＳＯに溶解した後、ＮＨＳ－ｃＰＥＧ１ｃ－ＮＨＳ（０．４当量），ＤＩＥＡ（１０当量）を加えて，室温にて１時間攪拌した後，酢酸を加えた。

得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。

カラム：Ｗａｔｅｒｓ　ＸＳｅｌｅｃｔ　ＣＳＨ　Ｐｒｅｐ　Ｃ１８　５μｍ　ＯＢＤ　５０ｘ２５０ｍｍ；移動相：Ａ＝１％　ＡｃＯＨ　ｉｎ　H_2O，Ｂ＝１％　ＡｃＯＨ　ｉｎ　ＭｅＣＮ，Ｃ＝０．２Ｍ　ＴＥＡＡ　ｉｎ

H_2O，D＝ＭｅＣＮ；

温度：５０℃；

メインポンプ　グラジエント（％Ａ　ｃｏｎｃ）：５．０分間かけて０．１％，その後０．１分間かけて０．１－１００％，５．１分以降（１００％－％Ｂ）；（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：５．１分間かけて０％，その後１．９分間かけて０－４．２％，その後２０分間かけて４．２－６０％，その後４分間かけて６０－９０％；（％Ｃ　ｃｏｎｃ）：５．０分間かけて９９．９％，その後０．１分間かけて９９．９－０％，５．１分以降０％；（％Ｄ　ｃｏｎｃ）：０％．流速：８分間かけて１８ｍＬ／分，その後２分間かけて（１８ｍＬ／分－１１８ｍＬ／分），その後１１８ｍＬ／分。

Ａｔ－ｃｏｌｕｍｎ－ｄｉｌｕｔｉｏｎポンプ　１％　ＡｃＯＨ　ｉｎ　H_2O／ＭｅＣＮ（１／１）．流速：２ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し９６．２９％であった。

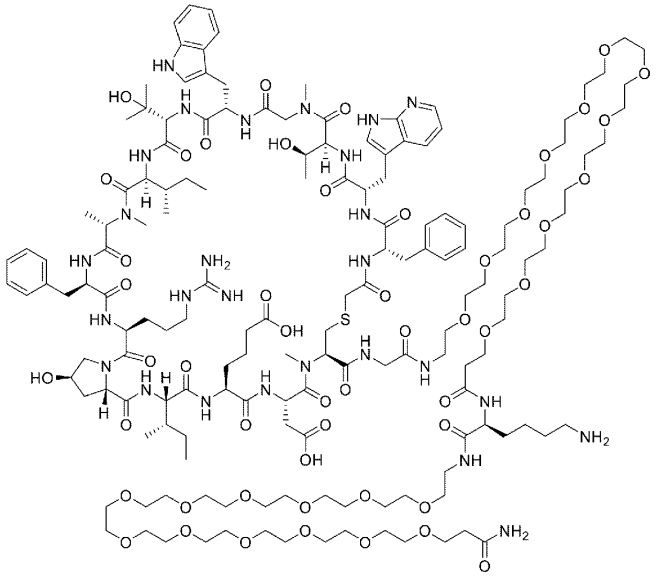
分析条件：保持時間＝５．２１分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　２．６μｍ　２．１ｘ１５０ｍｍ，１００Å；移動相：Ａ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて２０－６０％，その後０．３０分間かけて６０－９５％，その後１．５５分間かけて９５－９５％；流速：０．５ｍＬ／分；ＥＳＩ－ＭＳ（＋）観測値ｍ／ｚ＝１３８３（Ｍ＋５Ｈ）５＋．

実施例 6

[0165] ペプチド複合体（ダイマー構造番号１０３）の合成

＜６－１＞モノマー構造番号７１－８の合成

[化6]



[0166] Ｓｉｅｂｅｒ ａｍｉｄｅ ｒｅｓｉｎ（渡辺化学，０．５４ｍｍｏｌ／ｇ）を用い，前述の一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し，目的のペプチドを合成した。その際，ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ Ｂｌｕｅを固相合成機として使用し，製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し，Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＤＩＰＣＩ／Ｏｘｙｍａ ｐｕｒｅ（４．２当量／８当量／４当量）を用いＤＭＦ中９０℃下，３分間１回反応を行った。ただし３残基目，７残基目は７５℃下，３０分間２回反応を行った。５残基目，１４残基目は９０℃下，１０分間２回反応を行った。１０残基目は５０℃下，１５分間２回反応を行った。１５残基目は５０℃下，１５分間１回反応を行った。またＦｍｏｃ－Ｗ７Ｎ－ＯＨを導入する際は、アミノ酸をＮＭＰに溶解させたものを用いた。

Ｆｍｏｃ除去は，１０％ピロリジンのＤＭＦ溶液と９０℃下，１分間反応させる条件，又は室温下，１分間反応させることを２回連続で実施する条件を用いた。

クロロアセチル基の導入は，ＣＩＡｃＯＳｕ（１０当量）のＤＭＦ溶液を固相樹脂に加え室温にて６０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは，まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦに続いて塩化メチレン，さらにジエチルエーテルで洗浄した後，減圧下乾燥し、固相樹脂の入った反応容器に，反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え，室温で６０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。この濾液を冷やした過剰のジエチルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒に加えると白濁沈殿が生じ，この混合物を遠心分離し，溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度冷やしたジエチルエーテルにて洗浄後，減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は，ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に２．５ｍＭとなるようにＤＭＳＯ／２－プロパノール／H_2O（９０／５／５）に溶解後，トリエチルアミン（１０当量）を加えて，室温で３時間振盪した後、酢酸を加えた。得られた反応溶液をＧｅｎｅｖａｃ　ＨＴ－１２を用いて濃縮した。得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。

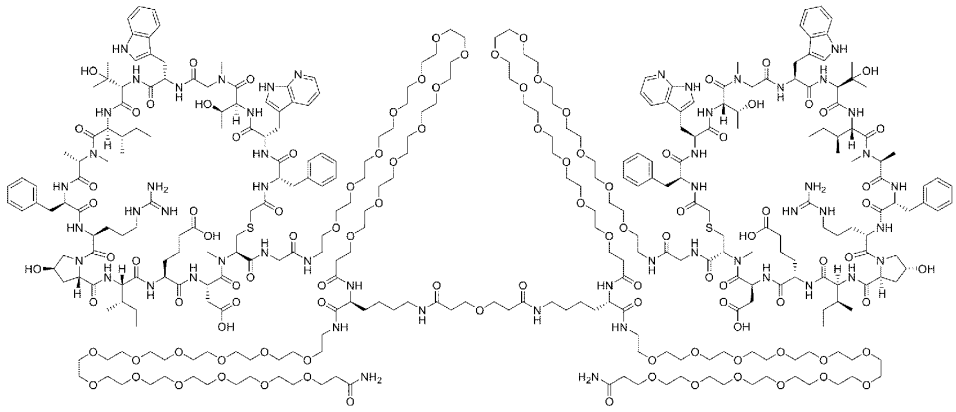
カラム：Ｗａｔｅｒｓ　ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｃ１８　５μｍ　５０ｘ１５０ｍｍ；

移動相：Ａ＝０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ＝０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：４０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：２分間かけて６％，１分間かけて６－３１％，その後８分間かけて３１－３６％，その後１分間かけて３６－６０％；流速：１分間かけて２０ｍＬ／分，その後１分間かけて（２０ｍＬ／分－１２０ｍＬ／分），その後１２０ｍＬ／分。

凍結乾燥後，モノマー構造番号７１－８（１５ｍｇ）を得た。

[0167] ＜６－２＞ペプチド複合体（ダイマー構造番号１０３）の合成

[化7]



[0168] ペプチド複合体の合成は，モノマー構造番号７１－８（１５ｍｇ）をＤＭＳＯに溶解した後、ＮＨＳ－ｃＰＥＧ１ｃ－ＮＨＳ（０．３当量），ＤＩＥＡ（５当量）を加えて，室温にて３０分間攪拌した後，酢酸を加えた。

得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。

カラム：Ｗａｔｅｒｓ　ＸＳｅｌｅｃｔ　Ｃ１８　５μｍ　３０ｘ１５０ｍｍ；Ａ＝０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ＝０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：４０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：３分間かけて９－３４％，その後８分間かけて３４－３９％，その後１分間かけて３９－６０％；流速：４５ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し９９．２１％であった。

分析条件：保持時間＝４．８１分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　２．６μｍ　２．１ｘ１５０ｍｍ，１００Å；移動相：Ａ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ＝０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて２０－６０％，その後０．３０分間かけて６０－９５％，その後１．５５分間かけて９５－９５％；流速：０．５ｍＬ／分；ＥＳＩ－ＭＳ（＋）観測値ｍ／ｚ＝１３６７（Ｍ＋５Ｈ）５＋．

実施例 7

[0169] 各種ペプチド合成

本実施例では、実施例１－６と同様に、各種ペプチド及びペプチド複合体を化学合成した。合成した環状ペプチドの配列を表２－１及び表２－２、リンカーの構造を表３、環状ペプチドがリンカーを介してダイマー化したペプチド複合体を表４に示す。

合成したペプチド及びペプチド複合体は、上記の基本分析装置及び基本条件に記載するいずれかの分析条件で分析し、質量スペクトル分析法におけるＥＳＩ－ＭＳ（＋）により構造を確認した。得られたＥＳＩ－ＭＳ（＋）観測値と保持時間、価数、分析に用いた移動相Ｂの濃度勾配（％）を表２－１、表２－２、及び表４に示す。

なお、表２－１、表２－２、及び表４において、「モノマー構造番号」が「Ａ－Ｂ」と記載されている場合、Ａはペプチド配列番号を、Ｂはリンカー構造番号を示す。また、表４のダイマー構造番号６８～１１７においては、「モノマー構造番号」で示される化合物が、「リンカー構造番号」で示されるリンカーを介して、ホモダイマーを形成していることを示す。なお、表中、Ｎ末端のＣＩＡｃは、クロロアセチル基を意味する。もっとも、ある配列番号で特定されたペプチドは、Ｎ末端がＣＩＡｃによる置換が行われていないものであってもよい（さらには、ペプチドの薬学的に許容される塩、又は溶媒和物であってもよい）。特に、ペプチドが環状ペプチドを意味する場合は、Ｎ末端のＣＩＡｃが、配列内のいずれかの基と結合し環状ペプチドを構成する際に、ＣＩＡｃが取れてもよい。特にペプチドが環状ペプチドの場合は、Ｎ末端がＣＩＡｃによる置換が行われていないものが好ましい。なお、配列表と、以下の表とに齟齬がある場合は、表が正しいと解釈される。

表中の配列番号は、ペプチド配列番号を意味する。

[0170] 表２－１　合成した環状ペプチドの配列

[表2-1-1-1]

配列番号		SEQ														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
2	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
3	ClAc	F	W	R	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
4	ClAc	F	W	Cit	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
5	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	E	D	MeC
6	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	I	D	MeC
7	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	F	D	MeC
8	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	W	D	MeC
9	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	Y	D	MeC
10	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	R	D	MeC
11	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	Cit	D	MeC
12	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	Atp	D	MeC
13	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
14	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	H	MeC
15	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	R	MeC
16	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	S	MeC
17	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	Q	MeC
18	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	SMe	MeC
19	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	Cit	MeC
20	ClAc	A	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
21	ClAc	Q	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
22	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	E	D	MeC
23	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	Atp	D	MeC
24	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
25	ClAc	F	W	T	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC

[表2-1-1-2]

配列番号	モノマー構造番号	リンカー構造番号	Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	QC 条件
						濃度勾配 B (%)
1	1-1	1	5.40	955	2	y
	1-2	2	1.67	1169	3	x
	1-3	3	1.77	1143	2	x
	1-4	4	1.78	1231	2	x
	1-5	5	1.79	880	3	x
	1-6	6	1.66	1009	3	x
	1-8	8	1.69	1080	3	x
2	2-2	2	1.55	1169	3	x
	2-5	5	1.34	880	3	x
3						
4						
5	5-5	5	1.63	894	3	x
6						
7						
8						
9						
10	10-5	5	1.53	903	3	x
11						
12	12-5	5	1.46	903	3	x
13	13-5	5	1.58	950	3	x
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20	20-5	5	1.39	854	3	x
21	21-5	5	1.36	873	3	x
22	22-5	5	1.51	894	3	x
23	23-5	5	1.39	903	3	x
24	24-5	5	1.34	951	3	x
25	25-2	2	1.63	1170	3	x

[表2-1-2-1]

配列番号	SEQ															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
26	ClAc	F	W	alT	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
27	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	I	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
28	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	all	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
29	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	V	S	D	MeC
30	ClAc	F	W	S	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
31	ClAc	F	W	V	MeG	W	T	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
32	ClAc	F	W	V	MeG	W	alT	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
33	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	Q	V	I	S	D	MeC
34	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	KCOpipzaa	V	I	S	D	MeC
35	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	T	I	S	D	MeC
36	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	alT	I	S	D	MeC
37	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
38	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	E	MeC
39	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	Hgl	MeC
40	ClAc	E	W7N	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
41	ClAc	Q	W7N	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
42	ClAc	F	W7N	T	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
43	ClAc	F	W7N	V	MeG	W1Me	V	V	MeG	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
44	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	all	MeG	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
45	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	Eva	MeG	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
46	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	V	MeA	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
47	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
48	ClAc	F	W7N	V	MeG	W1Me	V	all	MeA	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
49	ClAc	F	W7N	V	MeG	W1Me	V	all	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
50	ClAc	F	W	V	MeG	W1Me	V	all	MeA	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC

[表2-1-2-2]

配列番号	モノマー構造番号	リンカー構造番号	Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	QC 条件
						濃度勾配 B (%)
26	26-2	2	1.62	1170	3	x
27	27-2	2	1.68	1174	3	x
28	28-2	2	1.68	1174	3	x
29	29-2	2	1.65	1165	3	x
30						
31						
32						
33						
34						
35						
36						
37						
38						
39						
40	40-5	5	1.29	945	3	x
41	41-5	5	1.29	944	3	x
42	42-5	5	1.32	951	3	x
	42-7	7	1.34	1166	3	x
43	43-5	5	1.40	955	3	x
44	44-5	5	1.38	955	3	x
45	45-5	5	1.40	960	3	x
46	46-5	5	1.38	955	3	x
47	47-5	5	1.46	899	3	x
48	48-5	5	1.51	965	3	x
49	49-5	5	1.72	913	3	x
	49-7	7	1.48	1128	3	x
50	50-5	5	1.65	964	3	x

[表2-1-3-1]

配列番号	SEQ															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
51	ClAc	F	W	V	MeG	W1Me	V	all	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
52	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
53	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeG	df	R	V	I	KCOpipzaa	D	MeC
54	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeG	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
55	ClAc	F	W7N	V	MeG	Nal1	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
56	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	Meda	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
57	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeKCOpipzaa	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
58	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	dp	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
59	ClAc	F4COO	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
60	ClAc	F3Me	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
61	ClAc	F3C	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
62	ClAc	F4Me	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
63	ClAc	F4C	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
64	ClAc	F	W1Me7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
65	ClAc	F	W1aa	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
66	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	EtG	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
67	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	EtA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
68	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
69	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	Hpr	I	Hgl	D	MeC
70	ClAc	F	W7N	T	MeG	W	V	I	MeA	df	R	Hyp	I	Hgl	D	MeC
71	ClAc	F	W7N	T	MeG	W	dMeS	I	MeA	df	R	Hyp	I	Hgl	D	MeC
72	ClAc	F4Me	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
73	ClAc	F4Me	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	Hpr	I	Hgl	D	MeC
74	ClAc	F4Me	W7N	V	MeG	W	V	Tbg	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
75	ClAc	F4OMe	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC

[表2-1-3-2]

配列番号	モノマー構造番号	リンカー構造番号	Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	QC 条件
						濃度勾配 B (%)
51	51-5	5	1.60	913	3	x
52	52-2	2	1.52	1197	3	x
	52-7	7	1.34	1123	3	x
	52-5	5	1.36	908	3	x
53	53-1	1	4.02	1068	2	y
	53-2	2	1.43	1245	3	x
	53-5	5	1.38	955	3	x
54	54-2	2	1.45	1193	3	x
55	55-2	2	1.51	1201	3	x
56	56-2	2	1.48	1197	3	x
57	57-2	2	1.39	1273	3	x
58	58-2	2	1.47	1202	3	x
59						
60						
61						
62	62-7	7	1.46	1128	3	x
63						
64						
65						
66						
67						
68	68-7	7	1.44	1122	3	x
69						
70	70-8	8	1.46	1113	3	x
71	71-8	8	1.43	839	4	x
72	72-7	7	1.46	1127	3	x
73	73-7	7	1.47	1132	3	x
74	74-7	7	1.36	1127	3	x
75						

[表2-1-4-1]

配列番号	SEQ															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
76	ClAc	3Py	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
77	ClAc	Cha	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
78	ClAc	F4aao	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
79	ClAc	F	W7N	T	MeG	W	V	I	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
80	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	dMeS	I	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
81	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
82	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	Hyp	I	Hgl	D	MeC
83	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	Mor	I	Hgl	D	MeC
84	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	P	Gthp	Hgl	D	MeC
85	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	P	G4pipaa	Hgl	D	MeC
86	ClAc	F4Me	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	Hyp	I	Hgl	D	MeC
87	ClAc	F4OMe	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	Hyp	I	Hgl	D	MeC
88	ClAc	F4Me	W7N	V	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
89	ClAc	F4Me	W7N	V	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	Mor	I	Hgl	D	MeC
90	ClAc	F4Me	W7N	T	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
91	ClAc	F4Me	W7N	T	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	Mor	I	Hgl	D	MeC
92	ClAc	F4aao	W7N	V	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
93	ClAc	F4aao	W7N	V	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	Mor	I	Hgl	D	MeC
94	ClAc	F4aao	W7N	T	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC
95	ClAc	F4aao	W7N	T	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	Mor	I	Hgl	D	MeC
96	ClAc	F4OMe	W7N	V	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	P	I	Hgl	D	MeC

[表2-1-4-2]

配列番号	モノマー構造番号	リンカー構造番号	Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	QC 条件
						濃度勾配 B (%)
76						
77						
78	78-7	7	1.31	1147	3	x
79						
80						
81						
82						
83						
84						
85						
86						
87						
88	88-6	6	1.46	1045	3	x
	88-7	7	4.28	1131	3	y
89	89-7	7	1.36	1137	3	x
90	90-7	7	1.34	1132	3	x
91	91-7	7	1.33	1137	3	x
92	92-7	7	1.32	1151	3	x
93	93-7	7	1.33	1157	3	x
94	94-7	7	1.31	1152	3	x
95	95-7	7	1.29	1157	3	x
96	96-7	7	1.37	1137	3	x

[0171] 表２－２　合成した環状ペプチドの配列

[表2-2-1-1]

ペプチド配列番号	SEQ															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
97	ClAc	F	Ahp	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
98	ClAc	F	W1Me7N	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
99	ClAc	F	W	I	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
100	ClAc	F	W	all	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
101	ClAc	F	W	Q	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
102	ClAc	F	W	V	MeG	W1Me	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
103	ClAc	F	W	V	MeG	Nal1	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
104	ClAc	F	W	V	MeG	Nal2	V	V	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
105	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	Ahp	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
106	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	Nle	MeG	df	R	V	I	S	D	MeC
107	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	EtG	df	R	V	I	S	D	MeC
108	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeA	df	R	V	I	S	D	MeC
109	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	Meda	df	R	V	I	S	D	MeC
110	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	dp	df	R	V	I	S	D	MeC
111	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	P	I	S	D	MeC
112	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	Hpr	I	S	D	MeC
113	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	Tic	I	S	D	MeC
114	ClAc	F	W	V	MeG	W	V	V	MeG	df	R	V	all	S	D	MeC
115	ClAc	F4aao	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
116	ClAc	F3COO	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
117	ClAc	F3aao	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
118	ClAc	4Py	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
119	ClAc	3Py	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
120	ClAc	Cha	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
121	ClAc	F	W7N	T	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
122	ClAc	F	W7N	TMe	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
123	ClAc	F	W7N	KCOpipzaa	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
124	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	Tbg	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
125	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	TMe	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC

[表2-2-1-2]

ペプチド配列番号	モノマー構造番号	Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	QC 条件
					濃度勾配 B (%)
97	97-2	1.69	1150	3	x
98	98-2	1.59	1174	3	x
99	99-2	1.68	1174	3	x
100	100-2	1.69	1174	3	x
101	101-2	1.60	1179	3	x
102	102-2	1.70	1174	3	x
103	103-2	1.72	1173	3	x
104	104-2	1.72	1173	3	x
105	105-2	1.71	1179	3	x
106	106-2	1.69	1174	3	x
107	107-2	1.68	1174	3	x
108	108-2	1.69	1174	3	x
109	109-2	1.70	1174	3	x
110	110-2	1.70	1178	3	x
111	111-2	1.65	1169	3	x
112	112-2	1.66	1173	3	x
113	113-2	1.69	1189	3	x
114	114-2	1.66	1169	3	x
115	115-2	1.38	1222	3	x
116	116-2	1.50	1212	3	x
117	117-2	1.44	1222	3	x
118	118-2	1.35	1198	3	x
119	119-2	1.36	1198	3	x
120	120-2	1.50	1199	3	x
121	121-2	1.43	1198	3	x
122	122-2	1.45	1203	3	x
123	123-2	1.38	1264	3	x
124	124-2	1.48	1202	3	x
125	125-2	1.47	1203	3	x

[表2-2-2-1]

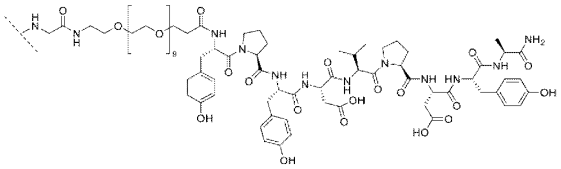
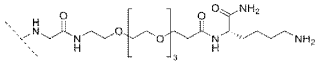
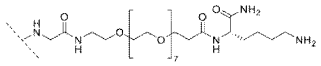
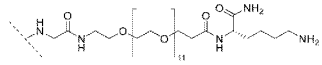
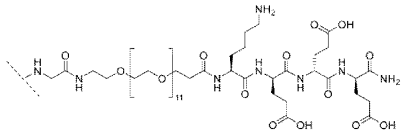
ペプチド配列番号	SEQ															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
126	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	alTMe	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
127	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	dMeS	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
128	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	Gthp	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
129	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	G4pipaa	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
130	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	Cit	I	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
131	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	L	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
132	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	Tbg	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
133	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	IMe	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
134	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	Cbg	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
135	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	Gcpe	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
136	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	Chg	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
137	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	alTMe	MeA	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
138	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeQ	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
139	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	Medq	df	R	V	I	Hgl	D	MeC
140	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	TMe	I	Hgl	D	MeC
141	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	alTMe	I	Hgl	D	MeC
142	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	alTMe	Hgl	D	MeC
143	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	dMeS	Hgl	D	MeC
144	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	Gthp	Hgl	D	MeC
145	ClAc	F	W7N	V	MeG	W	V	I	MeA	df	R	V	G4pipaa	Hgl	D	MeC

[表2-2-2-2]

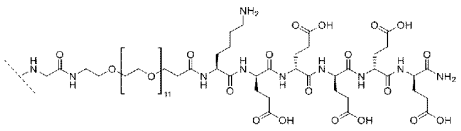
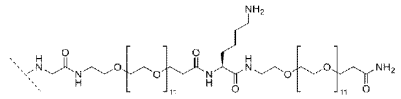
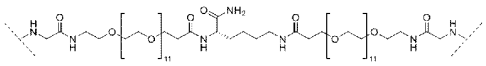
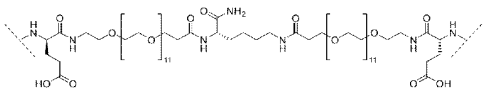
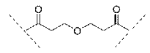
ペプチド配列番号	モノマー構造番号	Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	QC 条件
					濃度勾配 B (%)
126	126-2	1.46	1203	3	x
127	127-2	1.44	1203	3	x
128	128-2	1.44	1212	3	x
129	129-2	1.38	1231	3	x
130	130-2	1.42	1217	3	x
131	131-2	1.47	1197	3	x
132	132-2	1.46	1197	3	x
133	133-2	1.47	1202	3	x
134	134-2	1.45	1197	3	x
135	135-2	1.47	1201	3	x
136	136-2	1.48	1206	3	x
137	137-2	1.44	1198	3	x
138	138-2	1.47	1216	3	x
139	139-2	1.44	1217	3	x
140	140-2	1.46	1203	3	x
141	141-2	1.46	1203	3	x
142	142-2	1.45	1198	3	x
143	143-2	1.44	1198	3	x
144	144-2	1.45	1207	3	x
145	145-2	1.41	1226	3	x

[0172] 表３　リンカーの構造

[表3-1]

リンカー構造番号	名称	構造
1	NH2	
2	tag	
3	P04	
4	P08	
5	P12	
6	P12de3	

[表3-2]

リンカー構造番号	名称	構造
7	P12de5	
8	P12P12	
9	P12K_d	
10	deP12K_d	
11	KP01K_d	

[0173] 表４　ペプチド複合体

[表4-1]

ダイマー構造番号	ペプチド配列番号	モノマー構造番号	リンカー構造番号	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	QC 条件 濃度勾配 B (%)
1	1		9	1.84	1283	4	x
2	2		9	1.60	1283	4	x
3	3		9	1.53	1311	4	x
4	4		9	1.67	1312	4	x
5	5		9	1.74	1304	4	x
6	6		9	1.81	1296	4	x
7	7		9	1.82	1313	4	x
8	8		9	1.80	1332	4	x
9	9		9	1.77	1321	4	x
10	10		9	1.60	1317	4	x
11	11		9	1.75	1318	4	x
12	12		9	1.78	1317	4	x
13	13		9	1.68	1388	4	x
14	14		9	1.59	1294	4	x
15	15		9	1.59	1303	4	x
16	16		9	1.75	1269	4	x
17	17		9	1.74	1289	4	x
18	18		9	1.77	1276	4	x
19	19		9	1.74	1304	4	x
20	25		9	1.71	1284	4	x
21	26		9	1.71	1284	4	x
22	27		9	1.78	1290	4	x
23	28		9	1.78	1290	4	x
24	29		9	1.75	1276	4	x
25	30		9	1.70	1277	4	x
26	31		9	1.73	1284	4	x
27	32		9	1.72	1284	4	x
28	33		9	2.00	1269	4	x
29	34		9	1.87	1354	4	x
30	35		9	1.72	1284	4	x

[表4-2]

ダイマー構造番号	ペプチド配列番号	モノマー構造番号	リンカー構造番号	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	QC 条件 濃度勾配 B (%)
31	36		9	1.73	1284	4	x
32	37		9	1.76	1311	4	x
33	38		9	1.76	1290	4	x
34	39		9	1.76	1297	4	x
35	52		9	1.53	1325	4	x
36	53		9	1.49	1396	4	x
37	54		9	1.51	1319	4	x
38	55		9	1.60	1331	4	x
39	56		9	1.56	1325	4	x
40	57		9	1.44	1439	4	x
41	58		9	1.54	1332	4	x
42	59		9	1.49	1348	4	x
43	60		9	1.55	1332	4	x
44	61		9	1.56	1343	4	x
45	62		9	1.55	1332	4	x
46	63		9	1.56	1342	4	x
47	64		9	1.59	1332	4	x
48	65		9	1.65	1354	4	x
49	66		9	1.53	1325	4	x
50	67		9	1.55	1332	4	x
51	68		9	1.53	1325	4	x
52	69		9	1.54	1331	4	x
53	68		10	1.57	1088	5	x
54	72		9	1.62	1065	5	x
55	75		9	1.58	1071	5	x
56	76		9	1.43	1324	4	x
57	77		9	1.63	1062	5	x
58	78		9	1.54	1361	4	x
59	79		9	1.54	1060	5	x
60	80		9	1.56	1066	5	x

[表4-3]

ダイマー構造番号	ペプチド配列番号	モノマー構造番号	リンカー構造番号	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	QC 条件 濃度勾配 B (%)
61	81		9	1.59	1064	5	x
62	82		9	1.55	1066	5	x
63	83		9	1.56	1066	5	x
64	84		9	1.57	1071	5	x
65	85		9	1.52	911	6	x
66	86		9	1.57	1071	5	x
67	87		9	1.55	1078	5	x
68	1	1-3	11	6.02	1175	4	y
69	1	1-4	11	6.09	1263	4	y
70	1	1-5	11	6.15	1351	4	y
71	1	1-6	11	6.19	1236	5	y
72	1	1-8	11	6.42	1320	5	y
73	2	2-5	11	5.24	1351	4	y
74	5	5-5	11	6.34	1372	4	y
75	10	10-5	11	5.42	1385	4	y
76	12	12-5	11	2.71	1385	4	z
77	13	13-5	11	5.73	1165	5	y
78	20	20-5	11	5.74	1312	4	y
79	21	21-5	11	5.48	1341	4	y
80	22	22-5	11	5.24	1372	4	y
81	23	23-5	11	5.10	1386	4	y
82	24	24-5	11	4.94	1166	5	y
83	40	40-5	11	4.52	1448	4	y
84	41	41-5	11	4.40	1447	4	y
85	42	42-5	11	4.20	1167	5	y
86	42	42-7	11	4.14	1424	5	y
87	43	43-5	11	5.41	1171	5	y
88	44	44-5	11	4.76	1171	5	y
89	45	45-5	11	4.97	1177	5	y
90	46	46-5	11	4.70	1171	5	y

[表4-4]

ダイマー構造番号	ペプチド配列番号	モノマー構造番号	リンカー構造番号	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	QC 条件 濃度勾配 B (%)
91	47	47-5	11	5.16	1379	4	y
92	48	48-5	11	5.19	1183	5	y
93	49	49-5	11	5.76	1400	4	y
94	49	49-7	11	5.46	1378	5	y
95	50	50-5	11	6.33	1182	5	y
96	51	51-5	11	3.42	1399	4	z
97	52	52-7	11	5.17	1373	5	y
98	52	52-5	11	5.26	1393	4	y
99	53	53-5	11	5.32	1171	5	y
100	62	62-7	11	5.11	1379	5	y
101	68	68-7	11	5.15	1372	5	y
102	70	70-8	11	4.92	1361	5	y
103	71	71-8	11	4.81	1367	5	y
104	72	72-7	11	5.17	1378	5	y
105	73	73-7	11	5.20	1383	5	y
106	74	74-7	11	5.08	1378	5	y
107	78	78-7	11	5.18	1402	5	y
108	88	88-7	11	5.21	1383	5	y
109	88	88-6	11	5.57	1279	5	y
110	89	89-7	11	5.07	1389	5	y
111	90	90-7	11	4.91	1383	5	y
112	91	91-7	11	4.72	1390	5	y
113	92	92-7	11	5.26	1407	5	y
114	93	93-7	11	4.84	1413	5	y
115	94	94-7	11	5.00	1407	5	y
116	95	95-7	11	4.85	1414	5	y
117	96	96-7	11	5.64	1389	5	y

実施例 8

[0174] ＥＬＩＳＡ法によるＴＰＯＲへの結合活性評価

本発明のペプチドのＴＰＯＲへの結合活性を評価する為に、ＥＬＩＳＡ法を用いた結合活性評価を実施した。具体的な試験方法を以下に示す。

Ａｎｔｉ－ｈｉｓ－ｔａｇ抗体コート済み９６ウェルプレート（ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ； Ｌ００４４０Ｃ）にｈｉｓタグ融合ＴＰＯＲ （Ｒ＆Ｄ ｓｙｓｔｅｍｓ； ４４４４－ＴＲ）を１ウェルあたり３ ｐｍｏｌ添加し、３０分間静置することでＴＰＯＲをプレート上に固定化した。ＰＢＳ－Ｔで３回洗浄した後、５ｎＭに希釈したＨＡタグ融合ペプチドを添加し１時間静

置した。ＰＢＳ－Ｔで３回洗浄した後、１％　ＢＳＡを含むＰＢＳ－Ｔで５０００倍希釈したＡｎｔｉ－ＨＡ－ｔａｇ　ｍＡｂ－ＨＲＰ－ＤｉｒｅｃＴ（ＭＢＬ；　Ｍ１８０－７）を添加し、３０分静置した。ＰＢＳ－Ｔで３回洗浄した後、検出用試薬ＳｕｒｅＢｌｕｅ　（登録商標）　ＴＭＢ　１－Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔ　Ｍｉｃｒｏｗｅｌｌ　Ｐｅｒｏｘｉｄａｓｅ　Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ　（ＳｅｒａＣａｒｅ；　５１２０－００７７）を加え１０分間静置後、ＴＭＢ　Ｓｔｏｐ　Ｓｏｌｕｔｉｏｎ　（ＳｅｒａＣａｒｅ；　５１５０－００２１）をＴＭＢと等量添加することで反応を停止した。ＥｎＳｐｉｒｅ　（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を用いて４５０　ｎｍの吸光度を測定した。各ペプチドの結合シグナルは、各ペプチドを添加したウェルの吸光度からペプチド非添加ウェルの吸光度を差し引くことで算出した。

モノマー構造番号１－２、２－２、２５－２～２９－２、及び５２－２～５８－２については、算出した結合シグナルを表５－１に示した。
モノマー構造番号９７－２～１４５－２については、算出した結合シグナルを表５－２に示した。

なお、表５－１及び表５－２において、「モノマー構造番号」が「Ａ－Ｂ」と記載されている場合、Ａはペプチド配列番号を、Ｂはリンカー構造番号を示す。

表５－１及び表５－２に示すように、これらのペプチドはＴＰＯＲに結合することが示された。

[0175]　表５－１　ＴＰＯＲへの結合活性評価

[表5-1]

ペプチド配列番号	モノマー構造番号	ELISA signal/SPR	
		ELISA	SPR (KD)
1	1-2	1.4	
2	2-2	0.2	
25	25-2	1.3	
26	26-2	0.5	
27	27-2	1.2	
28	28-2	1.5	
29	29-2	0.9	
52	52-2	2.0	
53	53-2	1.2	
54	54-2	1.3	
55	55-2	1.3	
56	56-2	0.8	
57	57-2	0.9	
58	58-2	0.5	
1	1-1		1.E-09
53	53-1		2.E-09
88	88-7		3.E-08

[0176] 表５－２　ＴＰＯＲへの結合活性評価

[表5-2-1]

ペプチド配列番号	モノマー構造番号	ELISA signal
97	97-2	0.3
98	98-2	0.3
99	99-2	1.1
100	100-2	0.6
101	101-2	0.4
102	102-2	1.5
103	103-2	1.0
104	104-2	0.5
105	105-2	0.4
106	106-2	0.2
107	107-2	1.0
108	108-2	1.8
109	109-2	1.4
110	110-2	1.2
111	111-2	0.2
112	112-2	0.4
113	113-2	0.2
114	114-2	0.4
115	115-2	1.1
116	116-2	0.4
117	117-2	1.1
118	118-2	0.9
119	119-2	1.7
120	120-2	1.7
121	121-2	1.6

[表5-2-2]

ペプチド配列番号	モノマー構造番号	ELISA signal
122	122-2	0.3
123	123-2	0.6
124	124-2	0.6
125	125-2	0.5
126	126-2	1.2
127	127-2	1.8
128	128-2	1.1
129	129-2	0.3
130	130-2	0.7
131	131-2	1.5
132	132-2	1.8
133	133-2	2.0
134	134-2	1.1
135	135-2	1.9
136	136-2	0.4
137	137-2	1.0
138	138-2	0.8
139	139-2	1.3
140	140-2	1.7
141	141-2	2.2
142	142-2	1.4
143	143-2	0.9
144	144-2	1.6
145	145-2	1.5

実施例 9

[0177] 表面プラスモン共鳴（ＳＰＲ）によるＴＰＯＲとペプチドとの分子間相互作用評価

本発明のペプチドのＴＰＯＲへの結合活性を評価する為に、表面プラスモン共鳴（ＳＰＲ）による分子間相互作用評価を実施した。具体的な試験方法を以下に示す。

［ＳＰＲ測定］

ＢｉａｃｏｒｅＴ２００（Ｃｙｔｉｖａ）にＮＴＡセンサーチップ（Ｃｙｔｉｖａ）を挿入し、ランニング緩衝液：ＨＢＳ－Ｐ＋，　ｐＨ７．４（Ｃｙｔｉｖａ）でプライム操作を３回実施し、流速３０μＬ／ｍｉｎで平衡化した。

流速１０μＬ／ｍｉｎでリガンド固定化操作を実施した。３５０　ｍＭ　ＥＤＴＡ溶液（ナカライテスク）で３０秒間送液しＮＴＡセンサーチップの洗浄操作を実施した。その後、５００　μＭ　塩化ニッケル溶液（ハンプトンリサーチ）を３０秒間送液し、カルボメチルデキストラン鎖上にニッケルイオンを配位させた。５０　ｍＭ　ＥＤＴＡ溶液（ナカライテスク）で洗浄操作を実施した。６０ｍＭ　ＥＤＣ溶液（Ｃｙｔｉｖａ）、６５０ｍＭ　ＮＨＳ溶液（Ｃｙｔｉｖａ）を各々５０μＬずつ混合させた後、流速１０μＬ／ｍｉｎで４２０秒反応させた。流速１０μＬ／ｍｉｎ１００ｎＭ　ＴＰＯＲ溶液を４２０反応させ２０００ＲＵ前後になるように固定化をニッケルイオンとのＮＴＡのクロスリンクによるＡｍｉｎｅカップリングを実施した。１．０Ｍエタノールアミン水溶液（Ｃｙｔｉｖａ）を流速１０μＬ／ｍｉｎで４２０秒反応させキャッピング処理した。

ＤＭＳＯ溶液中で１０ｍＭに調製されたペプチド溶解液を、終濃度が１０μＭのペプチド溶解液になるようにランニング緩衝液で希釈した後、１００ｎＭ、５０ｎＭ、２５ｎＭ、１０ｎＭ、５ｎＭのペプチド溶液を作製した。上述のペプチドサンプルを流速３０μＬ／ｍｉｎで１２０秒間反応させ、乖離を６００秒間実施し、ＴＰＯＲに対するペプチドのカイネティクスをＳＰＲ測定により取得した。

カイネティックス評価モデルは、Ｓｉｎｇｌｅ　Ｃｙｃｌｅ　Ｋｉｎｅｔｉｃｓとし、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔ

ｗａｒｅ Ｖｅｒｓｉｏｎ ３．０（Ｃｙｔｉｖａ）を使用してカーブフィッティングを行った。得られたセンサーグラムに対して、最小二乗法によるカーブフィッティングを実施し、そのＫＤ値を求めることでペプチドのＴＰＯＲに対する結合を評価した。

モノマー構造番号１－１、５３－１、及び８８－７については、算出されたＫＤ値を表５－１に示した。

表５－１に示す通り、これらのペプチドがＴＰＯＲに結合することが示された。

実施例 10

[0178] ＡｌｐｈａＬＩＳＡによるＥＲＫ活性化評価

本発明のペプチド複合体のＥＲＫの活性化能を評価する為に，ＥＲＫのリン酸化をＡｌｐｈａＬＩＳＡを用いて評価した。具体的な試験方法を以下に示す。

ＴＰＯ Ｒｅｐｏｒｔｅｒ ＨＥＫ２９３ Ｃｅｌｌｓ（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ； ｈｋｂ－ｔｐｏ）を１０％ ＦＢＳ，１００ μｇ／ｍＬ Ｎｏｍｏｃｉｎ（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ），５０ μｇ／ｍＬ Ｇｅｎｔａｍｉｃｉｎ（Ｎａｋａｒａｉ ｔｅｓｑｕｅ），１ＸＨＥＫ－Ｂｌｕｅ ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）を含むＤＭＥＭ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で培養した。ＰＢＳを用いて細胞を剥離後，１ウェルあたり３０，０００細胞となるようにＰｏｌｙ－Ｄ ｌｙｓｉｎｅコートの接着細胞用９６穴プレートに播種し，２４時間培養した。スタベーションの為、０．１％ ＢＳＡ（Ｓｉｇｍａ）、５０ ｕｇ／ｍＬ Ｇｅｎｔａｍｉｃｉｎ（Ｎａｋａｒａｉ ｔｅｓｑｕｅ）を含むＤＭＥＭに交換し２０時間培養した。その後Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｈｕｍａｎ Ｔｈｒｏｍｂｏｐｏｉｅｔｉｎ （Ｒ＆Ｄ ｓｙｓｔｅｍｓ）もしくはペプチドを加え，CO_2インキュベータ内で３７°Ｃ、２０分刺激した。その後ＡｌｐｈａＬＩＳＡ ＳｕｒｅＦｉｒｅ Ｕｌｔｒａ ｐ－Ｅｒｋ１／２ （Ｔｈｒ２０２／Ｔｙｒ２０４） Ａｓｓａｙ キット （Ｐｅｒｋｉ

ｎＥｌｍｅｒ）に付属するＬｙｓｉｓ　Ｂｕｆｆｅｒで細胞を溶解した。キットのプロトコールに沿って実施し，シグナルの検出にはＳｐｅｃｔｒａＭａｘ　Ｐａｒａｄｉｇｍ　ｍｕｌｔｉｍｏｄｅ　ｍｉｃｒｏｐｌａｔｅ　ｒｅａｄｅｒ　（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）を使用した。得られたシグナルをＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍで解析し、ＴＰＯで誘導されるシグナルの最大値を１００％，無刺激を０％として％　ａｃｔｉｖａｔｉｏｎを計算した。

[0179]　ＴＰＯの添加濃度は０．００２ｎＭ～１０ｎＭの間で試験を実施し、誘導されるシグナルの最大値　（Ｅｍａｘ）を算出した。

ダイマー構造番号１～３４については、ペプチドの添加濃度は１０，　１００，　１０００　ｎＭで試験を実施し、１０ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＡ－１、１００ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＡ－２、１０００ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＡ－３、１０００ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５％以上５０％未満のものをＡ－４として表６に示した。

ダイマー構造番号３５～６７については、ペプチドの添加濃度は１，　１０，　１００　ｎＭで試験を実施し、１ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＢ－１　、１０ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＢ－２、１００ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＢ－３、１００ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５％以上５０％未満のものをＢ－４として表６に示した。

なおＢ－１に該当するものはなかった。

ダイマー構造番号６８～１０７、及び１１０～１１７については、ペプチドの添加濃度は１，　１０，　１００　ｎＭで試験を実施し、１ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＣ－１、１０ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＣ－２、１００ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＣ－３、１００ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５％以上５０％未満のものをＣ－４として表６に

示した。

[0180] ダイマー構造番号１０８、１０９については、ペプチドの添加濃度は０．０３９，　０．１５６，　０．６２５，　２．５　ｎＭで試験を実施し、０．０３９　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＤ－１、０．１５６　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＤ－２、０．６２５　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＤ－３、２．５　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＤ－４、２．５　Ｍ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５％以上５０％未満のものをＤ－５として表６に示した。

なおＤ－１，　Ｄ－３，　Ｄ－４，及びＤ－５に該当するものはなかった。

表６に示すように、これらのペプチドはＴＰＯ　Ｒｅｐｏｒｔｅｒ　ＨＥＫ２９３　ＣｅｌｌｓのＥＲＫシグナルを活性化する能力があることが示された。

[0181] 表６　ＥＲＫ活性化評価及びＪＡＫ－ＳＴＡＴ経路活性化評価

[表6-1]

ダイマー構造番号	pERK assay結果	Reporter assay 結果
1	A-2	NT
2	A-2	NT
3	A-2	NT
4	A-4	NT
5	A-2	NT
6	A-4	NT
7	A-2	NT
8	A-4	NT
9	A-3	NT
10	A-2	NT
11	A-2	NT
12	A-2	NT
13	A-2	NT
14	A-4	NT
15	A-2	NT
16	A-4	NT
17	A-3	NT
18	A-4	NT
19	A-4	NT
20	A-4	NT
21	A-4	NT
25	A-4	NT
26	A-4	NT
27	A-4	NT
22	A-2	NT
23	A-2	NT
28	A-3	NT
29	A-4	NT
30	A-4	NT
31	A-3	NT

[表6-2]

ダイマー構造番号	pERK assay結果	Reporter assay 結果
24	A-2	NT
32	A-2	NT
33	A-4	NT
34	A-4	NT
36	B-4	NT
37	B-3	NT
35	B-3	NT
42	B-4	NT
43	B-3	NT
44	B-3	NT
45	B-3	NT
46	B-3	NT
47	B-3	NT
48	B-4	NT
38	B-3	NT
40	B-4	NT
49	B-4	NT
50	B-4	NT
39	B-3	NT
41	B-4	NT
52	B-2	NT
54	B-3	NT
55	B-3	NT
56	B-3	NT
57	B-3	NT
58	B-3	NT
51	B-3	NT
59	B-3	NT
60	B-2	NT
61	B-2	NT

[表6-3]

ダイマー構造番号	pERK assay結果	Reporter assay 結果
62	B-3	NT
63	B-3	NT
64	B-3	NT
65	B-3	NT
53	B-3	NT
66	B-3	NT
67	B-3	NT
68	C-2	E-1
69	C-2	E-1
70	C-2	F-4
71	C-3	NT
72	C-3	NT
78	C-4	NT
79	C-4	NT
73	C-2	NT
74	C-2	NT
75	C-2	NT
76	C-3	NT
77	C-2	NT
80	C-3	NT
81	C-3	NT
82	C-2	NT
83	C-4	NT
84	C-4	NT
85	C-2	NT
87	C-1	NT
99	C-1	NT
88	C-1	F-2
89	C-1	NT
90	C-1	NT

[表6-4]

ダイマー構造番号	pERK assay結果	Reporter assay 結果
91	C-1	NT
92	C-1	F-3
93	C-1	F-2
95	C-2	NT
96	C-2	NT
86	C-2	NT
94	C-2	NT
102	C-2	NT
103	C-3	NT
100	C-2	NT
101	C-2	NT
104	C-1	NT
105	C-2	NT
106	C-2	NT
97	C-2	NT
98	C-2	NT
108	D-2	F-2
110	C-1	NT
111	C-1	NT
112	C-1	NT
107	C-1	NT
113	C-1	NT
114	C-1	NT
115	C-2	NT
116	C-3	NT
117	C-1	NT
109	D-2	F-1

実施例 11

[0182] ＳＴＡＴ５－ ｉｎｄｕｃｉｂｌｅ ｓｅｃｒｅｔｅｄ ｅｍｂｒｙｏｎｉｃ ａｌｋａｌｉｎｅ ｐｈｏｓｐｈａｔａｓｅ （ＳＥＡＰ） ｒｅｐ

ｏｒｔｅｒ　ａｓｓａｙによるＳＴＡＴ５依存的転写活性化評価

本発明のペプチド複合体のＳＴＡＴ５依存的転写活性化能を評価する為に，　ＳＴＡＴ５－　ｉｎｄｕｃｉｂｌｅ　ＳＥＡＰレポーターによる転写活性を評価した。具体的な試験方法を以下に示す。

ＡｌｐｈａＬＩＳＡで使用したＴＰＯ　Ｒｅｐｏｒｔｅｒ　ＨＥＫ２９３　Ｃｅｌｌｓを１０％　ＦＢＳ，　１００　μｇ／ｍＬ　Ｎｏｍｏｃｉｎ（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ），　５０　μｇ／ｍＬ　Ｇｅｎｔａｍｉｃｉｎ（Ｎａｋａｒａｉ　ｔｅｓｑｕｅ），　１ＸＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）を含むＤＭＥＭ　（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で培養した。ＰＢＳを用いて細胞を剥離後、０．１％　ＢＳＡ（Ｓｉｇｍａ）、５０　μｇ／ｍＬ　Ｇｅｎｔａｍｉｃｉｎ（Ｎａｋａｒａｉ　ｔｅｓｑｕｅ）を含むＤＭＥＭ　に懸濁し、１ウェルあたり５４，０００細胞となるように接着細胞用９６穴プレートに播種した。播種後すぐに、ＴＰＯもしくはペプチドを加え、CO_2インキュベータ内で３７°Ｃ、２４時間培養した。２０　ｕＬの培養上清を新しい接着培養用９６穴プレート（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）に移し、１８０　ｕＬのＱＵＡＮＴＩ－ＢＬＵＥ　（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ）を加えた。CO_2インキュベータ内で３７°Ｃ、２時間インキュベーションして、６２０ｎｍにおける吸光度を測定した。得られた数値をＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍで解析し、ＴＰＯで誘導されるシグナルの最大値を１００％，無刺激を０％として％　ａｃｔｉｖａｔｉｏｎを計算した。

[0183]　ＴＰＯの添加濃度は０．００２ｎＭ～１０ｎＭの間で試験実施し、誘導されるシグナルの最大値　（Ｅｍａｘ）を算出した。

ダイマー構造番号６８、及び６９については、ペプチドの添加濃度は１，１０，　１００　ｎＭで試験を実施し、１　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＥ－１、１０　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＥ－２、１００　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＥ－３、１００　Ｍ添加時に％ａｃｔｉｖａ

ｔｉｏｎが５％以上５０％未満のものをＥ－４として表６に示した。

なおＥ－２，Ｅ－３，及びＥ－４に該当するものはなかった。

ダイマー構造番号７０、８８、９２、９３、１０８、及び１０９については、ペプチドの添加濃度は０．０１５６，　０．０６２５，　０．２５，及び１　ｎＭで試験を実施し、０．０１５６　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＦ－１、０．０６２５　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＦ－２、０．２５　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＦ－３、１　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５０％以上のものをＦ－４、１　ｎＭ添加時に％ａｃｔｉｖａｔｉｏｎが５％以上５０％未満のものをＦ－５として表６に示した。

なおＦ－５に該当するものはなかった。またＮＴは試験を実施していないことを表す。

表６に示すように、これらのペプチドはＴＰＯ　Ｒｅｐｏｒｔｅｒ　ＨＥＫ２９３　ＣｅｌｌｓのＳＴＡＴ５依存的な遺伝子の転写を活性化する能力があることが示された。

産業上の利用可能性

[0184]　この発明は、製薬業などの分野で利用されうる。

請求の範囲

[請求項1] 式Ａ１で示されるアミノ酸配列、又は式Ａ１で示されるアミノ酸配列において複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

Ａ１：Ｘ^{1}－Ｘ^{2}－Ｘ^{3}－ＭｅＧ－Ｘ^{4}－Ｘ^{5}－Ｘ^{6}－Ｘ^{7}－ｄｆ－Ｘ^{8}－Ｘ^{9}－Ｘ^{10}－Ｘ^{11}－Ｘ^{12}－ＭｅＣ

但し、

Ｘ^{1}は、任意のアミノ酸残基であり、

Ｘ^{2}は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{3}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{4}は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{5}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{6}は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{7}は、任意のＮ－アルキル化アミノ酸残基、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

Ｘ^{8}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{9}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基、又は置換されていてもよい４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

Ｘ^{10}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｘ^{11}は、任意のアミノ酸残基であり、

X^{12}は、任意のアミノ酸残基であり、

式Ａ１において、アミノ酸配列はＮ末端側からＣ末端側に記述されている。

[請求項2] 式Ａ１において、

X^{1}は、Ｆ、Ａ、Ｑ、Ｅ、Ｆ４ＣＯＯ、Ｆ３Ｍｅ、Ｆ３Ｃ、Ｆ４Ｍｅ、Ｆ４Ｃ、Ｆ４ＯＭｅ、３Ｐｙ、Ｃｈａ、又はＦ４ａａｏであり、

X^{2}は、Ｗ、Ｗ７Ｎ、Ｗ１Ｍｅ７Ｎ、又はＷ１ａａであり、

X^{3}は、Ｖ、Ｒ、Ｃｉｔ、Ｔ、ａｌＴ、又はＳであり、

X^{4}は、Ｗ、Ｗ１Ｍｅ、又はＮａｌ１であり、

X^{5}は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴ、又はｄＭｅＳであり、

X^{6}は、Ｖ、ｌ、ａｌｌ、Ｅｖａ、Ｔｂｇ、又はＧｃｐｅであり、

X^{7}は、ＭｅＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ＭｅＫＣＯｐｉｐｚａａ、ｄｐ、ＥｔＧ、又はＥｔＡであり、

X^{8}は、Ｒ、Ｑ、又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり、

X^{9}は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴ、Ｐ、Ｈｐｒ、Ｈｙｐ、又はＭｏｒであり、

X^{10}は、ｌ、Ｖ、Ｇｔｈｐ、又はＧ４ｐｉｐａａであり、

X^{11}は、Ｓ、Ｅ、ｌ、Ｆ、Ｗ、Ｙ、Ｒ、Ｃｉｔ、Ａｔｐ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、又はＨｇｌであり、

X^{12}は、Ｄ、Ｈ、Ｒ、Ｓ、Ｑ、ＳＭｅ、Ｃｉｔ、Ｅ、又はＨｇｌである、

請求項１に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項3] 式Ａ２で示されるアミノ酸配列、又は式Ａ２で示されるアミノ酸配列において１番目、２番目、３番目、５番目、６番目、７番目、８番目、１０番目、１１番目、１２番目、１３番目及び１４番目のアミノ酸残基からなる群から選択される１～１２個のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列において少なくとも１個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド、その薬学的に

許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

Ａ２：Ｆ－Ｗ－Ｖ－ＭｅＧ－Ｗ－Ｖ－Ｖ－ＭｅＧ－ｄｆ－Ｒ－Ｖ－Ｉ－Ｓ－Ｄ－ＭｅＣ（配列番号１）

[請求項4] 式Ａ１において、

X^1は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^2は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^3は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^4は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^5は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^6は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^7は、任意のＮ－アルキル化アミノ酸残基、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

X^8は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^9は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

X^{10}は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{11}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X^{12}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基である、

請求項１に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項5] 式Ａ１において、

X^1は、Ｆ又はＦ４Ｍｅであり、

X^2は、W又はＷ７Ｎであり、

X^3は、Ｖ、Ｔ、ａｌＴであり、

X^4は、W又はＮａｌ１であり、

X^5は、Ｖであり、

X^6は、Ｖ、Ｉ、ａｌｌ、又はＧｃｐｅであり、

X^7は、ＭｅＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ＭｅＫＣＯｐｉｐｚａａ、又はｄｐであり、

X^8は、Ｒであり、

X^9は、Ｖ又はＰであり、

X^{10}は、Ｉ又はＶであり、

X^{11}は、Ｓ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、又はＨｇＩであり、

X^{12}は、Ｄである、

請求項４に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項6] 環状ペプチドである、請求項１～５のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項7] クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれる式Ａ１又は式Ａ２における１５番目のアミノ酸残基であるＭｅＣとが結合された環状構造を有する、請求項１～５のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項8] さらに、付加的なアミノ酸残基を含む、請求項１～５のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項9] ＴＰＯ受容体結合能を有する、請求項４又は５に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項10] 式Ｂ１で示されるアミノ酸配列、又は式Ｂ１で示されるアミノ酸配列において複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

Ｂ１：Ｙ^{1}－Ｙ^{2}－Ｙ^{3}－ＭｅＧ－Ｙ^{4}－Ｙ^{5}－Ｙ^{6}－Ｙ^{7}－ｄｆ－Ｒ－Ｙ^{8}－Ｙ^{9}－Ｙ^{10}－Ｄ－ＭｅＣ

但し、

Ｙ^{1}は、任意のアミノ酸残基であり、

Ｙ^{2}は、任意のアミノ酸残基であり、

Ｙ^{3}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｙ^{4}は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｙ^{5}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｙ^{6}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｙ^{7}は、任意のＮ－アルキル化アミノ酸残基、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

Ｙ^{8}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基、又は４－６員の環状の２級アミノ酸残基であり、

Ｙ^{9}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

Ｙ^{10}は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

式Ｂ１において、アミノ酸配列はＮ末端側からＣ末端側に記述されている。

[請求項11] 式Ｂ１において、

Y^1は、Ｆ、Ｆ４ａａｏ、Ｆ３ＣＯＯ、Ｆ３ａａｏ、４Ｐｙ、３Ｐｙ、又はＣｈａであり、

Y^2は、Ａｈｐ、Ｗ１Ｍｅ７Ｎ、Ｗ、又はＷ７Ｎであり、

Y^3は、Ｖ、Ｉ、ａｌｌ、Ｑ、Ｔ、ＴＭｅ、又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり、

Y^4は、Ｗ、Ｗ１Ｍｅ、Ｎａｌ１、又はＮａｌ２であり、

Y^5は、Ｖ、Ｔｂｇ、ＴＭｅ、ａｌＴＭｅ、ｄＭｅＳ、Ｇｔｈｐ、Ｇ４ｐｉｐａａ、又はＣｉｔであり、

Y^6は、Ｖ、Ａｈｐ、Ｎｌｅ、Ｉ、Ｌ、Ｔｂｇ、ＩＭｅ、Ｃｂｇ、Ｇｃｐｅ、Ｃｈｇ、又はａｌＴＭｅであり、

Y^7は、ＭｅＧ、ＥｔＧ、ＭｅＡ、Ｍｅｄａ、ｄｐ、ＭｅＱ、又はＭｅｄｑであり、

Y^8は、Ｖ、Ｐ、Ｈｐｒ、Ｔｉｃ、ＴＭｅ、又はａｌＴＭｅであり、

Y^9は、Ｉ、ａｌｌ、ａｌＴＭｅ、ｄＭｅＳ、Ｇｔｈｐ、又はＧ４ｐｉｐａａであり、

Y^{10}は、Ｓ又はＨｇｌである、

請求項１０に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項12] 式Ｂ２で示されるアミノ酸配列、又は式Ｂ２で示されるアミノ酸配列において１番目、２番目、３番目、５番目、６番目、７番目、８番目、１１番目、１２番目及び１３番目のアミノ酸残基からなる群から選択される１～１０個のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列において少なくとも１個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含む請求項１０に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

Ｂ２：Ｆ－Ａｈｐ－Ｖ－ＭｅＧ－Ｗ－Ｖ－Ｖ－ＭｅＧ－ｄｆ－Ｒ－Ｖ－Ｉ－Ｓ－Ｄ－ＭｅＣ（配列番号９７）

[請求項13] 環状ペプチドである、請求項１０～１２のいずれか１項に記載のペ

プチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項14] クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれる式Ｂ１又は式Ｂ２における１５番目のアミノ酸残基であるＭｅＣとが結合された環状構造を有する、請求項１０～１２のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項15] さらに、付加的なアミノ酸残基を含む、請求項１０～１２のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項16] ＴＰＯ受容体結合能を有する、請求項１０～１２のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項17] 第１のペプチド及び第２のペプチドを含むペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物であって、

前記第１のペプチド及び前記第２のペプチドは、同一でも異なってもよく、請求項１又は請求項１０に記載のペプチドである、

ペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項18] 前記ペプチド複合体は、前記第１のペプチドと、前記第２のペプチドと、前記第１のペプチド及び前記第２のペプチドを接続するリンカーとからなり、

前記第２のペプチドは、前記第１のペプチドと同一でも異なっていてもよく、

式Ａ１で示されるアミノ酸配列を有するか、又は、

式Ａ１で示されるアミノ酸配列において複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列からなる、

請求項１７に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項19] 前記第１のペプチドと前記第２のペプチドの相同性が９０％以上１００％以下である、請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項20] 前記第１のペプチドと前記第２のペプチドが実質的に同じペプチドである、請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項21] 前記第１のペプチドと前記第２のペプチドが、それぞれ環状ペプチドである、請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項22] 前記第１のペプチドと前記第２のペプチドが、それぞれクロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記第１のペプチド又は前記第２のペプチドに含まれるＭｅＣとが結合された環状構造を有する、請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項23] さらに、前記第１のペプチドと前記第２のペプチドが付加的なアミノ酸残基を含む、請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項24] 前記第１のペプチドのＣ末端と前記第２のペプチドのＣ末端とがリンカーを介して結合している、請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項25] 前記リンカーがＰＥＧリンカー、又はＰＥＧとアミノ酸残基からなるリンカーである、請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項26] 細胞内シグナル活性化能を有する、請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物。

[請求項27] 請求項１～５及び１０～１２のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含む、医薬組成物。

[請求項28] 請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含む、医薬組成物。

[請求項29] 請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含み、細胞培養に用いられる細胞培養用組成物。

[請求項30] 請求項１８に記載のペプチド複合体、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含み、医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物。

[請求項31] 請求項１～５及び１０～１２のいずれか１項に記載のペプチド、その薬学的に許容される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含み、医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物。